

Artículo científico

Inoculación micorrízico-arbuscular y reducción de la fertilización orgánica y nitrogenada en *Megathyrus maximus* cv. LikoniArbuscular-mycorrhizal inoculation and reduction of organic and nitrogen fertilization in *Megathyrus maximus* cv. Likoni

Juan Francisco Ramírez-Pedroso¹, Pedro José González-Cañizares², Xiomara Salazar-Ruiz¹, David Llanes-Torres¹, Ramón Rivera-Espinosa², Alberto Hernández-Jimenez² y Rodolfo Plana-Llerena¹

¹Estación Experimental de Pastos y Forrajes de Villa Clara, Crucero Digna, Cascajal, Villa Clara, Cuba

²Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Mayabeque, Cuba

Correo electrónico: ramirez@pastos.vcl.minag.cu

Resumen

Se evaluó el efecto de la inoculación micorrízico-arbuscular en la reducción de la fertilización orgánica y nitrogenada en pasto guinea (*Megathyrus maximus* cv. Likoni), cultivado en un suelo Gley Nodular Ferruginoso ubicado en la localidad de Cascajal, provincia de Villa Clara, Cuba. Se estudiaron 13 tratamientos conformados por: testigo absoluto, aplicaciones de 12,5 y 25 t de estiércol vacuno ha⁻¹ combinadas con 0, 105 y 150 kg N ha⁻¹ año⁻¹, con y sin inoculación del hongo micorrízico *Funneliformis mosseae*. El diseño fue de bloques al azar con cuatro réplicas. El estiércol vacuno incrementó el pH y los contenidos de materia orgánica, P asimilable y K intercambiable del suelo; los mayores efectos se obtuvieron con 25 t ha⁻¹. En ausencia de inoculación, los mayores rendimientos de masa seca (16,57 t de MS ha⁻¹) y concentraciones de N (18,9 g kg⁻¹ MS), P (2,3 g kg⁻¹ MS) y K (17,9 g kg⁻¹ MS) en la biomasa se alcanzaron con la adición de 25 t de estiércol ha⁻¹ más 150 kg N ha⁻¹ año⁻¹, en presencia de *F. mosseae*; resultados similares se obtuvieron con 12,5 de estiércol ha⁻¹ y 105 kg N ha⁻¹. Estos tratamientos mostraron las mayores frecuencia e intensidad de colonización micorrízica (57,7 y 58,2 %) y el mayor número de esporas (503 y 491 esporas g⁻¹ de suelo) de hongos micorrízico- arbusculares (HMA) en la rizosfera. Con la inoculación de *F. mosseae* en el momento de la siembra, las dosis de estiércol vacuno y el fertilizante nitrogenado se pueden reducir en 50 y 30 %, respectivamente, sin afectar el contenido de nutrientes en la biomasa ni el rendimiento, durante dos años de desarrollo del cultivo.

Palabras clave: composición química, nutrición de las plantas, rendimiento.

Abstract

The effect of the arbuscular-mycorrhizal inoculation on the reduction of organic and nitrogen fertilization in Guinea grass (*Megathyrus maximus* cv. Likoni), cultivated on a Ferruginous Gley Nodular soil, located in the Cascajal locality, Villa Clara province, Cuba, was evaluated. Thirteen treatments were studied, formed by: absolute control, applications of 12,5 and 25 t of cattle manure ha⁻¹ combined with 0, 105 and 150 kg N ha⁻¹ year⁻¹, with and without inoculation of the mycorrhizal fungus *Funneliformis mosseae*. The design was randomized blocks with four replications. The cattle manure increased pH and the contents of organic matter, assimilable P and exchangeable K of the soil; the highest effects were obtained with 25 t ha⁻¹. In the absence of inoculation, the highest dry matter yields (16,57 t DM ha⁻¹) and N (18,9 g kg⁻¹ DM), P (2,3 g kg⁻¹ DM) and K concentrations (17,9 g kg⁻¹ DM) in the biomass were reached with the addition of 25 t of manure ha⁻¹ and 105 kg N ha⁻¹. These treatments showed the highest frequency and intensity of mycorrhizal colonization (57,7 and 58,2 %) and the highest number of spores (503 and 491 spores/g of soil) of arbuscular-mycorrhizal fungi (AMF) in the rhizosphere. With the inoculation of *F. mosseae* at the moment of planting, the cattle manure doses and the nitrogen fertilizer can be reduced in 50 and 30 %, respectively, without affecting the nutrient content in the biomass or the yield, during two years of crop growth.

Keywords: chemical composition, plant nutrition, yield

Introducción

Los pastos y forrajes constituyen la fuente principal de alimentos para los rumiantes en el trópico; sin embargo, la baja fertilidad de la mayoría de los suelos dedicados a la ganadería limita sus rendimientos y valor nutricional y, consecuentemente,

la productividad de estos cultivos (Ram y Trivedi, 2012).

La fertilización es una de las vías para restituir los nutrientes que se extraen del suelo, y también una alternativa para incrementar la oferta forrajera por unidad de superficie y tiempo; sin embargo,

con la disminución de la fertilidad del suelo esta se torna una actividad cada vez más compleja, no solo por su efecto en el incremento de los costos de la producción agropecuaria, sino también por el aumento de los riesgos de contaminación que implica la adición de cantidades cada vez mayores de fertilizantes químicos (Merlin *et al.*, 2014).

Con anterioridad, los estudios relacionados con la fertilización se basaban en el incremento de la producción agropecuaria por unidad de superficie y el establecimiento de límites económicos para el uso de los fertilizantes. Actualmente, sin perder de vista el aspecto económico, se le concede mucha importancia a la preservación del ambiente y el acceso de la población a alimentos sanos, de modo que se ha acrecentado la necesidad de diseñar modelos agrícolas que incluyan estrategias para esta práctica, dirigida a garantizar una nutrición adecuada de los cultivos y, a la vez, asegurar la protección de los recursos naturales (Lara-Mantilla *et al.*, 2011).

Entre esas estrategias se incluye el manejo de la simbiosis micorrízico-arbuscular, por sus potencialidades para mejorar la productividad de los cultivos y, a la vez, reducir la necesidad de fertilizantes, a partir del aumento en la eficiencia de la absorción de nutrientes por las plantas (Yang *et al.*, 2014). Tal manejo se puede lograr mediante la inoculación de especies de hongos micorrízico-arbusculares (HMA), previamente seleccionadas por su alta eficiencia para promover el crecimiento de los cultivos, sobre todo cuando las comunidades residentes de estos microorganismos no son capaces de establecer una simbiosis efectiva con las plantas hospederas (Priyadharsini y Muthukumar, 2015).

Trabajos realizados por Carneiro *et al.* (2011) y González *et al.* (2015) demostraron que la inoculación de especies eficientes de HMA constituye una vía efectiva para disminuir las dosis de fertilizantes a aplicar a los pastos, sin reducir su rendimiento ni valor nutricional. No obstante, aunque se reconoce la importancia funcional y ecológica de los HMA en los pastizales y los beneficios que se pueden obtener con su inoculación, la complejidad de estos agroecosistemas sugiere continuar evaluando su contribución al incremento de la productividad de los pastos, al aumento de la eficiencia del uso de los nutrientes y a la disminución de las dosis de fertilizantes.

Basado en lo antes expuesto se realizó este estudio, con el objetivo de evaluar el efecto de la inoculación micorrízico-arbuscular en la reducción de la fertilización orgánica y nitrogenada en pasto guinea (*Megathyrus maximus* cv. Likoni).

Materiales y Métodos

El experimento se realizó en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes de Cascajal, ubicada en el municipio de Santo Domingo –provincia de Villa Clara, Cuba–, sobre un suelo Gleysol Nodular Ferruginoso petroférico (Hernández *et al.*, 2015); las principales características químicas de este se presentan en la tabla 1. Según Paneque y Calaña (2001), es un suelo con baja capacidad de intercambio de bases; bajos contenidos de materia orgánica, P asimilable y K intercambiable; y elevada acidez.

La distribución de las precipitaciones durante el período en que se realizó el experimento (2012-2013) se muestra en la figura 1.

Tratamientos y diseño. Se estudiaron 13 tratamientos, combinados de la manera siguiente:

Tratamiento	Estiércol (t ha ⁻¹)	N (kg ha ⁻¹)	Inoculación
1 (testigo)	0	0	NI
2	12,5	0	NI
3	12,5	105	NI
4	12,5	150	NI
5	25	0	NI
6	25	105	NI
7	25	150	NI
8	12,5	0	I
9	12,5	105	I
10	12,5	150	I
11	25	0	I
12	25	105	I
13	25	150	I

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas. Las parcelas constituyeron la unidad experimental y tenían una superficie de 25,2 m² y un área de cálculo de 16,8 m².

El suelo se preparó de forma convencional, con una secuencia de labores de roturación (arado), grada, cruce (arado) y grada, a intervalos aproximados de 20-25 días entre cada una. La siembra del pasto se realizó en marzo de 2012, en surcos separados a 70 cm y a chorrillo, con una dosis de 10 kg de semilla total ha⁻¹ (1 kg de semilla pura germinable ha⁻¹) y a una profundidad de 1,5 cm. El estiércol vacuno, cuya composición química se presenta en la tabla 2, se esparció sobre la superficie de la parcela después del primer pase de grada y se incorporó al suelo con la labor de cruce. Este procedía de las vaquerías de

Tabla 1. Características químicas del suelo (0-20 cm).

pH H ₂ O	MO (%)	P ₂ O ₅ (mg 100 g ⁻¹)	Cationes intercambiables (cmol _c kg ⁻¹)				
			Ca	Mg	Na	K	CIB
4,7	2,52	1,5	3,62	1,12	0,05	0,10	4,89
(0,2)	(0,09)	(0,3)	(0,12)	(0,03)	(0,01)	(0,02)	(0,16)

Promedios de diez muestras tomadas al inicio del experimento. Valores entre paréntesis muestran el intervalo de confianza de las medias ($\alpha = 0,05$).

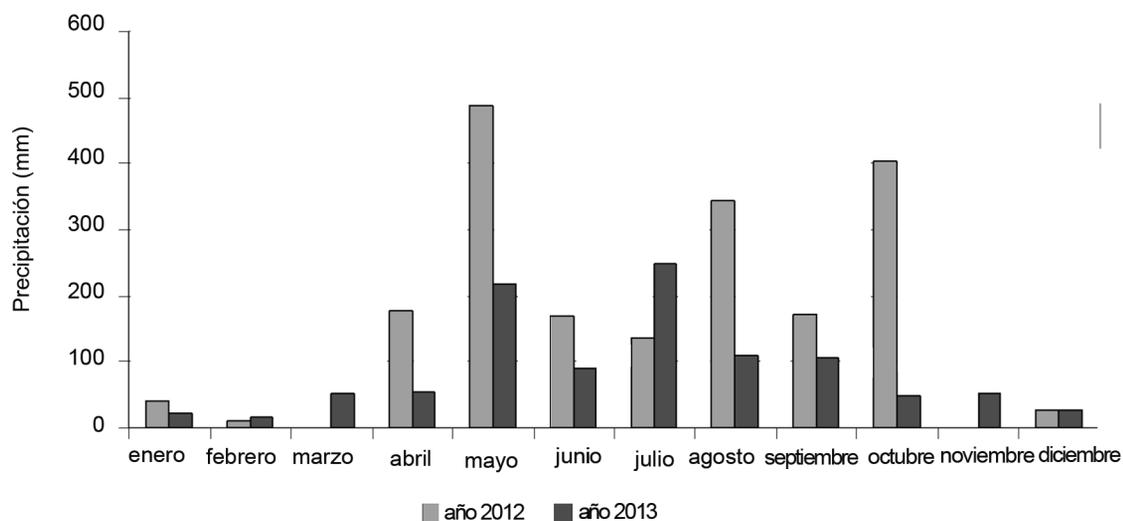


Figura 1. Distribución de las precipitaciones durante el período experimental.

Tabla 2. Características químicas del estiércol vacuno (base seca).

MO (%)	N (%)	Relación C:N	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	pH	Humedad (%)
62,3	2,05	17,6	0,55	1,43	2,72	0,64	7,1	52,5
(0,8)	(0,03)	(2,1)	(0,01)	(0,02)	(0,05)	(0,01)	(0,1)	(0,6)

Promedios de diez muestras tomadas en el momento de la aplicación del estiércol. Valores entre paréntesis muestran el intervalo de confianza de las medias ($\alpha = 0,05$).

la propia estación y tenía un tiempo de deposición en el estercolero de cuatro meses. El fertilizante nitrogenado (urea) se aplicó de forma fraccionada en el momento de la siembra y después de cada corte, en dosis de 0, 35 y 50 kg N ha⁻¹, equivalentes a 0, 105 y 150 kg N ha⁻¹ año⁻¹. El experimento se realizó en condiciones de secano.

Se seleccionó la cepa INCAM-2 de la especie de HMA *Funneliformis mosseae* (Nicol. & Gerd.) Walker & Schüßler (Shüßler y Walker, 2010), procedente de la colección del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) –Mayabeque, Cuba–, por su alta eficiencia para incrementar el rendimiento del pasto en las condiciones edáficas en que se realizó

este experimento (Ramírez *et al.*, 2006). Para su aplicación se utilizó un inóculo sólido, que se multiplicó previamente en un sustrato arcilloso esterilizado en autoclave a 120 °C una hora durante tres días, con el uso de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk como planta hospedera. Este contenía 35 esporas de la especie de HMA seleccionada por gramo de sustrato, así como abundantes cantidades de fragmentos de raicillas e hifas.

La inoculación se realizó por el método del recubrimiento de las semillas, para lo cual estas fueron sumergidas en una pasta fluida, elaborada a partir de la mezcla de una cantidad de inóculo sólido equivalente al 10 % de su peso (1 kg) y 600 mL de

agua (Fernández *et al.*, 2001). Después de recubiertas las semillas y solidificado el inóculo, se procedió a la siembra.

Se realizaron tres cortes del pasto en el primer año y tres en el segundo año, que coincidieron con el período lluvioso, a una altura de 10 cm de la superficie del suelo: el primero a los 90 días después de la siembra (junio de 2012) y los dos restantes a intervalos de 60 días aproximadamente (agosto y octubre de 2012) y en junio, agosto y octubre de 2013.

En cada corte se pesó la masa verde (MV) de la parte aérea enmarcada dentro del área de cálculo de las parcelas, y se tomaron muestras de 200 g para determinar el porcentaje de masa seca (MS) y las concentraciones de N, P y K. El rendimiento de MS se estimó a partir del rendimiento de MV y el porcentaje de MS.

En los cortes de junio y agosto de 2012 y junio y octubre de 2013, cuando había mayor humedad en el suelo, se tomaron 10 submuestras de las raíces a una profundidad de 0-20 cm, mediante el empleo de un cilindro metálico de 5 cm de diámetro y 20 cm de altura. Los puntos de muestreo se distribuyeron equidistantes y separados a 10 cm de los surcos. Las submuestras se homogenizaron para formar una muestra compuesta por parcela, de la que se extrajo 1 g de raicillas para su tinción y clarificación (Rodríguez *et al.*, 2015); se evaluó la frecuencia de colonización micorrizica (Giovannetti y Mosse, 1980) y la densidad visual (Trouvelot *et al.*, 1986). Asimismo, se determinó el número de esporas en la rizosfera (Herrera *et al.*, 1995).

En el último corte de cada año se tomaron cinco submuestras de suelo a la profundidad de 0-20 cm, para formar una muestra compuesta por parcela y realizar los análisis químicos mediante las siguientes técnicas:

- pH H₂O: potenciometría. Relación suelo-agua: 1:2,5
- Materia orgánica: Walkley y Black
- P₂O₅ asimilable: Oniani
- Cationes intercambiables: extracción con NH₄Ac 1 mol L⁻¹ a pH 7 y determinación por complejometría (Ca y Mg) y fotometría de llama (Na y K).

Los análisis químicos de suelo, abono orgánico y biomasa aérea del pasto se realizaron según el Manual de técnicas analíticas del INCA (Paneque *et al.*, 2010).

Para el procesamiento estadístico de los datos de masa seca, colonización, densidad visual y esporas, así como del contenido de nutrientes de la masa

aérea del pasto, se realizó análisis de varianza de clasificación doble y se empleó la dócima de Duncan (1955) a $p < 0,05$. A las variables correspondientes a los análisis de suelo y al estiércol se les estimó el intervalo de confianza de las medias, para una significación de $\alpha = 0,05$ (Payton *et al.*, 2000). Las variables cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, por lo que en todos los casos se analizaron los datos originales (Vásquez, 2011). Se utilizó el programa (IBM, 2012).

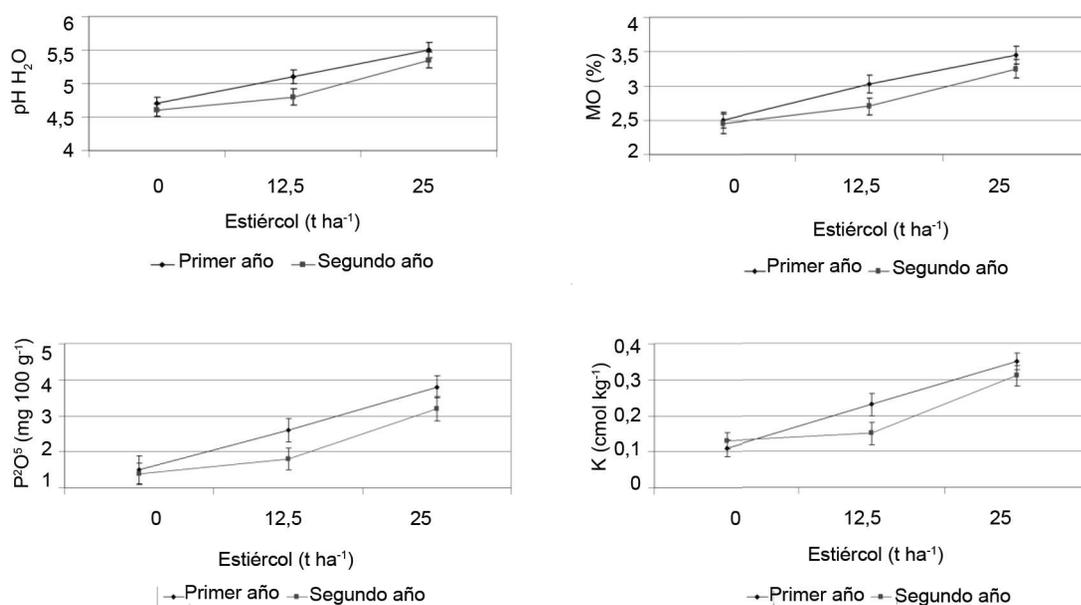
Resultados y Discusión

La aplicación del estiércol vacuno contribuyó al aumento del pH y de los contenidos de materia orgánica (MO), P asimilable y K intercambiable del suelo, y los mayores valores se alcanzaron con 25 t ha⁻¹ (fig. 2). Su efecto en el suelo permaneció durante los dos años que duró la evaluación al añadir la dosis más alta, ya que con 12,5 t ha⁻¹ solo se obtuvieron incrementos significativos en estas variables durante el primer año.

El efecto del estiércol en las características químicas del suelo se correspondió con su aporte de MO y nutrientes. Según su composición química (tabla 2), por cada tonelada de estiércol se incorporaron al suelo 296 kg de MO; 2,6 kg de P y 6,8 kg de K, lo que contribuyó a incrementar los tenores de estos elementos, sobre todo con la dosis más alta. De igual modo, el aumento del pH parece ser una consecuencia del aporte de Ca, pues con cada tonelada de estiércol se incorporaron al suelo 13 kg de este nutriente.

En este sentido, Crespo *et al.* (2010) y Ghanbari *et al.* (2014) plantearon que los contenidos de sustancias orgánicas y elementos minerales del estiércol vacuno le confieren excelentes cualidades como mejorador de las propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo y como fuente de nutrientes para las plantas. Además, su uso como abono orgánico genera otros servicios ambientales no menos importantes, al contribuir a la disminución de la contaminación ambiental de los agroecosistemas ganaderos y a la mitigación del cambio climático, a través del secuestro de cantidades importantes de C en el suelo (Crespo, 2011).

Los valores de colonización micorrizica, densidad visual o intensidad de la colonización y el número de esporas en la rizosfera se muestran en la tabla 3. La inoculación de *F. mosseae* produjo un incremento significativo de estos indicadores en relación con los tratamientos no inoculados, los cuales mostraron el nivel de ocupación fúngica de los HMA residentes; sin embargo, durante el primer y segundo años, los valores más altos se obtuvieron



Las barras verticales representan los intervalos de confianza de las medias; la ausencia de superposición de los intervalos de confianza indica diferencia significativa ($\alpha = 0,05$), según (Payton *et al.*, 2000).

Figura 2. Efecto del estiércol vacuno en las características químicas del suelo (0-20 cm).

Tabla 3. Efecto de los tratamientos en las estructuras micorrízicas

Estiércol (t ha ⁻¹)	N (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	Inoc.	Primer año			Segundo año		
			Colonización (%)	Densidad visual (%)	Esporas 50 g ⁻¹	Colonización (%)	Densidad visual (%)	Esporas 50 g ⁻¹
0	0	NI	22,3 ^d	1,29 ^d	178 ^d	14,7 ^c	1,07 ^c	105 ^c
12,5	0	NI	21,8 ^d	1,31 ^d	180 ^d	15,2 ^c	1,11 ^c	112 ^c
12,5	105	NI	22,7 ^d	1,33 ^d	169 ^d	14,9 ^c	1,09 ^c	108 ^c
12,5	150	NI	21,5 ^d	1,27 ^d	183 ^d	15,0 ^c	0,96 ^c	119 ^c
25	0	NI	22,7 ^d	1,29 ^d	179 ^d	14,3 ^c	1,05 ^c	105 ^c
25	105	NI	21,4 ^d	1,32 ^d	188 ^d	15,9 ^c	0,97 ^c	103 ^c
25	150	NI	21,6 ^d	1,26 ^d	171 ^d	14,6 ^c	1,10 ^c	112 ^c
12,5	0	I	52,4 ^b	2,13 ^b	379 ^b	39,1 ^b	1,39 ^b	321 ^b
12,5	105	I	57,7 ^a	2,83 ^a	503 ^a	50,3 ^a	1,83 ^a	458 ^a
12,5	150	I	58,2 ^a	2,79 ^a	491 ^a	48,9 ^a	1,79 ^a	433 ^a
25	0	I	36,5 ^c	1,53 ^c	291 ^c	15,0 ^c	1,11 ^c	109 ^c
25	105	I	35,2 ^c	1,49 ^c	282 ^c	14,8 ^c	1,07 ^c	118 ^c
25	150	I	36,7 ^c	1,55 ^c	279 ^c	15,7 ^c	0,98 ^c	115 ^c
ES ±			2,0**	0,15**	38**	1,8**	0,13**	29**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a $p < 0,05$ (Duncan, 1955).

con la aplicación de 12,5 t de estiércol ha^{-1} combinada con 105 o 150 $\text{kg N ha}^{-1} \text{año}^{-1}$. El efecto de la inoculación se extendió hasta el segundo año, pero solo en aquellos tratamientos en que las variables fúngicas alcanzaron los mayores valores durante el primero.

En presencia de *F. mosseae*, la aplicación de 25 t de estiércol ha^{-1} con o sin adición de N produjo un efecto depresivo en las variables fúngicas, que se manifestó no solo en el menor valor de ocupación radical en estos tratamientos en relación con el de 12,5 t ha^{-1} , sino también en la propia permanencia del efecto de la inoculación, el cual se observó solamente durante el primer año.

Estos resultados indican que, en las condiciones en que se realizó el experimento, hubo una mayor efectividad de *F. mosseae* respecto a los HMA residentes para colonizar las raíces del pasto; así como la necesidad de que, conjuntamente con su inoculación, se adicione determinadas cantidades de nutrientes, procedentes de fuentes orgánicas o minerales, para alcanzar una mayor ocupación radical y prolongar su efecto en el tiempo.

Según Grman y Robinson (2013) y Castillo *et al.* (2014), las estructuras fúngicas se relacionan estrechamente con la disponibilidad de nutrientes en el suelo, debido a que la simbiosis micorrízica está controlada por el suministro de carbono del hospedero. De este modo, las estructuras fúngicas se pueden incrementar con un suministro adecuado de nutrientes; o, por el contrario, puede reducirse cuando se aplican cantidades de fertilizantes que exceden los requerimientos de los cultivos, ya que la entrega de los recursos del suelo a la planta hospedante a través de los HMA pierde importancia.

Tales razones pudieran explicar la mayor frecuencia e intensidad de la colonización, así como el mayor número de esporas que se alcanzaron con la inoculación de *F. mosseae* combinada con la aplicación de 12,5 t de estiércol ha^{-1} más la fertilización nitrogenada, y el efecto depresivo que ejerció la dosis más alta del abono orgánico sobre las variables fúngicas.

Resulta interesante el hecho de que se haya logrado una inoculación efectiva del pasto con la aplicación de una cantidad baja de inóculo (1 kg ha^{-1}), el cual también aportó una baja cantidad de esporas por área. Sin embargo, la presencia de abundantes fragmentos de raicillas e hifas procedentes de la planta hospedera, conjuntamente con el método de inoculación empleado, pudo haber garantizado que, además de las esporas, otros propágulos mi-

corrízicos viables también quedaran en íntimo contacto con las semillas de la guinea, facilitando la colonización de sus raíces desde el momento de la germinación. Además, la baja población de HMA residentes, que se infiere a partir de los bajos valores de la frecuencia e intensidad de la colonización y el número de esporas en la rizosfera de las plantas que no fueron inoculadas, también pudo haber facilitado la acción del inóculo.

El estiércol vacuno, solo o combinado con el fertilizante nitrogenado y la inoculación de *F. mosseae*, incrementó los tenores de N, P y K en la biomasa de la parte aérea del pasto; los valores para cada período de evaluación se presentan en la tabla 4.

El efecto de la fertilización y la inoculación micorrízica en la concentración de macronutrientes en la biomasa se manifestó durante el primer y el segundo año; en ambos años los tenores de N con la aplicación de 12,5 t de estiércol ha^{-1} , combinado con 105 o 150 $\text{kg N ha}^{-1} \text{año}^{-1}$ e inoculado con *F. mosseae*, no difirieron de los alcanzados con la adición de 25 t ha^{-1} más 150 $\text{kg N ha}^{-1} \text{año}^{-1}$ sin inocular. De igual modo, la dosis de 12,5 t ha^{-1} más la inoculación de *F. mosseae* produjo tenores de P y K similares a los logrados con la adición de 25 t ha^{-1} en ausencia de inoculación. Las concentraciones de N, P y K durante el segundo año se incrementaron en 13, 23 y 16 %, respectivamente, en relación con el primero.

Si se tiene en cuenta que con la inoculación de *F. mosseae* más la adición de 12,5 t de estiércol ha^{-1} y 105 o 150 $\text{kg N ha}^{-1} \text{año}^{-1}$ también se obtuvieron los mayores valores de las variables fúngicas, se deduce que la introducción de una cepa eficiente de HMA, acompañada de dosis de fertilizantes adecuadas a las necesidades del pasto inoculado, contribuyó a mejorar la composición química de la biomasa y a alcanzar tenores similares a los que solo se obtienen con la adición de cantidades más altas de fertilizantes en ausencia de inoculación. Ello fue posible a partir de un funcionamiento micorrízico efectivo, el cual se manifestó en una mayor colonización de las raíces del pasto por la cepa introducida y, consecuentemente, en la mejora del aprovechamiento de los nutrientes de los fertilizantes y del suelo, lo que coincide con lo planteado por Castillo *et al.* (2013).

En el pasto no inoculado, el mayor rendimiento de MS se obtuvo con 25 t de estiércol ha^{-1} más 150 $\text{kg N ha}^{-1} \text{año}^{-1}$; sin embargo, en presencia de *F. mosseae* con la adición de 12,5 t de estiércol ha^{-1} más 105 o 150 $\text{kg N ha}^{-1} \text{año}^{-1}$ se lograron resulta-

Tabla 4. Contenido de nutrientes en la biomasa aérea del pasto (g kg⁻¹ MS).

Estiércol (t ha ⁻¹)	N (kg ha ⁻¹)	Inoc.	Primer año			Segundo año		
			N	P	K	N	P	K
0	0	NI	10,2 ^f	1,11 ^c	10,6 ^c	11,1 ^f	1,63 ^c	12,5 ^c
12,5	0	NI	11,5 ^e	1,58 ^b	12,8 ^b	13,3 ^e	1,96 ^b	14,6 ^b
12,5	105	NI	12,7 ^d	1,63 ^b	13,1 ^b	14,6 ^d	2,07 ^b	14,9 ^b
12,5	150	NI	14,0 ^e	1,57 ^b	12,9 ^b	15,9 ^e	1,95 ^b	14,8 ^b
25	0	NI	13,9 ^e	1,91 ^a	15,3 ^a	16,1 ^c	2,38 ^a	17,8 ^a
25	105	NI	15,4 ^b	2,03 ^a	15,6 ^a	17,4 ^b	2,41 ^a	18,1 ^a
25	150	NI	16,8 ^a	1,89 ^a	15,5 ^a	18,7 ^a	2,36 ^a	17,7 ^a
12,5	0	I	13,9 ^e	1,93 ^a	15,6 ^a	15,6 ^c	2,40 ^a	17,9 ^a
12,5	105	I	16,9 ^a	2,04 ^a	15,2 ^a	19,1 ^a	2,39 ^a	18,3 ^a
12,5	150	I	16,7 ^a	1,96 ^a	15,7 ^a	18,8 ^a	2,42 ^a	17,7 ^a
25	0	I	14,1 ^c	2,05 ^a	15,4 ^a	15,9 ^c	2,37 ^a	18,2 ^a
25	105	I	15,5 ^b	1,96 ^a	15,8 ^a	17,2 ^b	2,41 ^a	18,5 ^a
25	150	I	17,1 ^a	2,02 ^a	15,3 ^a	18,9 ^a	2,37 ^a	17,9 ^a
ES ±			0,3**	0,08**	0,4**	0,3**	0,09**	0,4**

Inoc: inoculación, NI: no inoculado. Promedios con letras desiguales en la misma columna difieren significativamente a $p < 0,05$ (Duncan, 1955). ** $p < 0,01$.

dos similares, lo que confirmó el efecto de la cepa introducida en la reducción de las dosis de ambos fertilizantes (tabla 5). Ello también resultó evidente al comparar el rendimiento alcanzado con 12,5 y 25 t de estiércol ha⁻¹, con y sin la inoculación de *F. mosseae*, respectivamente, y sin adición complementaria de N, cuyos valores fueron semejantes.

La aplicación de 25 t de estiércol ha⁻¹, acompañada o no de fertilizante nitrogenado y combinada con *F. mosseae*, no incrementó el rendimiento en relación con estos mismos tratamientos en ausencia de inoculación, lo que sugiere una disminución de la efectividad de la cepa introducida debido a la adición de una dosis de abono orgánico que, evidentemente, resultó alta para el pasto inoculado. Los valores más bajos de las variables fúngicas con esta dosis de estiércol en presencia de *F. mosseae*, con respecto al resto de los tratamientos inoculados, confirman tal planteamiento.

La influencia del estiércol y de la inoculación micorrízica en el rendimiento se observó tanto en el primer como en el segundo año.

El análisis integral de los resultados permite plantear que el efecto del estiércol vacuno en el rendimiento estuvo relacionado con su aporte de MO y nutrientes, lo cual también quedó demostrado al evaluar su influencia en las características químicas del suelo y en el estado nutricional de las plantas;

no obstante, tampoco se puede descartar su contribución en la mejora de las propiedades físicas y biológicas del suelo y en el incremento de la productividad del pasto, teniendo en cuenta el papel que desempeña la MO (Zhang *et al.*, 2014).

El hecho de que con *F. mosseae* más la aplicación de 12,5 t de estiércol ha⁻¹ y 105 kg N ha⁻¹ año⁻¹ se hayan obtenido rendimientos similares a los alcanzados con 25 t de estiércol ha⁻¹ y 150 kg N ha⁻¹ año⁻¹ en el pasto no inoculado confirma la tesis de que cuando se incluye una cepa eficiente de HMA, la cantidad de nutrientes a aplicar para alcanzar un determinado rendimiento suele ser menor que la necesaria para lograr ese mismo resultado en ausencia de inoculación micorrízica, aspecto que también se ha demostrado en otros cultivos (Rivera *et al.*, 2007; Tanwar *et al.*, 2013; Martín *et al.*, 2014).

Si se tiene en cuenta que los contenidos de MO, P y K en el suelo fueron menores con la aplicación de 12,5 que con 25 t de estiércol ha⁻¹ y que en el segundo año estos no mostraron diferencias significativas entre las dosis de 0 y 12,5 t de estiércol ha⁻¹, aun cuando el efecto de la cepa introducida se extendió hasta ese período, se deduce que la contribución de *F. mosseae* a la reducción de la fertilización orgánica y nitrogenada estuvo muy ligada a la mejora del aprovechamiento de los nutrientes de los fertilizantes y del suelo, aspectos

Tabla 5. Rendimiento de MS (t ha⁻¹) del pasto.

Estiércol (t ha ⁻¹)	N (kg ha ⁻¹ año ⁻¹)	HMA	Primer año	Segundo año
0	0	NI	7,11 ^f	3,03 ^f
12,5	0	NI	9,15 ^c	4,44 ^c
12,5	100	NI	10,22 ^{de}	5,11 ^{de}
12,5	150	NI	11,18 ^d	6,01 ^d
25	0	NI	12,85 ^c	7,79 ^c
25	100	NI	14,76 ^b	9,41 ^b
25	150	NI	16,42 ^a	11,13 ^a
12,5	0	I	12,92 ^c	7,77 ^c
12,5	100	I	16,81 ^a	10,93 ^a
12,5	150	I	17,13 ^a	11,11 ^a
25	0	I	12,89 ^c	7,95 ^c
25	100	I	15,02 ^b	9,19 ^b
25	150	I	16,57 ^a	10,89 ^a
ES ±			0,49 ^{**}	0,39 ^{**}

Inoc: inoculación, NI: no inoculado. Promedios con letras no comunes en la misma columna difieren significativamente a $p < 0,05$ (Duncan, 1955). $**p < 0,01$.

señalados por Beltrano *et al.* (2013) y Ngwene *et al.* (2013). Tampoco se puede descartar la posible contribución de la adición de MO a la mejora del funcionamiento de la cepa introducida, lo cual fue reportado por Hodge (2014).

La menor precipitación que ocurrió durante el período lluvioso del segundo año pudo influir en el rendimiento de MS, que disminuyó como promedio 40 % en relación con igual etapa del año anterior. Entre mayo y octubre del segundo año se alcanzó un acumulado de 829 mm de lluvia, lo que representó solo el 48 % de la acumulada durante similar período del primer año.

De este modo, los valores de las variables fúngicas y de las concentraciones de N, P y K en la biomasa durante el primer año con respecto al segundo también pudieron estar afectados por el desigual crecimiento del cultivo durante ambos períodos. En el primer caso, el mayor crecimiento del pasto pudo aumentar la demanda de nutrientes y, de hecho, la formación de más estructuras micorrízicas para acceder a tales recursos (Bennett *et al.*, 2013; Bainard *et al.*, 2014); en el segundo, el mayor crecimiento pudo originar una disminución de la concentración de nutrientes en la biomasa, por un efecto de dilución (Shakhane *et al.*, 2013; Zangaro *et al.*, 2013).

Los resultados permiten concluir que, mediante la inoculación con *F. mosseae* en el momento de

la siembra, las aplicaciones de estiércol vacuno y fertilizante nitrogenado se pueden reducir en 50 y 30 %, respectivamente, sin afectar el contenido de nutrientes en la biomasa ni su rendimiento, durante dos años de desarrollo del cultivo.

Referencias bibliográficas

- Bainard, L. D.; Bainard, J. D.; Hamel, C. & Gan, Y. Spatial and temporal structuring of arbuscular mycorrhizal communities is differentially influenced by abiotic factors and host crop in a semi-arid prairie agroecosystem. *FEMS Microbiol. Ecol.* 88:333-344, 2014.
- Beltrano, J.; Ruscitti, M.; Arango, M. C. & Ronco, M. Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and P levels. *J. Soil Sci. Plant Nut.* 13 (1):123-141, 2013.
- Bennett, Alison E.; Daniell, T. J.; Öpik, M.; Davidsson, J.; Moora, Mari; Zobel, M. *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungal networks vary throughout the growing season and between successional stages. *PLOS ONE.* 8 (12): 83241, 2013.
- Carneiro, R. F. V.; Martins, M. A.; Araújo, A. S. F. & Nunes, L. A. P. L. Inoculação micorrízica arbuscular e adubação fosfatada no cultivo de forrageiras consorciadas. *Archivos de Zootecnia.* 60 (232):1191-1202, 2011.

- Castillo, C. G.; Fredericksen, C.; Koch, R. & Sieverding, E. Effect of seed treatment with natural products on early arbuscular mycorrhizal colonization of wheat by *Claroideo glomus claroideum*. *J. Appl. Bot. Food Qual.* 87:117-123, 2014.
- Castillo, C. G.; Morales, A.; Rubio, R.; Barea, J. M. & Borie, F. Interactions between native arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate solubilizing fungi and their effect to improve plant development and fruit production by *Capsicum annuum* L. *Afr. J. Microbiol. Res.* 7 (26):3331-3340, 2013.
- Crespo, G. Comportamiento de la materia orgánica del suelo en pastizales. *Rev. cubana Cienc. agric.* 45 (4):343-347, 2011.
- Crespo, G.; Arteaga, O.; Valdés, G. & Vega, J. Utilización de residuales de las instalaciones pecuarias para la producción de pastos y forrajes tropicales. *Memorias. VII Congreso de la Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo.* Ciudad de La Habana: Instituto de Suelos. [CD-ROM], 2010.
- Duncan, D. B. Multiple ranges and multiple F test. *Biometrics.* 11 (1):1-42, 1955.
- Fernández, F.; Gómez, R.; Vanegas, L. F.; Martínez, M. A.; Noval, B. M. de la & Rivera, R. Producto inoculante micorrizógeno. Patente No. 22641. La Habana: Oficina Nacional de Propiedad Industrial, 2001.
- Ghanbari, A.; Ghasemi, A.; Fakheri, B.; Reza, M. & Reza, H. Effects of organic and mineral sources of nutrient on quality and quantity yields of forage barley. *Agric. Sci. Dev.* 3 (9):308-311, 2014.
- Giovannetti, M. & Mosse, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84:489-500, 1980.
- González, P. J.; Ramírez, J. F.; Morgan, O.; Rivera, R. & Plana, R. Contribución de la inoculación micorrizica arbuscular a la reducción de la fertilización fosfórica en *Brachiaria decumbens*. *Cultivos Tropicales.* 36 (1):135-142, 2015.
- Grman, Emily & Robinson, T. M. P. Resource availability and imbalance affect plant-mycorrhizal interactions: a field test of three hypotheses. *Ecology.* 94 (1):62-71, 2013.
- Hernández, A.; Pérez, J. M.; Bosch, D. & Castro, N. *Clasificación de los suelos de Cuba.* San José de las Lajas, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Instituto de Suelos, 2015.
- Herrera, R. A.; Ferrer, R. L.; Furrázola, E. & Orozco, M. O. *Estrategia de funcionamiento de las micorrizas VA en un bosque tropical. Biodiversidad en Iberoamérica. Ecosistemas, evolución y procesos sociales.* Mérida: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Subprograma XII, Diversidad Biológica, 1995.
- Hodge, A. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and organic material substrates. *Ad. Appl. Microbiol.* 89:47-99, 2014.
- IBM. *IBM SPSS Statistics. Statistical software,* version 21. Illinois, USA: SPSS Institute, 2012.
- Lara-Mantilla, Cecilia; Oviedo, L. E. & Betancur, C. Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos. *Zootecnia Trop.* 29 (2):187-194, 2011.
- Martín, Gloria M.; González, P. J.; Rivera, R.; Arzola, J. & Pérez, A. Efecto de la aplicación de estiércol vacuno e inoculación micorrizica sobre el crecimiento y producción de semillas de *Canavalia ensiformis* en suelos Ferralíticos Rojos lixiviados *Cultivos Tropicales.* 35 (1):86-91, 2014.
- Merlin, A.; He, Z. L. & Rosolem, C. A. Congo grass grown in rotation with soybean affects phosphorus bound to soil carbon. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 38 (3):888-895, 2014.
- Ngwene, B.; Gabriel, E. & George, E. Influence of different mineral nitrogen sources (NO_3^- -N vs. NH_4^+ -N) on arbuscular mycorrhiza development and N transfer in a *Glomus intraradices*-cowpea symbiosis. *Mycorrhiza.* 23 (2):107-117, 2013.
- Paneque, V. M. & Calaña, J. M. *La fertilización de los cultivos: aspectos teórico-prácticos para su recomendación.* San José de las Lajas, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, 2001.
- Paneque, V. M.; Calaña, J. M.; Calderón, M.; Borges, Y.; Hernández, T. & Caruncho, M. *Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos.* Mayabeque, Cuba: Ediciones INCA, 2010.
- Payton, M. E.; Miller, A. E. & Raun, W. R. Testing statistical hypotheses using standard error bars and confidence intervals. *Commun. Soil Sci. Plan.* 31 (5-6):547-551, 2000.
- Priyadharsini, P. & Muthukumar, T. Insight into the role of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable agriculture. In: P. Thangavel and G. Sridevi, eds. *Environmental Sustainability.* India: Springer. p. 3-37, 2015.
- Ram, S. N. & Trivedi, B. K. Response of guinea grass (*Panicum maximum* Jacq.) to nitrogen, farm yard manure and harvest intervals. *Forage Res.* 38 (1):49-52, 2012.
- Ramírez, J. F.; González, P. J. & Salazar, X. Los hongos micorrizógenos arbusculares una opción para la producción eficiente de pastos en agroecosistemas frágiles. *XV Congreso Científico del INCA.* San José de las Lajas, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. [CD-ROM], 2006.
- Rivera, R.; Fernández, F.; Fernández, K.; Ruiz, L.; Sánchez, C. & Riera, M. Advances in the management of effective arbuscular mycorrhizal symbiosis in tropical ecosystems. In: Chantal Hamel and C. Plenchette, eds. *Mycorrhizae in crop pro-*

- duction. Binghamton, USA: Haworth Press. p. 151-196, 2007.
- Rodríguez, Yakelín; Arias, Lianne; Medina, Aida; Mujica, Yonaisy; Medina, Laura; Fernández, Kalyanne *et al.* Alternativa de la técnica de tinción para determinar la colonización micorrizica. *Cultivos Tropicales*. 36 (2):18-21, 2015.
- Shakhane, L. M.; Mulcahy, C.; Scott, J. M.; Hinch, G. N.; Donald, G. E. & Mackay, D. F. Pasture herbage mass, quality and growth in response to three whole-farmlot management systems. *Anim. Prod. Sci.* 53 (8):685-698, 2013.
- Shüßler, A. & Walker, C. *The Glomeromycota: a species list with new families and new genera*. Gloucester, UK: The Royal Botanic Garden, The Royal Botanic Garden, Botanische Staatsammlung, Oregon State University, 2010.
- Tanwar, A.; Aggarwal, A.; Kadian, N. & Gupta, A. Arbuscular mycorrhizal inoculation and super phosphate application influence plant growth and yield of *Capsicum annum*. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 13 (1):55-66, 2013.
- Trouvelot, A.; Kough, J. L. & Gianinazzi-Pearson, V. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. *Proceedings of the 1st European Symposium on Mycorrhizae: Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. V. Gianinazzi-Pearson and S. Gianinazzi, eds. Dijón, France: INRA. p. 217-222, 1986.
- Vásquez, E. R. *Contribución al tratamiento estadístico de datos con distribución binomial en el modelo de análisis de varianza*. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Mayabeque, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, 2011.
- Yang, C.; Ellouze, W.; Navarro-Borrell, Adriana; Taheri, C. E.; Klabi, R.; Dai, Mulan *et al.* Management of the arbuscular mycorrhizal symbiosis in sustainable crop production. In: Z. M. Solaiman, Lynette K. Abbott and A. Varma, eds. *Mycorrhizal fungi: use in sustainable agriculture and land restoration, Soil Biology*. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag. p. 89-118, 2014.
- Zangaro, W.; Rostirola, L. V.; Souza, P. B. de; Almeida, A. R. de; Lescano, L. E.; Rondina, A. B. *et al.* Root colonization and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in distinct successional stages from an Atlantic rainforest biome in southern Brazil. *Mycorrhiza*. 23 (3):221-233, 2013.
- Zhang, H.; Ding, W.; He, X.; Yu, H.; Fan, J. & Liu, D. Influence of 20-year organic and inorganic fertilization on organic carbon accumulation and microbial community structure of aggregates in an intensively cultivated sandy loam soil. *PLOS ONE*. 9 (3):e92733, 2014.

Recibido el 16 de enero de 2017

Aceptado el 22 de mayo de 2017