



UNIVERSIDAD DE MATANZAS
ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE PASTOS Y FORRAJES
“Indio Hatuey”

**Tesis presentada en opción al Título Académico de Máster en
Pastos y Forrajes**

**Efecto del *EcoMic*[®] en el vigor de las semillas de cinco
accesiones de *Leucaena leucocephala* (L.) de Wit.**

Autora:

Ing. Lisbeth Bárbara González Escuela

Tutora:

Dra. C. Marlen Navarro Boulandier

Yaguajay, Sancti Espíritu

2018

Pensamiento

*La Agricultura es la única fuente constante cierta y enteramente
pura de riqueza*

José Martí

Dedicatoria

- A mi familia que me inspiraron confianza en que podía alcanzar mi propósito.
- A mis compañeros y amigos por su apoyo.
- A nuestra Revolución, porque estoy convencida que sin ella hoy no sería la profesional que soy.
- A todos los que me ayudaron incondicionalmente.

A todos muchas gracias, como dijera José Martí, Honrar, honra

Agradecimientos

- A los Tutores que fueron las personas que nunca negaron su conocimiento y que pusieron a mi disposición su escaso tiempo y toda su sabiduría.
- Al colectivo de la Filial Universitaria de Yaguajay, por su ayuda, dedicación y consagración en la formación de nuestro colectivo.
- Al colectivo de profesores de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey de Matanzas por su incondicional participación y ayuda a nuestra formación técnica.
- A mis compañeros de trabajo por su ayuda incondicional durante estos años
- A nuestra Revolución, por su obra en función de la formación de todos los cubanos.
- A todos los que me ayudaron incondicionalmente.
- A todos, mi eterno agradecimiento.

Tabla de contenido

Introducción	4
Capítulo I. Revisión Bibliográfica	6
I.1 <i>Leucaena leucocephala</i>	6
I. 1. 1 Importancia y Usos.....	6
I.2 Los sistemas silvopastoriles	8
I.2.1 Leucaena en los sistemas silvopastoriles de la ganadería tropical	8
I.3 Calidad de las semillas.....	10
I.3.1 Germinación.....	12
I.3.2 El vigor de las semillas.....	13
I.4 Los biofertilizantes.....	14
I.4.1 El EcoMic®.....	15
Capítulo II. Materiales y Métodos	15
Procedencia del material experimental	15
Diseño experimental y tratamientos	15
Mediciones realizadas.....	16
Procesamiento estadístico de los resultados	17
Capítulo III. Resultados y Discusión	42
Evaluaciones a los 30 días.....	43
Evaluación a los 60 días	47
Análisis global e interpretación de los resultados.....	50
Conclusiones	53
Recomendaciones	54
Referencias Bibliográficas	55

Introducción

Los sistemas silvopastoriles (SSP) constituyen una opción importante para los sistemas ganaderos en el trópico, debido a los múltiples beneficios que brindan, tales como la alta oferta y calidad de forraje para la alimentación animal; además, con dichos sistemas se obtiene mayor producción de carne y leche en comparación con los sistemas tradicionales de producción en monocultivo. De igual manera, la implementación de los SSP permite obtener numerosos beneficios ambientales tales como captura de CO₂, fijación de N atmosférico, reducción de la emisión de CH₄ y NH₄, incremento de la materia orgánica en el suelo y mejora en las condiciones microclimáticas (Bacab *et al.*, 2013).

El SSP es una modalidad de agroforestería pecuaria de producción de alta calidad y amigable con el medio ambiente, que se caracteriza por tener altas densidades de arbustos o árboles forrajeros, como la *Leucaena leucocephala* (Lam.) (Shelton, 1996).

La *L. leucocephala*, ha sido objeto de numerosas investigaciones y es la especie más plantada en los sistemas agroforestales, además de ser una de las leguminosas forrajeras con mejores características para la ganadería. Existen numerosas razones por las que se ha usado ampliamente, entre las que resaltan su alta producción de biomasa (incluso en la época poco lluviosa), su aceptabilidad por diferentes especies de animales y su capacidad de rebrote después del corte y/o ramoneo.

Es probable que la combinación de los atributos encontrados en esta arbórea sea única, además de poseer un alto valor nutritivo, por lo que en diversas partes del mundo ha aumentado el interés por el estudio de su manejo agronómico y las formas de utilización en los sistemas de producción animal.

En el caso de la producción de posturas, los viveros juegan un papel fundamental en la producción de plantas con calidad. Esto implica la necesidad del conocimiento y el uso de alternativas nutricionales para optimizar la producción de diferentes especies en vivero, obtener plantas mejor nutridas y lograr un 100 % de supervivencia en las áreas de estudio y así poder disminuir y evitar el agotamiento de los recursos no renovables como el suelo (Falcón, Riera y Rodríguez, 2013).

Asimismo, se considera que otros factores importantes que afectan el crecimiento de las plántulas jóvenes son: la inoculación de la semilla con *Rhizobium* spp. y la existencia de simbiosis micorrízica vesículo-arbuscular (Ruiz y Febles, 2006). Las plántulas jóvenes requieren de la rápida infección con micorrizas para el suministro de adecuadas cantidades de fósforo. Los niveles de micorrizas vesículo-arbusculares en el suelo dependen de un grupo de factores, como la historia del área de siembra, la vegetación natural y el encharcamiento. Por lo que se hace necesario investigar alternativas para atenuar esta problemática.

Problema

La especie *Leucaena leucocephala* tiene alto potencial para los sistemas silvopastoriles en el trópico. No obstante, existe un alto número de accesiones que pudieran formar parte de dichos sistemas productivos y no han sido suficientemente evaluadas desde el punto de vista del vigor de las semillas y el empleo de biofertilizantes en la etapa de vivero.

Hipótesis

Si la siembra en vivero de las semillas de *Leucaena leucocephala* se combina con la aplicación del EcoMic® entonces podría estimarse el vigor de las simientes a partir de las evaluaciones durante el crecimiento inicial de las plántulas.

Para dar respuesta a esta hipótesis de trabajo se establecieron los objetivos que se mencionan a continuación.

Objetivo general:

- Evaluar el efecto del EcoMic® en la germinación y emergencia de las plántulas de cinco accesiones de *Leucaena leucocephala* a través de la estimación del vigor.

Objetivos generales:

- Evaluar la aplicación pre-siembra del EcoMic® y su efecto en el vigor de las semillas de cinco accesiones de la especie *Leucaena leucocephala* a los 30 y 60 días en el vivero.
- Seleccionar las mejores accesiones evaluadas a través de la prueba de vigor relacionada con el crecimiento de plántulas.

Capítulo I. Revisión Bibliográfica

I.1 Leucaena leucocephala

La *Leucaena leucocephala* que es originaria de América tropical, específicamente de la península de Yucatán, México; es un arbusto que ha sido investigado y utilizado en los sistemas agroforestales a nivel mundial. Según algunos estudios recientes sobre este cultivo, se ha calculado una cobertura aproximada de 5 millones de hectáreas a nivel mundial, donde se destacan aquellas regiones tropicales de América, Asia, África, Australia y el Caribe (Brewbaker y Sorensson, 1990).

La amplia distribución en las regiones tropicales y subtropicales del país la han caracterizado, sus altitudes varían desde los 0 a 1500 m.s.n.m. Sobrevive en zonas que alcanzan una precipitación anual promedio desde los 300 hasta 4000 mm; alcanzando así los mejores crecimientos en aquellas áreas con precipitación anual de aproximadamente 1500 mm con una temporada seca de 4 meses. Por esta razón se han generado más de 100 variedades en los sistemas de producción por las distintas condiciones de clima, suelo; también se han introducido a otros países (Zarate, 1987).

En las áreas de distribución natural en México y la América Central, la leucaena es un componente importante de los bosques caducifolios y semicaducifolios secundarios, donde en la parte oeste de México, crece en bosques caducifolios secos en asociación con *Lysiloma* spp., *Bursera* spp., *Ipomoea* spp., del tipo arborescente, entre otros (Parrota, 1992).

I. 1. 1 Importancia y Usos

L. leucocephala es reconocida por la alta palatabilidad y digestibilidad, así como por el alto contenido proteína digestible. Por lo que es altamente recomendada para la alimentación de rumiantes (Barros Rodríguez *et al.*, 2013). Esta planta, al igual que otros forrajes tropicales, es rica en proteína cruda y minerales para la nutrición animal, sin dejar de mencionar su notable contribución a la sostenibilidad de los agroecosistemas agrícolas (Bansi *et al.*, 2014).

L. leucocephala es catalogado como un árbol multipropósito, por su alta calidad nutricional de sus hojas para consumo animal en rumiantes, que logran digerir hasta

un 60-70 %, por su excelente fuente de proteínas que contiene tanto en estado verde como en seco. El valor nutritivo que tiene puede ser igual o mayor al de la alfalfa, especialmente cuando se denota una marcada escasez de alimentos de calidad, y su importancia en algunos programas de mejoramiento, así como recuperación de suelos, control de erosión y planes de reforestación (Martin y Valdora, 2002).

Algunos autores plantean que en los campos de establecimiento como forrajera, una hectárea produce alrededor de 10 a 20 toneladas de materia seca comestible; las hojas constituyen de un 4 a 23 % de materia fresca y de 5 a 30 % de materia seca; su contenido de proteína varía de 20 a 27 %, además es rica en calcio, potasio y vitaminas; por otro lado se recomienda que en la dieta animal no hay que sobrepasar del 20 %, porque genera problemas por la presencia de mimosina (Gutiérrez y Dorantes, 2004). Esta sustancia ocasiona daño a los mamíferos no rumiantes y aves de corral, que les repercute en debilidad, pérdida de peso, aborto, caída de pelo en caballos, mulas y burros (Soltan *et al.*, 2017).

Por sus hábitos de crecimiento, se ha utilizado con éxito en la reforestación para enriquecimiento y mejoramiento de suelos, sombra para cultivos, control de erosión, alimentación animal, y en diversos sistemas agrícolas como abono verde alterando las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, aumenta la disponibilidad de nitrógeno para los cultivos e incrementa la materia orgánica por la simbiosis con bacterias del género *rhizobium*, que se generan en el sistema radicular, llegando a fijar hasta 400 kg/ha/año de nitrógeno (FAO, 1998; Shelton y Dalzell, 2007).

La flor contiene aceites esenciales aromáticos y los frutos son muy apreciados por el alto contenido en vitamina A y proteínas. Estos mismos autores refieren que la industria ha sabido aprovechar la madera para la elaboración de pulpa para papel y que los expertos en la apicultura recomiendan utilizarla como flora melífera; además se comercializan los tallos delgados con grosores de 5 a 7 cm para tutores en el cultivo de tomate y chile dulce en países como Panamá y Honduras.

En concreto; en varios de los países de América Latina es un hecho el desarrollo de sistemas silvopastoriles que combinan combinan una alta densidad de arbustos forrajeros

como *L. leucocephala*, intercalados con pastos mejorados con el propósito de aumentar el suministro de forraje en el pastoreo directo de los rumiantes (Calle *et al.*, 2012)

1.2 Los sistemas silvopastoriles

Como parte de los procesos de reconversión ganadera se han planteado estrategias de manejo tratando de lograr una relación más amigable de los sistemas ganaderos con su entorno. Una de estas estrategias es el establecimiento de sistemas silvopastoriles (SSP) mediante la incorporación de leguminosas arbustivas que generan diferentes beneficios, tanto en la producción animal como en la conservación del suelo (Chará *et al.*, 2015); entre ellas se encuentra leucaena, arbusto de la subfamilia *Mimosoideae* ampliamente adaptado a las condiciones del trópico.

Por otra parte, existe un reto clave que consiste en el mejoramiento de la disponibilidad de nutrientes en el suelo, lo cual sólo se logra con mejores prácticas agrícolas, tales como cultivos intercalados, inclusión de plantas fijadoras de nitrógeno, sistemas agrosilvicultura y reciclado de nutrientes (Powlson *et al.*, 2011).

Es en este contexto, que la implementación de modelos silvopastoriles se considera una oportunidad para conducir la ganadería hacia una producción sostenible, como se establece en el plan estratégico de la ganadería colombiana 2019 (Fedegan, 2006).

1.2.1 Leucaena en los sistemas silvopastoriles de la ganadería tropical

Los SSP están compuestos por gramíneas rastreras o erectas, árboles y arbustos leguminosos o no, y animales que se alimentan de los componentes forrajeros (Santana, 1998; Pezo *et al.*, 2008). Estos sistemas presentan una mayor productividad forrajera, por lo que mejoran la cantidad y calidad de la dieta animal (Yamamoto *et al.*, 2007); lo anterior permite incrementar la producción de carne y leche, así como mejorar la reproducción en forma estable en el tiempo —con reducción de costos— al no requerir insumos como los granos, concentrados y antiparasitarios (Krishnamurthy y Ávila, 1999; Pezo *et al.*, 1999).

La inclusión de árboles en pasturas constituye una fuente importante de alimento (Musálem, 2002; Dagang y Nair, 2003); al respecto, Anguiano *et al.* (2012) mencionan que la inclusión de altas densidades es provechosa, ya que han encontrado que los mejores resultados en

cuanto a la altura y número de hojas se obtienen con 60,000 y 80,000 árboles ha⁻¹ a los 100 días de edad, con 138.28 cm y 24.74, respectivamente.

De igual manera, los SSP brindan múltiples servicios ambientales, al capturar cantidades importantes de dióxido de carbono (CO₂). Al respecto, Torres *et al.* (2011) mencionan que un bosque tropical caducifolio en la región de Huatusco, Veracruz, es capaz de capturar hasta 469.79 t ha⁻¹, siguiéndole el SSP con 62.58 t ha⁻¹ y el potrero convencional con 49.94 t ha⁻¹.

Por su parte, Anguiano *et al.* (2013) señalan que con la siembra de 80,000 plantas/ha de *L. leucocephala* cv. Cunningham, CT-115 (*Pennisetum purpureum*) y cocotero (*Cocus nucifera*), es posible capturar hasta 128.62 t ha⁻¹ año⁻¹ de carbono, equivalente a 2.44 veces más, con respecto de aquella donde sólo se asocia el cocotero con la gramínea. Los SSP con *L. leucocephala*, al proveer múltiples beneficios, son una opción importante para mejorar las condiciones del suelo en muchas zonas ganaderas del trópico; ya que tienen un potencial de fijación de nitrógeno atmosférico de 52 y 320 kg ha⁻¹, dependiendo de la variedad, densidad y condiciones ambientales (Lozano *et al.*, 2006; Yamamoto *et al.*, 2007).

Debido a la importancia de estos sistemas, se ha impulsado el diseño de nuevas modalidades para su aplicación en la ganadería tropical. Ante ello, se desarrollaron los SSP con *L. leucocephala*, el cual permite incrementar de manera considerable la productividad y la carga animal, así como la generación de servicios ambientales que resultan de la presencia de altas densidades en esta leguminosa (Murgueitio y Solorio, 2008).

Los SSP son una modalidad de los sistemas agroforestales que se caracterizan por la presencia de altas densidades de arbustos forrajeros como *L. leucocephala*, asociados a pastos mejorados de alta producción de biomasa bajo modelos de pastoreo rotacional intensivo con cerca eléctrica y oferta de agua de abrevadero. Se pueden asociar, o no, con árboles maderables, frutales y leguminosas rastreras; *L. leucocephala* por su calidad nutricional, fijación de nitrógeno (N) atmosférico, crecimiento, tolerancia a la sequía y adaptación al ramoneo, ya que resulta una de las especies utilizada con mayor éxito (Shelton, 1996; Murgueitio y Solorio, 2008).

Con relación a las altas densidades de árboles, éstos permiten obtener múltiples beneficios; tales como: el ahorro de fertilizantes nitrogenados, mayor duración de las pasturas, mejor

retención hídrica en el suelo, disminución del efecto desecante de los vientos y reducción del estrés calórico en los animales. Además, se alcanzan altos rendimientos de biomasa que permiten mayor carga animal y un incremento en la ingesta de proteína que mejora la producción y calidad de leche y carne. De igual manera, con estos sistemas se captura una mayor cantidad de carbono, se reduce la emisión de CH₄ y se incrementa la biodiversidad (Murgueitio *et al.*, 2011).

En Colombia, los SSP con más de 10,000 arbustos de *L. leucocephala* permiten fijar hasta 400 kg N ha⁻¹ año⁻¹. Adicional a esto, el manejo agroforestal (como la poda), aporta entre cinco y seis t ha⁻¹ año⁻¹ de residuos, convirtiéndose finalmente, en materia orgánica (MO) para el suelo. La fijación de N, los aportes de MO y la producción de excretas del ganado, hacen que el sistema sea eficiente en el aprovechamiento y reciclaje de los propios recursos, lo cual le permite ser independiente en la utilización de insumos y productos agrícolas para la fertilización (Murgueitio *et al.*, 2007).

De igual manera, con la implementación de estos sistemas, se ha alcanzado la cifra de 1.50 t C ha⁻¹ año⁻¹ capturado. A su vez, se calculan reducciones del 21% en las emisiones de CH₄ y del 36% en la de óxido nitroso por la mejora en la nutrición del ganado y una reducción en el uso de fertilizantes (Chará *et al.*, 2009). Se ha demostrado que estos sistemas juegan un rol fundamental en la supervivencia de especies silvestres, además de proveer sombra para los animales en pastoreo. La disponibilidad de alimento para las aves silvestres es alta en estos sistemas, y la compleja estructura de la vegetación provee un sustrato de anidamiento más adecuado y mejor protección contra depredadores (Pagiola *et al.*, 2004).

1.3 Calidad de las semillas

Delouche (1971), menciona que la calidad de la semilla es el producto de la historia de un cultivo con sus respectivos factores que determinan su calidad tales como la calidad genética, la contaminación en el campo con el polen de variedades afines, las condiciones bióticas durante la precosecha, la forma de cosecha, el secado de las semillas, la forma de efectuar el acondicionamiento, las condiciones del almacenamiento, la edad de la semilla, la uniformidad del lote de las semillas y la selección del suelo para la siembra.

La calidad es el conjunto de atributos que caracterizan a un lote de semillas; término compuesto que se refiere a múltiples características físicas y fisiológicas que determinan su valor. Por esta razón los tecnólogos en semillas han establecido procedimientos o técnicas normalizadas de análisis para la evaluación de los diferentes componentes de calidad (Wulff, 2017).

El concepto de calidad de semillas es complejo y alude fundamentalmente a tres factores: viabilidad, potencial de germinación y vigor del lote de semillas (Kigel, 2017, 2003). Sin embargo, Marcos Filho (2015) al definir semilla de calidad, refirió que el porcentaje de germinación no es suficiente para expresar la calidad de la semilla debido a que también implica calidad genética y aspectos de calidad fisiológica además de la germinación.

Hampton (1995), planteó que a medida que declina la calidad de un lote de semillas, merma el porcentaje de plántulas normales y se incrementa el número de plántulas anormales y/o de semillas muertas.

Cuando se mantienen ciertas características básicas en las semillas, estas le generan una calidad determinante, entre las cuales se encuentran la calidad genética, sanidad, pureza, contenidos de malas hierbas, poder germinativo, contenido de humedad, peso por mil granos y peso volumétrico; así como la integridad física o ausencia de daño mecánico, ausencia de dormancia y composición química; resumiendo estas características se han agrupado en cuatro componentes como genético, fisiológico, sanitario y físico (Wulff, 2017).

Por otra parte la calidad de una semilla se le ha asignado como la suma de los atributos genéticos, físicos, biológicos y sanitarios que llevan a producir plántulas exitosas cuando se les brindan las condiciones necesarias (Ciotti *et al.*, 2006).

La calidad de las semillas en si son un conjunto de cualidades deseables que deben tener para el establecimiento de plantas vigorosas, obteniéndose cultivos con altos rendimientos; y para esto se requiere involucrar un proceso de manejo del potencial genético a través del mejoramiento y mantenerlo a través de la producción y poscosecha, para lograr como producto final una semilla de alta calidad (Benech-Arnold y Sánchez, 2017).

De acuerdo a lo antes expuesto, al contar con semillas de buena calidad, permitirá a los productores o personas del campo obtener plantaciones uniformes con crecimientos y desarrollos normales, con mayor resistencia al ataque de plagas y enfermedades, que se verá reflejada en una buena cosecha.

I.3.1 Germinación

Para que la germinación se realice, autores como Hartmann y Kester (2000) indicaron que es necesario que la semilla sea viable, que disponga de temperatura, aireación y humedad adecuada, logrando destruir los bloqueos fisiológicos presentes que impiden el proceso de la germinación.

Por su parte Duffus y Slaughter (1985) definieron a la germinación como el proceso de cambio de una pequeña estructura inactiva que vive con abastecimiento mínimo, a una planta que crece activamente, destinada a llegar a la autosuficiencia antes que los materiales de reserva de la semilla se terminen.

Shu *et al.* (2016) estipuló que la germinación se conoce como la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión, y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables.

Según Miransari y Smith (2014) la germinación es el comienzo del crecimiento de una semilla, una reanudación de la actividad metabólica, el desadormecer del embrión, alguna vez activo y ahora latente.

Es el término en porcentaje, de las semillas puras obtenidas en el análisis de pureza física que producirán plantas normales, tanto en ambientes que se encuentren en laboratorio como en condiciones ideales para la germinación de dicha especie, pero no todas las semillas que germinan en el laboratorio (condiciones controladas), se convertirán en plantas cuando estén sembradas en el campo, donde las condiciones son, seguramente más adversas que aquellas sobre las cuales fueron sometidas las semillas en el laboratorio (PROSEMILLAS, 2002).

Otra definición sobre germinación se dice que es la sucesión secuenciada de eventos morfogénicos, tales como imbibición del agua, actividad enzimática, iniciación del crecimiento del embrión, ruptura de la cubierta de la semilla y emergencia de plántula

y el establecimiento de plántulas; que resultan en la modificación de un embrión en una plántula. Dicho proceso abarca la división y expansión celular y la formación de órganos de la planta, como hojas, tallos y raíces (Flores, 2004).

En relación a la importancia de la germinación, se concluye que las semillas de leucaena presentan algunas desventajas como germinación lenta, obligada a una latencia causada por inhibidores de crecimiento, o por la presencia de la cutícula impermeable al agua y al oxígeno, lo que causa variación en la germinación (Bichoff *et al.*, 2018).

I.3.2 El vigor de las semillas

La manifestación del vigor en la germinación se manifiesta con rapidez, uniformidad e intensidad, al igual que la tolerancia de las plántulas a las condiciones ambientales desfavorables (Marcos Filho, 2015).

El concepto calidad de la semilla, además de estar relacionado con la respuesta germinativa, también implica aspectos genéticos, fisiológicos y morfológicos (Carvalho y Nakagawa, 2012), por lo que la prueba de germinación no es suficiente para expresar el grado de calidad de las simientes.

Las investigaciones relacionadas con el vigor son, en general, escasas y en especies tropicales pratenses y aún más en plantas de leguminosas de hábito de crecimiento arbustivo y arbóreo (Navarro *et al.*, 2015).

De acuerdo con Navarro (2009) el vigor se puede considerar como la interacción de aquellas propiedades bióticas y abióticas que influyen en las semillas y que determinan su nivel de actividad y su comportamiento en el tiempo: las expresiones de viabilidad, la dormancia, la germinación y la emergencia. Por ello, la autora sostiene que el vigor no se puede desvincular como parte esencial de la calidad de las semillas.

Las pruebas de vigor de semillas están basadas en conceptos tales como la resistencia al estrés, la velocidad de germinación, la integridad de las membranas y el desarrollo de plántulas (Matthews *et al.*, 2012).

De acuerdo con Navarro *et al.* (2015) las pruebas de vigor se agrupan en: a) Pruebas de crecimiento de plántulas; b) Pruebas de estrés; c) Pruebas bioquímicas; d) Variables

numéricas basadas en resultados de pruebas de germinación y emergencia y e) Análisis computarizados de semillas y plántulas.

Dentro de estas pruebas aparece la combinación de variables biológicas y artificios matemáticos. Para establecer la importancia y eficiencia del comportamiento global de las variables biológicas, Navarro *et al.* (2012) adecuaron el modelo estadístico para la medición del impacto de la innovación o transferencia tecnológica en la rama agropecuaria de Torres *et al.* (2008), con el propósito de lograr una metodología original e integral para estimar el vigor de las semillas como indicador de la calidad y el éxito posterior de una plantación.

Navarro *et al.* (2012) desarrollaron una metodología de estimación del vigor de las semillas que se basa en la definición y el empleo del índice de eficiencia (Ef), como medida de integración y elemento estimativo para detectar la influencia del vigor de las semillas en el crecimiento y desarrollo inicial de las plántulas en el vivero a pleno sol. Estos autores declararon que el Ef, fortalece y amplía la interpretación de los resultados en la estimación del vigor y el mismo depende de las variables de mayor preponderancia, por lo que la primera etapa para la interpretación de los resultados está centrada en el análisis de las matrices de preponderancia proporcionadas por el análisis de componentes principales y en la selección de las variables con valores de preponderancia por encima de un valor determinado en función de la naturaleza del estudio en cuestión.

1.4 Los biofertilizantes

Debido al encarecimiento de los fertilizantes químicos, las escasas reservas naturales de algunos nutrientes, así como los grandes consumos energéticos para la fabricación de los fertilizantes, el uso de las alternativas biológicas se impone no solo como una necesidad en la producción agrícola, sino también en la agricultura científica del futuro, sin afectar la ecología y con una factibilidad económica (Barroso-Frómata *et al.*, 2015).

En este orden se asegura que la aplicación de microorganismos biofertilizadores son una alternativa viable para la nutrición vegetal, ya que ejercen un triple efecto sobre el suelo y la rizosfera de la planta, posibilitan la asimilación de nutrientes, son capaces de depositar exudados fitohormonales que estimulan el crecimiento vegetal y actúan como antagonistas de hongos fitopatógenos (Mengana, 2011)

De manera que, la asociación entre microorganismos de diferente naturaleza microbiológica es una práctica favorable para el desarrollo de los cultivos, reducción del ciclo vegetativo y consumo de fertilizantes (Martínez-Viera y Dibut, 2012).

I.4.1 El EcoMic®

Desde hace varios años se reportan resultados sobre el efecto beneficioso que ejerce la simbiosis micorrízica en el crecimiento y la productividad de los cultivos, asociado en lo fundamental a una mayor absorción de nutrientes y agua (Ley-Rivas *et al.*, 2015; Ruiz-Sánchez *et al.*, 2015), así como a la mejora de la accesibilidad de las plantas a los nutrientes que se encuentran en formas menos asimilables (Velasco *et al.*, 2016).

Los biofertilizantes sólidos que se producen bajo la denominación EcoMic® están formulados a partir de esporas, micelios y raicillas infestadas de especies nativas de hongos micorrizógenos, que se mantienen en un soporte sólido (patente OCPI # 22641). Por su parte, LicoMic® es la denominación que reciben los biofertilizantes líquidos formulados a partir de esporas de especies nativas de hongos micorrizógenos con alto grado de pureza, eficiencia y estabilidad biológica, que se mantienen en una solución osmoprotectora (solicitud de patente OCPI # 0277/ 2004). Estos hongos han sido evaluados agrónomicamente con éxito en diferentes condiciones edafoclimáticas (INCA, 2007).

La asociación que establecen estos hongos con las raíces de las plantas superiores es conocida comúnmente como micorriza, vocablo proveniente del término griego mykos (hongo) y la voz latina rhiza (raíz), utilizado por primera vez en 1881 por el botánico alemán Albert Bernard Frank para denominar la asociación. Este término agrupa tres tipos: ectomicorrizas, endomicorrizas y ectendomicorrizas, siendo los hongos que se utilizan para la elaboración de los productos Ecomic y LicoMic del tipo endomicorrízico arbuscular (INCA, 2007).

En el ámbito mundial se reportan múltiples experiencias acerca de los beneficios de los hongos micorrízico-arbusculares –HMA– (Pérez *et al.*, 2015). En Cuba se han obtenido resultados satisfactorios en estudios que involucran mayor altura, vigor y área foliar, incremento de los rendimientos, mayor aprovechamiento de los nutrientes y disminución de los fertilizantes, con la inoculación de cepas eficientes de HMA en diferentes cultivos de importancia económica (Cruz *et al.*, 2014).

Las esporas de *Glomus hoi* like son pequeñas (60-110 μm), semitransparentes y, por lo general, se encuentran agrupadas formando ramilletes de tamaño pequeño a mediano; en ocasiones las esporas adultas aparecen dispersas (INCA, 2007).

Es muy reconocida la acción positiva de este fertilizante biológico en el rendimiento de los cultivos ya que permite incrementos en el sistema radical, protección radical contra ciertas plagas y enfermedades, genera incrementos en la producción agrícola, contribuye a la regeneración de los suelos y disminuye los costos por concepto de aplicación de fertilizantes (Beiha, 2007).

Con el empleo del producto comercial EcoMic® se han obtenido rendimientos entre 15 y 50 %, sobre todo mejores comportamientos frente a la sequía, mayor aprovechamiento de los nutrientes y disminución de los fertilizantes, tanto en condiciones de la agricultura familiar en pequeñas extensiones y con siembra manual; así como en la agricultura intensiva, en grandes extensiones y con siembra mecanizada (Rivera *et al.* 2012).

En cuanto al EcoMic®, Noda y Castañeda (2012) hallaron una respuesta positiva de la inoculación de hongos micorrizógenos en la emergencia de semillas de *Jatropha curcas*.

Este producto permite su aplicación exitosa mediante el recubrimiento de las semillas, en dosis del 6 al 10 % de su peso, por lo que se requieren pequeñas cantidades por hectáreas (1-6 kg/ha), lo cual amplía sensiblemente el espectro de acción práctica de la simbiosis. Estos HMA se han empleado en especies de sistemas agroforestales.

La aplicación combinada del EcoMic® y FitoMas-E, se reduce el 25 % del consumo de fertilizante químico actualmente en uso, lo cual indica, que con la misma cantidad de sustrato y menos cantidad de fertilizante, se producen posturas de calidad amparada en el área foliar, como lo referencian autores como Barroso-Frómata *et al.* (2015).

De forma general el EcoMic® se ha evaluado en su aplicación simple e integrada con los esquemas de suministro de nutrientes, demostrando sus capacidades de incrementar la eficiencia de los fertilizantes aplicados y disminuyendo las cantidades de estos insumos a aplicar, así como aumentando tolerancia al déficit hídrico y disminuyendo daño de algunas plagas y enfermedades (Rivera *et al.*, 2015).

Capítulo II. Materiales y Métodos

Procedencia del material experimental

Los árboles madres pertenecen a la colección del género *Leucaena* que se encuentra en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”; situada en el punto geográfico determinado por los 22°48’7” de latitud Norte y 81°2’ de longitud Oeste y a 19 msnm.

Las accesiones de *L. leucocephala* en estudio fueron:

- *L. leucocephala* cv. CIAT-17217
- *L. leucocephala* cv. CIAT-17218
- *L. leucocephala* cv. CIAT-17226
- *L. leucocephala* cv. Cunningham
- *L. leucocephala* cv. Perú

De las cuales las dos últimas se encuentran registradas en Cuba como variedades comerciales, no así las tres primeras las cuales son el resultado de una exhaustiva evaluación en la colección del género *Leucaena* de la EEPF “Indio Hatuey”.

Diseño experimental y tratamientos

El experimento se condujo en un vivero a pleno sol que se montó en el mes de junio de 2016 en la Empresa Agroindustrial de Granos Valle del Canao, en el municipio Yaguajay, provincia Sancti Spiritus.

Para las siembras en el vivero a pleno sol, se utilizaron bolsas con un sustrato compuesto por una mezcla de suelo ferralítico rojo (Hernández *et al.* 2015) y materia orgánica, en partes iguales (1:1). El riego fue a saturación.

Se utilizaron dos tratamientos experimentales:

- aplicación en el momento de la siembra de 10 g de EcoMic® debajo de la semilla
- control en el que no se realizó ningún tratamiento presiembra

El inoculante micorrizógeno sólido EcoMic®, con patente no. 22641, es un producto que contiene propágulos de hongos micorrizógenos arbusculares con alto grado de pureza y estabilidad biológica, de probada efectividad y alta eficiencia (Mujica Pérez, 2012). La

especie fúngica utilizada fue la *Glomus hoi-like*, cuya efectividad en la agricultura ha sido probada en numerosas ocasiones. Tiene una composición mínima garantizada de 20 esporas.g⁻¹ de inoculante.

El procedimiento para la siembra se realizó según las recomendaciones de Navarro (2002) para las semillas dormantes de leguminosas arbóreas.

Para el estudio de las variables medidas durante la emergencia de plántulas en cada tratamiento presiembra en el vivero a pleno sol, se empleó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial (5x2), en el que los factores estuvieron determinados por las accesiones de *L. leucocephala* (5) y los tiempos de evaluación (2). En cada uno de los métodos y evaluaciones se emplearon 400 semillas, distribuidas en cuatro repeticiones (ISTA, 2014).

Mediciones realizadas

Todas las variables fueron medidas a los 30 y 60 días posteriores a la siembra, para lo cual se seleccionaron 10 plántulas en cada una de las cuatro repeticiones, en cada evaluación, para cada accesión de *L. leucocephala*.

Variables estudiadas:

- Emergencia (%): Se consideró que la plántula estaba emergida cuando en la superficie del sustrato se observaron los cotiledones fuera de la envoltura seminal debido al alargamiento y erección del hipocótilo (Besnier, 1965).
- Altura de la plántula (cm): se utilizó regla graduada.
- Largo sistema radicular (cm): se utilizó regla graduada.
- Longitud del hipocótilo (cm): se utilizó pie de rey.
- Peso fresco del sistema radicular (g): se utilizó la balanza analítica con precisión de 0,001 g y los datos fueron expresados en g/plántula.
- Peso fresco de la parte aérea (g): ídem al anterior.

Procesamiento estadístico de los resultados

Los datos obtenidos de los muestreos y mediciones fueron organizados y procesados con el empleo del programa Excel y confeccionadas las matrices de datos utilizadas para la realización de análisis de varianza según modelo de clasificación simple en arreglo factorial 5x2. Se utilizó la dócima de comparación múltiple de Duncan (1955) y las diferencias fueron declaradas significativas a valores de $p < 0,05$. El procesamiento estadístico se llevó a cabo mediante la utilización del programa SPSS versión 22 para Windows.

Capítulo III. Resultados y Discusión

En la actualidad el uso de micorrizas en los viveros es una alternativa eficiente ya que permite que en las raíces de las plántulas se estimule la absorción de nutrientes, lo que permitirá llevar al campo plantas sanas, de buen vigor y con buena adaptabilidad a las condiciones agroecológicas de las zonas destinadas para su desarrollo.

La figura 1 muestra la germinación de las semillas de las cinco accesiones de *L. leucocephala*. En la comparación entre tratamientos experimentales, solo Cunningham y CIAT-17226 (ambas con EcoMic®) difirieron significativamente de su respectivo control. Es así que los valores oscilaron entre 58,7 y 21,3% en Cunningham y en CIAT-17226 el comportamiento varió entre 44,3 y 33,3%.

Entre las variedades comerciales, Cunningham+EcoMic® exhibió el valor más alto (58,7%). Para las accesiones nuevas resultaron más destacadas CIAT-17218 con y sin EcoMic® (61,3 y 62,7%) y CIAT-17226+EcoMic® (44,3%).

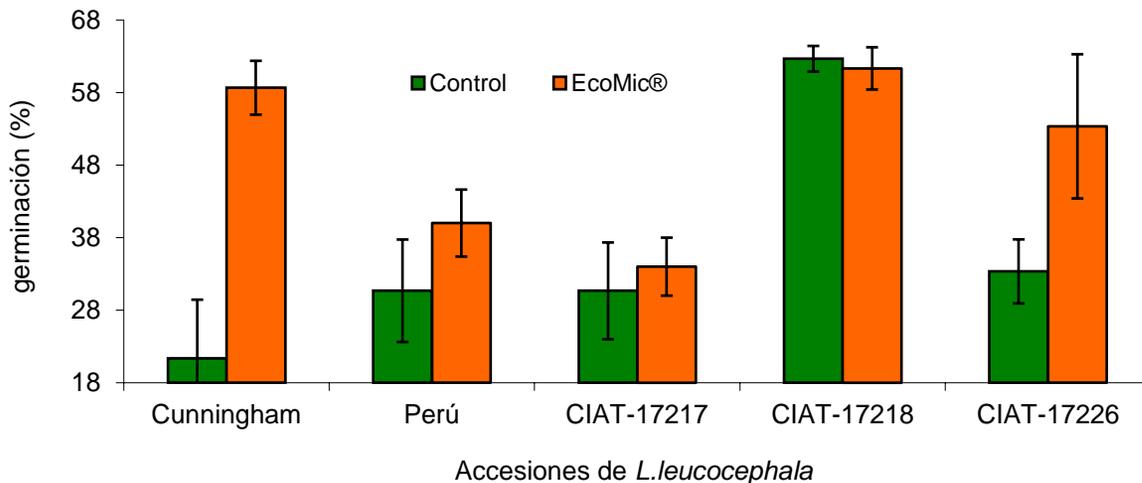


Figura 1. Efecto de la aplicación del EcoMic® en la germinación de las semillas de diferentes accesiones de *L. leucocephala*. Las barras verticales en cada columna indican \pm ES

Aunque no se sabe aún si las MA mejoran la germinación, estas sí incrementan la adecuación (reproducción y supervivencia) de las plantas y su producción (Daza y Walter-Osorio, 2011). Esto se debe a que actúan como extensiones del sistema radicular y

aumentan la asimilación de nutrientes del suelo, principalmente fósforo, incrementando el volumen explorado del ambiente edáfico (Lozano-Contreras *et al.*, 2013). En este sentido, las bacterias rizosféricas promotoras del crecimiento vegetal (PGPBs) forman asociaciones con hongos MA, ayudando a la fijación de N₂, la producción de fitohormonas como giberelinas y del ácido indolacético, lo que estimula y acelera la germinación (Constantino *et al.*, 2010).

El principal desafío de las investigaciones sobre pruebas de vigor está en la identificación de indicadores relacionados con el deterioro de las semillas, que preceden a la pérdida de la capacidad germinativa y la calidad (Navarro *et al.* 2015). Tomando como base tal afirmación el presente estudio se dividió en dos etapas o evaluaciones, la primera a los 30 días posteriores a la siembra y la segunda 60 días después de plantarse las semillas en el vivero a pleno sol.

Evaluaciones a los 30 días

En la figura 2 se observa el comportamiento de la altura de las plántulas en cada una de las accesiones en estudio y sus respectivos tratamientos experimentales.

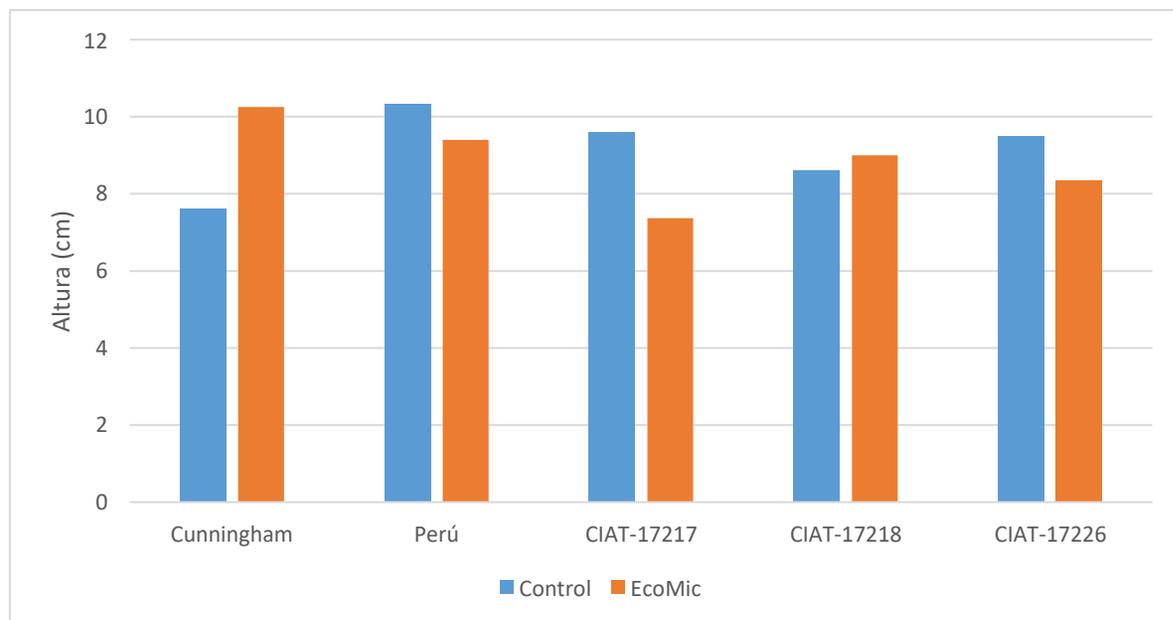


Figura 2. Efecto de la aplicación del EcoMic® en la altura de las plántulas de diferentes accesiones de *L. leucocephala*

De acuerdo con la figura 2, la aplicación del EcoMic® fue más efectiva en Cunningham y en la accesión CIAT-17228. Debido a que la altura de las plántulas en dichos tratamientos exhibió un valor superior al control. No obstante, la variación en la accesión anteriormente citada no fue estadísticamente significativa, al comparar los tratamientos entre sí.

Ponce (2015) al evaluar la inoculación de *L. leucocephala* con diferentes dosis de micorrizas vesículo - arbusculares a nivel de vivero, observó que la altura promedio para esta especie a los 25 días posteriores a la siembra fue de 6,55 cm. Valor que se encuentra por debajo de los resultados del presente estudio, en el que la variable altura de las plántulas fluctuó en un rango entre 7,37 (CIAT-17217 con EcoMic® y 10,33 cm en el control del cultivar Perú).

Para el largo del sistema radicular (figura 3) en Perú y CIAT-17226, el EcoMic® superó al tratamiento control, pero éste último valor fue inferior cuando la CIAT-17218 se sembró sin EcoMic®.

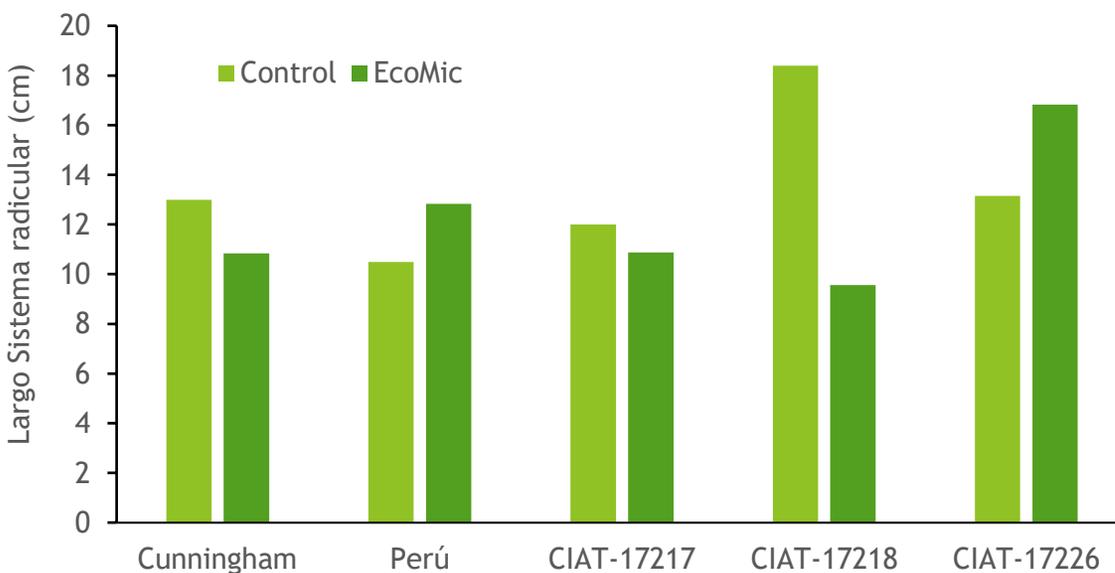
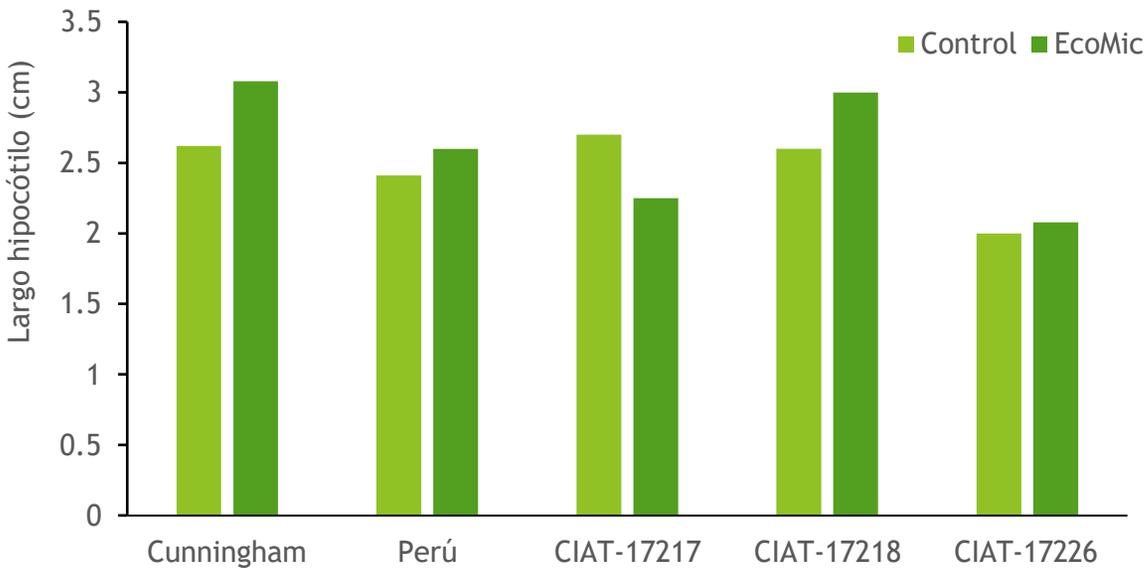


Figura 3. Efecto de la aplicación del EcoMic® en el largo del sistema radicular de las plántulas de diferentes accesiones de *L. leucocephala*

La comparación entre accesiones indicó como sobresalientes a CIAT-17218 (control) y CIAT-17226 (EcoMic®), sin mostrar diferencias estadísticas entre ambas. En el resto de las accesiones se evidenció un comportamiento similar con valores que oscilaron entre 10,5 y

13,0 cm. Es importante destacar que, en este caso, únicamente en el cultivar Perú el EcoMic® fue superior al control y mostró diferencias significativas.

En la figura 4 se observa el comportamiento de la variable largo del hipocótilo. Excepto CIAT-17217, las demás accesiones superaron al control y los mejores resultados con EcoMic® se registraron en Cunningham y CIAT-17218. Los valores más discretos se reportaron en CIAT-17226 para ambos tratamientos.

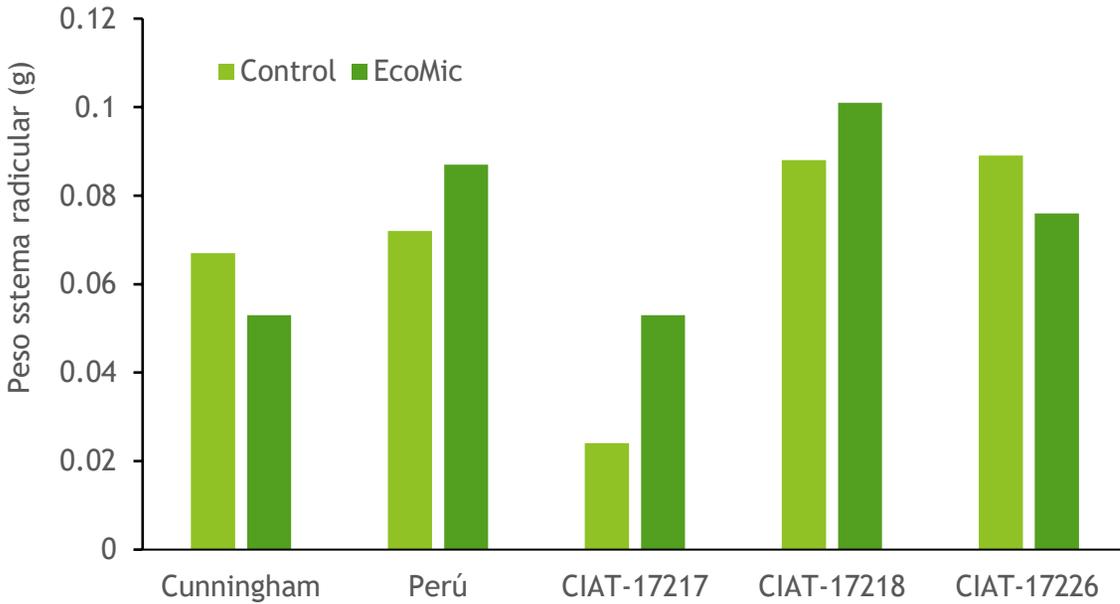


Figura

Figura 4. Efecto de la aplicación del EcoMic® en el largo del hipocótilo de las plántulas de diferentes accesiones de *L. leucocephala*.

El hipocótilo es el primer órgano de expansión de la plántula, y se desarrolla hasta formar su tallo. Por ende, la medición de su longitud también incide en la estimación del vigor de las semillas. Y por otra parte está igualmente relacionado con la formación del sistema radicular.

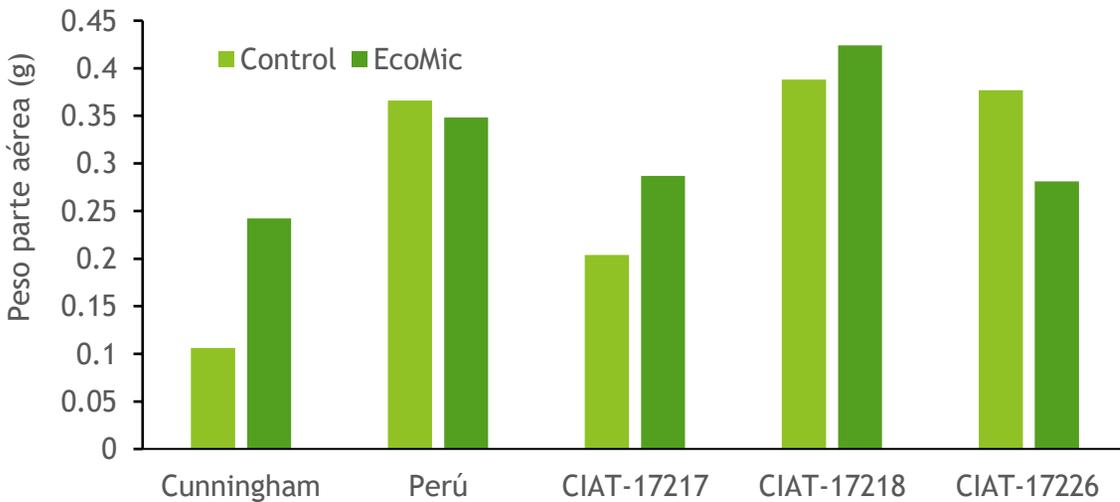
De acuerdo con la figura 5, para la variable peso del sistema radicular, excepto Cunningham y CIAT-17218, el resto superó al control, en esta misma evaluación CIAT-17218 + EcoMic® exhibió el valor más alto.



Figura

Figura 5. Efecto de la aplicación del EcoMic® en el peso del sistema radicular de las plántulas de diferentes accesiones de *L. leucocephala*.

Mientras que, para el peso de la parte aérea, únicamente el cultivar Perú y la accesión CIAT-17217 no superaron al tratamiento control (figura6). El valor más alto fue mostrado por CIAT-17218+ EcoMic®



Figura

Figura 6. Efecto de la aplicación del EcoMic® en el peso de la parte aérea de las plántulas de diferentes accesiones de *L. leucocephala*

Evaluación a los 60 días

Al estudiarse las diferentes variables a los días posterior a la plantación se encontró que (fig. 7) en el comportamiento de la altura de las plántulas el valor más alto para esta variable correspondió al tratamiento Perú + EcoMic® (11.87 cm); no obstante, el control de CIAT-17218 (12.66 cm) fue superior al valor anteriormente referido, aunque sin diferir entre si estadísticamente.

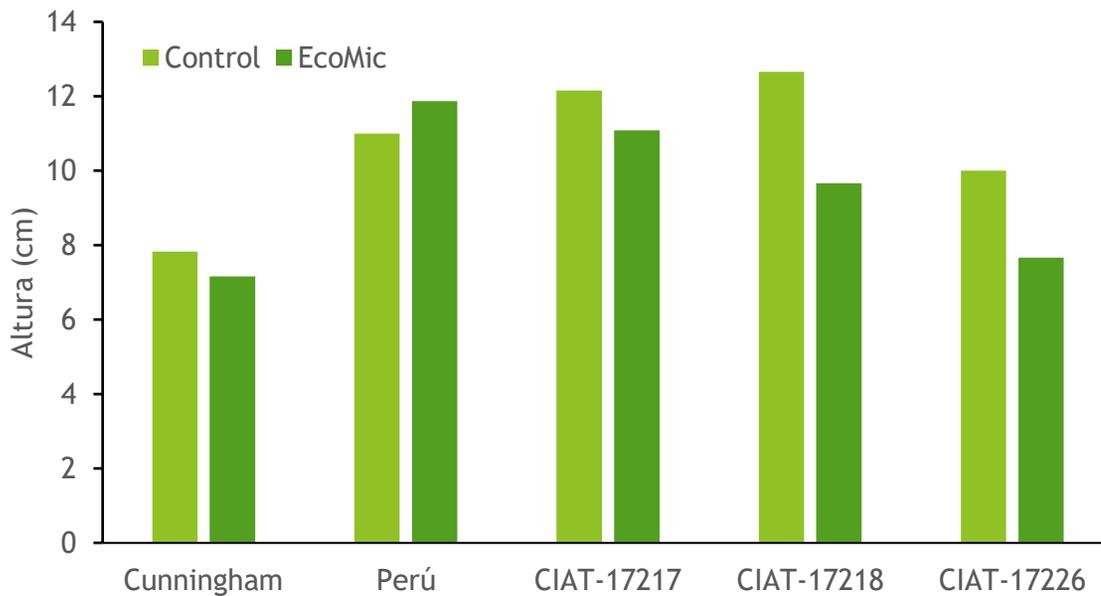


Figura 7. Efecto de la aplicación del EcoMic® en la altura de las plántulas de diferentes accesiones de *L. leucocephala*

Para el largo del sistema radicular (figura 8), la aplicación del EcoMic® en el cultivar Perú y en la accesión CIAT-17217 superó al control. Sin embargo, éste último valor no difiere del control en CIAT-17226.

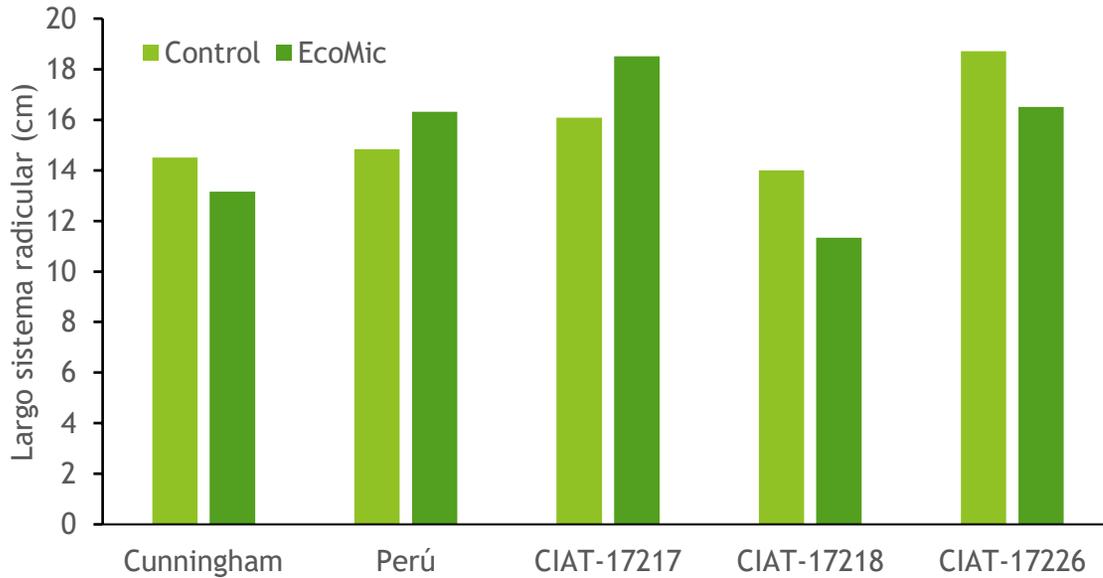


Figura 8. Efecto de la aplicación del EcoMic® en el largo del sistema radicular de las plántulas de diferentes accesiones de *L. leucocephala*

En la figura 9, se observa que en la variable largo del hipocótilo, el EcoMic® superó al control únicamente en Perú y CIAT-17226, tal como se aprecia la diferencia entre Perú y el resto fue notable.

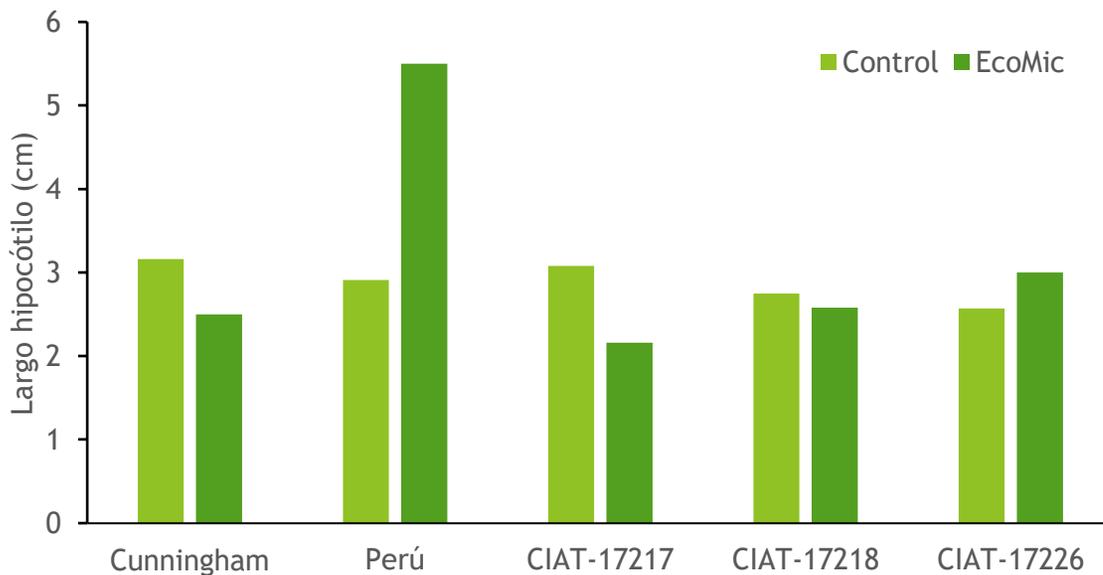


Figura 9. Efecto de la aplicación del EcoMic® en el largo del hipocótilo de las plántulas de diferentes accesiones de *L. leucocephala*

De este comportamiento en Perú con EcoMic® pudiera inferirse que la mencionada variedad comercial se ratifica como de alto potencial para sistemas productivos en el trópico, pues como se explicó anteriormente la longitud del hipocótilo en los primeros estadios del crecimiento vegetal es un estimador del vigor de las semillas. De lo que se interpreta que en el cultivar Perú las plántulas no solamente crecen más al aplicarse el producto micorrizogeno sino que también son capaces de estructurar mejor sus sistema radicular. Todo ello sin demeritar el desempeño de las accesiones CIAT-17217 y CIAT-17218.

En cuanto a la variable peso del sistema radicular (figura 10) se apreció una notable diferencia entre los dos tratamientos experimentales para cada accesión en estudio y solo en CIAT-17218, el EcoMic® superó al control. Los valores más altos fueron mostrados por el control en Perú, CIAT-17218 y 17226.

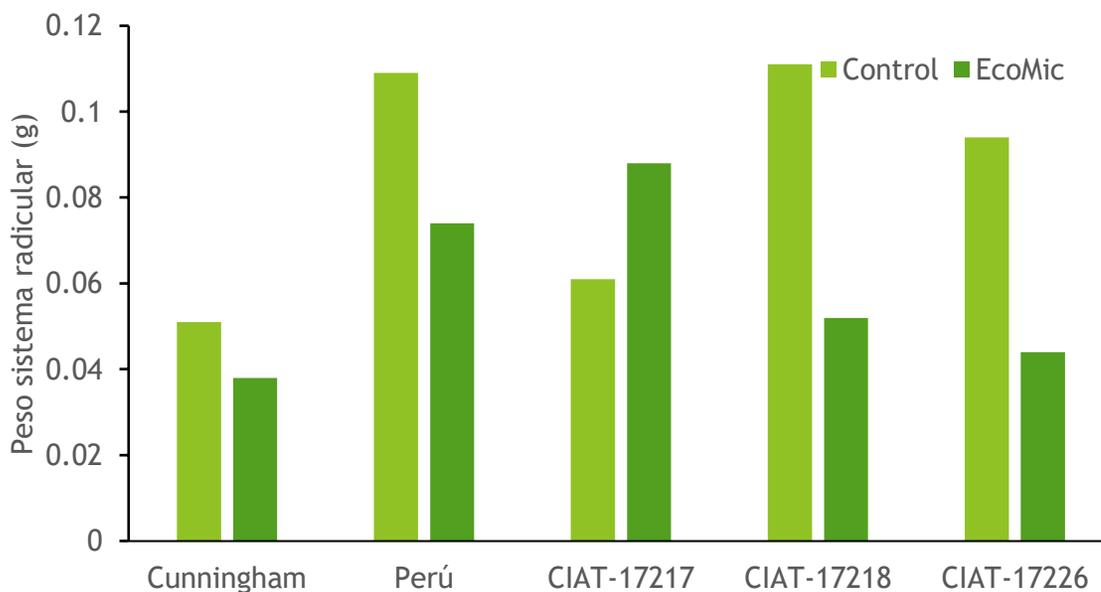


Figura 10. Efecto de la aplicación del EcoMic® en el peso del sistema radicular de las plántulas de diferentes accesiones de *L. leucocephala*

En la figura 11 se ilustra el comportamiento del peso de la parte aérea. De las cinco accesiones en estudio, solo CIAT-17217+ EcoMic® superó al control. Mientras que el valor más alto fue registrado para el control de CIAT-17218

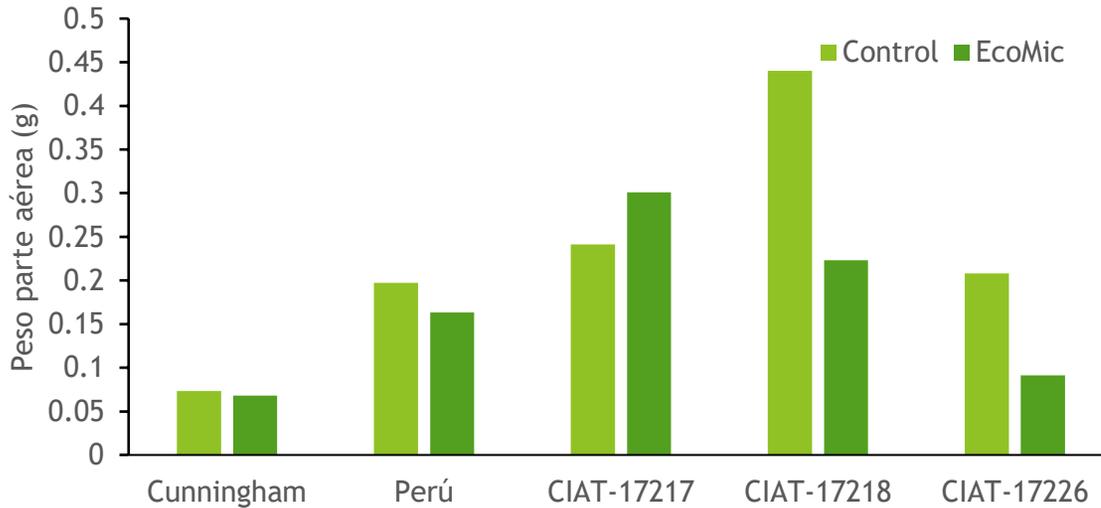


Figura 11. Efecto de la aplicación del EcoMic® en el peso de la parte aérea de las plántulas de diferentes accesiones de *L. leucocephala*.

Análisis global e interpretación de los resultados

Al contrastar los resultados de ambas etapas de evaluación (30 y 60 días posteriores a la siembra), con los del porcentaje de germinación, pudiera pensarse que, aunque el EcoMic® fue efectivo en la estimulación de la capacidad germinativa no ofreció la misma respuesta en el crecimiento inicial de las plántulas en el vivero. Cáceres (2018) al evaluar el desempeño de diferentes accesiones del género *Leucaena* planteó que no necesariamente las plantas que presenten mayor germinación son las de mejor comportamiento en crecimiento y vigor (Cáceres, 2018).

Por otra parte, Wencomo *et al.* (2011) consideraron que el lento crecimiento inicial en las plantas de este género pudiera ser de índole específica. Lo que evidencia que las diferencias entre las accesiones no parecen desempeñar un papel decisivo cuando se trata de obtener un material con un establecimiento mucho más rápido. Por otra parte, autores como Cooksley (1974) también han determinado la existencia de un proceso lento en la especie *L. leucocephala*, en sus primeros estadios.

Ello pudiera estar relacionado, además, con la cantidad de área foliar, la dinámica del crecimiento y la expansión foliar (Díaz, 2006), al igual que con la partición de la biomasa con cierta prioridad durante las primeras semanas hacia el sistema radical. Además, Shelton (2000) afirmó que el sistema radical en los árboles tiene un alto componente de raíces

permanentes estructurales, así como un sistema de raicillas que son las responsables de la asimilación del agua y los nutrientes.

El aumento que ocurre posteriormente en el crecimiento de las plantas puede que esté vinculado con una marcada producción de hojas (Stür *et al.*, 1994) o con el arribo a niveles satisfactorios de índice de área foliar, indicador que según Díaz (2006) está muy relacionado con el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Un análisis global de las variables evaluadas a los 30 días de la siembra en el vivero a pleno sol, permite identificar que los valores más altos se registraron en aquellos tratamientos que combinaron el uso del EcoMic® en la accesión CIAT-17218, esta última únicamente mostró el mejor comportamiento con el control en una de las cinco variables en estudio (largo del sistema radicular).

El mismo análisis, pero en las evaluaciones a los 60 días permitió visualizar que el cultivar Perú exhibió el mejor desempeño cuando se aplicó EcoMic® en el lecho de siembra, en cuatro de las cinco variables en estudio, al igual que la accesión CIAT-17217, aunque es meritorio destacar que en esta accesión ambos tratamientos (con y sin EcoMic®) resultaron eficientes tanto para la altura de las plántulas como para el largo del sistema radicular. Sin dejar de mencionar los valores registrados para

Todo lo cual evidencia el efecto positivo de la aplicación del EcoMic®. Autores como Trappe (1987) y Aguilera *et al.* (2007) estiman que el 95% de las especies de plantas superiores presentan características micotróficas, es decir que se asocian con hongos micorrízicos.

La importancia de las endomicorrizas o Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) ha aumentado en la última década ocasionado por diversos estudios que reportan los efectos benéficos sobre las plantas, que van desde el incremento en la absorción de nutrimentos del suelo (Nakano *et al.* 2001; Luna *et al.* 2016), su influencia sobre las relaciones hídricas y la protección contra agentes patógenos (Ruiz, 2001; Allen *et al.* 2003; Martínez y Pugnaire 2009) hasta el importante papel ecológico que parecen jugar estas asociaciones en la sucesión de especies en las comunidades vegetales naturales (Cuenca *et al.* 2007; Garzón, 2016).

Por otra parte, los HMA constituyen una estrategia necesaria en el mejoramiento de los fertilizantes minerales con el establecimiento de los Sistemas Agrícolas Eficientemente

Micorrizados (SAEM), permitiendo el trasplante en campo de posturas micorrizadas con mayores beneficios para el futuro desarrollo de las plántulas, sin agotar las reservas del suelo con el uso y manejo de los HMH (EcoMic). (Castellano *et al.* 2016).

Es importante destacar que en esta tesis se están comparando cinco accesiones de *L. leucocephala*, dos de las cuales son variedades comerciales aprobadas por el Ministerio de la Agricultura del país.

En Cuba el cultivar Perú es una de las variedades recomendadas para la alimentación de los rumiantes (La O *et al.*, 2005) y a su vez una de las de mayor uso en los sistemas de producción animal. Mientras que autores como Hernández y Simón (1993) aseveran que Cunningham posee potencialidad para competir con las gramíneas en pastoreo cuando se somete a buen manejo.

Por otra parte, algunas investigaciones con el producto comercial a base de HMA informan de su empleo en plantaciones de leucaena (Cuesta *et al.*, 2007; Reyes, 2006) pero aún no existen reportes en la literatura internacional y nacional que se pesquisó, sobre hallazgos científicos del empleo del EcoMic® en el vivero para estimular el vigor de las semillas de accesiones del género *Leucaena* y por consiguiente garantizar mejor desempeño posterior al trasplante en campo.

Conclusiones

- El empleo del EcoMic® como tratamiento presiembra resultó beneficioso para la emergencia de las plántulas, resaltando Cunningham y CIAT- 17226
- Para la emergencia de plántulas, la accesión CIAT-17218 mostró potencial con y sin el tto presiembra.
- Al estudiar por separado las variables relacionadas con el vigor se destacan como accesiones destacadas: Perú, CIAT-17218 y CIAT- 17226

Recomendaciones

- Realizar esta secuencia de investigación en otras accesiones del genero *Leucaena* que han sido seleccionadas como promisorias para sistemas silvopastoriles con anterioridad.
- Evaluar en las variedades Cunningham y Perú, así como en las accesiones CIAT-17226 y CIAT-17218, la combinación de EcoMic® en el momento de la siembra en vivero con la aplicación de tratamientos de escarificación de las semillas para buscar mayores respuestas en cuanto a la expresión del vigor.

Referencias Bibliográficas

1. Aguilera, L.L.; Olalde, V.; Rubí, M. & Contreras, R. 2007. Micorrizas arbusculares. *ErgoSum*. 14(3): 300-306.
2. Allen, M. F., Allen, E. B. y Gomez-Pompa, A. 2005. Effects of mycorrhizae and non target organisms on restoration of a seasonal tropical forest in Quintana Roo, Mexico: factors limiting tree establishment. *Restoration Ecology*, 13(2), 325-333
3. Allen, M.F.; Swenson, N.; Querejeta, J.L.; Egerton–Warburton, L.M. & Treseder, K.K. 2003. Ecology of Micorrhizae: A Conceptual Framework for Complex Interactions Among Plants and Fungi. *Ann. Rev. Phytopatoly*. p41.
4. Anguiano, J. M.; Aguirre, J. y Palma, J. M. 2012. Establecimiento de *Leucaena leucocephala* con alta densidad de siembra bajo cocotero (*Cocos nucifera*). *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 46: 103-107
5. Anguiano, J. M.; Aguirre, J. y Palma, J. M. 2013. Secuestro de carbono en la biomasa aérea de un sistema agrosilvopastoril de *Cocos nucifera*, *Leucaena leucocephala* Var. Cunningham y *Pennisetum purpureum* Cuba CT-115. *Avances en Investigación Agropecuaria* 17: 149-160
6. Bansi H, Wina E, Matitaputy PR, Tufarelli V. 2014. Evaluation of Zapoteca tetragona forage as alternative protein source in ruminants' feeding. *Ital J Anim Sci*.13:147–150
7. Barros-Rodríguez M, Solorio-Sánchez J, Sandoval-Castro C, Klieve AV, Briceno-Poot EB, Ramirez-Aviles L, Rojas-Herrera R. 2013. Effect of two intake levels of *Leucaena leucocephala* on rumen function sheep. *Trop Grasslands-Forrajés Tropicales*. 1:55–57
8. Barroso Frómata, L., Abad Michel, M., Rodríguez Hernández, P. and Jerez Mompié, E., 2015. Aplicación de FitoMas-E y EcoMic® para la reducción del consumo de fertilizante mineral en la producción de posturas de cafeto. *Cultivos Tropicales*. 36(4):158-167.
9. Beiha, E. 2007. Biofertilizante EcoMic®. <http://productosinca.blogspot.com>. Consultado: [8 de marzo de 2018].

10. Benech-Arnold, R.L. & Sánchez, R.A., 2017. Modeling weed seed germination. En *Seed development and germination* (Ed. Kigel J.) Dekker, New York. p 545
11. Kigel, J. and Galili, G., Eds., *Seed Development and Germination*, Dekker, New York, 545-566
12. Besnier, F. 1965. *Semillas: Biología y Tecnología*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España. 394p.
13. Bichoff, R.S., Okumura, R.S., Oliveira, R.S., Sodre, D.C. & Valente, G.F. 2018. Overcoming seed dormancy and evaluation of viability in *Leucaena leucocephala*. *Australian Journal of Crop Science*, 12(1):168
14. Brewbaker, J. L., & C. T. Sorensson. 1990. *Leucaena*: new tree crops from interspecific hybrids. En: *Advances in new crops* (Eds. J. Janick and J. Simon). Timber Press, Portland, Oregon, USA. p 283
15. Cáceres, J. 2018. Caracterización, evaluación morfoagronómica y selección de ocho accesiones de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. Tesis para optar por el Título de Máster en Pastos y Forrajes. Universidad de Matanzas, Cuba
16. Calle, Z., Murgueitio, E. & Chará, J. 2012. Integrating forestry, sustainable cattle - ranching and landscape restoration. *Unasyuva*. 63:31- 40
17. Carvalho, N. M. & Nakagawa, J. 2012. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Jaboticabal: FUNEP. 5ta Ed. 590p.
18. Castellanos, L.; Abreus, M.; Silva, C.N.; Rivera, R.; Fuentes, I.; Parets, E.; Prado, R. & Romero, M. 2016. Efecto de la adición de cachaza, roca fosfórica y biofertilizantes en el suelo sobre el contenido de fósforo y el desarrollo de plántulas de caña de azúcar. *Cultivos Tropicales*. 37(4): 145-151.
19. Chará, J., Camargo, J.C., Calle, Z., Bueno, L., Murgueitio, E., Arias, L., Dossman, M., Molina, E.J. and El Hatico, R.N., 2015. Servicios ambientales de sistemas silvopastoriles intensivos: mejoramiento del suelo y restauración ecológica. *Sistemas agroforestales: funciones productivas, socioeconómicas y ambientales*. CIPAV/CATIE, Cali/Turrialba, p.331-348
20. Chará, J.; Solarte, A.; Giraldo, C.; Zuluaga, A.; Murgueitio, E.; Walschburger, T. y León, J. (2009). *Evaluación ambiental del proyecto de ganadería colombiana*

- sostenible. Fundación Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria-CIPAV. Colombia. 78 p.
21. Ciotti, E. M.; S. Altuve & F. Reyes. 2006. Calidad de Semillas en *Stylosanthes guianensis* cv Graham. Universidad Nacional de Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Resumen: A-017. Catedra Forrajicultura-Facultad de Ciencias Agrarias. Corrientes, Argentina. p. 2131
 22. Constantino, M., Gomez-Alvarez, R., Alvarez-Solis, D., Pat-Fernandez, J. M., Espin y E. G. 2010. Efecto de la biofertilización y los biorreguladores en la germinación y el crecimiento de *Carica papaya* L. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 12(2): 103-115.
 23. Cooksley, D.G. 1974. A study of preplanting herbicide, nitrogen, burning and post-emergence cultivation on the establishment of *Leucaena leucocephala*. *Qd. J. Agric. Anim. Sci.* 31:271.
 24. Cruz, Yoanna; García, Milagro; León, Yailis & Acosta, Yenssi. 2014. Influence the application of arbuscular mycorrhiza and the reduction of mineral fertilizer in tobacco seedlings. *Cultivos Tropicales*. 35 (1):21-24
 25. Cuenca, G., Cáceres, A., Oirdobro, G., Hasmy, Z. & Urdaneta, C. (2007). Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia*. 32(1): 23-29
 26. Cuesta, I. Rengifo, E. y Pérez, M. 2007. Influencia de diferentes dosis de *Glomus mosseae* sobre plántulas de *C. odorata*. 4to Congreso Forestal de Cuba. Palacio de las convenciones de La Habana. ISBN: 978-959-282-048-7.
 27. Dagang, B. K. y Nair, K. R. (2003). Silvopastoral research and adoption in Central America: recent findings and recommendations for future directions. *Agroforestry Systems* 59: 149-155.
 28. Daza, P.C. and Osorio, N.W., 2011. Promoción de crecimiento y absorción de fósforo de plántulas de *Leucaena* por un hongo micorrizal en un suelo degradado por minería de aluvión. *Suelos Ecuatoriales*, 41(2):144-149.
 29. Delouche, J. 1971 Determinants of seed quality. Seed technology laboratory. Missisipi. State University. USA .p. 53-68

30. Díaz, Maykelis. 2006. Fisiología del crecimiento y el desarrollo. En: Compendio de Conferencias del Programa de la Maestría en Pastos y Forrajes. Curso: Fundamentos de la Producción de Pastos. Matanzas, Cuba 25 p.
31. Duffus, C. and Slaugther, C., 1985. *Las semillas y sus usos*. Editor AGT, S.A. México D.F. México
32. Duncan, D. B. 1955. Multiple ranges and multiple F. Test. *Biometric*.11:1-42
33. Falcón, E.: Riera, M.C. & Rodríguez, O. 2013. Efecto de la inoculación de hongos micorrizógenos sobre la producción de posturas forestales en dos tipos de suelos. *Cultivos Tropicales*. 34(3):32-39.
34. FEDEGAN, 2006. Plan Estratégico de la Ganadería Colombiana 2019. Federación de Ganaderos de Colombia-FNG. Bogotá.
35. Garzón, L. P. 2016. Importancia de las micorrizas arbusculares (MA) para un uso sostenible del suelo en la Amazonia colombiana. *Revista Luna Azul* (42): 217-234
36. Gutiérrez C., L. y J. Dorantes L. 2004. Potencialidades de especies con uso tradicional del Estado de Veracruz como opción para establecer plantaciones forestales comerciales. Universidad Veracruzana. Xalapa, México. 378 p.
37. Hampton, J.G. y Tekrony, D.M. 1995. Handbook of vigour test methods. 3rd Edition. International Seed Testing Association. Zürich, Switzerland. 117p.
38. Hartmann, H.T. y Kester, D.E. 2000. Propagación de plantas. Principios prácticos. 8^a edición. Editorial continental. México. 760p.
39. Hernández, I. & Simón, L. Los sistemas silvopastoriles: empleo de la agroforestería en las explotaciones ganaderas. *Pastos y Forrajes*. 16(2):99-109
40. Hernández, A.; Pérez, J.M.; Bosch, D. & Castro, N. 2015. Clasificación de los suelos de Cuba. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Ministerio de Educación Superior (MES). Instituto de Suelos, Ministerio de Agricultura (MINAG). La Habana, Cuba. 93 p.
41. INCA. 2007. Manual de instructivo técnico del EcoMic®. Permiso de Seguridad Biológica No. 41/02. Patente No. 22641. San José de las Lajas, Cuba
42. ISTA. 2014. Rules proposals for the international rules for seed testing. International Seed Testing Association. Bassersdorf, Switzerland. 53 p

43. Kigel, J., 2017. Seed germination in arid and semiarid regions. In *Seed development and germination*. Routledge. p645
44. Krishnamurthy, L. y Ávila, M. (1999). *Agroforestería básica*. Serie de textos básicos para la formación ambiental No. 3. Editorial PNUMA. México. 340 pp.
45. La O, O.; Chongo, Berta; Delgado, Denia; Ruiz, T. E.; Elías, A.; Stuart, J. & Torres, Verena. 2005. Degradabilidad ruminal de materia seca y nitrógeno total de 6 ecotipos de *Leucaena*. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 37:267.
46. Ley Rivas, J. F., Sánchez Rendón, J. A., Ricardo Nápoles, N. E., & Collazo Albernas, E. E. 2015. Efecto de cuatro especies de hongos micorrizógenos arbusculares en la producción de frutos de tomate. *Agronomía Costarricense* 39(1): 47-59
47. Lozano, M. D.; Amparo, C. G.; Vanegas, M. A.; Figueroa, L.; Ramírez, G. M.; Carrero, H. G.; Constanza, V. N. y Aguirre, M. C. (2006). *Sistemas silvopastoriles con uso de biofertilizantes: opción tecnológica para el Valle Cálido del Alto Magdalena*. CORPOICA. Colombia. 32 pp.
48. Lozano-Contreras, M. G., Rivas-Pantoja, F., & Castillo-Huchim, J. E. 2013. Crecimiento de plántulas de *Brachiaria brizantha* en respuesta a la aplicación de hongos micorrizógenos y bacterias diazotróficas. *Pastos y Forrajes*. 36(2): 227-232.
49. Luna, M.A. & Mesa, J.R. 2016. Microorganismos eficientes y sus beneficios para los agricultores. *Revista Científica Agroecosistemas*. 4(2): 31-40
50. Marcos Filho, J. M. 2015. *Fisiología de Sementes de Plantas Cultivadas*. Londrina, PR: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes - ABRATES, 659 p.
51. Martínez, L.B. & Pugnaire, F.I. 2009. Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. *Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente: Ecosistema*. 18(2):44-54.
52. Martínez-Viera, R. & Dibut, A. D. 2012. *Biofertilizantes bacterianos*. La Habana: Editorial Científico-Técnica. 279p
53. Matthews, S.; Noli, E.; Demir, I.; Khajehhosseini, M. & Wagner, M. H. 2012. Evaluation of seed quality: from physiology to international standardization. *Seed Science Research*. 22(1):69-73

54. Miransari, M. & Smith, D.L. 2014. Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*. 99:110-121
55. Mengana, A. 2011. Manejo del suministro hídrico en el cultivo de la cebolla (*Allium cepa*) con empleo de alternativas biológicas en ecosistemas frágiles. Tesis de Maestría en Agricultura Sostenible. Universidad de Guantánamo. Guantánamo, Cuba. 63 p
56. Shu, K., Liu, X.D., Xie, Q. & He, Z.H., 2016. Two faces of one seed: hormonal regulation of dormancy and germination. *Molecular plant*. 9(1):34-45.
57. Mujica Pérez, Y., 2012. Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) por dos vías diferentes en el cultivo del tomate (*Solanun lycopersicum* L.). *Cultivos Tropicales*. 33(4): 71-76.
58. Murgueitio, E. y Solorio, B. (2008). El Sistema Silvopastoril Intensivo, un modelo exitoso para la competitividad ganadera en Colombia y México. En: *V Congreso Latinoamericano de Agroforestería para la Producción Pecuaria Sostenible*. Universidad Rómulo Gallegos, Universidad Central de Venezuela, Universidad de Zulia. Venezuela
59. Murgueitio, E.; Calle, Z.; Uribe, F.; Calle, A. y Solorio, B. (2011). Native trees and shrubs for the productive rehabilitation of tropical cattle ranching lands. *Forest Ecology and Management* 261: 1654-1663.
60. Murgueitio, R. E.; Hernández, M. C.; Riascos, V. M.; Cuartas, C.; Uribe, T. F. y Lopera, J. J. (2007). *Montaje de modelos ganaderos sostenibles basados en sistemas silvopastoriles en seis subregiones lecheras de Colombia*. Fundación CIPAV. Colombia.
61. Musálem, M. A. (2002). Sistemas agrosilvopastoriles: una alternativa de desarrollo rural sustentable para el trópico mexicano. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 8: 91-100.
62. Nakano, A., Kasuski, T. & Kimura, M. 2001. Efect of Host School Clipping on Carbon and Nitrogen Sources for Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Mycorrhiza*. 10 (6): 287-293
63. Navarro, Marlen. 2002. Evaluación del vigor de las semillas de *Albizia lebbek* (L.) durante la emergencia de plántulas. Tesis de Maestría en Pastos y Forrajes. Ministerio de Educación Superior. Matanzas, Cuba. 100 p.

64. Navarro, Marlen. 2009. Comportamiento interactivo de la germinación, la dormancia, la emergencia y el crecimiento inicial como atributos biológicos para evaluar el vigor de las semillas de *Albizia lebbbeck* (L.) Benth. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba. 101p.
65. Navarro, M., Febles, G. & Torres, V. 2012. Bases conceptuales para la estimación del vigor de las semillas a través de indicadores del crecimiento y el desarrollo inicial. *Pastos y Forrajes*. 35(3): 233–246
66. Navarro, Marlen; Febles, G. & Herrera, R.S. 2015. The vigor: essential element of seed quality. *Cuban Journal of Agriculture Science*. 49(4):437-442.
67. Noda, Yolai & Castañeda, Lisset. 2012. Efecto del EcoMic® en la emergencia de plántulas de *Jatropha curcas* (Nota Técnica). *Pastos y Forrajes*. 35(4):401-406.
68. Pagiola, S.; Agostini, P.; Gobbi, J.; de Haan, C.; Ibrahim, M.; Murgueitio, E.; Ramírez, E.; Rosales, M. & Ruíz, J. P. 2004. *Pago por servicios de conservación de la biodiversidad en paisajes agropecuarios*. The World Bank Environment Department. United States of America. 40 pp.
69. Parrotta, J.A. 1992. *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. SO-ITFSM-52. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 8p.
70. Pérez, L.; Hernán, D.; Ortiz, Z. & Marcela, Nehisy M. 2015. *Evaluación del uso de micorrizas en el cultivo de café (Coffea arabiga) en etapa de producción en la finca El Petén comunidad Los Robles-Jinotega, Nicaragua*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua
71. Pezo, D. A.; Ibrahim, M.; Beer, J. y Camero, L. A. 1999. *Oportunidades para el desarrollo de sistemas silvopastoriles en América Central*. Serie Técnica, Informe Técnico No. 311. CATIE. Costa Rica. 46 pp.
72. Pezo, D.; Ibrahim, M. y Casasola, F. 2008. El pago por servicios ambientales: acelerador del cambio tecnológico en sistemas ganaderos basados en pasturas. En: Tejos, R. (Ed.). *XII Seminario Manejo y Utilización de Pastos y Forrajes en Sistemas de Producción Animal*. Mérida, Yucatán, México. pp. 1-11.

73. Ponce, R. A. 2015. Inoculación de dos especies forestales con diferentes dosis de micorrizas vesículo-arbusculares a nivel de vivero. Tesis Ingeniero Agrónomo, UNESUM, Ecuador
74. Powlson, D. S; Gregory, P. J; Whalley, W. R.; Quinton J. N.; Hopkins, D. W.; Whitmore, A. P.; Hirsch, P. R., y Goulding, K. W. 2011. Soil management in relation to sustainable agriculture and ecosystem services. *Food Policy* 36:S72 - S87
75. PROSEMILLAS, 2002. Productora de Semillas. Memorias. 7º. Curso-Taller de Semilla de Pastos. Germipasto, S. A. La Ceiba, Honduras 10 al 13 de abril 2002.
76. Reyes, J. 2006. Respuesta de *Leucaena leucocephala* cv. Perú a la inoculación con rizobio en áreas ganaderas afectadas por salinidad. Resúmenes. IV Congreso Latinoamericano de Agroforestería para la producción pecuaria sostenible. III Simposio sobre los sistemas silvopastoriles para la producción ganadera sostenible. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. p. 28
77. Rivera, R., Nápoles, M.C., Falcón, A., Plana, R., Marrero, Y., Calderón, A., Martín, J.V., Hernández, I., Calaña, J.M., Hernández, A. and Lara, D. 2015. Factibilidad e impacto económico de la aplicación conjunta del EcoMic®, Azofert® y Quitomax® en la producción de frijol y su generalización en la provincia de Mayabeque. *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas*.
78. Rivera, R.; Ruiz, L.; Rivera, M.; Simó, J.; Fundora, A.R.; Calderón, A.; Martín, J.V.; Manero, Y. & Joao, J.P. 2012. La efectividad del biofertilizante EcoMic® en el cultivo de la yuca. Resultados de las campañas de extensiones con productores. *Cultivos tropicales*. 33(1):5-10
79. Ruiz, L. 2001. Efectividad de las asociaciones micorrízicas en especies vegetales de raíces y tubérculos en suelos Pardos con Carbonatos y Ferralíticos Rojos en la región Central de Cuba. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA. 150p.
80. Ruiz, T.E. & Febles, G. 2006. Agrotecnia para el fomento de sistemas con leguminosas. Parte 2. En: Recursos Forrajeros Herbáceos y Arbóreos. (Ed. Milagros Milera). EEPF "Indio Hatuey" Matanzas, Cuba-Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. p. 103.

81. Ruiz-Sánchez, M., Geada, D., Muñoz Hernández, Y., Martínez, A., Santana, Y., Benítez, M., & Ruiz-Lozano, J. M. 2015. La simbiosis micorrízica arbuscular en plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) sometidas a estrés hídrico. Parte II Respuesta bioquímica. *Cultivos Tropicales*. 36(3): 88-95
82. Santana, M. 1998. Los sistemas agroforestales y su clasificación. En: Santana M. y Valencia, J. (Eds.). *Seminario producción ganadera sostenible, silvopastoreo*. CORPOICA. Caucasia. pp. 1-55.
83. Shelton, H. M. 1996. El género *Leucaena* y su potencial para los trópicos. En: *Leguminosas forrajeras arbóreas en la agricultura tropical*. En: Clavero, T. (Ed.). Fundación Polar, Universidad del Zulia, Centro de transferencia de tecnología en pastos y forrajes. Venezuela. p. 17-28
84. Shelton, M. & Dalzell, S., 2007. Production, economic and environmental benefits of leucaena pastures. *Tropical grasslands*, 41(3):174.
85. Shelton, H.M. 2000. Potential and limitation of *Leucaena* spp for Silvopastoral System. In: Simposio Internacional: Sistemas Agroforestais Pecuários na América de Sul. 18 – 20 de Setembro 2000. Brasil. (CD ROM)
86. Soltan, Y.A., Morsy, A.S., Lucas, R.C. and Abdalla, A.L., 2017. Potential of mimosine of *Leucaena leucocephala* for modulating ruminal nutrient degradability and methanogenesis. *Animal Feed Science and Technology*. 223: 30-41.
87. Stür, W.W.; Shelton, H.M. & Gutteridge, R.C. 1994. Desfoliation and management of forage tree legumes. In: Tree legumes in tropical agriculture. (Gutteridge R.C. and Shelton, H.M, eds). CAB International. Wallingford, U.K. p. 144-157
88. Torres, J. A.; Espinoza, W.; Reddiar, L. y Vázquez, A. (2011). Secuestro de carbono en potreros arbolados, potreros sin árboles y bosque caducifolio de Huatusco, Veracruz. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 13: 543-549.
89. Torres, V., Ramos, N., Lizazo, D., Monteagudo, F. & Noda, A. 2008. Modelo estadístico para la medición del impacto de la innovación o transferencia tecnológica en la rama agropecuaria. *Cuban Journal of Agricultural Science*. 42(2): 133–139
90. Trappe, J.M. 1987. Phylogenetic and Ecologic Aspects of Mycotrophy in the Angiosperms from an Evolutionary Standpoint, en Safir, G.R. (Ed.) *Ecolphysiology of V–A Mycorrhizal Plants*. CRC.Press Inc., Boca Raton, Florida , USA.

91. Velasco, J.; Aguirre, G. & Ortuno, N. Humus líquido y microorganismos para favorecer la producción de lechuga (*Lactuca sativa* var. Crespa) en cultivo de hidroponía. *J. Selva Andina Biosph.* 4 (2):71-83.
92. Wencomo, H.B., Álvarez, A., Coto, O., Díaz, M. and Ortíz, R., 2011. Caracterización morfoagronómica e isoenzimática de 23 accesiones de *Leucaena* spp. *Pastos y Forrajes*, 34(4), pp.413-432.
93. Wulff, R.D., 2017. Environmental maternal effects on seed quality and germination. En *Seed development and germination*. (Ed. Kigel, J & Galili, G) New York: Marcel Dekker, p. 491
94. Yamamoto, W.; Dewi, I. A. e Ibrahim, M. (2007). Effects of silvopastoral areas on milk production at dual-purpose cattle farms at the semi-humid old agricultural frontier in central Nicaragua. *Agricultural Systems* 94: 368-375.
95. Zárate, P.S. 1994. Revisión del género *Leucaena* en México. *Anales del Instituto de Biología Serie Botánica*. 65: 83-162