

Yield of Mulato II grass inoculated with *Bradyrhizobium sp.* and *Glomus cubense* under agricultural drought conditions

Rendimiento de pasto Mulato II inoculado con *Bradyrhizobium sp.* y *Glomus cubense*, en condiciones de sequía agrícola

C. J. Bécquer Granados¹, R. Reyes Rosseaux², D. Fernández Milanés², P. J. González Cañizares³ and F. Medinilla Nápoles⁴

¹Estación Experimental de Pastos y Forrajes de Sancti Spiritus, Apdo. 2255, ZP. 1, C. P. 62200, Sancti Spiritus, Cuba

²Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes, Sede. Fontanar, Rancho Boyeros, La Habana, Cuba.

³Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Carretera a Tapaste, km 3 ½, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

⁴Centro Meteorológico Provincial de Sancti Spiritus

Email: pastosp@enet.cu

A field experiment was carried out, under conditions of agricultural drought, to evaluate the effect of an isolate of *Bradyrhizobium sp.* and a strain of *Glomus cubense* in *Brachiaria híbrido* cv. CIAT 36087 (Mulato II), in order to select the best treatment for its subsequent evaluation under different edaphoclimatic conditions and cultivars of this species. In 1 ha, cultivated with Mulato II for three years, five divisions of 0.20 ha each were carried out. After deep grazing, treatments were applied. The inoculation was carried out according to established methodologies. The experimental design was of control plots, with 5 treatments and 5 replications. ANOVA analysis was performed. Differences among means were determined by Duncan test. Treatments consisted of simple applications of inoculants, the combination of these, absolute control and fertilized control. In the 1st cut, yield of aerial biomass with Ho5 + INCAM4 (6.14 t ha⁻¹) was superior to the rest of inoculated treatments and to control, although lower than the fertilized control. In the 2nd cut, this combination was superior to the rest of treatments (6.56 t ha⁻¹), except for the fertilized control, which was repeated in the 3rd cut, with a yield of 6.35 t ha⁻¹. CP content was higher in Ho5 + INCAM4 (9.01%), with respect to the inoculated treatments and to the control, although inferior to the fertilized control. In nutrient extraction, with this combination, as well as with the simple application of INCAM4, statistical superiority was observed. In general, it can be concluded that the combination of *Bradyrhizobium sp.* and *G. cubense*, in the three cuts, showed superior results in the aerial biomass yield and in the CP content of plants, although the inoculation only with *G. cubense*, and in combination with *Bradyrhizobium sp.*, led to a greater P extraction.

Key words: inoculants, *Brachiaria híbrido*, aerial biomass, extraction

Feeding of cattle in Cuba is mainly based on the use of grasses. Forage species of the Poaceae family (grasses) are the most important group of plants for humans (Aguado *et al.* 2004), due to availability as food, which is a factor that influences significantly on production systems (Rubio *et al.* 2013). However, low fertility of the soils dedicated to livestock and the impossibility of having sufficient quantities of fertilizers to guarantee an adequate nutrition of these crops, due to their high prices in the international market, limit the yields and quality of the biomass that cattle consumes and, consequently, reduce their

Se efectuó un experimento de campo, en condiciones de sequía agrícola, para evaluar el efecto de un aislado de *Bradyrhizobium sp.* y una cepa de *Glomus cubense* en *Brachiaria híbrido* cv. CIAT 36087 (Mulato II), con el objetivo de seleccionar el mejor tratamiento para su posterior valoración en diferentes condiciones edafoclimáticas y cultivares de dicha especie. En 1 ha, cultivada durante tres años con Mulato II, se efectuaron cinco divisiones de 0.20 ha cada una. Después de un pastoreo profundo, se aplicaron los tratamientos. La inoculación se efectuó según metodologías establecidas. El diseño experimental fue de parcelas testigo, con 5 tratamientos y 5 réplicas. Se realizó análisis de ANOVA. Las diferencias entre medias se determinaron por Duncan. Los tratamientos consistieron en aplicaciones simples de los inoculantes, la combinación de éstos, control absoluto y testigo fertilizado. En el 1er corte, el rendimiento de la biomasa aérea con Ho5+INCAM4 (6.14 t ha⁻¹) fue superior al resto de los tratamientos inoculados y al control, aunque inferior al testigo fertilizado. En el 2do corte, esta combinación fue superior al resto de los tratamientos (6.56 t ha⁻¹), excepto al testigo fertilizado, lo cual se repitió en el 3er corte, con un rendimiento de 6.35 t ha⁻¹. El contenido de PB fue superior en Ho5+INCAM4 (9.01%), con respecto a los tratamientos inoculados y al control, aunque inferior al testigo fertilizado. En la extracción de nutrientes, con esta combinación, así como con la aplicación simple de INCAM4, se observó superioridad estadística. Se concluye de forma general, que la combinación de *Bradyrhizobium sp.* y *G. cubense*, en los tres cortes, mostró resultados superiores en el rendimiento de la biomasa aérea y en el contenido de PB de las plantas, aunque la inoculación sólo con *G. cubense*, y en combinación con *Bradyrhizobium sp.* condujo a una mayor extracción de P.

Palabras clave: inoculantes, *Brachiaria híbrido*, biomasa aérea, extracción.

La alimentación del ganado en Cuba se sustenta principalmente en el uso de gramíneas pratenses. Las especies forrajeras de la familia Poaceae (gramíneas) son el grupo de plantas más importante para el hombre (Aguado *et al.* 2004), debido a la disponibilidad para la alimentación, factor que influye significativamente en los sistemas de producción (Rubio *et al.* 2013). Sin embargo, la baja fertilidad de los suelos dedicados a la ganadería y la imposibilidad de disponer de cantidades suficientes de fertilizantes para garantizar una adecuada nutrición de estos cultivos, debido a sus altos precios en el mercado internacional, limitan los rendimientos y la calidad de

productivity. As a palliative to this situation, new drought-resistant species with greater productive potential and better quality have been introduced. *Brachiaria* genus, in recent times, has been enriched with hybrid species of high forage importance, such as *Brachiaria híbrido* cv. CIAT 36087 (Mulato II), due to its high adaptability and persistence in acid soils, of medium and low fertility, for its efficient growth and durability, even under drought conditions, its high production of good quality biomass and the high degree of acceptance by animals (Argel *et al.* 2007).

On the other hand, the use of microbial biofertilizers based on mycorrhizae and growth-promoting bacteria allow the pastures to persist, adapt and increase productivity through the beneficial properties of microorganisms. This facilitates greater and more efficient nutrient uptake, such as the greater acquisition of phosphorus and solubilization of mineral elements or mineralization of organic compounds (Druille *et al.* 2015 and Ramos *et al.* 2015). There are reports on the superior effect of biofertilizers in the production of aerial biomass and increase of the foliar chemical-bromatological composition in *Urochloa ruziziensis* plants (Silva *et al.* 2015). Also Bécquer *et al.* (2017) reported that the combination of *Bradyrhizobium sp.* and *Trichoderma harzianum* caused the increase in aerial biomass and dry weight of the spike of *Cenchrus ciliaris*, in the presence of stress due to drought.

The objective of the experiment was to evaluate the effect of a native isolate of *Bradyrhizobium sp.* and a commercial strain of *Glomus cubense* in Mulato II grass, under agricultural drought conditions, in order to select the best treatment for its subsequent evaluation in different edaphoclimatic conditions and cultivars of this species.

Materials and Methods

Experimental period and location. The experiment was carried out in the period from April to September 2018, in areas of the Niña Bonita genetic livestock enterprise, located at 23.00° N and 88.55° W.

Basic characteristics of experimental soil (table 1). The soil was identified as lixiviated red ferralitic (Hernández *et al.* 2015), which presented a slightly acidic pH, low contents of assimilable phosphorus (P_2O_5) and medium contents of interchangeable potassium (K^+) and organic matter. Ca^{2+} , Mg^{2+} and base exchange capacity (BEC) showed characteristic values of this type of soil (Paneque and Calaña 2001). Prior to the assembly of the experiment, 10 soil samples were taken in the area by the zigzag method at a depth of 0-20 cm for their chemical characterization.

Soil analyzes were carried out using methods established in the soil, organic fertilizers and vegetable tissue laboratory of the department of biofertilizers and plant nutrition of the National Institute of Agricultural Sciences (INCA, initials in Spanish).

la biomasa que consume el ganado y, en consecuencia, reducen su productividad. Como paliativo a esta situación, se han introducido nuevas especies resistentes a la sequía, con mayor potencial productivo y mejor calidad. El género *Brachiaria*, en los últimos tiempos, se ha enriquecido con especies híbridas de alta importancia forrajera, como *Brachiaria híbrido* vc. CIAT 36087 (Mulato II), debido a su alta capacidad de adaptación y persistencia en suelos ácidos, de mediana y baja fertilidad, por su eficiente crecimiento y perdurabilidad, aún en condiciones de sequía, su alta producción de biomasa de buena calidad y alto grado de aceptación por los animales (Argel *et al.* 2007).

Por otra parte, el empleo de biofertilizantes microbianos basados en micorrizas y bacterias promotoras de crecimiento permiten que los pastos persistan, se adapten e incrementen la productividad a través de las propiedades benéficas de los microorganismos, lo que facilita mayor y más eficiente captación de nutrimentos, entre lo que se destaca, la mayor adquisición de fósforo y la solubilización de elementos minerales o la mineralización de compuestos orgánicos (Druille *et al.* 2015 y Ramos *et al.* 2015). Existen reportes sobre el efecto superior de biofertilizantes en la producción de biomasa aérea e incremento en la composición química-bromatológica foliar, en plantas de *Urochloa ruziziensis* (Silva *et al.* 2015). También Bécquer *et al.* (2017) informaron que la combinación de *Bradyrhizobium sp.* y *Trichoderma harzianum* provocó aumento en la biomasa aérea y peso seco de la espiga de *Cenchrus ciliaris*, en presencia de estrés por sequía.

El objetivo del experimento se centró en evaluar el efecto de un aislado nativo de *Bradyrhizobium sp.* y una cepa comercial de *Glomus cubense* en pasto Mulato II, en condiciones de sequía agrícola, para seleccionar el mejor tratamiento para su posterior valoración en diferentes condiciones edafoclimáticas y cultivares de dicha especie.

Materiales y Métodos

Período experimental y localización. El experimento se realizó en el período comprendido de abril hasta septiembre de 2018, en áreas de la empresa pecuaria genética Niña Bonita, ubicada a 23.00 grados latitud Norte y 88.55 grados longitud Oeste.

Características básicas del suelo experimental (tabla 1). El suelo se identificó como ferralítico rojo lixiviado (Hernández *et al.* 2015), el cual presentó un pH ligeramente ácido, bajos contenidos de fósforo asimilable (P_2O_5) y contenidos medios de materia orgánica y potasio intercambiable (K^+). El Ca^{2+} , Mg^{2+} y la capacidad de intercambio de bases (CCB) presentaron valores característicos de este tipo de suelo (Paneque y Calaña 2001). Previo al montaje del experimento, en el área se tomaron 10 muestras de suelo por el método del zigzag a una profundidad de 0-20 cm para su caracterización química.

Para los análisis del suelo se utilizaron los métodos establecidos en el laboratorio de suelos, abonos orgánicos y tejido vegetal del departamento de biofertilizantes y

Table 1. Chemical characteristics of soil (0-20 cm deep)

Type of soil	pH H ₂ O	OM (%)	P ₂ O ₅ (mg 100 g ⁻¹)	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	BEC
				(cmol kg ⁻¹)				
Lixiviated red Ferralitic	6.3	3.25	2.8	9.7	2.2	0.15	0.34	12.40
SD ±	0.2	0.11	0.3	0.8	0.3	0.02	0.07	0.42

Climate data during the experimental period. Figure 1 shows that, in the period from January to April (month of the beginning of the experiment), rainfall was scarce, with monthly accumulations lower than the historical one (73.6% in April), so the application of inoculants was carried out in a stressful environment for plants and microorganisms.

However, precipitations started to increase in May, with a monthly accumulation superior to the historical one (183.9%), which fell to 37% in July, with 115.2% in August and dropped to 38.6% in September, month of the third cut.

nutrición de las plantas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA).

Datos del clima durante el período experimental. En la figura 1 se observa, que en el período transcurrido desde enero hasta abril (mes de comienzo del experimento), las precipitaciones fueron escasas, con acumulados mensuales inferiores al histórico (73.6% en abril), por lo que la aplicación de los inoculantes se efectuó en un ambiente estresante para plantas y microorganismos.

Sin embargo, el nivel de precipitaciones aumentó a partir de mayo, con acumulado mensual superior al histórico (183.9%), el cual decayó a 37% en julio, con

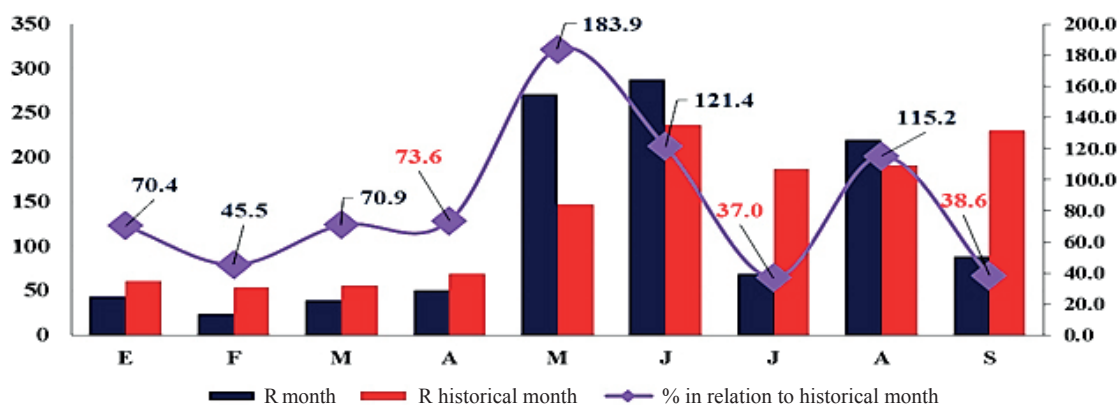


Figure 1. Monthly and historical precipitations, and % regarding historical precipitations January-September/2018

Regarding the intensity of the agricultural drought during the time the experiment lasted (table 2), it is considered that it varied from very severe (April, 1st and 2nd tens of May, 2nd and 3rd tens of July, 1st and 2nd tens of August), until light (3rd tens of June, and 1st tens of September) and very light (2nd and 3rd tens of September). This data indicates that the experiment, in general, took place under agricultural drought conditions, which was accentuated in the months of April, May and August (CMP 2018).

Plant material. *Brachiaria hibrido* cv. CIAT 36087 (Mulato II), as established grass

Microorganisms, inocula preparation and grass inoculation. HMA strain; EcoMic® product was used, with a formulation based on the HMA *Glomus cubense* strain, which was selected for its high efficiency index, according to previous tests conducted under similar conditions to those of this experiment (González *et al.* 2007).

For its application, a certified solid inoculant containing 25 spores g⁻¹ of substrate was used, produced in the department of biofertilizers and plant nutrition of INCA, and applied a broadcast sowing, at a rate of 50 kg ha⁻¹.

un 115.2% en agosto y bajó hasta 38.6% en septiembre, mes del 3er corte.

En cuanto a la intensidad de la sequía agrícola durante el tiempo que duró el experimento (tabla 2), se considera que varió de muy severa (abril, 1ra y 2da decena de mayo, 2da y 3era decena de julio, 1era y 2da decena de agosto), hasta ligera (3era decena de junio, 1era decena de septiembre) y muy ligera (2da y 3era decena de septiembre). Este dato indica que el experimento, en general, transcurrió en condiciones de sequía agrícola, la cual se acentuó en los meses de abril, mayo y agosto (CMP 2018).

Material vegetal. *Brachiaria hibrido* vc. CIAT 36087 (Mulato II), pasto establecido.

Microorganismos, preparación de los inóculos e inoculación del pasto. Cepa de HMA; Se utilizó el producto EcoMic®, formulado sobre la base de la cepa de HMA *Glomus cubense*, la cual se seleccionó por su alto índice de eficiencia, según ensayos anteriores realizados en condiciones similares a las que se condujo este experimento (González *et al.* 2007).

Para su aplicación, se utilizó un inoculante sólido certificado que contenía 25 esporas g⁻¹ de sustrato, producido en el departamento de biofertilizantes y nutrición de las plantas del INCA, y se aplicó a voleo,

Table 2: Category of the agricultural drought in the EPG Niña Bonita, April- September/2018 (CMP 2018)

Month/tens	Agricultural drought intensity category	Key
April 01	5	Very severe drought
April 02	5	Very severe drought
April 03	5	Very severe drought
May 01	5	Very severe drought
May 02	5	Very severe drought
May 03	4	Severe drought
June 01	4	Severe drought
June 02	4	Severe drought
June 03	2	Light drought
July 01	4	Severe drought
July 02	4	Severe drought
July 03	5	Very severe drought
August 01	5	Very severe drought
August 02	5	Very severe drought
August 03	3	Moderate drought
September 01	2	Light drought
September 02	1	Very light drought
September 03	1	Very light drought

Rhizobium isolate. Ho5 isolate was used, which belong to the genus *Bradyrhizobium sp.* (Bécquer *et al.* 2016), microsymbion of *Centrosema virginianum*, legume from an arid livestock ecosystem of Holguín, Cuba. It was selected based on previous results obtained in different crops, inoculated with that isolate (Bécquer *et al.* 2018).

The isolate grew in a yeast-mannitol solid medium (Vincent 1970) and was resuspended in a yeast-mannitol liquid medium until a viable cell concentration of 10^7 - 10^8 CFU / mL was achieved. The inoculation was done with a sprayer backpack with the spout directed to the furrow. To do this, first, the base inoculum was mixed with common water, at a ratio of 1:10 up to reaching 12 L of the final suspension (each backpack), and it was applied at a rate of 30 L/ha. This activity was carried out in the cool hours of the morning.

The microbial inoculants were only applied at the beginning of the experiment. Three cuts were made, at intervals of approximately 60 days each, the first cut was made on June 1, the second, on August 1, and the third, on September 30, 2018. Broadcasting N fertilizer was also applied, at the beginning of the experiment and after the first cut ($50 \text{ kgN ha}^{-1} \text{ cut}^{-1}$).

Agrotechnical procedures. One hectare dedicated to grazing was used, which had been cultivated for three years with Mulato II and it was divided into five plots of 0.20 ha (100m x 20m) each. In April 2018, coinciding with the beginning of the first spring rains, an intensive grazing was carried out and then the treatments were applied.

a razón de 50 kg ha^{-1} .

Aislado de rizobio. Se utilizó el aislado Ho5, perteneciente al género *Bradyrhizobium sp.* (Bécquer *et al.* 2016), microsimbionte de *Centrosema virginianum*, leguminosa procedente de un ecosistema ganadero árido de Holguín, Cuba, el cual se seleccionó sobre la base de anteriores resultados que se obtuvieron en diferentes cultivos, inoculados con dicho aislado (Bécquer *et al.* 2018).

El aislado creció en medio sólido levadura-manitol (Vincent 1970) y se resuspendió en medio líquido levadura-manitol hasta lograr una concentración de células viables de 10^7 - 10^8 UFC/mL. La inoculación se realizó con una mochila aspersora con el surtidor dirigido al surco. Para ello, primeramente, se mezcló el inóculo base con agua común, en proporción de 1:10 hasta llegar a 12 L de la suspensión final (cada mochila), y se aplicó a razón de 30 L/ha. Esta actividad se realizó en horas frescas de la mañana.

Los inoculantes microbianos solo se aplicaron al inicio del experimento. Se efectuaron tres cortes, a intervalos de aproximadamente 60 días cada uno, el primer corte se efectuó el 1ro de junio, el segundo, el 1ro de agosto, y el 3ero, el 30 de septiembre del 2018. El fertilizante nitrogenado también se aplicó a voleo, al inicio del experimento y después del primer corte ($50 \text{ kgN ha}^{-1} \text{ corte}^{-1}$).

Procedimientos agrotécnicos. Se tomó 1 ha dedicada a pastoreo, cultivada durante tres años con Mulato II y se dividió en cinco parcelas de 0.20 ha (100m x 20m), cada una. En abril del 2018, al coincidir el comienzo de las

Experimental design and statistical analysis. The experimental design consisted on control plots (Lerch 1976), of 2000m² each, with 5 treatments and 10 replications, which consisted of 10 samples taken at random in each plot, with frames of 1 m². An ANOVA analysis was performed. The differences among means were determined by Duncan (1955) comparison test. The statistical program StatGraphics (Statistical Graphics Corporation, version 2.0.0.0.) was used.

Treatments

1. Absolute control
2. Fertilized control (50 kgN ha⁻¹ cut⁻¹)
3. INCAM4 strain (*Glomus cubense*)
4. Isolated Ho5 (*Bradyrhizobium sp.*)
5. INCAM4 + Ho5 (moment of the cut)

Evaluated variables. Yield of aerial biomass (DM, t ha⁻¹) was evaluated, as well as crude protein content (CP, %) and concentration of P (g kg⁻¹) and K (g kg⁻¹) in the biomass aerial (averages of three cuts). Yield of dry mass (DM) of the aerial biomass (kg ha⁻¹) was estimated from the percentage of DM and the yield of green mass (GM) of each plot. It was cut at a height of 10 cm from the soil and the GM of the aerial part of the plants, that were located in the calculation area of each plot, was weighed with a balance of 0.25 kg of precision and a sample of 200 g was taken, which was taken to an air circulation oven at 70°C, until reaching a constant mass to determine DM percentage, according to the formula:

$$DM (\%) = [DM \text{ of the sample (g)}/GM \text{ of the sample (g)}] \times 100$$

DM yield was estimated from the formula:

$$DM (\text{kg plot}^{-1}) = [GM (\text{kg plot}^{-1}) \times DM (\%)/100] \text{ (This data was subsequently extrapolated to t ha}^{-1}\text{)}$$

The extraction of N, P or K (g kg⁻¹), was calculated as follows:

$$[\text{Dry mass (DM) aerial part (g kg}^{-1}\text{)} \times \% \text{ of the element in the DM aerial part}] / 100$$

Crude protein content (%) was calculated by the formula (Kalra 1998):

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Nitrogen} \times 6.25$$

The analyses of soil and of nutrient concentrations in the biomass were carried out according to the analytical techniques established in the soil and plant tissue laboratory of Biofertilizers and Plant Nutrition Department of the INCA (Paneque *et al.* 2011).

Likewise, the relative efficiency index (IEI, %) was calculated based on DM yield of aerial biomass, CP content and P concentration, according to the formula (Santillana *et al.* 2012):

$$IEI: [\text{Inoculated Treatment-Absolute Control} / \text{Absolute Control}] \times 100$$

In addition, the relative agronomic efficiency (EAR, %) was calculated, based on the DM yield of aerial biomass, CP content and P concentration, according to the formula (Matheus *et al.* 2007):

$$EAR: [\text{Inoculated Treatment-Absolute Control} / \text{Fertilized control-Absolute control}] \times 100$$

primeras lluvias de la primavera, se realizó un pastoreo a fondo y seguidamente se aplicaron los tratamientos.

Diseño experimental y análisis estadístico. El diseño experimental fue de parcelas testigos (Lerch 1976), de 2 000m² cada una, con 5 tratamientos y 10 réplicas, que consistieron en 10 muestras tomadas al azar en cada parcela, con marcos de 1m². Se realizó un análisis de ANOVA. Las diferencias entre medias se determinaron por la prueba de comparación de Duncan (1955). Se utilizó el programa estadístico StatGraphics (Statistical Graphics Corporation, versión 2.0.0.0.).

Tratamientos

1. Control absoluto.
2. Testigo fertilizado (50 kgN ha⁻¹ corte⁻¹).
3. Cepa INCAM4 (*Glomus cubense*).
4. Aislado Ho5 (*Bradyrhizobium sp.*).
5. INCAM4+Ho5 (momento del corte).

Variables que se evaluaron. Se evaluó el rendimiento (MS, t ha⁻¹) de la biomasa aérea, así como el contenido de proteína bruta (PB,%) y concentración de P (g kg⁻¹) y K (g kg⁻¹) en la biomasa aérea (promedios de tres cortes). El rendimiento de masa seca (MS) de la biomasa aérea (kg ha⁻¹) se estimó a partir del porcentaje de MS y el rendimiento de masa verde (MV) de cada parcela. Se cortó a una altura de 10 cm del suelo y se pesó la MV de la parte aérea de las plantas que se encontraban en el área de cálculo de cada parcela con una balanza de 0,25 kg de precisión y se tomó una muestra de 200 g, que se llevó a una estufa de circulación de aire a 70 °C, hasta alcanzar una masa constante para determinar el porcentaje de MS, de acuerdo con la fórmula:

$$MS (\%) = [MS \text{ de la muestra (g)}/MV \text{ de la muestra (g)}] \times 100$$

El rendimiento de MS se estimó a partir de la fórmula:

$$MS (\text{kg parcela}^{-1}) = [MV (\text{kg parcela}^{-1}) \times MS (\%)/100] \text{ (Este dato fue extrapolado posteriormente a t ha}^{-1}\text{)}$$

La extracción de N, P o K (g kg⁻¹) se calculó de la siguiente forma:

$$[\text{Masa Seca (MS) parte aérea (g kg}^{-1}\text{)} \times \% \text{ del elemento en la MS parte aérea}]/100$$

El contenido de proteína bruta (%) se calculó por la fórmula (Kalra 1998):

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} \times 6,25$$

Los análisis del suelo y de las concentraciones de nutrientes en la biomasa se realizaron según las técnicas analíticas establecidas en el laboratorio de suelo y tejido vegetal del Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas del INCA (Paneque *et al.* 2011).

Se calculó, así mismo, el índice de eficiencia relativa (IEI, %) sobre la base del rendimiento de MS de la biomasa aérea, del contenido de PB y de la concentración de P, según la fórmula siguiente (Santillana *et al.* 2012):

$$IEI: [\text{Tratamiento Inoculado-Control Absoluto}/\text{Control Absoluto}] \times 100$$

Además, se calculó la eficiencia agronómica relativa (EAR, %), sobre la base del rendimiento de MS de la biomasa aérea, contenido de PB y de la concentración

Results and Discussion

Aerial biomass yield, inoculation efficiency index (%) and relative agronomic efficiency (%), 1st, 2nd and 3rd cut. Table 3 shows that aerial biomass yield, in the inoculated treatments, in the 1st cut, was higher in the Ho5 + INCAM4 treatment (6.14 t ha⁻¹) compared to the rest of inoculated treatments and absolute control, although inferior to the fertilized control (6.82 t ha⁻¹). On the other hand, in the 2nd cut, the results were similar, and it is observed that aerial biomass yield in the inoculated treatments was higher with the combination of both microorganisms (6.56 t ha⁻¹), which exceeded also to absolute control (4.60 t ha⁻¹), although lower than the fertilized control (7.39 t ha⁻¹). The efficiency index of the inoculation confirmed the previous results of the statistical analysis, where the indexes reached by the treatment Ho5 + INCAM4 in the 1st cut (53.12%), as well as in the 2nd cut (48.61%), were superior to the rest. On the other hand, the highest relative agronomic efficiency was shown by this treatment, with 75.80% (1st cut) and 70.25% (2nd cut). Although the cuts were made 60 days apart, there is a similarity in efficiency values in the inoculated treatments, when comparing the results of one cut, in relation to the other, which supports the possibility of a stability of the microbial population in the soil, until the 2nd cut, without the reinoculation of treatments.

de P, según la fórmula (Matheus *et al.* (2007):

EAR: [Tratamiento inoculado-Control absoluto/ Testigo Fertilizado-Control absoluto]x100

Resultados y Discusión

Rendimiento de biomasa aérea, índice de eficiencia de la inoculación (%) y eficiencia agronómica relativa (%). 1er, 2do y 3er corte. En la tabla 3 se observa que el rendimiento de la biomasa aérea, en los tratamientos inoculados, en el 1er corte, fue superior en el tratamiento Ho5+INCAM4 (6.14 t ha⁻¹) en comparación con el resto de los tratamientos inoculados y el control absoluto, aunque inferior al testigo fertilizado (6.82 t ha⁻¹). Por otra parte, en el 2do corte, los resultados fueron similares, y se observa que el rendimiento de la biomasa aérea en los tratamientos inoculados fue superior con la combinación de ambos microorganismos (6.56 t ha⁻¹), lo que superó también al control absoluto (4.60 t ha⁻¹), aunque inferior al testigo fertilizado (7,39 t ha⁻¹). El índice de eficiencia de la inoculación corroboró lo que el análisis estadístico mostró anteriormente, donde se destacan los índices alcanzados por el tratamiento Ho5+INCAM4 en el 1er corte (53.12%), así como en el 2do corte (48.61%), superior al resto. Por su parte, la eficiencia agronómica relativa más alta se mostró para dicho tratamiento, con 75.80 % (1er corte) y 70.25 % (2do corte). Aunque los cortes se efectuaron con 60 días de diferencia, existe una similitud en valores de eficiencia en los tratamientos inoculados, al comparar los resultados de un corte, en relación con el otro, lo que respalda la posibilidad de una estabilidad de la población microbiana en

Table 3. Aerial biomass yield (t ha⁻¹ DM) of grass, index of inoculation efficiency (%) and relative agronomic efficiency (%), 1st, 2nd and 3rd cut

Treatments	t ha ⁻¹ DM 1st cut	IEI, %	EAR, %	t ha ⁻¹ DM 2nd cut	IEI, %	EAR, %	t ha ⁻¹ DM 3rd cut	IEI, %	EAR (%)
Absolute control	4.01 ^e			4.60 ^e			4.35 e		
Fertilized control	6.82 ^a			7.39 ^a			7.22 a		
INCAM4	5.33 ^c	32.92	46.98	5.88 ^c	27.83	45.88	5.63 c	29.43	44.60
Ho5	4.65 ^d	15.96	22.78	5.19 ^d	12.83	21.15	4.78 d	9.89	14.98
Ho5 + INCAM4	6.14 ^b	53.12	75.80	6.56 ^b	42.61	70.25	6.35 b	45.98	69.69
SE±	0.21**			0.23**			0.22**		

^{abcde}Different letters indicate significant differences p<0.001

The obtained values of dry matter yield were superior in all the treatments to those reported by Guiot (2005) for this cultivar, in different soils, with nitrogen and phosphoric chemical fertilization.

It was also observed that the single application of each of these microorganisms, although with inferior results to those of their combination, was superior to absolute control yield, where the treatment inoculated with the INCAM4 strain was highlighted, with 5.33 t⁻¹ (1st cut) and 5.88 t ha⁻¹ (2nd cut). This type of result agrees with reports of González *et al.* (2011), when inoculating Mulato II grass with *Glomus hoi*-like in a

el suelo, hasta el 2do corte, sin reinocular los tratamientos.

Los valores de rendimiento de materia seca que se obtuvieron son superiores en todos los tratamientos a los reportados por Guiot (2005) para este cultivar, en diferentes suelos, con fertilización química nitrogenada y fosfórica.

También se observó, que la aplicación simple de cada uno de estos microorganismos, aunque con resultados inferiores a los de su combinación, fue superior al rendimiento del control absoluto, donde se destacó el tratamiento inoculado con la cepa INCAM4, con 5.33 t ha⁻¹ (1er corte) y 5,88 t ha⁻¹ (2do corte). Este tipo de resultado concuerda con lo que reportaron González

lixiviated red ferralitic soil. Likewise, it coincides with Bécquer *et al.* (2017), who made a simple inoculation with Ho5 isolate, in the *Cenchrus ciliaris* L. (Buffel cv. Formidable), under drought stress, which is an environmental condition that coincides with those of the present experiment.

However, there are interrelationships among microorganisms in ecosystems, such as synergistic, antagonistic, biochemical and physical competition. Multifunctionality of these microorganisms in agricultural systems is expressed in accordance with biotic factors, as well as edaphoclimatic factors (Salinas and Soriano 2014). Everything seems to indicate that the combination of the two microorganisms used in the present experiment led to a synergy by positive interaction, which should have influenced on its superiority in the studied variable. Bécquer *et al.* (2017) obtained higher values of the aerial biomass of *Cenchrus ciliaris* L., in comparison with the absolute control, when inoculating the Ho5 isolate (*Bradyrhizobium sp.*), in combination with *Funneliformis mosseae*, under water stress conditions. Also, in similar stressful environmental conditions, Bécquer *et al.* (2018), obtained superior results in *Cynodon dactylon*, when inoculated with the Ho5 isolate, combined with a strain of *Trichoderma harzianum*.

Table 2 also shows that the yield of aerial biomass, in the inoculated treatments, in the 3rd cut, as in the previous cuts, was higher in the Ho5 + INCAM4 treatment (6.35 t ha⁻¹) compared with the rest of the inoculated treatments and absolute control (4.35 t ha⁻¹), although inferior to the fertilized control (7.22 t ha⁻¹). On the other hand, the index of efficiency of inoculation highlights the indexes reached by Ho5 + INCAM4 treatment (45.98%), superior to the rest. The highest relative agronomic efficiency was shown for this treatment, with 69.69%.

The beneficial effect of the mycorrhizal inoculation on the increase of aerial biomass yield could be related to the influence of the strain introduced in the improvement of the nutritional status of plants. It is known that the addition of efficient strains of HMA can increase the effectiveness of the absorption of soil nutrients, and this is translated into an increase in grass biomass production (González 2014). On the other hand, the synthesis of auxins by rhizobia, especially indoleacetic acid, promotes the radical development and improves water and soil nutrient absorption and, therefore, plant development (Caballero-Mellado 2006).

It is important to observe in figures 2 and 3, that the values obtained in the 3rd cut, in all treatments, are lower than in the 1st cut (inoculation efficiency index), and even lower than those of the 2nd cut (relative agronomic efficiency). However, the treatment that showed the greatest decrease was the simple application of Ho5. This result could be taken into consideration to recommend a second inoculation, from the 3rd cut,

et al. (2011), al inocular pasto Mulato II con *Glomus hoi*-like en un suelo Ferralítico rojo lixiviado, así como Bécquer *et al.* (2017), al inocular de forma simple el aislado Ho5, en el pasto *Cenchrus ciliaris* L. (Buffel vc. Formidable), bajo estrés por sequía, condición ambiental que coincide con las del presente experimento.

No obstante, existen interrelaciones entre microorganismos en los ecosistemas, como sinérgicas, antagónicas, de competencia física y bioquímica. La multifuncionalidad de estos microorganismos en los sistemas agrícolas se expresa de acuerdo con factores bióticos, así como los factores edafoclimáticos (Salinas y Soriano 2014). Todo parece indicar, que la combinación de los dos microorganismos que se utilizaron en el presente experimento, derivó en una sinergia por interacción positiva, lo cual debió incidir en su superioridad en la variable que se estudió. Bécquer *et al.* (2017) obtuvieron valores superiores de la biomasa aérea de *Cenchrus ciliaris* L., en comparación con el control absoluto, al inocular el aislado Ho5 (*Bradyrhizobium sp.*), en combinación con *Funneliformis mosseae*, en condiciones de estrés hídrico. También, en similares condiciones ambientales estresantes, Bécquer *et al.* (2018), obtuvieron resultados superiores en *Cynodon dactylon*, al inocularlo con el aislado Ho5, combinado con una cepa de *Trichoderma harzianum*.

La tabla 2 muestra también que el rendimiento de la biomasa aérea, en los tratamientos inoculados, en el 3er corte, al igual que en los cortes anteriores, fue superior en el tratamiento Ho5 + INCAM4 (6.35 t ha⁻¹) en comparación con el resto de los tratamientos inoculados y el control absoluto (4.35 t ha⁻¹), aunque inferior al testigo fertilizado (7.22 t ha⁻¹). Por otra parte, en el índice de eficiencia de la inoculación se destacan los índices alcanzados por el tratamiento Ho5+INCAM4 (45.98%), superior al resto. La eficiencia agronómica relativa más alta se mostró para dicho tratamiento, con 69.69%.

El efecto beneficioso de la inoculación micorrízica en el aumento del rendimiento de la biomasa aérea pudo estar relacionado con la influencia de la cepa introducida en la mejora del estado nutricional de las plantas. Se conoce que la adición de cepas eficientes de HMA puede incrementar la efectividad de la absorción de los nutrientes del suelo, y ello se traduce en un incremento de la producción de biomasa del pasto (González 2014). Por otra parte, la síntesis de auxinas por los rizobios, especialmente el ácido indolacético, promueve el desarrollo radical y mejora la absorción de agua y nutrientes del suelo y, por tanto, el desarrollo de la planta (Caballero-Mellado 2006).

Es importante observar en las figuras 2 y 3, que los valores que se obtuvieron en el 3er corte, en todos los tratamientos, son menores que en el 1er corte (índice de eficiencia de la inoculación), e incluso, menores también a los del 2do corte (eficiencia agronómica relativa). Sin embargo, el tratamiento que mayor decrecimiento mostró fue el de la aplicación simple de Ho5. Se podría tomar en consideración este resultado para recomendar

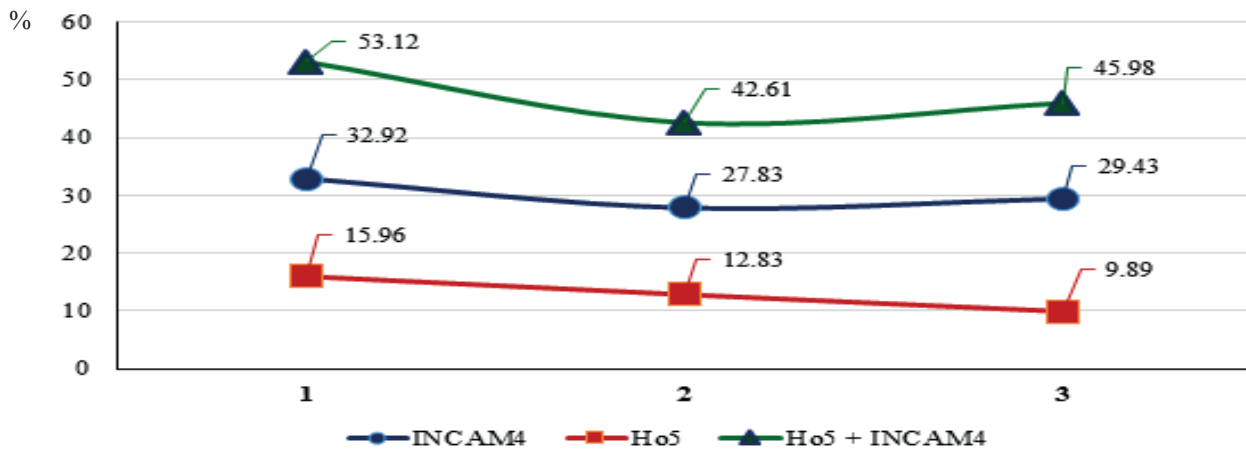


Figure 2. Inoculation efficiency index of inoculated treatments in the three cuts

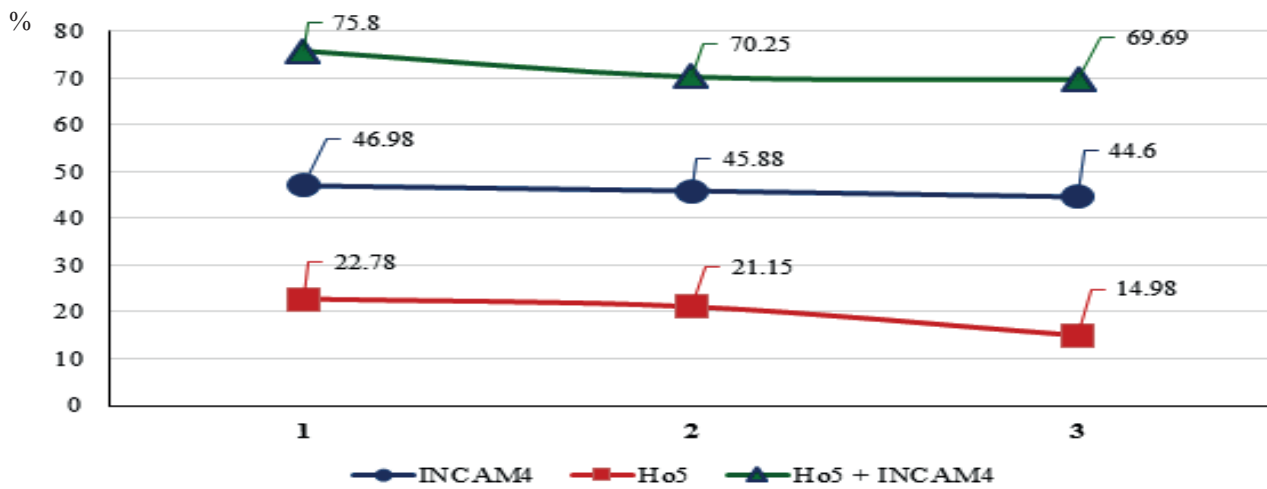


Figure 3. Relative agronomic efficiency of inoculated treatments in the three cuts

although future studies, in different environments and cultivars of *Brachiaria hibrido*, are needed to make a better explained recommendation.

CP content in the aerial biomass (average of three cuts), inoculation efficiency index (IEI, %) and relative agronomic efficiency (EAR, %). In table 4, CP content demonstrated the superiority of the Ho5 + INCAM4 treatment (9.01%), with respect to the rest of inoculated treatments, and to the control (7.29%), although it was lower than the fertilized control (9.93%). The inoculation efficiency index and the relative agronomic efficiency showed higher values in this combination (23.59% and 65.15%, respectively). As in the previous

una segunda inoculación, a partir del 3er corte, aunque futuros estudios, en diferentes ambientes y cultivares de *Brachiaria hibrido*, se imponen para poder hacer una recomendación más fundamentada.

Contenido de PB en la biomasa aérea (promedio de los tres cortes), índice de eficiencia de la inoculación (IEI, %) y eficiencia agronómica relativa (EAR, %). En la tabla 4, en la variable contenido de PB, se constató la superioridad del tratamiento Ho5+INCAM4 (9.01%) con respecto al resto de los tratamientos inoculados, y al control (7.29%), aunque fue inferior al testigo fertilizado (9.93%). El índice de eficiencia de la inoculación y la eficiencia agronómica relativa muestran valores más altos en dicha combinación

Table 4. CP content in the aerial biomass (average of three cuts), inoculation efficiency index (IEI, %) and relative agronomic efficiency (EAR, %)

Treatments	CP (%)	IEI (%)	EAR (%)
Absolute control	7.29 ^e		
Fertilized control	9.93 ^a		
INCAM4	8.35 ^c	14.54	40.15
Ho5	7.82 ^d	7.27	20.08
Ho5 + INCAM4	9.01 ^b	23.59	65.15
SE	0.17**		

^{abcde}Different letters indicate significant differences p<0.001

variable, the application of the two microorganisms, separately, resulted in lower values than those of the fertilized control and those of the combined treatment, but, in turn, they showed higher values than those of absolute control.

These results suggest that the plants presented a higher nitrogen supply, due to the increase in the use of soil nutrients, and humidity, from the increase of the mycorrhizal structures of the grass, and the effect of the rhizobium isolate in its root development. The HMAs improve the extraction of nutrients from the soil and their efficiency (Bitterlich and Franken 2016), which brings higher exports. On the other hand, growth promotion of non-legume plants, through rhizobia inoculation, may be related to the increase of root system, proliferation of root hairs and absorption of water and nutrients from the soil and, therefore, with the development of infected plants and a more efficient use of nitrogen and other nutrients (Biswas *et al.* 2000).

P and K concentration in the aerial biomass (average of three cuts), inoculation efficiency index (IEI, %) and relative agronomic efficiency (EAR, %). Table 4 shows, that, P concentration, in the treatment inoculated with the INCAM4 strain (2.68 g kg^{-1}) and in the combined treatment Ho5+INCAM4 (2.59 g kg^{-1}), had superior values regarding the rest of the treatments, which include absolute control (2.11 g kg^{-1}) and the fertilized control (2.24 g kg^{-1}). Also, these results are supported by the inoculation efficiency index, with values of 27.01 % in INCAM4, and 22.75 %, in the combination of the two microorganisms, and with similar results in the relative agronomic efficiency, which showed very high values for the treatment inoculated with INCAM4 (448.46 %), and for the combined treatment (369.23 %). On the other hand, the treatment inoculated with the Ho5 isolate, showed no differences in the concentration of this element (2.25 g kg^{-1}), with respect to absolute control and fertilized control, which indicates a null or poor activity phosphate solubilizer of the isolate.

In this regard, Rivera and Fernández (2003), in experiments carried out on red ferralitic and brown with carbonates soils, found that mycorrhizal symbiosis directly increased the absorption of the three

(23.59% y 65.15%, respectivamente). Al igual que en la variable anterior, la aplicación de los dos microorganismos, por separado, resultó en valores inferiores a los del testigo fertilizado y al tratamiento combinado, pero, a su vez, mostraron valores superiores a los del control absoluto.

Estos resultados sugieren que las plantas presentaron mayor suministro de nitrógeno, por el aumento del aprovechamiento de los nutrientes del suelo, y de la humedad, a partir del incremento de las estructuras micorrízicas del pasto, y del efecto del aislado de rizobio en su desarrollo radical. Los HMA mejoran la extracción de nutrientes desde el suelo y su eficiencia (Bitterlich y Franken 2016), lo que trae consigo mayores exportaciones. Por otra parte, la promoción del crecimiento de las plantas no pertenecientes a las leguminosas, mediante la inoculación por rizobios, puede estar relacionada con el incremento del sistema radical, la proliferación de los pelos radicales y la absorción de agua y nutrientes del suelo y, por lo tanto, con el desarrollo de las plantas infectadas y un uso más eficiente del nitrógeno y otros nutrientes (Biswas *et al.* 2000).

Concentración de P y K en la biomasa aérea (promedio de tres cortes), índice de eficiencia de la inoculación (IEI, %) y eficiencia agronómica relativa (EAR, %). En la tabla 4 se muestra, que, la concentración de P, tanto en el tratamiento inoculado con la cepa INCAM4 ($2,68 \text{ g kg}^{-1}$), así como en el tratamiento combinado Ho5+INCAM4 (2.59 g kg^{-1}), sus valores son superiores con respecto al resto de los tratamientos, donde se incluyen el control absoluto (2.11 g kg^{-1}) y el testigo fertilizado (2.24 g kg^{-1}). También, estos resultados se respaldan por el índice de eficiencia de la inoculación, con valores de 27.01% en INCAM4, y de 22.75%, en la combinación de los dos microorganismos, con similares resultados en la eficiencia agronómica relativa, la cual mostró valores muy altos para el tratamiento inoculado con INCAM4 (448.46%), y para el tratamiento combinado (369.23%). Por su parte, el tratamiento inoculado con el aislado Ho5, no mostró diferencias en la concentración de dicho elemento (2.25 g kg^{-1}), con respecto al control absoluto y al testigo fertilizado, lo que indica una nula o pobre actividad fosfato solubilizadora del aislado.

Al respecto, Rivera y Fernández (2003), en experimentos realizados en suelos ferralítico rojo y pardo con carbonatos, encontraron que la simbiosis

Table 5. P and K concentration in the aerial biomass (average of three cuts), inoculation efficiency index (IEI, %) and relative agronomic efficiency (EAR, %).

Treatments	P (g kg^{-1})	IEI (%)	EAR (%)	K (g kg^{-1})	IEI (%)	EAR (%)
Absolute control	2.11 ^b			18.3		
Fertilized control	2.24 ^b			17.8		
INCAM4	2.68 ^a	27.01	448.46	18.5	1.1	-
Ho5	2.25 ^b	06.64	107.69	17.2	-	-
Ho5 + INCAM4	2.59 ^a	22.75	369.23	18.6	1.64	-
SE	0.1**			00.3		

^{abcde}Different letters indicate significant differences $p < 0.001$

primary macroelements, through the increase in the concentration of these nutrients. The fact of conducting the experiment on an area dedicated to cattle grazing, should have influenced on the availability of organic matter, from animal depositions, which is rich in macronutrients that are not always easily assimilated by plants. In addition, it is known that HMA not only improve soil nutrient extraction, but also reduce their losses due to washing (Bender *et al.* 2015). Likewise, Cavagnaro *et al.* (2015) consider that the exploration of a greater volume of soil, the extensive networks of external mycelia that are formed, as well as the effective uptake of nutrients and immobilization of various ions in plants and fungal tissues, are some of the key mechanisms to reduce the washing of P and N through the HMA.

However, in the extraction of K, there were no differences among treatments, with insignificant results, or null in both indexes, which is in contradiction with some of the previously mentioned benefits. It is possible that, for K being the most soluble of the minerals, which is transferred into the soil through reflux and diffusion (Pradhan *et al.* 2017), its presence in the plant was due to greater availability at a given moment, when soil humidity allowed its easy absorption by the root system, regardless of the treatment in question. On the other hand, by not increasing the K content in the plant biomass with the application of biofertilizers, this could suggest a low participation of the applied microorganisms in the absorption of this macroelement, because its content in the soil, apparently, was enough to satisfy the requirements of the grass.

It should be taken into account that the application of biofertilizers to the crop was carried out in the month of lowest cumulative rainfall in the experimental period (figure 1), as well as one of the periods that showed a very severe agricultural drought intensity (table 2), without negatively affecting their beneficial effect on the plants, both on the yield of aerial biomass and on their bromatological composition, which may mean a tolerance of the microorganisms that composed this bioproduct, towards humidity scarcity in the soil, which is a characteristic that makes them promising for cattle rearing in Cuba.

It is concluded that, although the single application of *Glomus cubense* had a superior effect on the yield of the aerial biomass than that of *Bradyrhizobium sp.*, the combination of these two microorganisms, in the three cuts, showed superior results in the yield of the aerial biomass and in the CP content of plants. Decrease in inoculation efficiency indexes was observed from the 1st cut, especially for the treatment inoculated only with Ho5. On the other hand, the inoculation with *G. cubense*, alone, and in combination with *Bradyrhizobium sp.* led to a greater extraction of P by the plants, which did not happen in the extraction of K.

micorrízica incrementó directamente la absorción de los tres macroelementos primarios, a través del aumento en la concentración de estos nutrientes. El hecho de realizarse el experimento sobre un área dedicada al pastoreo del ganado debió influir en la disponibilidad de materia orgánica procedente de las deposiciones de los animales, la cual es rica en macronutrientes, que no siempre las plantas los asimilan fácilmente. Además, se conoce que los HMA no solo mejoran la extracción de nutrientes del suelo, sino que también reducen las pérdidas de estos por lavado (Bender *et al.* 2015). Así mismo, Cavagnaro *et al.* (2015) consideran que la exploración de un mayor volumen de suelo, las extensas redes de micelios externos que se forman, así como la efectiva captación de nutrientes y la inmovilización de diversos iones en las plantas y en los tejidos fúngicos, resultan algunos de los mecanismos clave para reducir el lavado de P y N a través de los HMA.

Sin embargo, en la extracción de K, no se detectaron diferencias entre tratamientos, con resultados insignificantes, o nulos en ambos índices, lo que está en contradicción con algunos de los beneficios que se citan anteriormente. Es posible que por ser K el más soluble de los minerales, el cual se traslada en el suelo a través de reflujos y difusión (Pradhan *et al.* 2017), su presencia en la planta obedeció a una mayor disponibilidad en un momento determinado, cuando la humedad del suelo permitió su fácil absorción por el sistema radical, independientemente del tratamiento en cuestión. Por otra parte, al no incrementarse el contenido de K en la biomasa vegetal con la aplicación de los biofertilizantes, esto pudiera sugerir una escasa participación de los microorganismos que se aplicaron en la absorción de este macroelemento, debido a que su contenido en el suelo, al parecer, fue suficiente para satisfacer los requerimientos del pasto.

Se debe tener en cuenta que la aplicación de los biofertilizantes al cultivo, se efectuó en el mes de menor acumulado de lluvias en el periodo experimental (figura 1), así como uno de los periodos que mostraron una intensidad de sequía agrícola muy severa (tabla 2), sin que ello incidiera negativamente en el efecto benéfico que ejercieron en las plantas, tanto en rendimiento de la biomasa aérea como en su composición bromatológica, lo que puede significar una tolerancia de los microorganismos que componen estos bioproductos hacia la escasez de humedad en el suelo, característica que los hace promisorios para la práctica ganadera en Cuba.

Se concluye que, aunque la aplicación simple de *Glomus cubense* tuvo un efecto superior en el rendimiento de la biomasa aérea que la de *Bradyrhizobium sp.*, la combinación de estos dos microorganismos, en los tres cortes, mostró resultados superiores en el rendimiento de la biomasa aérea y en el contenido de PB de las plantas. Se observó decrecimiento en los índices de eficiencia de la inoculación a partir del 1er corte, sobre todo para el tratamiento inoculado sólo con Ho5. Por otra parte, la inoculación con *G. cubense*, de forma simple, y en

It is recommended to evaluate the effect of the combination of Ho5 isolate (*Bradyrhizobium sp.*) with INCAM4 strain (*Glomus cubense*), under different edaphoclimatic conditions and cultivars of *Brachiaria hibrido*.

combinación con *Bradyrhizobium sp.* condujo a una mayor extracción de P por las plantas, lo cual no ocurrió así en la extracción de K.

Se recomienda evaluar el efecto de la combinación del aislado Ho5 (*Bradyrhizobium sp.*) con la cepa INCAM4 (*Glomus cubense*), en diferentes condiciones edafoclimáticas y cultivares de *Brachiaria hibrido*.

References

- Aguado, S., Gerardo, A., Rascón, C. Q., Pons, H. J. L., Grageda, C. O. & García, M. E. 2004. Manejo biotecnológico de gramíneas forrajeras. *Revista Técnica Pecuaria en México*, 42(2):261-276.
- Argel, P. J., Miles, J. W., Guiot, J. D., Cuadrado, H. & Lascano, C. E. 2007. Cultivar Mulato II (*Brachiaria hibrido* CIAT 36087): gramínea de alta calidad y producción forrajera, resistente a salivazo y adaptada a suelos tropicales ácidos, bien drenados. Centro Internacional de Agricultura Tropical. 22 p. www.grupopapalotla.com
- Bécquer, C. J., Ávila, U., Puentes, A., Nápoles, J. A., Cancio, T., Medinilla, F.; Muir, I. & Madrigal, Y. 2017. Respuesta de *Cenchrus ciliaris* L. (Buffel cv. Formidable), inoculado con *Bradyrhizobium sp.* y *Trichoderma harzianum*, bajo estrés de sequía. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 51(2): 1-10.
- Bécquer, C. J., Galdo, Y., Ramos, Y., Peña, M. D., Almaguer, N., Peña, Y. F., Mirabal, A., Quintana, M. & Puentes, A. 2016. Rhizobia isolated from forage legumes of an arid cattle rearing ecosystem in Holguín, Cuba. Morpho-cultural evaluation and nodulation (Phase I). *Cuban Journal of Agricultural Science*. 50(4): 607-617.
- Bécquer, C. J., González, P. J., Ávila, U., Nápoles, J. A., Galdo, Y., Muir, I., Hernández, M. & Medinilla, F. 2018. Tolerancia de *Cenchrus ciliaris* L al estrés de sequía con la aplicación de microorganismos benéficos y Quitomax®. In: XXI Congreso INCA, Varadero, Cuba. Poster CMM-P.23. ISBN 978-959-7023-99-9
- Bécquer, C. J., Nápoles, J. A., Ávila, U., Galdo, Y., Hernández, M., Muir, I., Álvarez, O. & Medinilla, F. 2018. Productividad de bermuda Tifton 85, inoculada con *Bradyrhizobium sp.* y *Trichoderma harzianum*, sometida a estrés de sequía agrícola. *Pastos y Forrajes*, 41 (3): 196-201.
- Bender, S. F.; Conen, F. & Heijden, M. G. A. van der. 2015. Mycorrhizal effects on nutrient cycling, nutriente leaching and N₂O production in experimental grassland. *Soil Biol. Biochem.* 80:283-292.
- Biswas, J. C., Ladha, J. K. & Dazzo, F. B. 2000. Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Sc. Soc. of America J.* 64:1644-1650.
- Bitterlich, M. & Franken, P. 2016. Connecting polyphosphate translocation and hyphal water transport points to a key of mycorrhizal functioning. *New Phytol.* 211:1147-1149.
- Caballero-Mellado, J. 2006. Microbiología agrícola e interacciones microbianas con plantas. *Rev. Lat. Microbiol.* 48: 154-161.
- Cavagnaro, T. R., Bender, S. F., Asghari, H. R. & Heijden, M. G. A. van der. 2015. The role of arbuscular mycorrhizas in reducing soil nutrient loss. *Trends Plant Sci.* 20:283-290.
- CMP (Centro Meteorológico Provincial) 2018. Resumen climático y estado de la sequía en la Empresa Pecuaria Genética Niña Bonita. Período enero 2018 - noviembre 2018. Artemisa, Cuba: Instituto de Meteorología (INSMET), 5 p.
- Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 11(1):1-42.
- Druille, M., Acosta, G., Acosta, A., Rossi, J. L., Bailleres, M. & Golluscio, R. 2015 Respuesta de la simbiosis micorrízica en plantas de *Lotus tenuis* sometidas a manejos contrastantes. In: 38° Congreso Argentino de Producción Animal, Departamento de Producción Animal. Facultad de Agronomía. UBA. 2Chacra Experimental Integrada Chascomús-Ministerio de Asuntos Agrarios-INTA. Available: <http://ppct.caicyt.gov.ar/index.php/rapa/article/viewFile/7176/pdf>.
- González, P. J., Plana, R., Fernández, F. & Igarza, E. 2007. Respuesta de *Brachiaria hibrido* cv. Mulato (CIAT 36061) a la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares. *Pasturas Tropicales*. 29(1): 19-24.
- González P. J. 2014. Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular vía inoculación y la fertilización mineral en pastos del género *Brachiaria* PhD Thesis. Universidad Agraria de La Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez". 98 p.
- González, P. J., Arzola, J., Morgan, O., Rivera Espinosa, R. y Ramírez, J. F. 2011. Contribución de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares a la reducción de la fertilización orgánica y nitrogenada en *Brachiaria hibrido* cv. CIAT 36087 (Mulato II). *Cultivos Tropicales*. 32(4): 5-12.
- Guiot, J. D. 2005. Evaluación de híbridos de *Brachiaria* bajo pastoreo para producción de leche em Hulmanguillo, Tabasco. In: XVIII Reunión Científica Tecnológica Forestal y Agropecuaria. Tabasco. México. P. 100-107.
- Hernández, J. A., Pérez, J. J. M., Bosch, I. D. & Castro, S. N. 2015. Clasificación de los suelos de Cuba 2015. Mayabeque, Cuba: Ediciones INCA, 93 p., ISBN: 978-959-7023-77-7.
- Kalra, Y. P. 1998. Handbook of Methods for Plant Analysis. edit. CRC Press, Taylor & Francis Group, Washington, D.C., ISBN 978-1-57444-124-6.
- Lerch, G. 1976. La experimentación en las ciencias biológicas y agrícolas. Ed. Científico-Técnica. La Habana, Cuba. 452 pp.
- Matheus, J. L., Caracas, J., Montilla, F. & Fernández, O. 2007. Eficiencia agronómica relativa de 3 abonos orgánicos (vermicompost, compost y gallinaza) en plantas de maíz (*Zea mays* L.). *Agricultura Andina*. 13(1): 27-38.
- Paneque, V. M. y Calaña, J. M. 2001. La fertilización de los cultivos. Aspectos teórico-prácticos para su recomendación. Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas. INCA. La Habana. 29 p.
- Paneque, V. M., Calaña, J. M., Calderón, M., Borges, Y., Hernández, T. y Caruncho, M. 2011. Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Mayabeque:

- Ediciones INCA. 153 pp. ISBN: 978-959-7023-51-7.
- Pradhan, A., Pahari, A., Mohapatra, S. & Mishra, B. B. 2017. Phosphate-Solubilizing Microorganisms in Sustainable Agriculture: Genetic Mechanism and Application. In: T. K. Adhya *et al.* (eds.), *Advances in Soil Microbiology: Recent Trends and Future Prospects*, Microorganisms for Sustainability 4, © Springer Nature Singapore Pte Ltd. https://doi.org/10.1007/978-981-10-7380-9_5
- Ramos, J. A. Z., Marrufo, D. Z., Guadarrama, P. C. & Carrillo, L. S. 2015. Hongos micorrizico-arbusculares. *Revista Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán*. Available: http://www.seduma.yucatan.gob.mx/biodiversidad-yucatan/03Parte2/Capitulo4/01Diversidad_vegetal/02Hongos/05Hongos_micorrozicos.pdf
- Rivera-Espinosa, R. & Fernández, Kalyanne. 2003. Bases científico-técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente. In: R. Rivera y K. Fernández, eds. *El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe*. San José de las Lajas, Cuba: Ediciones INCA. p. 49-94.
- Rubio, L., De la S. Ma., Braña, V. D., Méndez, M. R. D. & Delgado, S. E. 2013. *Sistemas de Producción y Calidad de carne Bovina*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Available: <http://anetif.org/files/pages/0000000034/18-sistemas-de-produccion-y-calidad-de-carne-bovina.pdf>
- Salinas, V. R. & Soriano, B. B. 2014. Efecto de *Trichoderma viride* y *Bradyrhizobium yuanmingense* en el crecimiento de *Capsicum annuum* en condiciones de laboratorio. *Revista REBIOLEST*. 2(2): 20-32
- Santillana, N., Zúñiga, D. & Arellano, C. 2012. Capacidad promotora del crecimiento en cebada (*Hordeum vulgare*) y potencial antagónico de *Rhizobium leguminosarum* y *Rhizobium etli*. *Agrociencia Uruguay*. 16(2): 11–17, ISSN: 2301-1548.
- Silva, J. G., Nascimento, J. M. L., Santos, M. R. B., Gama, A. A., Queiroz, M. A. A. & Yano-Melo, A. M. 2015. Biofertilizante caprino no desenvolvimento de *Urochloa ruziziensis*. *Archivos de Zootecnia. Revista Arch. Zootec.* 64 (248): 323-329.
- Vincent, J. M. 1970. *A Manual for the Practical Study of Root-nodule Bacteria*. (ser. IBP handbook, no. ser. 15), Blackwell Scientific Publ., 164 p., Google-Books-ID: dcQcAQAAIAAJ, Available: <https://books.google.com/cu/books?id=dcQcAQAAIAAJ>, [Consulted: September 5, 2017].

Received: January 16, 2019