

Tecnológico Nacional de México Instituto Tecnológico de la Zona Maya

CARACTERIZACIÓN DE HONGOS LOS
MICORRIZICOS ARBUSCULARES DE
GUÁCIMO (*Guazuma ulmifolia* Lam.) UNA
ESPECIE CON POTENCIAL FORRAJERO

Informe Técnico De Residencia Profesional

Que presenta el C.

TANIA ELIZABETH ZAMUDIO CAMPOS

N° de Control 11870083

Ingeniería en Agronomía

Asesor Interno:

Dr. Iván Oros Ortega

Juan Sarabia, Quintana Roo

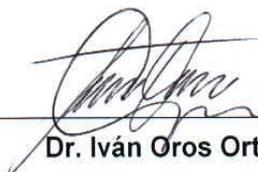
Diciembre 2015

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE LA ZONA MAYA

El Comité de revisión para Residencia Profesional de la estudiante de la carrera de **INGENIERÍA EN AGRONOMÍA, TANIA ELIZABETH ZAMUDIO CAMPOS**; aprobado por la Academia del Instituto Tecnológico de la Zona Maya integrado por; el asesor interno **DR. IVÁN OROS ORTEGA**, el asesor externo el **DR. FERNANDO CASANOVA LUGO**, habiéndose reunido a fin de evaluar el trabajo titulado **CARACTERIZACIÓN DE LOS HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES DE GUÁCIMO (*Guazuma ulmifolia*) UNA ESPECIE CON POTENCIAL FORRAJERO**, que presenta como requisito parcial para acreditar la asignatura de Residencia Profesional de acuerdo al Lineamiento vigente para este plan de estudios, dan fé de la acreditación satisfactoria del mismo y firman de conformidad.

ATENTAMENTE

Asesor Interno



Dr. Iván Oros Ortega

Asesor Externo



Dr. Fernando Casanova Lugo

Juan Sarabia, Quintana Roo, Diciembre, 2015.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
II. JUSTIFICACION	2
III. DESCRIPCIÓN DEL LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL PROYECTO	4
IV. OBJETIVOS	5
4.1. General.....	5
4.2. Específicos	5
V. MATERIALES Y METODOS	6
5.1. Descripción del área de estudio	6
5.2. Diseño experimental	7
5.3 Preparación de cultivos trampa.....	7
5.4 Colonización micorrízica	8
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
VII. PROBLEMAS RESUELTOS Y LIMITANTES	17
VIII. COMPETENCIAS APLICADAS O DESARROLLADAS	18
IX. CONCLUSIONES.....	19
X. RECOMENDACIONES.....	20
XI. REFERENCIAS BILIOGRÁFICAS.....	21

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Lugar donde se desarrolló el proyecto.....	4
Figura 2: ubicación geográfica de la península.....	6
Figura 3: ubicaciones de los árboles analizados.....	7
Figura 4: actividades realizadas en el proyecto.....	8
Figura 5: Raíces de guácimo colocadas en frascos de vidrio.....	9
Figura 6: Proceso de la tinción de las raíces.....	10
Figura 7: Observación de las laminillas con fragmentos de raíz de guácimo.....	11
Figura 8: Raíces obtenidas de cultivo trampa usando <i>Sorghum</i> spp. A: raíz de sorgo no colonizada B y C: Raíz con presencia de hifas intraradicales D: vesícula intercelular E: F: espora extraradical Gy H: esporas intraradicales I: Hifas y esporas.....	13
Figura 9: Esporas e hifas en las células corticales de la raíz.....	14

I. INTRODUCCIÓN

La asociación de especies leñosas forrajeras para la alimentación animal es una práctica antigua. Sin embargo, recientemente ha cobrado mayor atención debido a la creciente necesidad de buscar alternativas locales, que reduzcan la dependencia de insumos externos y minimicen daños sobre los recursos naturales (Petit-Aldana *et al.*, 2009).

En zonas tropicales donde la estacionalidad del clima concentra las labores de arado y siembra en la estación lluviosa, se necesitan más animales de los que pueden mantenerse con los alimentos producidos dentro del sistema agrícola. Esto hace que el agricultor necesite forrajes fuera del sistema agrícola, en este caso los bosques y matorrales son la principal fuente suplementaria de alimentos, y es allí donde los árboles forrajeros toman un papel fundamental en la alimentación animal (Petit-Aldana *et al.*, 2009).

El bajo contenido de proteína cruda de los pastos es la limitante más común de la producción ganadera incluso se han desarrollado algunos sistemas de producción silvopastoril para complementar o mejorar la ingesta de proteína cruda de los animales que pastorean en los sistemas mencionados mediante el acceso, ya sea por temporadas o todo el año. Para ello se establecen áreas sembradas de leguminosas arbóreas tropicales que forman lo que se conoce como un banco de proteínas. (Solorio y Solorio, 2002 citado por Petit-Aldana *et al.*, 2009).

Entre las especies que se usan en los sistemas silvopastoriles son *G. ulmifolia* y *L. leucocephala*, estas especies forman interacciones con microorganismos del suelo tales como hongos micorrízicos que incrementan el éxito con su establecimiento y desarrollo. Por lo tanto el propósito del presente trabajo es aislar y determinar la riqueza y diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en *G. ulmifolia* a través de cultivos trampa, con la finalidad de tener criterios para la selección de especies que sirvan como inoculo para incrementar la productividad de las plantas en SSP.

II. JUSTIFICACION

En México, el trópico húmedo y subhúmedo ha sido un área de preferencia para la expansión ganadera, lo cual ha propiciado la acelerada deforestación de grandes extensiones de terreno cubiertos por bosques tropicales (Rzedowski, 1978; Carranza et al., 2003 citado por Villa-Herrera *et al.*, 2009). Estos cuentan con gran número de especies forrajeras nativas importantes, tales como *Guazuma ulmifolia*, *Enterolobium cyclocarpum* Jacq, *Brosimum alicastrum* Sw. Y otras del género *Leucaena* y *Acacia*, que actualmente están subutilizadas o se están perdiendo por la tala que realizan los productores para implementar actividades agrícolas. Ante esta situación, una opción para lograr un uso más sustentable del suelo en las áreas ganaderas del trópico, son los sistemas silvopastoriles, los cuales incluyen árboles forrajeros que contribuyen a la reforestación y restauración de áreas degradadas por las actividades ganaderas (Gómez *et al.*, 2006 citado por Villa-Herrera *et al.*, 2009).

Aunado a lo anterior, otro grave problema en el trópico subhúmedo es la producción irregular de forraje como consecuencia de la estacionalidad de la precipitación, que determina la escasez y baja calidad de los pastos durante la época seca y provoca bajos índices productivos y reproductivos del ganado en este período. El uso de especies arbóreas nativas en la alimentación animal es también una opción para superar esta problemática, ya que el forraje que aportan es de buena calidad nutricional y a diferencia de los pastos, siguen produciendo en la época seca (González et al., 1997 citado por Villa-Herrera *et al.*, 2009). Así, los árboles y arbustos son fuente importante de alimento para la ganadería, ya que el valor forrajero de sus hojas y frutos es muchas veces superior al de las plantas herbáceas (Baumer, 1992; Palma y Flores, 1997 citado por Villa-Herrera *et al.*, 2009).

La explotación intensa de agrosistemas naturales y agropecuarios en los trópicos es la responsable de la degradación de los ecosistemas estables (Flores *et al.*,

2008). Entre los cambios bióticos se incluye una disminución en la densidad de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), aspecto que no debe ser pasado por alto, debido al efecto de los HMA en el establecimiento y crecimiento de plántulas, lo que se ha demostrado a través de los resultados positivos obtenidos con plantas inoculadas con HMA al ser trasplantadas (Michelsen y Rosendahl, 1990 citado por Flores *et al.*, 2008).

Tomando en cuenta la importancia que el guácimo tiene como planta forrajera y su transformación a proteína animal para consumo humano (Suárez, 1994 citado por Flores *et al.*, 2008), la hace un modelo de estudio importante para continuar el estudio de su relación con los HMA (Morton y Benny, 1990 citado por Flores *et al.*, 2008), además de que el uso de estos microorganismos permite lograr una agricultura sostenible que resulta práctica y económica, y también favorece el reciclaje de nutrientes para mejorar la fertilidad del suelo, por lo tanto, se convierte en una alternativa para contribuir al establecimiento de sistemas de producción sostenibles, competitivos y rentables (Molina *et al.*, 2005 citado por Flores *et al.*, 2008).

III. DESCRIPCIÓN DEL LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL PROYECTO



Figura 1. Lugar donde se desarrolló el proyecto

El estudio se realizó en el laboratorio de control biológico en el área de organismos simbióticos del Instituto Tecnológico de la Zona Maya, ubicado en el kilómetro 21.5 de la carretera Chetumal Escárcega en el Ejido Juan Sarabia, muy próximo al río Hondo que es el límite con Belice. Su ubicación es estratégica por estar en la zona cañera del estado muy cercano al ingenio Álvaro Obregón, el cual procesa toda la producción de las 25,000 hectáreas sembradas en la región. Actualmente cuenta con una matrícula de 700 estudiantes inscritos en nuestros Programa Académicos.

El Instituto al vincularse con los sectores públicos, social y privado para garantizar la pertinencia de los servicios con las necesidades de desarrollo regional y nacional; busca en forma constante la concentración de acciones que permitan mejorar la formación de los educandos, además de atender las necesidades del entorno en materia de desarrollo tecnológico y vinculación; para lograrlo desde su creación, se ha caracterizado por ser una Institución de Educación Superior con un gran potencial de desarrollo, a lo que contribuye su excelente ubicación estratégica, en el Caribe mexicano, a 30 minutos de Chetumal, la capital del Estado y a cuatro horas de la ciudad de Cancún, uno de los puntos turísticos más importantes de México y del mundo.

IV. OBJETIVOS

4.1. General

Aislar y determinar la diversidad de estructuras de hongos micorrízicos arbúsculares en guácimo (*Guazuma ulmifolia* Lam.) a través de establecimiento de cultivos trampa.

4.2. Específicos

- Establecer cultivos trampa de árboles jóvenes y adultos de Guácimo.
- Determinar la colonización micorrízica en las raíces en cultivos trampa a partir de suelo colectado en árboles jóvenes y adultos de Guácimo.

V. MATERIALES Y METODOS

5.1. Descripción del área de estudio

El trabajo se realizó en el ejido Juan Sarabia, estado de Quintana Roo el cual cuenta con una superficie de 50, 853 km². Equivalente a 5, 084,000 Ha, pues ocupa el lugar 19 de extensión en el territorio nacional, y se ubica al sureste de la península de Yucatán colinda con los estados de Yucatán al norte, Campeche al oeste y con los países de Guatemala y Belice al sur (García, 2001).

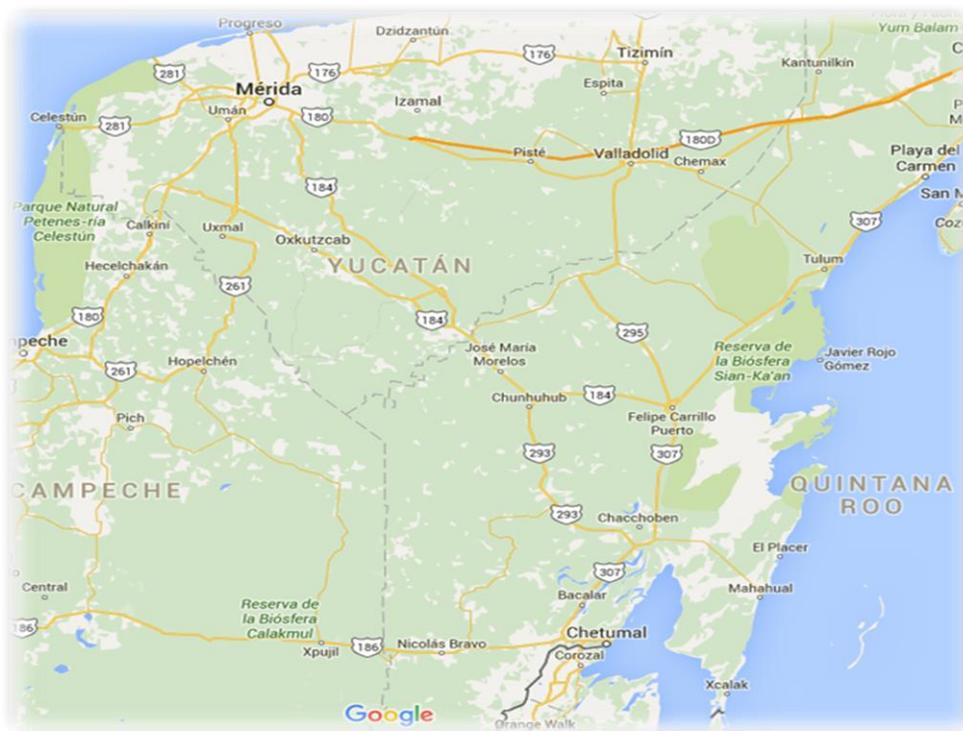


Figura 2. ubicación geográfica de la península

La región es considerada con un clima cálido subhúmedo (Aw_1), con lluvias en verano y parte en el invierno, la temperatura varía de 26°C a 28°C (García, 1973). Su topografía es plana con un promedio de suelos Gleisoles aplícicos (Ak'al che gris por su nombre en maya) de acuerdo con la clasificación de la FAO, predominan los vientos alisios que soplan todo el año, pero principalmente en verano (SAGARPA, 2000).

5.2. Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue dirigido, el factor de estudio fue la edad, se seleccionaron arboles adultos y jóvenes de acuerdo al grosor del diámetro, se consideraron tres replicas para cada edad. Los árboles fueron seleccionados según el grosor de su tallo. Los arboles seleccionados se encuentran dentro de los terrenos del ITZM (figura 4). Una vez ubicados los árboles a estudiar se colectaron núcleos de suelo en dirección de los cuatro puntos cardinales del árbol.



Figura 3. Ubicaciones de los árboles analizados

5.3 Preparación de cultivos trampa

El muestreo se realizó en agosto 2015 en el ITZM. En cada sitio de estudio se colectaron 4 muestras de suelo cada una en puntos cardinales y se integró una muestra mixta completamente homogenizada. Antes de tomar la muestra de suelo

se eliminó la materia orgánica de los 20 cm superiores del suelo. Las muestras traídas de campo se colocaron en macetas y se mezclaron en proporción 1:1 con arena esterilizada, posteriormente se sembró aproximadamente 110 gramos de semilla de sorgo (*Sorghum vulgare* L.) que fue seleccionado como una planta trampa debido a su temprana colonización micorrízica y alta supervivencia. Tres meses después de la siembra se tomaron muestras de raíz para medir la colonización micorrízica. (Guadarrama-Chávez *et al.*, 2007)



Figura 4. Actividades realizadas en el proyecto

5.4 Colonización micorrízica

Para determinar la colonización micorrízica en las raíces de las plantas de sorgo inoculadas con suelo de árboles de guácimo, se utilizó la coloración de las estructuras del hongo dentro de la raíz, se observaron y contaron en microscopio marca Leica CME. Para esta evaluación se utilizó el método Philips y Hayman (1970). Este procedimiento consistió en clarear y teñir las raíces, posteriormente montarlas en portaobjetos y observarlas al microscopio. Este método permitió evaluar el porcentaje de estructuras de la micorriza: vesículas, hifas y arbuscúlos dentro de la raíz.

Las raíces de sorgo fueron separadas del sustrato y lavadas con agua corriente, cortadas en fragmentos con el fin de tomar una muestra representativa. Cada muestra fue colocada en frascos de vidrio para tinción. El método de tinción de raíces consistió en el clareo, blanqueo, acidificación, tinción, decoloración y montaje de raíces.



Figura 5. Raíces de guácimo colocadas en frascos de vidrio

Clareo: las raíces libres de sustrato se colocaron en un frasco de vidrio y se les añadió KOH (hidróxido de potasio al 10%) de tal forma que quedaran cubiertas. Posteriormente se colocaron en la autoclave a 10 libras de presión durante 10 minutos. Posteriormente las raíces se lavaron con agua destilada para eliminar el exceso de KOH. Este proceso se repitió las veces necesarias.

Blanqueo: una vez que la solución de KOH presentó un color claro, se eliminó el exceso de esa solución y se agregó peróxido de hidrogeno (agua oxigenada) durante cinco minutos. Posteriormente, las raíces se lavaron con agua destilada para eliminar el exceso de peróxido.

Acidificación: una vez lavada las raíces se les adiciono una solución de HCl al 10% (ácido clorhídrico) por 3 minutos, con el fin de favorecer la acción del colorante.

Tinción: pasado el tiempo de contacto con el HCl, se eliminó el exceso de este sin efectuar el lavado. Los frascos que contenían las raíces se cubrieron con la solución colorante (se aplicó el colorante azul de tripano al 0.05% en lactoglicerol), colocándolas en el autoclave a 10 libras por 10 minutos.

Decoloración: el colorante se eliminó y las raíces se decoloraron con lactoglicerol limpio, para eliminar posibles residuos de azul tripano.



Figura 6. proceso de la tinción de las raíces



Figura 7. Observación de las laminillas con fragmentos de raíz de guácimo

Montaje de raíces: después de la tinción, las raíces se colocaron en cajas de Petri con suficiente lactoglicerol. Se tomaron 20 segmentos de raíces de 1 cm de longitud y se colocaron de forma paralela en el portaobjetos colocándose sobre estos una o dos gotas de lactoglicerol. Posteriormente se colocó el cubreobjetos, quedando listas las laminillas para su observación al microscopio, con el objetivo de 40 X. en total se hicieron 3 observaciones equidistantes por laminilla.

El porcentaje de infección se determinó con base a los segmentos totales colonizados por el hongo, así como su relación con los segmentos con presencia de arbusculos y vesículas según el caso el porcentaje de infección se calculó con la base de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Infección} = \frac{\text{No de segmentos colonizados}}{\text{No de segmentos observados}} \times 100$$

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis micorrízico en las muestras tomadas de los árboles de guácimo fue en promedio del 73.3% en árboles adultos y del 60% en árboles jóvenes. El porcentaje de estructuras observadas es alto probablemente debido a que los suelos del área de estudio en sequía están expuestos a un alto estrés hídrico y en tiempo de lluvias son inundables.

La presencia de hongos micorrízicos vesículo arbusculares es abundante en las raíces de las plantas de *G. ulmifolia* en el ITZM. Se podría pensar que debido a las condiciones climáticas a las que están expuesto los suelos de la Península de Yucatán la presencia de estos hongos podría ser discutible, los análisis realizados a estos hongos dio como resultado un alto porcentaje de colonización, en tales estructuras; vesículas, hifas y arbusculos (figura 5) considerando una larga historia evolutiva ya que aparecieron en nuestro planeta hace casi 460 millones de años (Ferrera-Cerrato y Alarcón 2007). Aunado al hecho de que más de 90% de las plantas terrestres (Fitobiontes) tienen uno o más de estos hongos asociados (microbiontes). Los presentes resultados, muestran la eficiente la eficiente asociación mutualista entre planta-hongo (Smith y Read, 2008).

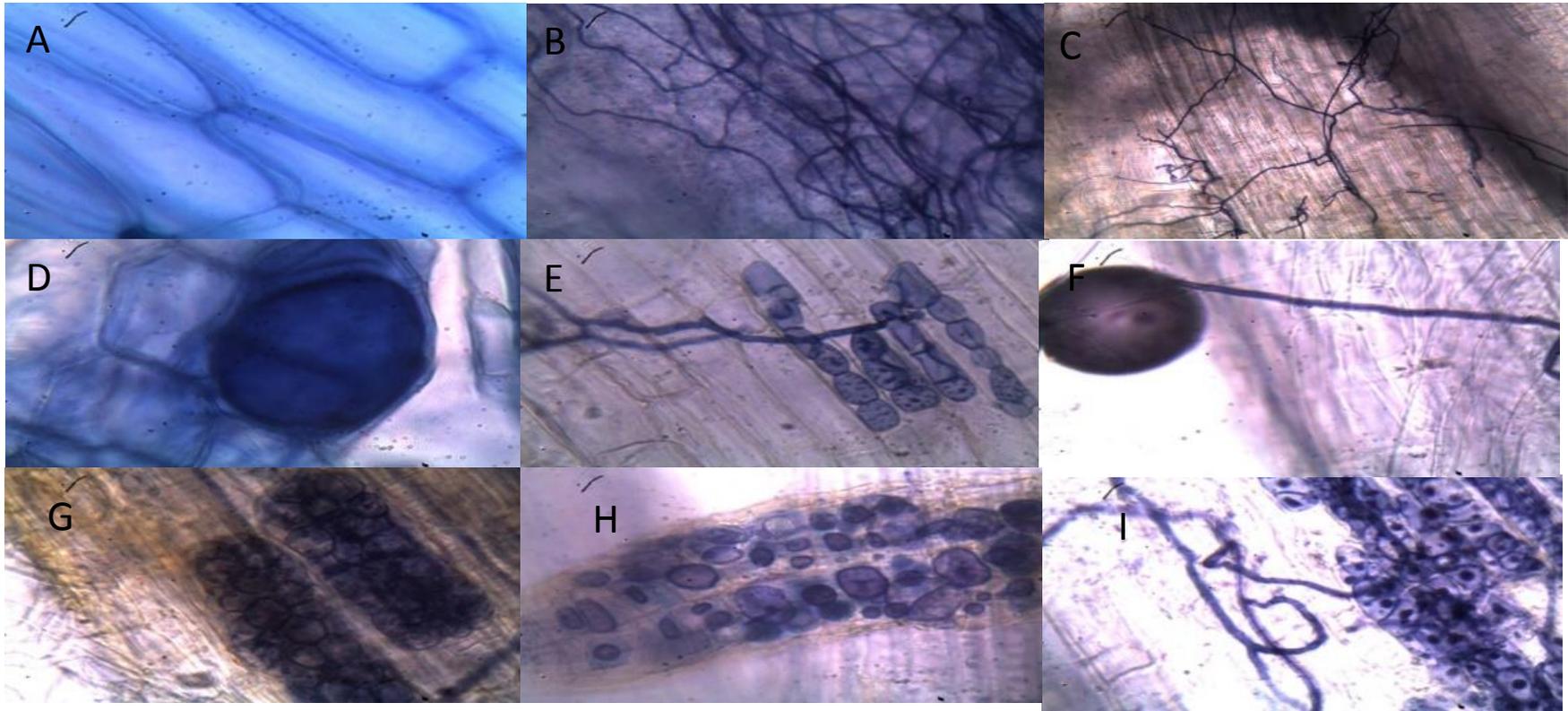


Figura 8. Raíces obtenidas de cultivo trampa usando *Sorghum* spp. A: raíz de sorgo no colonizada B y C: Raíz con presencia de hifas intraradicales D: vesícula intercelular E: vesículas e hifas ntracelulares F: espora extraradical G y H: esporas intraradicales I: Hifas y esporas

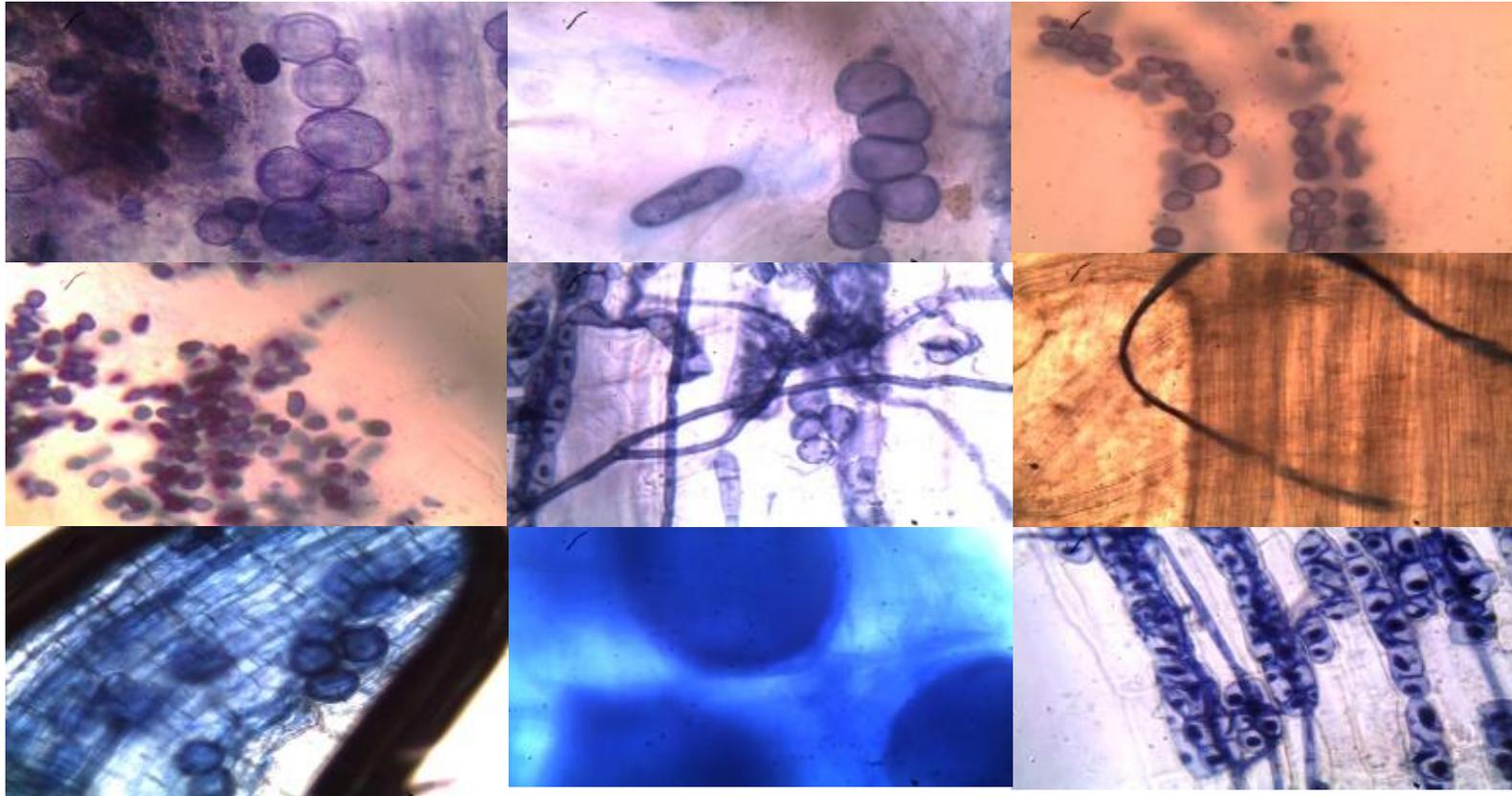


Figura 9. Esporas e hifas en las células corticales de la raíz presentes en cultivos trampa de muestras de suelo obtenidas de árboles jóvenes de guácimo.

En los ecosistemas y agroecosistemas, los HMA, son de gran importancia debido a que mediante la simbiosis las plantas pueden obtener nutrientes minerales del suelo, mejorar su tolerancia a estrés biótico y abiótico, así como reducir competencia entre plantas mediante la transferencia de carbono a través de la red de hifas extrarradical (Simard *et al.*, 1997; Simard y Durall, 2004) y modular la diversidad y productividad de plantas (Van der Heijden *et al.*, 1998). Dado que la simbiosis es un proceso recíproco planta-hongo, es importante conocer también el papel de la comunidad de plantas en la estructura y diversidad de la comunidad de HMA (Burrows y Pflieger, 2002). Los beneficios de la simbiosis en el hospedero se observan en supervivencia, productividad (cantidad y calidad) (Goverde *et al.*, 2000), morfología de planta y capacidad reproductiva (Xiaohong y Koide, 1994). Diferencias en crecimiento micelial y estrategias de toma de fósforo observadas entre especies de HMA pueden jugar un papel importante (Smith *et al.*, 2000), y podría incluso significar que una amplia diversidad de HMA, puede estar relacionada con un incremento en la eficiencia de extracción de nutrientes y por lo tanto en los beneficios al hospedero (Kernaghan, 2005) y explicaría la presencia de diversos HMA en suelos y en raíces (Lodge, 2000).

La fisiología de la planta micorrizada cambia completamente cuando se asocia al hongo. Mediante el micelio externo, el contacto entre las raíces y el medio se incrementa considerablemente. La inoculación con hongos formadores de micorrizas son conocidos por incrementar el crecimiento de muchas especies de plantas. Es atribuido un incremento en la toma de nutrientes, especialmente los de difusión limitada tales como: P, Zn, Cu, etc.; producción de sustancias promotoras de crecimientos, tolerancia a estrés hídricos; salinidad, estrés por trasplante; resistencia a plantas por fitopatógenos e interacción sinérgica con otros microorganismos benéficos del suelo (Azcón y Barea, 1996; boby, *et al.*; 2008).

Las plantas micorrizadas crecen mejor que las no micorrizadas en suelos infértiles, por producir un incremento en la nutrición mineral a través de las hifas, quienes ayudan a explorar un mayor volumen de suelo que los pelos radiculares

de las mismas plantas (Rajan et al., 2000). El incremento en la nutrición mineral aumenta los contenidos de clorofilas y como consecuencia una alta tasa fotosintética (Bian *et al.*, 2001; Feng *et al.*, 2002). Los HMA interactúan con una amplia diversidad de microorganismos del suelo en las raíces, en la rizósfera y en la masa del suelo. La interacción puede inhibir o estimular, aunque estos hongos no pueden fijar biológicamente el nitrógeno atmosférico, incrementan la fijación de este compuesto porque interactúan positivamente con los fijadores de nitrógenos (Barea *et al.*, 1992). Combinación de inoculación de hongos micorrízicos con microorganismos solubilizadores de fosfatos produce una mayor absorción de nitrógeno y fosforo e incrementa la producción de las plantas en suelos deficientes con nutrientes (Singh y Kapoor, 1999).

VII. PROBLEMAS RESUELTOS Y LIMITANTES

El presente estudio es pionero en el Estado, actualmente la información sobre los árboles de guácimo asociados a micorrizas arbusculares es escasa.

Las micorrizas representan asociaciones simbióticas entre las plantas y hongos basada en el intercambio de metabolitos y nutrientes lo que tiene un efecto en la adquisición de nitrógeno por la planta para posteriormente conformar proteínas.

El guácimo no es de uso tradicional, pero se intenta innovar por su alto contenido de proteína que contiene esta a su vez se ve reflejado en la condición corporal del animal.

Algunas limitantes que tuvimos al desarrollar el presente proyecto fue el factor tiempo ya que deben esperarse al menos tres meses para el establecimiento de los cultivos trampa.

Por otro lado, son necesarios equipos como la centrifuga de suelos para continuar con la siguiente fase del proyecto que consistía en extraer las esporas observadas en las muestras, así mismo otra limitante es la falta de reactivos para concluir el estudio de todas las muestras.

VIII. COMPETENCIAS APLICADAS O DESARROLLADAS

Desarrollar el proceso productivo agropecuario con un enfoque holístico y sustentable de los recursos disponibles.

Generar, adoptar y transferir tecnologías apropiadas a las necesidades del entorno.

Integrar los sistemas de producción a cadenas productivas para generar valor agregado.

Operar y administrar empresas propias o en sociedad a fin de lograr el uso eficiente de los recursos y la generación de empleos.

IX. CONCLUSIONES

Se determinó la riqueza de estructuras de los hongos micorrízicos arbusculares en la raíces de plantas de guácimo tales como hifas, vesículas y arbúsculos.

Fue encontrado un mayor porcentaje de hongos micorrízicos en arboles adultos, sin embargo falta analizar las otras muestras para concluir con los análisis estadísticos y tener los resultados definitivos.

Fue observada una alta colonización de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de guácimo, por lo que deben tener una alta funcionalidad en la captación de nutrimentos esenciales tales como N y P e incremento de la calidad nutricional para que funcione como forraje de alta calidad para establecer plantaciones en Sistemas agroforestales.

X. RECOMENDACIONES

Se debe considerar la forma de garantizar la conservación del suelo como un recurso natural vivo. Que sirve de sustento para las plantas, tanto aquellas de importancia agrícola como forrajeras.

Se debe reconocer la importancia que los HMA, y considerarlo como uno de los mayores organismos del suelo en aportar en el desempeño de la dinámica nutricional de las plantas, dentro de los procesos de solubilización, mineralización, inmovilización, humidificación entre otros.

Es necesario un estudio más a fondo incluyendo las nuevas técnicas en el análisis de diversidad, para tener una idea más clara de las especies existentes en los suelos de la Península de Yucatán y de esta manera aportar en el desarrollo de la silvicultura en la zona.

El empleo de los HMA nativas es significativo para mejorar el desarrollo y disponibilidad de Fósforo y Nitrógeno para los cultivos agrícolas. Para esto el agricultor puede mediante técnicas sencillas y de bajo presupuesto aislar y multiplicar micorrizas nativas, para usarse en los cultivos, es recomendable realizar la inoculación en etapas iniciales como son en la siembra o en el trasplante.

Las estrategias de producción y aplicación de inóculos micorrízicos ayudan al establecimiento y crecimiento de plantas forrajeras sin requerir aplicación de altas dosis de fertilizantes químicos, lo que significa un gran aporte en el desarrollo de los sistemas silvopastoriles para la obtención de proteína animal.

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cuenca, G., Cáceres, A., Oirdobro, G., Hasmy, Z., Urdaneta, C. (2007) Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales, 23-29.
- Ferrera-Cerrato R., Alarcón A., (2007). Microbiología agrícola (1ª ed.)
- Flores-Bello, M., Aguilar-Espinosa, S., García Calvario, R., Zamora Cruz, A., Farías-Larios, J., López-Aguirre, J. G. (2008) Inoculación con hongos micorrízicos arbusculares y el crecimiento de plántulas de *Leucaena*, 127.
- Ojeda, L., Furrázola, E., Hernández, C. (2014), Micorrizas arbusculares en leguminosas de la empresa pecuaria El Tablón, 392-398.
- Petit-Aldana, J., Casanova-Lugo, F., Solorio-Sánchez, F., J. (2009) Asociación de especies forrajeras para mejorar la productividad y el reciclaje de nutrimentos, 115.
- Santander-Flores, C., Campos-Arce, J. J., (1988) El guácimo (*Guazuma ulmifolia* Lam.), especie forestal de uso múltiple para los trópicos húmedos, pp2-8.
- Villa-Herrera, A., Nava-Tablada, M., E., López-Ortiz, S., Vargas-López, S., Ortega-Jiménez, E., López, F. (2009) utilización del guácimo (*Guazuma ulmifolia* Lam.) como fuente de forraje en la ganadería bovina extensiva del trópico mexicano, 253-26.