

# INTERACCION MICORRIZA VESICULO-ARBUSCULAR, *Rhizobium*-LEGUMINOSA EN UN OXISOL DE LOS LLANOS ORIENTALES DE COLOMBIA

Jorge H. Satizabal E.\*  
Saif Ur Rehman Saif \*\*

## COMPENDIO

En los dos primeros trabajos (Ia y Ib), se evaluó la interacción entre cepas seleccionadas de *Rhizobium* (apropiadas para la leguminosa forrajera tropical *Centrosema macrocarpum*) y especies (*Entrophospora colombiana*, *Acaulospora longula*, *Glomus manihotis*) de micorriza vesiculo-arbuscular (MVA), en un suelo esterilizado, fijador de P. Los experimentos se diferenciaron por las fuentes de P utilizadas. Por su mayor producción de materia seca, absorción de minerales, nodulación y infección por MVA, se destacaron las plantas inoculadas con cualesquiera de las cepas de *Rhizobium* y *Glomus manihotis* (Experimento Ia) o *Acaulospora longula* (Experimento Ib). En la tercera investigación (Experimento II), se evaluó en *Centrosema* la interacción MVA, *Rhizobium* o N-químico (niveles equivalentes a 0, 30, 55, 105, 0 + *Rhiz.* y 30 + *Rhiz.* kg N ha<sup>-1</sup>) y dosis de P (0, 20, 40 y 80 kg ha<sup>-1</sup>). Es aconsejable aplicar pequeñas dosis (30 kg ha<sup>-1</sup>) de N al momento de la siembra e inocular con *Rhizobium*. Plantas inoculadas con MVA presentaron su óptimo crecimiento con 40 kg P ha<sup>-1</sup>. Dosis de 80 kg P ha<sup>-1</sup> favoreció la eficiencia de la bacteria más no la del hongo.

## ABSTRACT

In the first two works (Ia and Ib) we evaluated the interaction between selected stumps of *Rhizobium* (appropriate for the tropical forage legumes *Centrosema macrocarpum*) and species (*Entrophospora colombiana*, *Acaulospora longula*, *Glomus manihotis*) of vesicular-arbuscular mycorrhiza (MVA), in a sterilized soil fixer of P. The two experiments are different because we used different P sources. For the best production of dry matter, absorption of minerals, nodulation and infection for MVA; rebounded the plants with the inoculation with any of the *Rhizobium*'s stumps and *Glomus manihotis* (Experiment Ia) or *Acaulospora longula* (Experiment Ib). In the third investigation (Experiment II) we evaluated in *Centrosema* the interaction MVA, *Rhizobium* and chemical N (levels equivalent to 0, 30, 55, 105, 0 + *Rhizobium* and 30 + *Rhizobium* kg N ha<sup>-1</sup>) and amount of P (0, 20, 40 and 80 kg ha<sup>-1</sup>). It is advisable to apply small amount (30 kg ha<sup>-1</sup>) of N fertilizer at the time of sowing the *Centrosema* and the inoculation with *Rhizobium*. The plants inoculated with MVA showed a best growing in the amount 40kg P ha<sup>-1</sup>, 80 kg P ha<sup>-1</sup> helped in the efficacy of the bacterium and it didn't help in the efficacy of the fungus.

\* Estudiante de post-grado. Universidad Nacional de Colombia. Palmira.

\*\* Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT. A.A. 6713, Colombia.

## 1. INTRODUCCION

América Latina tropical tiene la posibilidad de extender su frontera agrícola en las vastas regiones interiores de 850 millones de hectáreas en sabanas tropicales y bosques húmedos. Muchas de estas áreas están siendo colonizadas rápidamente, pero la baja fertilidad de los principales suelos, clasificados como Oxisoles o Ultisoles, y la infraestructura deficiente, limitan su progreso. En estas condiciones, la producción de carne bovina es usualmente la actividad inicial más efectiva, pero se ve obstaculizada en alto grado por la poca disponibilidad de forraje durante parte o todo el año.

Por resultar anti-económica la corrección de la baja fertilidad natural de dichos suelos, es necesario desarrollar tecnología de producción de pasturas de bajos costos e insumos, aprovechando ciertos microorganismos (**Rhizobium** y Micorriza Vesículo-Arbuscular, MVA) capaces de formar asociación simbiótica mutualista con las plantas y de intervenir en los ciclos de algunos elementos esenciales para los vegetales. Buscando, en lo posible, obtener tasas económicas de fertilización que mantengan o incrementen los rendimientos de las pasturas.

La fijación por la asociación **Rhizobium**-leguminosa es el sistema de mayor importancia de todos los implicados en el aporte de nitrógeno al suelo (Munevar, 12) y depende de la presencia de una capa efectiva de **Rhizobium** que infecte la raíz de la leguminosa (Bradley, 2). Como la asociación tiene alto requerimiento de P, las raíces y los nódulos compiten por los fosfatos del suelo (Mosse y Hayman, 10), llegando los nódulos a contener de dos a tres veces más P por unidad de materia seca que las raíces en las cuales se desarrollan (Dommergues y Diem, 5).

Las MVA tienen efectos importantes en la disponibilidad de P y la mayoría de las leguminosas, por tener un sistema radical relativamente restringido, responden favorablemente a la infección por el hongo (Mosse, 8; Mosse, 11; Saif, 14).

Los hongos productores de MVA son miembros de la familia Endogonaceae, a la cual pertenecen diferentes géneros: **Endogone**, **Acaulospora**, **Entrophospora**, **Gigaspora**, **Glaziella**, **Glomus** y **Sclerocystis** (Gerdeman y Trappe, 6); de estos solo el primero no forma MVA.

El hongo del tipo MVA se caracteriza porque sus hifas penetran en la raíz de forma inter e intracelularmente (Frank citado por Trappe y Schenck, 18), siendo ésta la fase de contacto más íntima entre el hongo y su hospedero (Mosse, 11). El micelio del endófito fuera de la raíz constituye una superficie absorbente adicional, que le permite a las raíces de las plantas,

extenderse más allá de la zona de agotamiento de P (Mosse, 9 y 11).

La coexistencia de los dos microorganismos (bacteria-hongo) en las raíces de las leguminosas, establece una asociación simbiótica tripartita de gran importancia desde el punto de vista agrícola y ecológico. Su efecto benéfico es particularmente promisorio en regiones tales como los Llanos Orientales de Colombia, con suelos deficientes en N y P. En síntesis, considerando que gran extensión de suelos potencialmente explotables en América Latina tropical presentan severas deficiencias en nutrientes esenciales para los vegetales, y siendo las leguminosas forrajeras una rica fuente de proteína para consumo animal, las investigaciones sobre cómo utilizar mejor y más ampliamente la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa-MVA en las pasturas, es una prioridad apremiante para encontrar alternativas al uso de los fertilizantes.

## 2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

En el invernadero del Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT, (humedad relativa 60 a 70 o/o, temperatura media 27°C, máxima 33 y mínima 23°C) se diseñaron tres trabajos experimentales distribuyendo completamente al azar las unidades experimentales (potes o materas), con arreglo factorial de los tratamientos y cuatro repeticiones.

En los dos primeros ensayos (Ia y Ib), se midió en términos de materia seca (en Ib solo se evaluó esta variable), absorción de N y de P, peso seco nódulos e infección por micorriza en *Centrosema macrocarpum* CIAT 5065, el efecto de la interacción de cepas seleccionadas de *Rhizobium* y especies de micorriza vesículo-arbuscular.

En el primer experimento (Ia) se utilizó inicialmente la roca fosfórica de Huila y dos meses después de la siembra el fosfato monocálcico (20 kg P ha<sup>-1</sup>). En el segundo (Ib) sólo se utilizaron 40 kg P ha<sup>-1</sup> y como fuente el fosfato monocálcico. En los dos trabajos se realizó similar fertilización básica (K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, B, Mo).

Con las cepas seleccionadas de *Rhizobium* (CIAT R<sub>1</sub> = 1780, R<sub>2</sub> = 1670, R<sub>3</sub> = 3334, R\* = mezcla de las tres, R<sup>-</sup> = testigo sin *Rhizobium* y el control con N<sup>+</sup>) apropiadas para *Centrosema* y las especies de MVA (M<sub>1</sub> = *Entrophospora colombiana*, M<sub>2</sub> = *Acaulospora longula*, M<sub>3</sub> = *Glomus manihottis*, M\* = la mezcla de las tres y M<sup>-</sup> = el testigo), se realizaron las combinaciones que originaron 30 tratamientos. Aproximadamente 10<sup>9</sup> bacilos (1 ml de extracto líquido de levadura-manitol) de *Rhizobium* (Bradley, 3) y 100 esporas de MVA se aplicaron por pote (Sieverding, 17).

En la tercera investigación (Experimento II), se evaluó en la planta de **Centrosema**, la interacción MVA, **Rhizobium** o N-químico y dosis de P. Los tratamientos conformaron un factorial  $6 \times 4 \times 2$ , en el cual seis son los niveles de N (0, 30, 55, 105, 0 + R, 30 + R  $\text{kg ha}^{-1}$ ), cuatro las dosis de P (0, 20, 40, 80  $\text{kg ha}^{-1}$ ) y dos la inoculación con y sin MVA. El Oxisol también se sometió a una fertilización básica.

El inoculante de MVA (1.0 g/pote) consistió de una mezcla de raíces de **Braquiaria decumbens** infectadas con especies puras. Como inoculante de **Rhizobium** ( $10^9$  bacilos/pote) se utilizó la cepa CIAT 3334 apropiada para **Centrosema**. Como fuente de N y de P se usaron la úrea 46 o/o, el nitrato cálcico (5  $\text{kg N ha}^{-1}$ ) y el fosfato monocálcico.

En la planta indicadora los tratamientos se evaluaron por: peso seco de la parte aérea y de las raíces, absorción total de N, P, K, Ca y Mg, número y peso seco de los nódulos y o/o de infección por MVA en la raíz.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSION

#### 3.1. Combinación de cepas seleccionadas de **Rhizobium** y especies de MVA.

En general, en los tratamientos con **Rhizobium** pero sin MVA (Fig. 1a) se observaron diferencias entre las cepas evaluadas, siendo sus valores inferiores a los del testigo ( $R^- M^-$ ) o al del control  $N^+$ . Dicha inferioridad puede atribuirse a la extracción de carbohidratos de la planta huésped por la bacteria o a la competencia entre las raíces y los nódulos por los nutrientes del suelo, especialmente por fosfatos (Mosse y Hayman, 10).

Cuando a las plantas de **Centrosema** además de **Rhizobium** se las inoculó con MVA (Figura 1b, c, d, e, f, g), los rendimientos de materia seca y absorción de N y P, se incrementaron en proporciones considerables. Este comportamiento se atribuye a que la MVA le permitió a **Rhizobium** o a **Centrosema**, aprovechar más eficazmente el fosfato presente en el suelo (Crush, 4; López et al, 7; Mosse, 9; Munns y Mosse, 13; Saif, 14).

No se presentaron diferencias significativas entre las cepas de **Rhizobium** evaluadas, lo cual si ocurrió entre las especies de MVA. La tendencia de la producción en **Centrosema** debido a la micorriza decreció en el siguiente orden:  $M_3 \geq M_* \geq M_1 \geq M_2 \geq M^-$ .

**Glomus manihotis** ( $M_3$ ) tuvo mayor capacidad de infección de las raíces y desarrolló más hifas externas, la cual favoreció la captación y absorción de algunos nutrientes esenciales para los vegetales, incrementó el crecimiento de **Centrosema** y la actividad del **Rhizobium**.

Los valores obtenidos de los tratamientos con  $N^+$  (Fig. 1g) indican que las plantas de *Centrosema* infectadas con el hongo, se ven favorecidas por la aplicación de N al suelo. Este hecho crea la inquietud de que posiblemente el hongo tenga que ver con el transporte de N a la planta (Ames et al, 1).

### 3.2. Experimento Ib.

Los promedios de peso seco de la parte aérea correlacionaron significativamente,  $r = 0.83$ , con los obtenidos de la raíz (Fig. 2).

Las plantas inoculadas con cepas de *Rhizobium* y sin MVA (Fig. 2a) superaron al testigo ( $R^-$ ); posiblemente por la mayor disponibilidad (solo se usó la fuente soluble) de fósforo en el suelo.

La producción de materia seca en *Centrosema* se incrementó más cuando se inoculó la MVA (Fig. 2b, c, d, e, g); sin presentar diferencias significativas entre las cepas de *Rhizobium*, pero si entre las especies de MVA que se ordenaron de la siguiente forma:  $M_2 > M_* \geq M_3 \geq M_1 \geq M^-$ .

Por la fuente de P utilizada, *Acaulospora longula* ( $M_2$ ) tuvo más habilidad para responder y aprovechar rápidamente el fosfato soluble aplicado al suelo y proporcionarle a la planta de *Centrosema* superiores beneficios.

Lo descrito anteriormente sugiere que es difícil generalizar sobre la interacción *Rhizobium*-MVA y con mayor razón, cuando apenas se empiezan a estudiar los mecanismos responsables del aumento o disminución de la susceptibilidad de las plantas micorrízicas al hongo.

En los tratamientos sin *Rhizobium* (Fig. 2f) el rendimiento de la parte aérea de *Centrosema* fue inferior al de las plantas que crecieron sólo con cepas de *Rhizobium* o  $N^+$  (Fig. 2a). Al comparar los promedios generales para tratamientos sin  $M^-$  ( $\bar{X} = 1.57$ ) y sin  $R^-$  ( $\bar{X} = 1.17$ ), podría afirmarse que la leguminosa se vió favorecida más por el aporte del *Rhizobium* que por los de la MVA.

La actividad y eficiencia de las especies de micorrizas sin presencia de *Rhizobium* puede ser limitada por diversos factores (Dommergues y Diem, 5), pero en ésta investigación se atribuye a la cantidad de fosfato (Mosse, 8; Sanders y Tinker, 15; Sanders, 16) o al relativamente poco N disponible en el suelo, necesario para el crecimiento de la planta o posiblemente también para la actividad del hongo (Ames et al, 1).

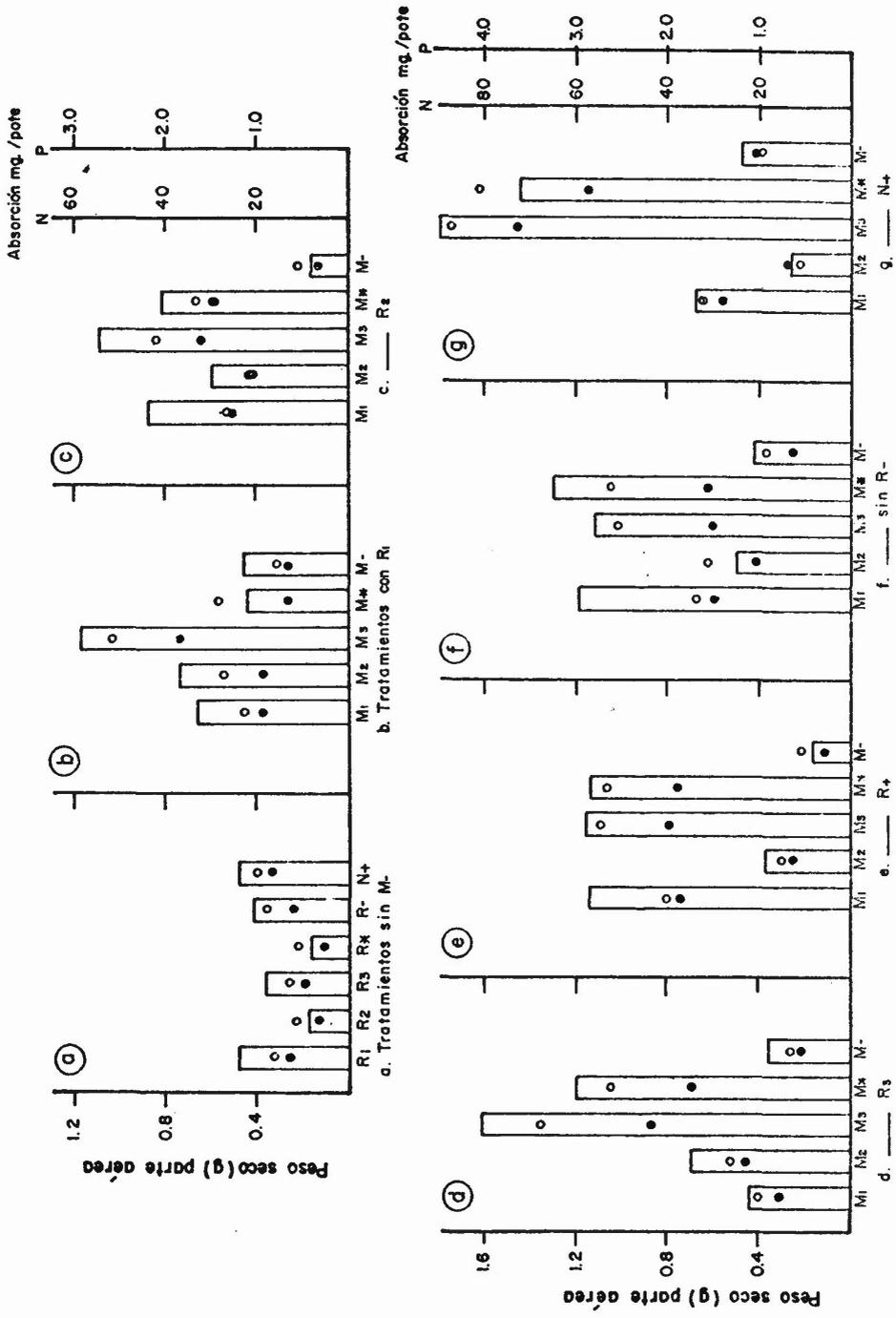


Fig. 1 Comparación de valores promedios de tratamientos. Variables peso seco parte aérea (barras) y absorción total de N(●) y P(o). Experimento Ia.

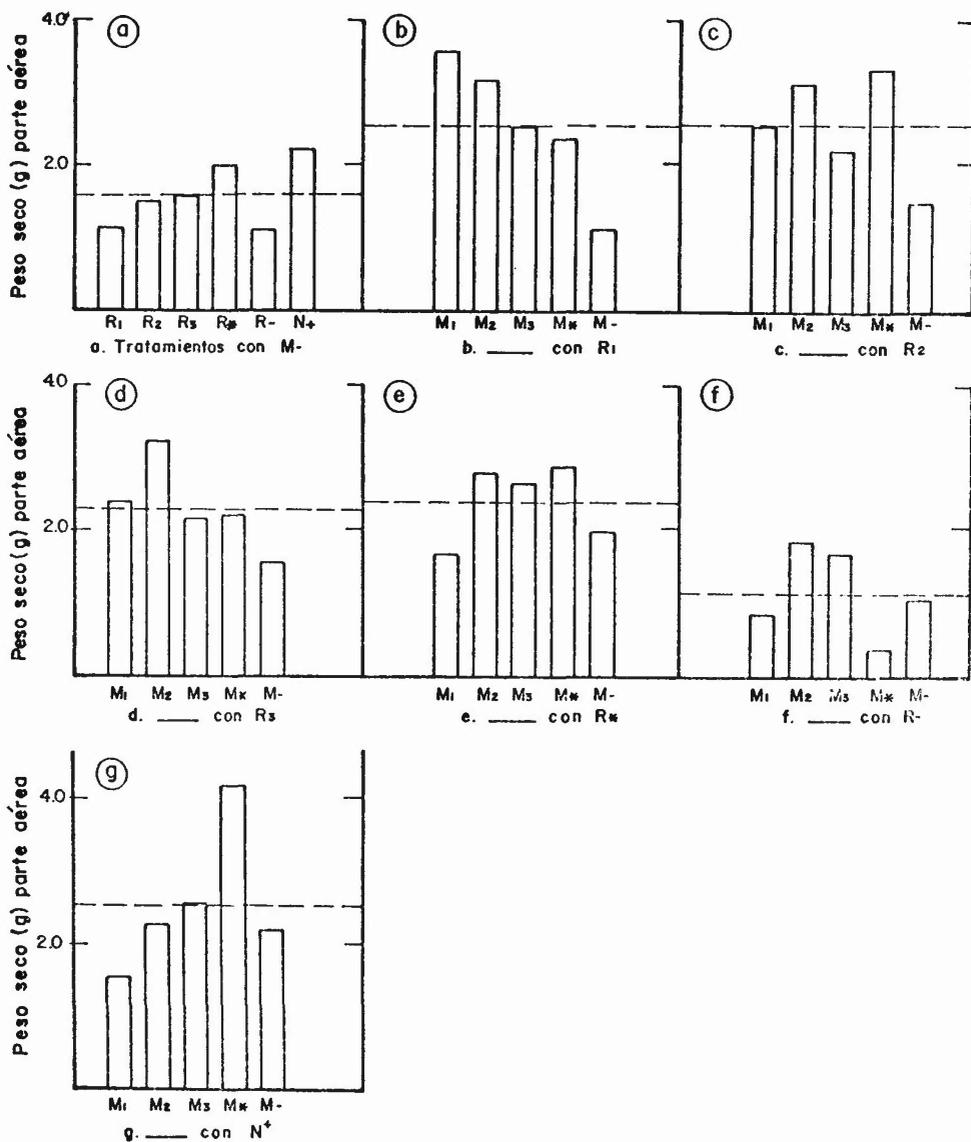


Fig. 2 Comparación de valores promedios tratamientos. Peso seco parte aérea. Experimento Ib.

Opinión que se sustenta al comparar los pesos seco de la parte aérea de plantas con  $R^- M_*$  ( $\bar{X} = 0.36$ ),  $R_2 M_*$  ( $\bar{X} = 3.34$ ),  $N^+ M_*$  ( $\bar{X} = 4.17$ ), lo cual indicaría que algunas especies de MVA requerirían (además de P) cierto suministro de N para su mejor actividad, dicho elemento puede ser aportado por el suelo, los fertilizantes o el **Rhizobium**.

### 3.3. Interacción MVA, Rhizobium o N-químico y dosis de P en el suelo.

En general, los promedios de peso seco de la parte aérea y de las raíces de **Centrosema** fueron mayores en los tratamientos (Fig. 3 ó 4, e y f) donde se inoculó **Rhizobium**; destacándose aún más los tratamientos con 30 kg N ha<sup>-1</sup> + **Rhizobium**.

Teniendo como base este resultado, se puede aconsejar que al momento de la siembra de **Centrosema** se incluya una pequeña cantidad de N; con el fin de reducir la competencia de la bacteria por nutrientes y carbohidratos, de asegurar y promover en la leguminosa el crecimiento de tejido inicial, al menos hasta que el **Rhizobium** pueda establecerse en sus raíces y empiece a fijar N<sub>2</sub> atmosférico. Aplicaciones mayores o continuadas de N posiblemente reducen la actividad del **Rhizobium** (Bradley, 3) y generalmente son antieconómicas.

La producción de materia seca en plantas de **Centrosema** que crecieron sin inóculo de MVA, tuvo un incremento positivo y proporcional a la dosis de P. Este resultado confirma la importancia del fósforo en la nutrición de las plantas, especialmente en aquellas leguminosas forrajeras seleccionadas y destinadas a crecer en regiones marginales, como los Llanos Orientales de Colombia, con suelos pobres y fijadores de P.

Cuando además de la fertilización fosforada se inoculó MVA, los rendimientos en términos de peso de la parte aérea y de las raíces aumentaron en proporciones muy considerables, destacándose en los tratamientos con N-químico, las plantas que crecieron en la dosis 40 kg P ha<sup>-1</sup>. Niveles mayores de P (80 kg ha<sup>-1</sup>) tendieron a ser perjudiciales para las plantas micorrizadas.

Este resultado indica que con la apropiada inoculación al suelo de MVA es posible incrementar significativamente la producción de forraje y reducir las tasas de aplicación de P hasta o en más de un 50 o/o; además reafirma que la aplicación al suelo de dosis altas de P generalmente reducen la actividad de la MVA (Mosse, 8; Sanders y Tinker, 15; Sanders, 16).

Caso contrario manifestaron las plantas de **Centrosema** inoculadas con **Rhizobium** y MVA, que crecieron en el suelo tratado con dosis altas de P.

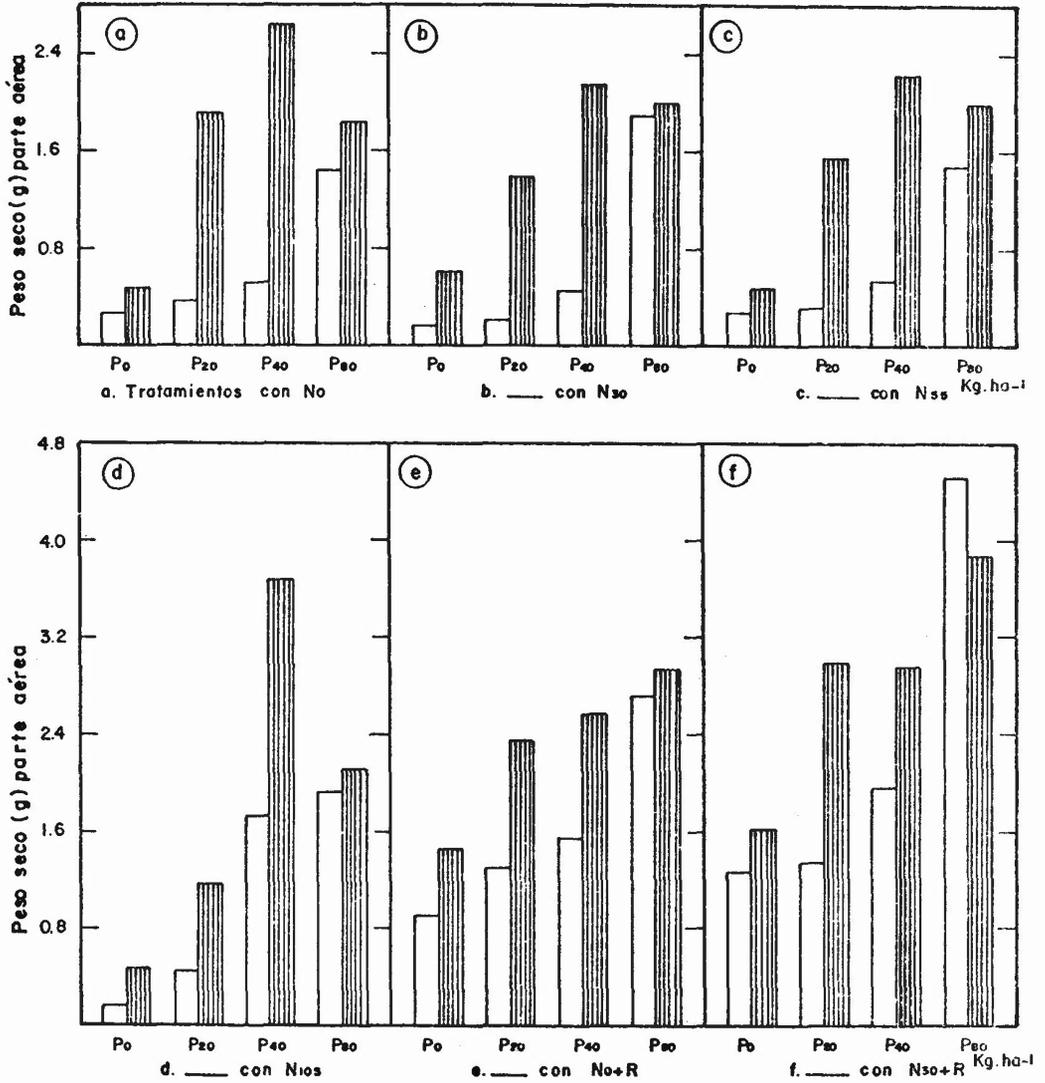


Fig. 3 Comparación de valores promedios. Peso seco parte aérea con  y sin  inóculo MVA. Experimento II.

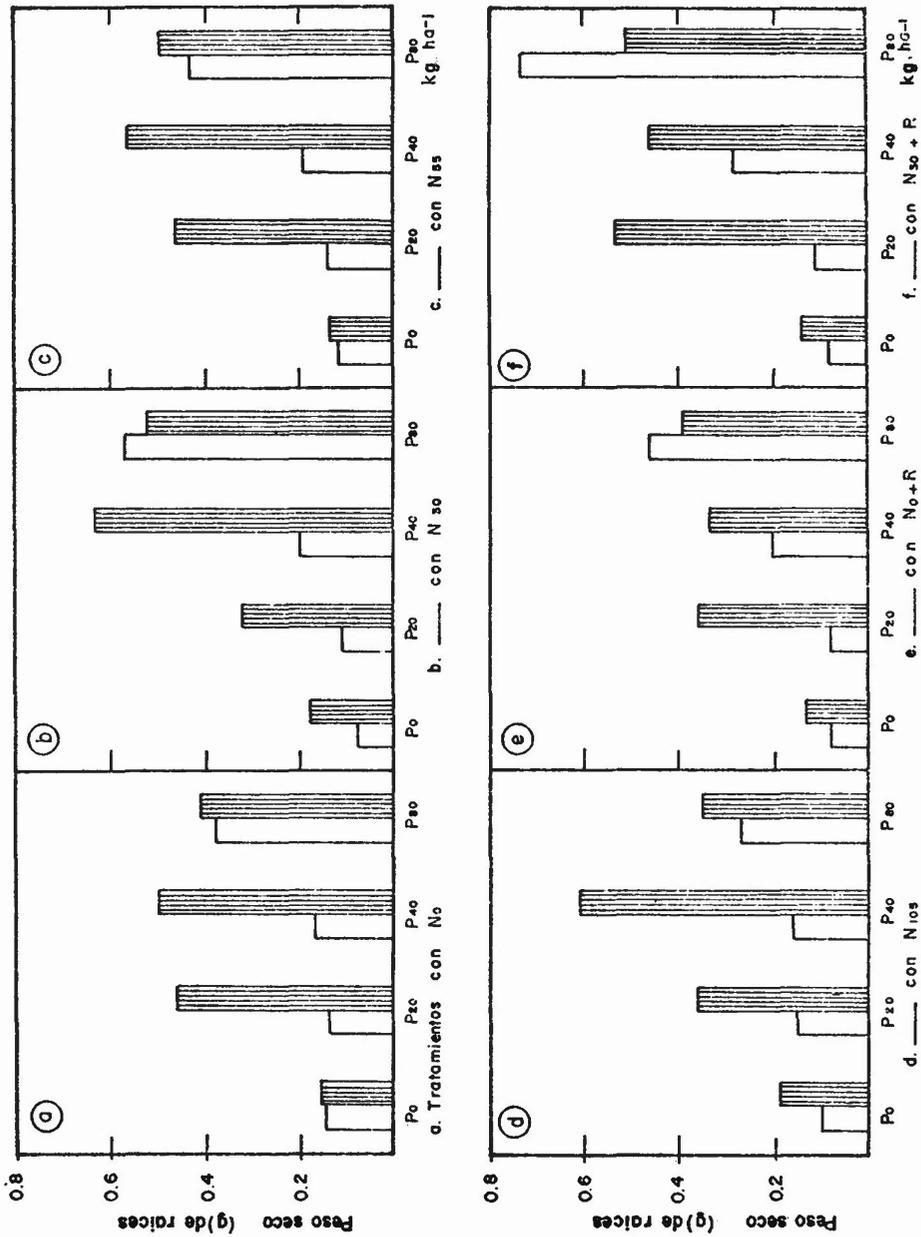


Fig. 4 Comparación de valores promedio. Peso seco de las raíces con y sin inóculo de MVA Experimento II.

En dichos tratamientos no se presentaron tendencias decrecientes en la producción de materia seca; debido seguramente a los altos requerimientos de P que tiene la fijación simbiótica de nitrógeno por **Rhizobium**-leguminosa. Gran parte de este elemento pudo ser suplido por la infección de MVA pues cuando se inoculó el hongo la nodulación se presentó a partir de  $20 \text{ kg P ha}^{-1}$ , siendo los nódulos más grandes y pesados en la dosis de  $80 \text{ kg P ha}^{-1}$ . En plantas no micorrizadas solo se presentó nodulación en el nivel más alto de P.

Las plantas de **Centrosema** se desarrollaron mejor en los tratamientos  $N_{30} + R$  y  $P_{80}$ , con ( $M^+$ ) y sin ( $M^-$ ) micorriza. Este último tratamiento, con relación al testigo ( $N_0$ ,  $P_0$  y  $M^-$ ) absoluto, fue mayor en peso seco de la parte aérea y de las raíces quince y siete veces, respectivamente.

En plantas inoculadas con MVA que crecieron en dosis de P inferiores a  $40 \text{ kg ha}^{-1}$ , ocurrió una interacción benéfica para la absorción total de algunos minerales esenciales. Dosis superiores de fósforo en general son supra-óptimas para la captación de N, (Fig. 5), P (Fig. 6), K, Ca y Mg. Estos resultados pueden interpretarse sobre la base de que los tejidos vegetales de las plantas con MVA tratadas con diferentes niveles de N, obtuvieron su respectiva "concentración crítica" de P (Mosse, 8), cuando se aplicó al suelo la dosis de  $40 \text{ kg P ha}^{-1}$ .

Los valores promedio de absorción correspondientes a la dosis cero P fueron mayores en los tratamientos ( $N_0 + R$  y  $N_{30} + R$ ) con **Rhizobium**; destacándose aún más las plantas tratadas con MVA. De ello se deduce el apreciable "grado de dependencia" que tiene la leguminosa forrajera **Centrosema macrocarpum** del **Rhizobium** y la MVA, para alcanzar en las condiciones experimentales óptimo desarrollo y mejor absorción de nutrientes; circunstancia que no se logra con el exclusivo aporte de fertilizantes químicos.

#### 4. CONCLUSIONES

- 4.1. Las combinaciones de **Rhizobium**-MVA que, en general sobresalieron por su mayor producción en términos de materia seca, absorción total de minerales, nodulación e infección por MVA, correspondieron a las que tenían **Rhizobium** (cualesquiera de las cepas evaluadas) con **Glosum manihotis** (Experimento Ia) o **Acaulospora longula** (Experimento Ib).
- 4.2. Es aconsejable al momento de la siembra de **Centrosema** aplicar dosis pequeñas de N que aseguren y promuevan el crecimiento de la leguminosa, al menos hasta que **Rhizobium** pueda establecerse en sus raíces y empiece a fijar  $N_2$  atmosférico.

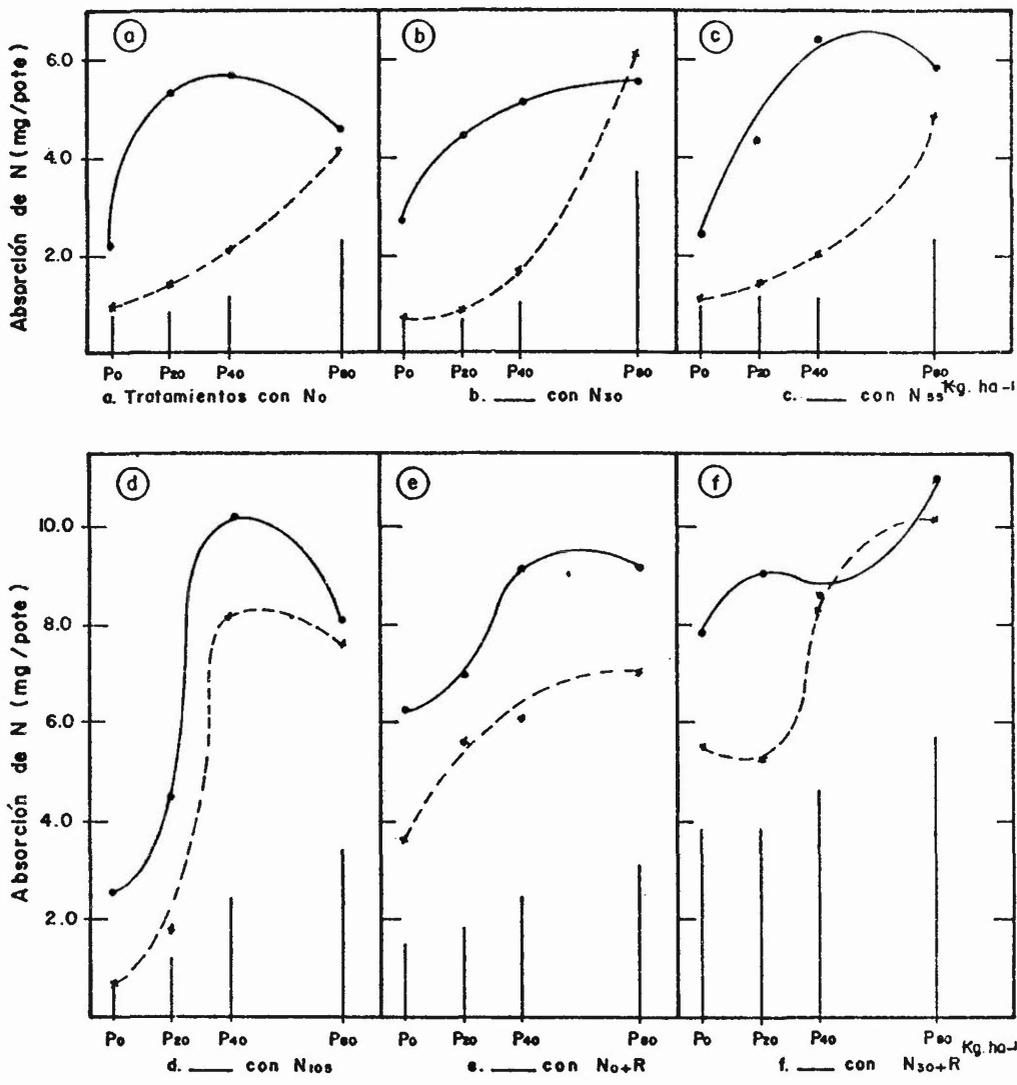


Fig. 5 Comparación de promedios de tratamientos para la variable absorción de N(mg/pote) Interacción N x P x M ( — con y - - - sin inóculo micorriza). Experimento II.

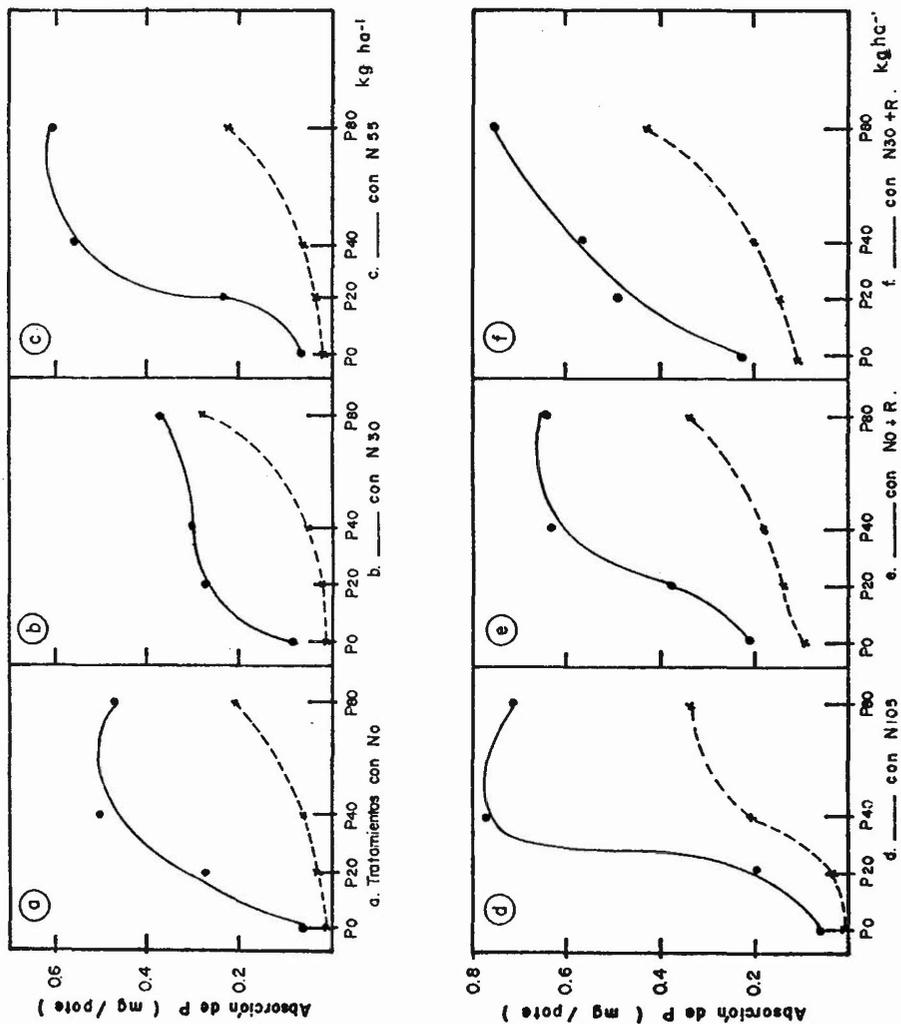


Fig. 6 Comparación de promedios de tratamientos para la variable absorción de P (mg/pote) Interacción N x P x M (— con y --- sin inóculo micorriza). Experimento II.

- 4.3. Dosis de P equivalentes a  $40 \text{ kg ha}^{-1}$ , en las condiciones estudiadas, cooperaron sinérgicamente con la MVA en la estimulación del crecimiento, nodulación y nutrición de la leguminosa forrajera. Dosis superiores de P tienden a afectar negativamente la productividad de las plantas micorrizadas, pero no la nodulación de las mismas.
- 4.4. Con la inoculación al suelo de especies apropiadas de MVA, es posible aumentar la producción de materia seca de *Centrosema*, absorción de ciertos nutrientes y el peso seco de nódulos, como también reducir en más de un 50 o/o la tasa de fertilización fosfórica.

## 5. BIBLIOGRAFIA

1. AMES, R. N.; REID, C. P. P.; PORTER, L. K.; CAMBARDELLA, C. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two  $^{15}\text{N}$ -labelled sources by *Glomus mosseae* a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytol.* (Inglaterra) v. 95, p. 381-396. 1983.
2. BRADLEY, R. S. Fijación biológica de nitrógeno por leguminosas: aspectos agronómicos relacionados con su inoculación con *Rhizobium*. *Suelos Ecuatoriales*. (Colombia) v. 13, n. 2, p. 28-35. 1983.
3. ————. Métodos usados en CIAT para estudiar la Rhizobiología de leguminosas forrajeras tropicales. Cali, 1984. (sin publicar).
4. CRUSH, J. R. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza VII. Growth and nodulation of some herbage legumes. *New Phytol.* (Inglaterra) v. 73, p. 743-749. 1974.
5. DOMMERGUES, Y. R.; DIEM, H. G. (eds.) *Microbiology of Tropical Soils and Plant Productivity*. Boston, Hague, 1982.
6. GERDEMANN, J. W.; TRAPPE, J. M. The Endogonaceae of the Pacific Northwest. *Mycol. Mem.* (EE.UU.) v. 5. 77 p. 1974.
7. LOPEZ, S. E.; OLIVEIRA, E. DE; NEPTUNE, A. M. L. Efecto de especies de micorrizas vesicular-arbusculares en siratro (*Macroptilium atropurpureum*). *Bragantia* (Brasil). v. 39, n. 241-245. 1980.
8. MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. In soil given additional phosphate. (Inglaterra) v. 72, p. 127-136. 1973.
9. ————. The role of mycorrhiza in legume nutrition on marginal soil. *En*: VICENT, J. M.; WHINEY, A. S.; BOSE, J. (eds). *Exploiting the legume-Rhizobium symbiosis in tropical agriculture*. Univ. of Hawaii, 1977. p. 275-292. 1977. (Misc. Publ. 145).
10. ————; HAYMAN, D. S. Mycorrhiza in agricultural plants. *En*: MIKOLA, D. (ed). *Tropical mycorrhiza research*. Clarendon Press Oxford, 1980. p. 213-230.

11. **MOSSE, B.** Vesicular-arbuscular mycorrhizae research for tropical agriculture. University of Hawaii. Res. Bull. 194. August 1981.
12. **MUNEVAR M. F.** Principales procesos microbiológicos en el suelo y su función en la productividad agropecuaria. Suelos Ecuatorianos. (Colombia) v. 13, n. 2, p. 7-17. 1983.
13. **MUNNS, D. N.; MOSSE, B.** Mineral nutrition of legume crops. En: SUMMERFIELD, R. I.; BUNTING, A. H. (eds). Advances in legume science. Internat. Legume Conf., Kew, 1978. Proc. p. 115-128.
14. **SAIF, S. R.** Respuesta de plantas forrajeras tropicales a las aplicaciones de roca fosfórica y micorriza en un oxisol no esterilizado. En: RICALDI, V; ESCALERA, S. (eds). La roca fosfórica. Cochabamba, 1984. p. 309-327.
15. **SANDERS, F. E.; TINKER, P. B.** Phosphate flow into mycorrhizal roots. Pestic Sci. (Inglaterra) v. 4, p. 385-395. 1973.
16. \_\_\_\_\_ . The effect of foliar - applied phosphate on the micorrhizal infections of onion roots. En: SANDERS, F. E.; MOSSE, B.; TINKER, P. B. (eds) Endomycorrhiza London, Academic Press, 1975. p. 261-276.
17. **SIEVERDING, E.** Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesiculo-arbuscular en el laboratorio. Proyecto Micorriza. Cali, CIAT, 1983 (no publicado).
18. **TRAPPE, J. M.; SCHENCK, N. C.** Taxonomy of the fungi forming endomycorrhizae. A vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (Endogonales). En: SCHENCK, N. C. (ed). Method and principles of mycorrhizal research. Am. Phytopathol. Soc., 1982. p. 1-9.