



INCA

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
DEPARTAMENTO DE BIOFERTILIZANTES Y NUTRICIÓN DE LAS PLANTAS**

Evaluación de Sustratos Arcillosos Naturales y la Efectividad de la Cepa HMA Glomus hoi “like en la Producción de un Inoculante Micorrizógeno Comercial.

Tesis en Opción del Grado Académico de Maestro en Ciencias en Nutrición de las Plantas y Biofertilizantes

**Autor: Ing. Juan de Dios Mederos Sánchez
Tutor: Dr. C. Ramón A. Rivera Espinosa**

La Habana, 2009.

Dedicatoria

A la memoria de mis padres Francisco Mederos y Gumersinda Sánchez, que me lo dieron todo en la vida mas allá del ser.

A la memoria de mi tío Berto (Calixto Sánchez), mi mayor consejero y amigo, a quien debo mi formación como profesional.

A la memoria de Panchita (Francisca Torres), mi exesposa y bujía inspiradora de este nuevo peldaño en mi vida.

A mis hijas Yuliem Mederos y Yunia Mederos, mis más justificadas razones de ser.

A mis hermanos Maximino, Magali, Amarilis, Antonio, Enrique, Isidro, Lázaro, Camilo y Félix, porque mis aciertos en la vida les pertenecen.

A mi esposa Xiomara Denis, por su entrañable compañía.

A todos mis familiares y amigos que han hecho suyo este momento.

Agradecimientos

A la Revolución Cubana de quien soy genuino fruto y a quien incondicionalmente me debo.

A mi INCA a quien entregué mi juventud a cambio de mi formación como profesional y de mejor revolucionario.

A mi familia toda y en especial a mis hijas Yunia y Yuliem, que gracias a su inspiración e inestimable ayuda afectiva y profesional se hizo realidad este sueño.

A mi esposa Xiomara por su paciencia y comprensión de que ambos ganábamos en el utilísimo “tiempo perdido” de no estar juntos.

A mi tutor Ramón Rivera a quien debo mucho en mi formación como profesional y de quien he recibido todo su apoyo en la realización de este trabajo.

A mi amigo Adriano Cabrera por su invaluable ayuda en el procesamiento estadístico e interpretación de los resultados del mismo.

A mis compañeros de trabajo, Julio César, Domingo y Raúl por su inestimable apoyo en el montaje experimental y toma de muestras.

A mis compañeros del laboratorio de suelo y foliar y del laboratorio de análisis micorrízicos de nuestro departamento, protagonistas también de este resultado final.

A todos los obreros, técnicos y profesionales de mi departamento y del INCA que de una u otra forma brindaron su aporte físico y/o intelectual al ser convocados o consultados en el momento que lo requirió.

A todos sinceramente les estoy profundamente agradecido.

RESUMEN

Durante los meses de abril-julio de 2007, se desarrolló un experimento en condiciones controladas en cajuelas plásticas, bajo invernadero, con el objetivo de evaluar la efectividad de la cepa HMA *Glomus hoi* "like" en ocho sustratos arcillosos naturales provenientes de suelos representativos de la provincia La Habana, en el proceso de producción del biofertilizante micorrizógeno *EcoMic*®.

Se utilizaron 16 tratamientos formados por los 8 sustratos y 2 fondos de fertilización N-P-K y de tal forma se empleó un diseño Completamente Aleatorizado con arreglo bifactorial y 3 repeticiones por tratamiento.

En tres momentos importantes del ciclo de vida del cultivo hospedante, 30, 60 y 105 días, se determinó la masa seca foliar y radical, y la producción de esporas, mientras que el porcentaje de colonización radical y la densidad visual se determinó a los 30 y 60 días.

En todos los casos, los resultados experimentales fueron sometidos a los análisis estadísticos correspondientes; Anova, Análisis Multivariado de Componentes Principales, Correlaciones Simples y Múltiples.

Los resultados muestran diferencias notables en la efectividad micorrízica según tipos de suelos, manifestado no solo en la producción de esporas con valores entre 2,6 y 39,5 esporas x gramo de suelo, sino también en la masa seca radical que fue diferente en los suelos estudiados pero con una distribución en la profundidad muy similar en cada uno de ellos, con el 70% 30% de 0-10cm y 10-20cm respectivamente, mientras que un comportamiento parecido siguió la distribución de esporas en el perfil de cada suelo, con el 60% en los primeros 10cm y el 40% en los restantes. La mayor efectividad de la cepa HMA *Glomus hoi* "like" con un funcionamiento micorrízico adecuado para la reproducción de esporas, se obtuvo en sustratos con pH mayores que 7, contenidos de Mg mayores que 6 cmol. kg⁻¹, Ca entre 40 y 53 cmol. kg⁻¹, SST entre 400 y 900 ug.g⁻¹ y arcilla de tipo 2:1.

ÍNDICE

RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. La simbiosis micorrízica arbuscular.....	4
2.2. Importancia agrobiológica de las micorrizas arbusculares.....	4
2.3. Influencia de los principales factores edáficos sobre la micorrización...	8
2.3.1. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA).....	8
2.3.2. El Clima.....	9
2.3.3. El suelo y su fertilidad.....	11
2.3.4. La planta como hospedero.....	13
2.4. La Braquiaria como cultivo hospedero.....	15
2.5. Producción de inoculantes micorrízicos (HMA).....	16
2.5.1. Tendencias actuales en la producción de inóculos comerciales.....	18
2.5.2. La producción de Ecomic®. Desarrollo y perspectivas.....	21
III. MATERIALES Y MÉTODOS	24
3.1. Ubicación del experimento.....	24
3.2. Procedimiento experimental y tecnología empleada.....	24
3.3. Análisis de suelo.....	25
3.4. Esterilización de los sustratos.....	26
3.5. Fertilización y siembra.....	26
3.6. Atenciones culturales.....	27
3.7. Evaluaciones y mediciones.....	28
3.8. Tratamientos utilizados. Diseño experimental.....	30
3.9. Análisis Estadístico.....	30
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
4.1. Caracterización de los Sustratos.....	32
4.2. Efecto de los sustratos en la asociación Cepa HMA- Cultivo hospedante.....	35
4.2.1. Comportamiento de los sustratos en la relación entre masa seca total y de producción de esporas.....	35
4.2.2. Efecto de los sustratos sobre el funcionamiento micorrízico y el	

desarrollo del cultivo hospedante.....	36
4.2.3. Dinámica del desarrollo del cultivo hospedante y la producción de esporas en diferentes sustratos.....	40
4. 2.4. Desarrollo del sistema radical y la producción de esporas en el perfil de diferentes sustratos.....	44
4. 3. Asociación entre las variables que caracterizan los sustratos y su interrelación con los indicadores de la simbiosis micorrízica.....	45
4.3.1. Efecto de las características químicas y físicas sobre el funcionamiento micorrízico.....	48
4.3.2. El pH y su efecto sobre la producción de esporas y el porcentaje colonización micorrízica.....	49
4.3.3. La sales solubles totales (SST) y su efecto sobre la producción de esporas.....	50
4.3.4. Los cationes y su efecto sobre la producción de esporas.....	51
4.3.5. La arcilla y su efecto sobre la producción de esporas.....	53
4.4. Las características químico físicas de los sustratos y su influencia en el crecimiento y desarrollo del cultivo hospedero.....	54
4.4.1. El pH y su efecto sobre el crecimiento y desarrollo de la Braquiaria..	54
4.4.2. Los Cationes y su efecto sobre el crecimiento del cultivo hospedero..	55
4.4.3. Los Cationes y su efecto sobre el desarrollo del cultivo hospedero....	57
4.4.4. La arcilla y su efecto sobre el crecimiento y desarrollo del cultivo hospedante.....	57
4.5. Consideraciones Generales.....	58
4.6. Repercusión práctica o económica.....	59
V. CONCLUSIONES.....	60
VI. RECOMENDACIONES.....	62
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	63
VIII. ANEXOS.....	

Introducción

I. INTRODUCCIÓN.

La aplicación práctica, cada vez creciente de las micorrizas en la agricultura, y los avances científico-técnicos logrados en el tema de las asociaciones simbióticas con HMA, justifican la necesidad del desarrollo y/o perfeccionamiento de la producción masiva de inoculantes de alta calidad.

Si bien en la búsqueda de alternativas para la producción de inóculos, diferentes sistemas han sido usados como el de cultivo hidropónico (Elmes *et al.*, 1983; Elmes y Mosse, 1984; Mosse y Thompson, 1984) y cultivos aeropónicos (Hung y Silvia, 1988), hoy se sigue utilizando en lo fundamental la denominada reproducción en “canteros” descrita por Sieverding (1991), con la utilización de arcillas naturales deficientes en nutrientes (Gases *et al.*, 1992).

Desde hace unos 13 años, en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) se produce el inoculante micorrizógeno *EcoMic*[®], desarrollado sobre la base de HMA en sustratos naturales arcillosos usando la *Braquiaria* como planta hospedante, lográndose en el proceso un producto efectivo que puede ser aplicado, mediante el recubrimiento de las semillas en un grupo de cultivos ; no obstante el inoculante *EcoMic*[®], es también efectivo colocado debajo de la semilla en la producción de posturas de cafetos (Sánchez, 2001) o en el establecimiento de plantaciones de banano (Simó, 2002).

La literatura internacional refiere que uno de los aspectos de mayor repercusión en el manejo de la simbiosis, es la poca especificidad cepa eficiente-cultivo, expresada en que la cepa eficiente de HMA para una condición edáfica dada se asocia efectivamente con cualesquiera de los cultivos dependientes de la micorrización que les sea inoculada (Rivera *et al.*, 2003).

En Cuba, a partir de la década de los 90 del pasado siglo, en trabajos realizados que relacionaban ante todo el fenómeno de la simbiosis micorrízica con el tipo de suelo y la disponibilidad de nutrientes en una gama amplia de suelos estudiados, se encontró una respuesta positiva a la inoculación con HMA en la producción de

posturas de cafetos (Fernández, 1999; Sánchez, 2001 y Joao, 2002), en viandas tropicales (Ruiz, 2001) y en muy diversos cultivos (INCA,1999) corroborando la casi universalidad de esta simbiosis.

De común en estos experimentos, se obtuvo que; con independencia de los cultivos empleados, la efectividad micorrízica dependió de la cepa y/o especie de HMA y del suministro de nutrientes al cultivo micorrizado, entre otros elementos de manejo, demostrando una alta especificidad suelo-cepa eficiente de HMA, siendo el tipo de suelo el criterio fundamental para definir cual o cuales son las cepas y/o especies eficientes para una condición edafoclimática dada (Rivera, 2003).

En la producción de inóculos comerciales, en el país, no se han realizado estudios comparativos de sustratos arcillosos naturales en los cuales se evalúen la influencia de las diferentes características físico químicas y de composición de los sustratos sobre la capacidad de reproducción de las cepas de HMA que se recomiendan como eficientes para diferentes condiciones de suelo (Rivera *et al.*, 2003).

Tomando en cuenta los aspectos antes señalados y considerando que las características físicas y químicas de los sustratos condicionarán la intensidad de la asociación entre una cepa de HMA en específico y la planta, así como la capacidad de reproducción de las esporas y teniendo en cuenta además el próximo comienzo de la producción de *EcoMic*[®] en diferentes plantas de producción en la provincia La Habana, se desarrolló este trabajo partiendo de la siguiente hipótesis:

“Las características físico químicas de los sustratos condicionarán la capacidad de producción de esporas de las cepas de HMA y por tanto será el criterio determinante en la selección de sustratos para el proceso de producción del inoculante micorrizógeno *EcoMic*[®]”.

Dada la hipótesis planteada, en el presente trabajo se pretenden alcanzar los siguientes objetivos:

- Caracterizar física y químicamente los sustratos y establecer su relación con los tipos de suelos asociados.
- Determinar la influencia de las características químicas y su composición textural de los sustratos naturales seleccionados, sobre la capacidad de producción de esporas y otros indicadores micorrízicos de la cepa de HMA *Glomus hoi* “like”.
- Evaluar la influencia de las características químicas y su composición textural de los sustratos naturales seleccionados, sobre el crecimiento y desarrollo de la Braquiaria inoculada con la cepa de HMA *Glomus hoi* “like”.
- Establecer cuales son las características químicas y físicas de los sustratos más apropiados para obtener un inoculante de calidad a base de la cepa de HMA *Glomus hoi* “like”.

Novedad Científica:

Por primera vez en el país se realiza un trabajo sobre caracterización del funcionamiento micorrízico en diferentes sustratos arcillosos naturales con el empleo de la Braquiaria como cultivo hospedante en el proceso de producción del biofertilizante micorrizógeno *EcoMic*[®].

*Revisión
Bibliográfica*

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1. La simbiosis micorrízica arbuscular.

Según Plenchette (1982), el término micorriza, fue utilizado por primera vez por el botánico alemán Albert Bernard Frank (1881), para definir “la asociación que se producía entre las hifas de algunos hongos del suelo con los órganos subterráneos de la gran mayoría de las plantas superiores”. Para eso, utilizó el vocablo griego “Mykos” (hongos) y del latín “rhiza” (raíz).

Esta asociación simbiótica representa un proceso sucesivo de intercambios de sustancias nutritivas, metabolitos esenciales, creación de nuevas estructuras, sustancias hormonales, etc.; entre dos partes, resultando un beneficio mutuo para ambos, según (Trappe, 1987) citado por Fernández, (1990). Mediante el diálogo molecular ocurre la activación de numerosos sistemas enzimáticos produciéndose cambios significativos en la morfología y fisiología de los simbioses, de manera que queden listos para comenzar el proceso de intercambio (Bonfante-Fassolo y col., 1995; Espinosa - Victoria, 2000).

Por una parte el hongo abastece a la planta, vía xilema, de una mayor cantidad de agua y de nutrientes que esta necesita para su crecimiento y desarrollo, mientras que de la planta este recibe simultáneamente y en sentido contrario toda una transferencia de carbohidratos provenientes de la fotosíntesis vía floema (Smith y col., 1997).

2.2. Importancia agrobiológica de las micorrizas arbusculares.

El suelo constituye un medio ideal para el desarrollo de la vida microbiana; las propiedades físicas y químicas en su conjunto han creado las condiciones ecológicas que permiten incubar en su interior un elevado número de microorganismos con requerimientos nutricionales y propiedades fisiológicas muy diferentes (Fernández y Novo, 1988).

A finales del siglo pasado y comienzos de éste según Gonzáles y col (2008), de una manera gradual y ascendente, se ha incrementado la utilización de microorganismos que viven en la rizosfera de diferentes cultivos como inoculantes microbianos, desempeñando funciones específicas que benefician los índices de productividad de las plantas, como resultado del aumento de la toma de agua y nutrientes, la fijación del nitrógeno, la solubilización de minerales, la producción de estimuladores del crecimiento vegetal y el biocontrol de patógenos, entre otros.

Los hongos micorrízicos arbusculares, presentes en cerca del 80 % de los cultivos agrícolas constituyen uno de los biofertilizantes que deben ser considerados en el diseño de los diferentes sistemas agrícolas (Johnson y col., 1992).

Las micorrizas del tipo arbuscular (MA) constituyen la simbiosis más extendida sobre el planeta, tanto por el número de hospederos, como por su distribución.

Más del 95% de las especies vegetales existentes están micorrizadas de forma nativa y a su vez en el 95% de los casos estas micorrizas son del tipo arbuscular, constituyendo las más apropiadas para desarrollar programas basados en agricultura de bajos insumos (Bonfante y col., 1992).

Se puede prever que el manejo de la micorriza será una práctica cada vez más utilizada en la medida en que se amplíe el conocimiento sobre la biología de los hongos simbioses y su comportamiento con diferentes hospedantes, sustratos de crecimiento y condiciones ambientales para de esta manera, poder ofrecer tecnologías eficientes, masificables y comercialmente rentables, señaló Guerrero, (1996).

Según diferentes autores citados por Riera (2003), los efectos más importantes de las micorrizas en el sistema suelo-planta, serían:

1. Incrementar el abastecimiento de nutrientes para las plantas por la exploración de un volumen mayor de suelo (Thompson, 1994).

2. Incrementar el abastecimiento de nutrientes por la absorción de formas de elementos que normalmente no podrían ser asimilables por las plantas. (Morin y col., 1999).
3. Algunas especies tienen la capacidad de descomponer compuestos fenólicos en suelos, los cuales pueden interferir la absorción de nutrientes (Bending y Read, 1997).
4. Su colonización proporciona protección a las plantas contra hongos parásitos y nemátodos (Newsham y col., 1995; Little y Maun, 1996; Cordier y col., 1998).
5. Se han reportado beneficios no nutricionales a las plantas debido a cambios positivos en las relaciones hídricas, niveles de fitohormonas, asimilación de carbono, etc., pero estos son difíciles de interpretar (Miller y col., 1994; McGonigle y Miller, 1996; Miller y col., 1997).
6. Pueden ocurrir transferencias de nutrientes a través de los micelios conectados entre plantas de diferentes especies, lo que reduce la competencia entre ellas y contribuye a la estabilidad y diversidad del ecosistema (Simard y col., 1997).
7. Los nutrientes pueden ser transferidos desde las plantas muertas hacia las plantas en crecimiento (Eason y col., 1991; Shreiner y col., 1997).
8. Las hifas del hongo juegan un importante papel en el ciclo de nutrientes en el suelo, ya que evitan pérdidas en el sistema, especialmente cuando las raíces pierden su actividad, y por la adquisición de nutrientes desde los hongos saprofitos (Lindahl y col., 1999).
9. Las hifas constituyen conductos por donde se transportan compuestos carbonados desde las raíces de las plantas hacia otros organismos del suelo que están involucrados en los procesos del ciclo de nutrientes, cooperando con otros organismos en la descomposición.

10. Los componentes estructurales de estos hongos constituyen una fuente de alimento para invertebrados y otros organismos del suelo (Lawrence y Miner., 1996; Janos y col., 1995; Mcilwee y Johnson, 1998).

11. Influyen sobre los niveles de las poblaciones microbianas y la producción de exudados en la micorrizosfera e hifosfera (Olsson y col., 1996; Andrade y col., 1998).

12. Las hifas contribuyen al mejoramiento de la estructura del suelo, por su acción mecánica sobre la agregación (Degens y col., 1994) o por sus secreciones, tales como la glomalina (Wright y Upadhyaya, 1998).

13. Contribuyen al almacenaje del carbono en el suelo al alterar positivamente la calidad y cantidad de la materia orgánica (Rillig y col., 2001).

14. La diversidad de especies de hongos MA constituye un bio-indicador de la calidad ambiental.

El efecto beneficioso que producen las asociaciones micorrízicas arbusculares sobre el crecimiento y rendimiento de las plantas, resulta de gran importancia, particularmente en los suelos tropicales deficientes de fósforo asimilable y donde el potencial de explotación de estos es mucho mayor que en regiones de clima templado (Sieverding, 1991).

Las plantas micorrizadas se tornan más tolerantes a condiciones adversas como cambios de pH, desbalance de nutrientes, presencia de algunos elementos tóxicos, resistencia a sequía y cambios de temperatura (Barea, 1991), amén de aumentar la conducción de agua en las plantas y favorecer una rehidratación más rápida de éstas después del estrés hídrico (Ferrera – Cerrato y col., 1993; Fernández ,2003).

Los múltiples beneficios reportados por los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) sobre el crecimiento y la nutrición de la mayoría de los cultivos agrícolas, (Harley y Smith, 1983; Howeler, 1985; Siqueira y Franco, 1988; Gianinazzi -

Pearson y Gianinazzi, 1989; Marschner y Dell, 1994 y George, 2000), citados por Rivera (2003) ha permitido que en la última década, se haya incrementado su estudio en los principales cultivos económicos y se trabaje cada vez más en el perfeccionamiento de las tecnologías de producción y/o aplicación de los inoculantes micorrizógenos.

2.3. Influencia de los principales factores edáficos sobre la micorrización.

Las Micorrizas son influenciadas por factores inherentes a la planta, al hongo y el medio ambiente (suelo y clima), que actúan sobre los propágulos o sobre las diferentes fases de la simbiosis, ejerciendo gran influencia sobre la formación, el funcionamiento y las relaciones ecológicas de esas asociaciones (Siqueira, y Franco, 1988; Juárez y Sánchez, 1996).

2.3.1. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

El papel jugado por los HMA en el establecimiento de la simbiosis con la planta hospedante ha sido descrito anteriormente, no obstante cabe recordar su condición de simbiote obligado, ya que no crecen saprofiticamente en ausencia de planta hospedera.

El establecimiento de estas asociaciones implica la creación de fuertes interdependencias, tanto es así que el hongo pasa a ser una parte más del sistema radical, tan perfectamente integrado en el mismo que ve dificultado o incluso imposibilitado su desarrollo sin el concurso de su planta hospedante, y ésta puede tener un rango de dependencia del hongo, que va desde absoluto hasta relativo en mayor o menor grado (Barea *et al.*, 2008).

Una vez que la asociación se ha establecido con éxito y, al parecer, previamente a la formación de los primeros arbusculos, el hongo adquiere nuevo vigor y comienza a desarrollarse profundamente en el medio, desarrollo que está dirigido por las llamadas hifas exploradoras, las que posteriormente dan lugar a estructuras ramificadas de absorción (ERA) similares a los arbusculos intraradicales (Bago *et al.*, 2000).

La producción de estas estructuras ramificadas incrementa aún más el volumen explorado por las hifas, lo que le permite a la planta la captación de una mayor cantidad de sustancias nutritivas y agua del entorno.

En general las condiciones climatológicas (intensidad y duración de la luz, época de lluvia y sequía) y las prácticas agronómicas (preparación del terreno, aplicación de abonos y agroquímicos, especies y rotación de cultivos, uso de plaguicidas, sistema de siembra y prácticas culturales) pueden modificar las condiciones físicas y químicas del suelo (pH, contenido de fósforo, balance de nutrientes, elementos tóxicos, temperatura, humedad, aireación, estructura y contenido de materia orgánica) que afectan la supervivencia de los hongos micorrízicos arbusculares nativos e introducidos en el suelo (Bethlenfalvay , 1992).

2.3.2. El Clima.

Entre los diferentes factores que determinan el clima se encuentra la luz, cuyo efecto estimulante ha sido objeto de estudio de autores como Hayman (1985) y Furlan y Fortin (1977), quienes señalaron que durante el desarrollo del proceso de formación de las micorrizas vesículo - arbusculares, la ausencia de luz, tanto por sombras o por poca iluminación, no sólo reduce la infección micorrízica de las raíces y por ende la normal producción de esporas, sino que también puede afectar la respuesta de las plantas a esta asociación.

Según Furlan y Fortin (1977), la luz presenta un efecto estimulante sobre el proceso de formación de las micorrizas vesículo-arbusculares. Al aumentar la intensidad luminosa, los niveles de colonización son generalmente elevados (Redhead, 1975); citado por Ojeda (1998) y la diferencia de la micorrización será proporcional al número de raíces cortas, como un mecanismo para garantizar la absorción de los nutrientes en un mayor volumen de suelo como por una mayor disponibilidad de carbohidratos libres en las raíces, sin embargo cuando éste se ve afectado por sombreado, se reduce la micorrización de las raíces.

Este fenómeno se origina en gran medida debido a la reducción del grado de suministro de metabolitos a las estructuras fúngicas presentes en las raíces y en consecuencia se restringe el desarrollo externo del hongo y por supuesto la translocación de nutrientes a través de la interfase hongo - planta (Moawad, 1979).

Esta relación entre la radiación solar y los niveles de infección se explica a partir del incremento de la tasa fotosintética en presencia de altos niveles de radiación, lo que implica una mayor producción e intercambio de metabolitos y por ende una mayor posibilidad de mantener un simbionte con altos valores o niveles de colonización (Fernández, 1999).

Otro de los factores climáticos que merece ser destacado por su efecto sobre la simbiosis micorrízica es la temperatura del suelo.

Todo parece indicar que existen rangos de temperaturas óptimas del suelo para la normal germinación de esporas en determinadas géneros y/o especies de HMA (Daniels y Trappe, 1980) mientras que la infección natural, de manera general, disminuye con el incremento de la misma (Smith y Bowen ,1980).

Recientemente se ha estudiado el efecto de las variaciones estacionales sobre la abundancia de estos hongos (número de esporas, formación de micorrizas e infectividad de propágulos). Fernández *et al.*, (1990), en un estudio realizado en un cafetal joven, reportó cambios en el número de esporas a lo largo de las estaciones, que variaron marcadamente con diferentes especies de hongos micorrizógenos arbusculares.

El largo de las raíces colonizadas, el número de esporas y la infectividad, pueden variar en diferente magnitud entre cada especie a través de todo el año (Escobar-Rebollar y col., 2004) mientras que en cultivos anuales lo más común es que disminuya el número de esporas durante los periodos de crecimiento de la planta y se incremente el número de esporas al final de dicha temporada (Hayman, 1985).

Por su parte, Herrera (1995) señaló que la temperatura es uno de los factores climáticos que más incidencia tiene sobre la simbiosis micorrízica, comprobándose

que ésta ocurre con mayor intensidad en el trópico, lo que debe conllevar a un proceso de adaptación de los diferentes ecotipos.

2.3.3. El suelo y su fertilidad.

Los factores del suelo que actúan tanto en la formación como en el funcionamiento y establecimiento de la simbiosis son: disponibilidad de nutrientes, reacción del suelo, concentración de elementos metabólicos, humedad, aireación y textura del suelo, microbiota y fauna, temperatura y sistema de manejo (Siqueira y Franco, 1988), citados por Calderón, (2004). Muchos autores citados por Montilla (2002), señalan que la eficiencia de los HMA está marcadamente vinculada a los suelos pobres de baja fertilidad y que la aplicación de altos niveles de nutrientes a los mismos sobre todo de P, disminuyen o inhiben el efecto beneficioso de los HMA (Siqueira y Franco, 1988; Sieverding, 1991; Orosco y Gianinazzi-Pearson, 1993); y agrega que Fernández (1999), trabajando en suelos Pardos y Fersialíticos para condiciones de media a alta fertilidad encontró respuesta a la inoculación con cepas eficientes de HMA.

Existen reportes más recientes que de forma general refieren que las condiciones de alta disponibilidad de nutrientes inhiben la micorrización, pero el fenómeno especificidad suelo-cepa eficiente HMA conlleva a que hay especies o cepas adaptadas a mayores requerimientos de nutrientes y por lo tanto la simbiosis micorrízica no se ve restringida solo a condiciones de suelos pobres; asimismo que la simbiosis necesita de un óptimo de suministro de nutrientes aportados por los fertilizantes minerales u orgánicos, incluyendo los abonos verdes (Sánchez, 2000; Ruiz 2001; Rivera et al., 2001), para alcanzar su máxima efectividad y un funcionamiento simbiótico adecuado.

El suministro de nutrientes óptimo para una eficiente micorrización es inferior al del óptimo para las plantas no micorrizadas, basado en los incrementos en la eficiencia del proceso de absorción de nutrientes que se presenta en las plantas micorrizadas eficientemente, pero la eficiencia de la simbiosis asimismo se ve

afectada cuando el suministro de nutrientes es inferior al óptimo para las plantas micorrizadas (Rivera et al., 2003).

Los contenidos de Materia Orgánica, principalmente por alterar otras propiedades fisicoquímicas del suelo, tienen una notable influencia en el funcionamiento de las Micorrizas VA (Juárez y col., 1996).

Las condiciones de acidez de los suelos expresados a través del pH suelen ser uno de los factores relevantes que determinan en muchos casos la eficiencia del endófito, porcentaje de germinación de las esporas y el desarrollo de las micorrizas arbusculares (Green *et al.*, 1976). Tal efecto parece depender de la especie de Micorriza VA en estudio, pues unas están restringidas a suelos ácidos, otras lo están a alcalinos, mientras algunas se encuentran en ambos (Robson *et al.*, 1989) citados por Guerrero (1996).

Al parecer la relación que se establece entre los rangos o niveles del pH en el suelo y el efecto de la colonización micorrizógena no parece tan simple, ya que como señaló Fernández (2003), depende no sólo de la especie de HMA, sino también del tipo de suelo, la forma en que se encuentran los nutrientes fundamentalmente el calcio (Ca), fósforo (P), nitrógeno (N) y otros elementos menores como aluminio (Al), cobre (Cu), zinc (Zn), molibdeno (Mo), boro (B), entre otros .

Según Siqueira (1988), en general el encalado de los suelos minerales ácidos elimina los factores fungistáticos y favorece el establecimiento de las MA, especialmente de aquellas formadas por especies del género *Glomus*, que con pocas excepciones, prefieren suelos con pH próximo al neutro, al contrario de lo que es observado por la mayoría de las especies de los géneros *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Entrophospora*, que prefieren pH más o menos ácido.

La microbiota de los suelos tropicales según Primavesi (1990), está adaptada a pH entre 5.3 y 6.1 y que, en los suelos con pH 5.6, la mayoría de los microorganismos benéficos se desarrollan y sus enzimas se activan.

La misma autora refirió que los microorganismos activos en la movilización del fósforo (P) son aerobios y necesitan pH alrededor del neutro para su actividad en la rizosfera y que la existencia de determinados microorganismos como los fijadores de nitrógeno (N), agregadores del suelo y movilizadores de nutrientes, son también dependientes del pH, señalando que para los primeros un suelo con pH 4.5 permite su presencia y que el pH óptimo es de 5.6.

A pesar de que el pH se encuentra relacionado con todos los iones presentes en suelo (Fernández, 2003), resulta quizás la concentración del aluminio (Al) la más estrechamente ligada, sobre todo en los suelos tropicales (González-Chávez y col., 2004). Se ha encontrado que el funcionamiento de la mayoría de las especies de HMA es normal o adecuado cuando la concentración de aluminio oscila entre 0 y 1 cmol. Kg⁻¹ (pH 5-6), no obstante especies del género *Acaulospora* han demostrado su capacidad de crecimiento en suelos con pH 3-4 y concentraciones tóxicas de aluminio para las plantas de 2-3 cmol. Kg⁻¹ de suelo. Al respecto Christie y col., (2004); Wright y col., (2004) y Klauberg-Filho, (2005), refieren que las plantas asociadas con hongos micorrízicos pueden en tanto que retienen estos metales en las raíces, reducir la traslocación hacia la parte aérea.

2.3.4. La planta como hospedante.

La mayoría de las plantas evolucionaron con las asociaciones micorrízicas, por lo que presentan una predisposición natural hacia la formación de un tipo u otro de asociación micorrízica, resultando la simbiosis con hongos arbusculares el caso más difundido y a su vez el más discutido (Fitter y col., 1996).

Trappe (1987), después de haber consultado más de 3000 publicaciones y reportes, consideró que en las especies vegetales tropicales sólo el 13,4% no forman micorrizas, el 70,9% forman micorrizas con HMA y el 15,7% la forman con otros grupos no arbusculares.

Quizás uno de los elementos más importantes a considerar en las plantas como hospedantes de HMA, sea su sistema radical, ya que en la mayor parte de los

casos define el grado de dependencia micorrízica entre los simbioses, en este sentido Siqueira y col., (1988), definieron la dependencia micorrízica como: “El grado en que la planta depende del hongo, para su crecimiento o producción máxima, a un nivel de fertilidad determinado”; teniendo en cuenta este concepto agruparon las plantas en:

- *Micorrízicas obligadas*: Es aquel grupo de especies vegetales que presentan un crecimiento muy reducido en ausencia de la simbiosis micorrízica arbuscular y dependen fuertemente de esta interacción para asegurar una nutrición adecuada. Tienen como características generales, un sistema radical compuesto por raíces cortas, gruesas, poco desarrolladas, con ausencia o poca presencia de pelos radicales y tasas de colonización micorrízica muy altas, superiores al 60 %. Dentro de este grupo se encuentran las especies de: cítricos, tubérculos, solanáceas, leguminosas tropicales, café, entre otras y los rangos de dependencia oscilan entre 600-4000 %.
- *Micorrízicas facultativas*: En este caso son plantas que poseen un sistema radical mucho más profuso y desarrollado, con gran cantidad de pelos absorbentes y una eficiente absorción de nutrientes y agua; no obstante, bajo condiciones edáficas negativas, pueden responder satisfactoriamente a las asociaciones micorrízicas. En general, las tasas de colonización son inferiores al 50 % y se encuentran representadas fundamentalmente por el grupo de las poáceas.
- *No micorrízicas*: Como su nombre lo indica, no forman la asociación, posiblemente por razones evolutivas y estratégicas, o poseen una colonización pasiva, como por ejemplo se pueden citar las crucíferas.

Al referirse al tema, Fernández (2003), señaló que es posible aseverar que las plantas, en sentido general, presentan dependencia hacia este tipo de simbiosis, evidenciando una marcada predisposición genética a la formación en mayor o menor grado de esta asociación, pero que el cálculo de la dependencia micorrízica no se puede extrapolar a condiciones naturales donde se desarrolla la

micorrización nativa, pues hay que tener en cuenta la interrelación con los microorganismos que habitan la rizosfera, así como, las relaciones interespecíficas que se establecen entre el tipo de suelo, condición de fertilidad y funcionamiento micorrízico.

Si se trata de reproducir estos hongos, se debe seleccionar una especie con cierta dependencia micorrízica, preferentemente una planta de ciclo corto (4 - 6 meses), que posea a su vez un sistema radical que garantice una adecuada producción de propágulos micorrízicos. Entre las especies que han demostrado ser buenas hospedantes se encuentran: *Plantago lanceolata*, *Sorghum bicolor*, *Sorghum vulgare*, *Paspalum notatum*, *Fragaria sp.*, *Zea mays*, *Allium cepa* y *Brachiaria decumbens*.

2.4. La Braquiaria como cultivo hospedero.

De Souza *et al.*,(1994), ensayaron la producción de inóculos de HMA con varios tipos de plantas hospedantes, siendo el *Sorghum vulgare* y *Brachiaria decumbens* las especies que produjeron inóculos con mayor potencial (esporas/g); otros autores como Fernández (2003), la recomienda como planta hospedante para la reproducción del inoculante.

La Braquiaria pertenece a:

Familia: Gramineae.

Tribu: Paniciae.

Género: *Brachiaria*.

Las gramíneas generalmente presentan elevada diversidad, facilidad de siembra, rápido crecimiento y establecimiento, garantía de cobertura y protección del suelo.

Los hongos micorrízicos arbusculares asociados a las gramíneas, ejercen gran influencia sobre estas plantas, constituyéndose en importantes componentes bióticos del ecosistema (Gómez, 2002). Esta asociación amplía el potencial de absorción por el sistema radicular facilitando la absorción de iones y de agua del

suelo, lo que puede aumentar la capacidad extractora de las plantas (Sempere, 2000).

Brachiaria es un género de plantas de regiones tropicales principalmente africanas, que abarca cerca de 80 especies tanto perennes como anuales, cespitosas, decumbentes y macollosas.

La *Brachiaria decumbens* es una especie del este tropical de África, sobre un clima moderadamente húmedo, introducida en Cuba en 1978, procedente del CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) de Colombia.

Es una hierba perenne, vigorosa, de porte medio y alcanza su estado vegetativo de 30 a 100 cm. de altura. Presenta un fuerte sistema radicular que logra alcanzar profundidades de hasta dos metros.

Posee tallos decumbentes que enraízan hasta el tercer o cuarto nudo, de color verde, de 80 a 250 mm de largo y de 10 a 15 mm de ancho, poco pubescentes, con lígula y vaina pilosa. Su inflorescencia es una panícula de 60 a 100 mm de largo y presenta de 3 a 8 racimos, cada uno con 30 a 47 espiguillas.

Esta especie puede reproducirse por vía gámica o agámica, en el primero de los casos cuando no hay disponibilidad de semilla, a través de sus tallos o falsos estolones, o por macollas con un buen régimen de humedad a fin de garantizar la brotación. La vía gámica es mucho mas económica, pues con una dosis de 4 a 6 kg / ha con un 15 a 20 % de semilla pura, se obtiene una población de 24 plantas por metro cuadrado y un establecimiento rápido de 6 a 9 meses.

Es resistente a la sequía pero no tolera el encharcamiento y se adapta bien a suelos de media a baja fertilidad, mostrando un rápido rebrote después de un corte o pastoreo junto a una efectiva competencia con las malezas.

2.5. Producción de inoculantes micorrízicos (HMA).

Un hongo micorrízico para ser utilizado como inoculante debe poseer las características siguientes según Sieverding (1991):

- a) Colonización: dada por la capacidad de colonización del hongo en un amplio margen de condiciones.
- b) Efectividad: el hongo debe ser eficaz en la captación, traslocación y transferencia de nutrientes desde el suelo hasta la planta.
- c) Capacidad de inoculación y dispersión del inóculo: es conveniente que el inoculante tenga alta capacidad reproductora, que sus propágulos germinen con facilidad y que sus hifas crezcan y se extiendan abundantemente en el suelo.
- d) Supervivencia del inóculo y persistencia de su efecto: Se refiere a la capacidad de producir estructuras (esporas, esporocarpos, vesículas, etc.) lo que le confiere resistencia a una amplia diversidad de condiciones ambientales adversas.

En general señala que el éxito de la inoculación se logra con inoculantes que contengan una especie de hongos específicos, o una mezcla de especies aisladas de probado nivel de colonización y efectividad.

Por otra parte Siqueira y col., (1988), indican que los hongos seleccionados deben persistir en el nuevo hábitat, por lo que deben tener una alta pureza y que compitan con los nativos e incluso con organismos patógenos.

El tipo de inoculante y la forma de aplicación de éste, tienen un papel determinante en el proceso de micorrización (Gómez y col., 1995), pero lo que diferencia realmente una metodología de otra es el medio en el cual se desarrolla el proceso simbiótico.

El propio hecho de ser un simbiote obligado, conlleva para su reproducción, a la presencia de cultivos hospedantes y al completamiento del ciclo vegetativo de estos, todo lo cual conduce a tecnologías de producción con largos períodos de reproducción, aunque económicas.

Las tecnologías más utilizadas son aquellas que involucran a la planta en un medio o sustrato sólido, empleando materiales que van desde suelo, turba, perlita,

vermiculita, arena, arcilla, arcilla calcinada, varios compostales vegetales y forestales y / o mezclas de algunos de ellos (Morton *et al.*, 1993).

En la búsqueda de alternativas para la producción de inóculos se han hecho crecer plantas en medios hidropónicos, poniendo en contacto a las raicillas micorrízicas con una fina película de solución nutritiva que fluye de manera continua y a velocidad constante, aportando todos los requerimientos nutrimentales de la planta. Esta metodología, según Fernández (2003), tiene como inconveniente que es preciso ser muy riguroso en el control del pH de la solución, pues al no encontrarse en el suelo, carece por lo tanto de la capacidad de estabilización química o buffer y el mismo puede variar con la entrada al medio de los exudados de la planta.

El sistema de cultivo aeropónico, como otra novedosa tecnología desarrollada por Hung y Silvia (1988), se basa en el cultivo de plantas previamente infectadas en una cámara oscura, donde sus raicillas colonizadas con el hongo deseado, son irrigadas temporalmente a través de un dosificador de solución nutritiva, creciendo de forma acelerada de 12 a 15 semanas. Posteriormente, las raicillas y propágulos micorrízicos son cosechados o removidos de la cámara, los segmentos radicales cortados a 1 cm. y las esporas aisladas por tamizado, para su posterior uso.

De los diferentes tipos de inóculos el más efectivo y utilizado es el de suelo rizosférico de plantas, siendo el *Sorghum*, la *Brachiaria* y el *Andropogon gayanus* las plantas más utilizadas con estos propósitos (Sieverding y col., 1991).

2.5.1. Tendencias actuales en la producción de inóculos comerciales.

A inicios de la década del 90, según Rivera (2008), diversas firmas comienzan a desarrollar productos con un enfoque competitivo, inicialmente para producción de posturas de frutales, ornamentales, posturas de hortalizas y en la actualidad existen diversos productos que muy lentamente van incrementando su participación en un mercado potencial prácticamente infinito, a partir de la universalidad de la simbiosis.

En Europa, refiere el autor, se ha desarrollado y se sigue ejecutando una importante cantidad de trabajo experimental, incluso muy recientemente se potenció una red sobre “Manejo de los Hongos Micorrízicos Arbusculares en la agricultura para mejorar la calidad del suelo y el vigor de las plantas” (Cooperación científica de laboratorios de 23 países, financiada por la Unión Europea en el periodo 1998-2004) proyecto COST ACTION 838: 1998 – 2004; que entre sus líneas de investigación-desarrollo se encontraron:

- Entender el rol de la simbiosis en la producción agrícola sostenible.
- Entender e incrementar el balance biológico en la rizosfera de las plantas micorrizadas.
- Analizar las bases genéticas, fisiológicas, celulares y moleculares del funcionamiento de la simbiosis.
- Establecer tecnologías para la producción de inóculo.
- Desarrollo de regulaciones para la aplicación de productos micorrízicos.

Con independencia de que en Europa, Australia y otros países existen y se incrementan las firmas que producen y comercializan productos micorrízicos, el propio autor presenta un pequeño resumen sobre las firmas de más relevancia para el mercado de América Latina:

Plant Health Care. Firma norteamericana, de bastante agresividad y que posee como buen atributo experiencia científica de sus dueños, promoción con resultados experimentales y gran cantidad de productos entre otros. Desarrolla inoculantes multicepas HMA obtenidos por método tradicional, muchas de las formulaciones contienen además otros grupos microbianos y ácidos húmicos. Poseen inoculantes endomicorrízicos, ectomicorrízicos y otros que contienen ambos tipos de hongos. Poseen diversos productos (15) en formulaciones sólidas, recomendadas para viveros, trasplantes, flores, plantas con estrés, y líquidas para árboles. Existe filial en México que comercializa los mismos productos bajo nombre de Plant Health Care de México.

Bio Scientific Inc. Firma norteamericana que produce el biofertilizante Burize, conocido en México, Guatemala y otros países del área. Producto a base de *Glomus intraradices* (una sola cepa). La formulación se aplica líquida a partir de la unión de dos componentes. Producto recomendado para amplio espectro de cultivos, en consonancia con la baja especificidad cepa-cultivo. Recomiendan para diferentes momentos y sistemas de producción, en aplicaciones a voleo, localizadas, en la siembra o en plantaciones establecidas. Poseen un interesante sistema de recomendación manejando un número importante de factores a tener en cuenta para garantizar el éxito de la inoculación.

Premier Tech Biotecnologías. Firma canadiense la cual es el único productor industrial de endomicorrizas en reactores. Factura anualmente 25 millones de dólares canadienses en productos micorrízicos, con el nombre genérico de Myke y varias formulaciones. Especialidad en sustratos. Utiliza inoculantes con una sola cepa. La firma posee diversas líneas de productos como maquinaria para sustratos, explotación de turberas, tratamiento de aguas negras, sistemas de embalaje y paletización.

Mycorrhizal Applicattions Inc. Firma norteamericana que comercializa los productos MycoApply®. Estos productos son sólidos que se aplican recubriendo a las semillas. Su promoción maneja resultados experimentales, vinculación con artículos científicos y grupos de universidades. Como forma de aplicación plantea el recubrimiento de las semillas y por tanto se recomienda para granos como soya, trigo, alfalfa, maíz y otros cultivos como papas. Parece una firma en ascenso.

Biorize. Firma francesa que comercializa el producto endorize, producto sólido, con varias formulaciones para condiciones de clima templado, para clima tropical y para multiplicación de plantas y/o aclimatización en sustratos.

Horticultural Alliance Inn. Firma norteamericana de cerca de 10 años de experiencia, con diferentes productos y formulaciones sólidas para viveros, trasplante, para revivir raíces entre otros; posee una formulación líquida para

frutales. Inoculantes obtenidos por método tradicional y multicepas incluyendo otros grupos microbianos. Representa en América a Biorize.

Mycosism Internacional AG. Firma suiza que produce Mycosism TriTon, producto sólido de amplio espectro, obtenido por método tradicional, recomendado para cultivos hortícolas, frutales, cítricos, flores y ornamentales, y céspedes. En España la filial Triton Biotech S.L., produce el Mycosism TriTon.

En América Latina están apareciendo estos productos, importados de las firmas originales y además firmas nacionales que comienzan a comercializar los mismos, como Tecnologías Naturales Internacionales SA (Horticultural Alliance Inn), Bio Triton en Chile (Mycosism internacional AG) y a la que se hizo referencia de PHC-México, así como de otros productos fabricados por pequeñas empresas locales.

MEX Minerales. Firma colombiana que participó en el desarrollo del biofertilizante *EcoMic*[®]. Producto del trabajo conjunto en la mitad de la década del 90 y de las características tecnológicas y de innovación de la empresa han desarrollado productos en formulaciones sólidas y líquidas, los cuales comercializan en Colombia. Han obtenido bastante información sobre manejo de sus productos y se encuentran en una fase de registro. Los principales productos de la Empresa son las formulaciones de menores (micronutrientes) y la formulación y comercialización del Biobras (estimulante cubano) Están planteando una asociación para la producción y comercialización de productos micorrízicos en Colombia y otros países del área, en que el INCA aporte en lo fundamental sus recursos humanos, conocimiento científico-técnico de la simbiosis y su manejo y mercados y MEX Minerales, financiamiento, capacidad tecnológica y mercados.

2.5.2. La producción de EcoMic[®]. Desarrollo y perspectivas.

En Cuba desde 1991 se ha venido realizando la reproducción masiva de inoculantes micorrizógenos en canteros multiplicadores, a partir de un inóculo básico certificado por el Instituto de Ecología y Sistemática del CITMA, que se reproduce en canteros durante 3-4 meses, utilizando fundamentalmente el

Sorghum vulgare como planta hospedante, comercializándose con la marca de *MicoFert*[®] (Herrera, 1997); citado por Ojeda, (1998).

En el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Fernández *et al.*, (2001), desarrollaron un nuevo biofertilizante micorrizógeno a partir del crecimiento de *Brachiaria decumbens* u otra planta hospedante sobre un sustrato específico. El producto comercializado bajo la marca *EcoMic*[®], se aplica en cultivos de siembra directa mediante el recubrimiento de semillas, en bajas dosis que oscilan entre 6-10% del peso de la semilla, aunque también se puede aplicar en viveros, semilleros y en la fase adaptación de vitro plantas en las vías y dosis tradicionales (Calderón *et al.*, 2002).

EcoMic[®] es un inoculante sólido, simple, que contiene una cepa de HMA y que se recomienda para muy diversas condiciones edáficas; desde suelos de baja a alta fertilidad, presencia de salinidad y/o sequía, cambiando la cepa de HMA en cuestión. Este producto surge para suplir la falta de inoculantes micorrízicos para los granos y cultivos de siembra directa, ya que puede ser aplicado en bajas dosis mediante recubrimiento de las semillas.

En la producción de *EcoMic*[®], tanto el producto certificado de altísima pureza, bajo invernadero, como el comercial elaborado en canteros multiplicadores a cielo abierto, donde se manejan altos volúmenes de producción, se aplica un riguroso control de la calidad, y se evalúa de forma sistemática, la colonización micorrízica, la producción de esporas, la producción de micelio externo y el grado de pureza de las poblaciones de hongos micorrizógenos que se cultivan.

El sistema de control de la calidad incluye las determinaciones de fitopatógenos para ambos procesos de producción y se realiza por el Instituto de Sanidad Vegetal (INISAV), centro de referencia en la República de Cuba, a tales efectos.

Al hacer una valoración integral de los resultados alcanzados en las campañas de validación del *EcoMic*[®] a nivel nacional e internacional, Rivera y col., (2003) señalan que la aplicación del inoculante micorrízico *EcoMic*[®], mediante el

recubrimiento de las semillas en los cultivos de siembra directa como granos, cereales, raíces y tubérculos, hortalizas, fue exitosa. Agregó además que la aplicación directa al suelo o a los sustratos en otros cultivos o fases de estos, en los cuales también los inoculantes micorrízicos tradicionales fueron exitosos, como posturas de frutales y cafeto, semilleros de hortalizas y otros cultivos y adaptación de vitroplantas, permiten la introducción y el manejo de la simbiosis en la práctica productiva y de esta forma el uso efectivo de las micorrizas arbusculares deja de ser una posibilidad para convertirse en un hecho.

En tal sentido, desde hace más de 10 años, el INCA ha trabajado en el montaje de 46 plantas (biofábricas) para la producción masiva del *EcoMic*[®] tanto en Cuba como en el extranjero, elaborando cientos de toneladas de este importante producto con un alto grado de aceptación y repercusión en la agricultura tropical.

Todo ello conlleva a un proceso constante de perfeccionamiento de esta tecnología de fabricación y aplicación del *EcoMic*[®] en las diferentes prácticas productivas, por lo que hoy día se trabaja, en la confección de normas de producción que definen las características de la materia prima a utilizar como sustrato, alternativas de plantas hospederas, manejo nutricional del sustrato, así como en la evaluación de la **influencia de las características del propio sustrato a emplear sobre la selección de cepas eficientes de HMA que se necesitan reproducir.**

*Materiales
y Métodos*

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Ubicación del experimento.

Para el cumplimiento de los objetivos de trabajo, se llevó a cabo un experimento en macetas (cajuelas plásticas) bajo invernadero en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícola (INCA), situado a 138 m sobre el nivel del mar, en San José de las Lajas, Provincia La Habana, a 23° 00' de latitud N y 32° 12' de longitud O.

3.2. Procedimiento experimental y tecnología empleada.

Para la realización de este experimento se seleccionaron 8 sitios (ver tabla 3.1) cuyos suelos fuesen representativos de la provincia La Habana, y de los cuales se extrajeron “sustratos” que reunieran un grupo de características deseables para el proceso de producción del inoculante micorrizógeno *EcoMic*® tales como adecuada adhesividad, libre de pedregosidad y accesible para su extracción, pero a su vez reflejaran características físico químicas diferentes.

Tabla 3.1. Sitios, tipos de suelos asociados y localidad donde fueron extraídos los sustratos.

No	Tipo de suelo asociado	Sitio o localidad
1	Hidromórfico Gley Vértico Mullido Crómico sin Carbonatos.	El Fénix, Madruga .
2	Hidromórfico Gley Vértico Slítico Crómico.	UBPC “David Royo”. Jaruco .
3	Hidromórfico Gley Vértico Carbonatado.	Laguna “La Sierra” Guayabal , San José.
4	Fersialítico Pardo Rojizo Carbonatado.	Laguna “San Rafael” Las Papas , San José.
5	Hidromórfico Gley Vértico Ócrico Carbonatado.	CPA “ Juan Borrel ”, Güines.
6	Fluvisol Mullido Diferenciado Eutrico Carbonatado.	Producto privado, Güines .
7	Ferralítico Rojo Compactado Dístrico.	Granja Militar Agropec. Bainoa , Jaruco.
8	Hidromórfico Gley Nodular Ferruginoso Típico	La Coca , Bauta.

Los sustratos arcillosos naturales fueron extraídos de cada suelo, a diferentes profundidades, dependientes de su localización en el perfil específico pero siempre por debajo del sistema radical de la vegetación presente y hasta donde se garantizaba la homogeneidad del yacimiento. Los mismos fueron secados al aire y homogeneizados nuevamente, de donde se tomaron muestras por triplicado para la determinación de sus características químicas y físicas.

3.3. Análisis de suelo.

El pH en agua.

El pH en agua se determinó según el Método Potenciométrico, en una relación de solución 1:2,5 y los valores del mismo fueron determinados con un potenciómetro.

Técnica Analítica.

- Pesar 20 g de suelo seco al aire y pasado por tamiz de 0,5 mm y transferir a un beaker de 100-150 ml.
- Añadir 50 ml de agua y a temperatura ambiente, agitar con un agitador de vidrio hasta formar una mezcla homogénea. Después agitar a intervalo de 10-15 minutos durante una hora.
- Pasado el tiempo indicado leer en el potenciómetro el valor de pH.

La materia orgánica (MO).

La materia orgánica se determinó por el Método de Walkley-Black; combustión húmeda con solución de $K_2Cr_2O_7$ 1N en medio fuertemente ácido con $H_2SO_4(c)$.

La Técnica Analítica se realizó con base a lo descrito en el Manual de Técnicas Analíticas para Análisis de Suelo, Foliar, Abonos Orgánicos y Fertilizantes Químicos (Paneque *et al.*, 2001).

El Fósforo (P)

La determinación de fósforo se realizó mediante el Método de Oniani, de uso general en Cuba. El método está basado en la extracción del P con solución 0,1 N de H_2SO_4 con relación suelo- solución de 1: 25 con agitación de 3 minutos.

El Potasio (K), el Calcio (Ca) y el Magnesio (Mg).

Las determinaciones de K, Ca y Mg se realizaron mediante extracción con NH_4Ac 1N, pH 7 siguiendo las metodologías descritas en el Manual de Técnicas Analíticas para Análisis de Suelo, Foliar, Abonos Orgánicos y Fertilizantes Químicos (Paneque *et al.*, 2001).

Sales Solubles Totales (SST).

Se realizó mediante el método de Pasta Saturada (Paneque *et al.*, 2001), que se basa en obtener una pasta saturada de suelo, lograr estabilidad en la mezcla, y posteriormente hacer la extracción de la solución saturada del suelo. En la solución se determina la Conductividad Eléctrica en un conductímetro y a partir de ese dato calcular las SST (Paneque *et al.*, 2001).

3.4. Esterilización de los sustratos.

Las cajuelas plásticas de 45 cm. de largo, 35 cm. de ancho y 22 cm. de profundidad, fueron llenadas hasta 20 cm. de profundidad (30 kg de sustrato) a semejanza de los canteros multiplicadores al aire libre. Se emplearon 6 cajuelas por tipo de sustrato y se homogeneizaron previamente los volúmenes a utilizar de cada sustrato para lograr las menores diferencias posibles entre cada una de las 6 cajuelas.

Estas fueron esterilizadas con Formol al 1%, a razón de 7,5 ml de Formol en 750 ml de agua por cada cajuela; se mantuvieron tapadas adecuadamente durante 72 horas, y luego de destapar se removió el sustrato para eliminar el formol remanente mediante la liberación de vapores.

3.5. Fertilización y siembra.

Se emplearon 2 fondos de fertilización (ver tabla 3.2) cuyas dosis de N, P_2O_5 y K_2O fueron ajustadas de modo que garantizaran un desarrollo adecuado de la Braquiaria micorrizada, con un aporte aceptable de estos macroelementos a los sustratos más pobres y no impidiera un funcionamiento micorrízico por alta disponibilidad de nutrientes en los demás.

Para la definición de los fondos se partió de los resultados encontrados por Gonzáles (2007), en los trabajos de optimización de la fertilización mineral para plantaciones de *Braquiaria.sp* inoculadas con cepas eficientes de HMA por tipo de suelo.

Tabla 3.2. Fondos de fertilización.

	Fondo 1	Fondo 2
Nitrógeno	35 kg.ha ⁻¹ de N.	45 kg.ha ⁻¹ de N.
Fósforo	10 kg.ha ⁻¹ de P ₂ O ₅	20 kg.ha ⁻¹ de P ₂ O ₅
Potasio	13 kg.ha ⁻¹ de K ₂ O	26 kg.ha ⁻¹ de K ₂ O

Tales dosis fueron aplicadas mediante el empleo del fertilizante fórmula completa 9-13-17 y Urea, de la forma siguiente:

Fondo 1 ----- 1,8 g de la fórmula completa más 0,79 g de Urea en cada cajuela.

Fondo 2 ----- 3,6 g de la fórmula completa más 1,00 g de Urea en cada cajuela.

El fertilizante fue distribuido en los 3 surcos abiertos para la siembra, los cuales se encontraban separados equitativamente en el sentido longitudinal de las cajuelas.

Como cultivo hospedante fue sembrada la Braquiaria (*Brachiaria decumbens*, cultivar *Vasilisk*), con 95% de pureza y 80 % de germinación. La inoculación micorrízica se realizó mediante la aplicación de inóculo certificado de la cepa HMA *Glomus. hoi "like"* conteniendo 82 esporas por gramo, utilizando la técnica de recubrimiento de las semillas (Fernández, 2003).

3.6. Atenciones culturales.

Como cultivo protegido bajo invernadero, tales atenciones se limitaron a la escarda de plantas indeseables y al control del riego, el que se realizó manualmente, manteniendo la humedad del sustrato en un límite cercano a la

capacidad de campo. Durante el período no fue necesaria la aplicación de productos fitosanitarios.

3.7. Evaluaciones y mediciones.

Altura. Se efectuaron mediciones de altura con regla graduada y precisión de 1mm en 10 plantas por tratamientos (hasta el punto de inserción de la última hoja) cada 15 días, hasta los 75 días después de la germinación (DDG).

Se tomaron muestras foliares a los 30, 60 y 105 DDG, consistentes en toda la masa foliar (tallo más hojas) en un área de un dm^2 (10x10 cm) en cada cajuela y centrada en los surcos de siembra. Luego de secar las muestras en estufa con circulación forzada de aire a 65 °C durante 72 horas, hasta masa constante, se obtuvo la masa seca foliar o del sistema aéreo en g.dm^2 .

Masa seca radical. En la misma área que se realizó la extracción o corte del sistema aéreo, fue extraído un bloque de sustrato de 2 dm^3 (10cm x 10cm x 20 cm de profundidad) en cada cajuela a los 30, 60, y 105 DDG. Estos bloques contenían sustratos y raíces. Se tomó una muestra compuesta de sustrato en toda la profundidad. Con el resto se procedió a lavar las raíces, puestas a estufa con circulación forzada de aire a 65 °C durante 72 horas y llevada a masa constante y determinada la masa seca radical. Con similar procedimiento fue evaluado el sistema radical a los 105 DDG en 4 tratamientos seleccionados, pero en este caso a dos profundidades, de 0-10 cm y de 10-20 cm y colectando además las muestras de sustrato correspondiente a cada profundidad.

Evaluaciones micorrízicas. Las muestras compuestas de sustratos y raíces se procesaron para las determinaciones de esporas, porcentaje de colonización micorrízica y densidad visual en las raicillas. Los contenidos de esporas se determinaron a los 30, 60 y 105 DDG en la profundidad de 0-20 cm y además a los 105 días en cuatro tratamientos en dos profundidades: 0-10 y 10-20 cm. En todos los casos los muestreos se realizaron y se analizaron por duplicado.

En el caso de las evaluaciones de colonización y densidad visual en las raicillas, se realizaron a los 30 y 60 DDG. Los procedimientos específicos seguidos se relacionan a continuación:

- **Conteo de esporas:** Se realizó tomando una submuestra de 50 g de suelo rizosférico, según el método descrito por Gerdemann y Nicolson (1963), el cual se basa en el tamizado y decantado por vía húmeda de los propágulos del hongo. Las esporas y demás propágulos se colectaron sobre una malla de 40 micras de apertura, siendo separadas por centrifugación con un gradiente de sacarosa + Tween 80 y observadas posteriormente en un estéreo microscopio (45x). Los valores se expresaron en esporas/gramo de suelo.
- **Porcentaje de colonización:** Se procedió a extraer las raíces más finas utilizando pinzas de disección, obteniéndose 200 mg de estas. Se les aplicó la metodología descrita por Phillips y Hayman (1972), para clarificar y teñir las raicillas. La cuantificación se realizó según el método descrito por Giovannetti y Mosse (1980), en microscopio estereoscópico (45-50x), basado en el conteo de 100 interceptos de las raicillas con las líneas de una placa de Petri cuadrículada. Se consideró como un intercepto cada vez que una raicilla pasó por encima de una línea de evaluación y se consideró como dos interceptos cuando coincidió sobre la línea o cuando pasó dos veces sobre ella.
- **Porcentaje de densidad visual (DV):** Se determinó mediante el método propuesto por Herrera (1988). Extrayendo las raicillas de forma similar a como se describió para el porcentaje de colonización. Las raicillas teñidas fueron colocadas al azar sobre una caja de Petri plástica cuadrículada con líneas separadas por 1 cm. La evaluación de la densidad visual se realizó en cada intercepto a través de la estimación de la intensidad de colonización en los niveles de acuerdo a como sigue:

Nivel de evaluación	0	1	2	3	4	5
% de intensidad observado	0	1	2,5	15,5	35,5	47,5

Teniendo el número de interceptos encontrados para cada nivel de evaluación, se procedió a calcular el % DV de la forma siguiente:

1. Se multiplicó el número de interceptos contados en cada nivel (Z), por el porcentaje de intensidad de colonización correspondiente, dándonos los valores de A_n.

$$A_0 = Z_0 \times 0\%$$

$$A_1 = Z_1 \times 1\%$$

$$A_2 = Z_2 \times 2,5\%$$

$$A_3 = Z_3 \times 15,5\%$$

$$A_4 = Z_4 \times 35,5\%$$

$$A_5 = Z_5 \times 47,5\%$$

2. Con los datos de A calculados se procedió a calcular el porcentaje de densidad visual (% DV):

$$\% \text{ D.V.} = \frac{Z (0-5)}{A (\# \text{ interceptos})} \times 100$$

3.8. Tratamientos utilizados. Diseño experimental.

Se utilizaron 16 tratamientos formados por los 8 sustratos y los 2 fondos de fertilización. De tal forma se empleo un diseño Completamente Aleatorizado con arreglo bifactorial y 3 repeticiones por tratamiento.

3.9. Análisis Estadístico.

En todos los casos, los resultados experimentales fueron sometidos al análisis estadístico correspondiente (Anova), con arreglo bifactorial (8x2) aplicándose la prueba de comparación de rangos múltiples de Duncan referidos por Cochran y Cox (1990). con $P < 0,001\%$ como criterio comparativo entre los distintos tratamientos, en los casos donde se encontraron diferencias significativas.

Con el objetivo de encontrar las variables en los sustratos más relacionadas con la producción de esporas, así como de forma general cuales variables se encontraban mas asociadas entre sí, se procedió a realizar un análisis multivariado de componentes principales.

Con posterioridad y para determinar el grado de asociación entre las principales características químicas y texturales de los sustratos y la producción de esporas, se procedió a realizar correlaciones simples y múltiples en las variables que en el análisis multivariado presentaron mayor grado de asociación con la producción de esporas.

También se establecieron correlaciones simples entre algunas variables de crecimiento de la Braquiaria, la producción de esporas y el porcentaje de colonización micorrízica.

Resultados y Discusión

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. Caracterización de los Sustratos.

A continuación se relacionan los diferentes sustratos con las características mas generales de los tipos de suelos asociados (ver tabla 4.1).

De los sustratos en estudio cinco pertenecen al Agrupamiento de suelos Hidromórficos (sustratos: 1, 2, 3, 5 y 8), que se desarrollan en regiones o zonas llanas o depresionales, en los cuales predominan las condiciones de hidromorfia, por la presencia de un manto freático cercano a la superficie (1-3 m de profundidad), presentando en ocasiones una capa impermeable (arcillosa) poco profunda. Estas condiciones de hidromorfia se advierten por sus propiedades gléyicas a menos de 50cm de profundidad.

Salvo el sustrato 8; también con una capa arcillosa subyacente acompañada de un horizonte con presencia de nódulos ferruginosos (perdigones); los restantes sustratos de suelos de este Agrupamiento tienen características vérticas, es decir, con agregados con estructura prismática aunque no bien definida.

El sustrato 4 proviene del Agrupamiento de suelos Fersialíticos, del Tipo Pardo Rojizo, caracterizado por la presencia de minerales arcillosos de tipo 2: 1 y 1:1 con predominio de los primeros, también formado en una depresión o laguna con inundación temporal.

El sustrato 6 corresponde a un suelo del Agrupamiento Fluvisoles, llamados también Aluviales, que no está actualmente sujeto a inundaciones pero tampoco se advierte en su perfil, rasgos que denoten el desarrollo de un nuevo proceso de formación de suelos con formación de horizonte B.

El sustrato 7 del Agrupamiento de suelos Ferralíticos, representativo de la llanura Habana-Matanzas, de color rojo, presenta un gran lavado de sus bases cambiables, y predominio de arcillas tipo 1:1, de consistencia compacta cuando

secan y plástica en estado húmedo, además de la acumulación de óxidos e hidróxidos de Fe y Al.

En general los sustratos se pueden subdividir en dos grupos de acuerdo a sus contenidos de bases cambiables. Uno de ellos conformado por los sustratos 1, 3, 4, 5, y 6, los cuales presentan los mayores contenidos de Na, K, Ca y Mg, con valores más altos de la suma de bases cambiables (CCB) de 39 - 62 cmol.kg^{-1} ., pH francamente alcalino (7.7) y los menores porcentajes de arcilla (38-66%) en los cuales deben predominar los minerales arcillosos del tipo 2:1, y el otro por los sustratos 2, 7, 8 que presentan los valores más bajos de CCB (8-19 cmol. Kg^{-1}), pH ácidos (6,3) y los mayores contenidos de arcilla (76-84%), en los cuales por las características anteriores predominan los de tipo 1:1.

Es de destacar que en este último grupo, el sustrato 7 se caracterizó por presentar el pH más bajo (5.13) y el valor menor de CCB (7.78 cmol.kg^{-1}), mientras que los sitios 2 y 8 si bien presentaron valores de CCB relativamente similares, del orden de 18-19 cmol.kg^{-1} , presentaron diferencias importantes entre ellos en el pH, de 6.27 para el sitio 2 y de 5.30 para el sitio 8 y en los contenidos de SST que fue tres veces superior en el sustrato 2 respecto al 8.

Los contenidos de Fósforo asimilable presentaron los valores más bajos en el grupo de sustratos con pH ácidos y valor menor de CCB de hasta 11,6 ug.g^{-1} , mientras que el otro grupo presentó valores superiores entre 6-34 ug.g^{-1} con excepción de un altísimo contenido de 172 ug.g^{-1} en el sustrato 4.

La materia orgánica fue baja de forma general, dada la profundidad superior a 40 cm a que se extrajeron cualesquiera de los sustratos, mientras que la conductividad eléctrica (CE) y las sales solubles totales (SST), que no fueron indicativas de una alta salinidad, difieren entre sustratos y no parecen estar asociadas con los Agrupamientos de suelos antes descritos, sino más bien al microrelieve depresional y/o proximidad a la zona costera.

Tabla 4.1. Características químicas y físicas de los sustratos.

Sustratos	Suelos y sitios	cmol. Kg ⁻¹					ug.g ⁻¹	%	pH	dS/m	ug.g ⁻¹	Composición mecánica %			Textura
		Na	K	Ca	Mg	CCB	P	MO		C.E	SST	arena	limo	arcilla	
1	Hidromórfico Gley Vértico Mullido Crómico sin Carbonatos (Madruga)	1,03 bcd	0,24 d	33,00 d	5,07 ab	39,34 d	12,00 d	0,74 ns	7,67 d	1,21	774 b	33,26 b	9,00 c	57,74 d	arcillosa
6	Fluvisol Mullido Diferenciado Eútrico Carbonatado (Güines)	0,99 bcd	0,48 b	50,17 ab	6,17 ab	57,80 b	6,00 ef	0,73 ns	8,60 a	0,66	424 d	40,26 ab	22,00 a	37,74 e	Franco arcillosa
3	Hidromórfico Gley Vértico Slítico Carbonatado (San José, Guayabal).	1,30 a	0,48 b	53,50 a	6,83 a	62,11 a	34,33 b	0,65 ns	8,20 b	0,63	402 d	16,26 c	18,00 b	65,74 c	arcillosa
4	Fersialítico Pardo Rojizo Mullido Carbonatado (San José, Las Papas)	1,12 abc	0,76 a	49,50 b	6,00 ab	57,38 b	172,00 a	0,67 ns	7,73 d	0,72	462 d	37,59 ab	10,00 bc	51,74 d	arcillosa
5	Hidromórfico Gley Vértico Ótrico Carbonatado (Güines, J. Borrell)	1,17 ab	0,36 c	41,67 c	7,17 a	50,36 c	19,00 c	0,71 ns	8,07 c	1,37	879 a	43,26 a	3,00 g	53,74 d	arcillosa
2	Hidromórfico Gley Vértico Slítico Crómico (Jaruco).	0,93 cde	0,21 d	13,53 e	3,43 c	18,10 e	11,67 d	0,48 ns	6,27 e	0,97	621 c	19,26 c	4,00 ef	76,74 b	arcillosa
7	Ferralítico Rojo Compactado Dístrico (Bainoa).	0,77 e	0,21 d	4,43 f	2,37 d	7,78 f	0,93 f	0,44 ns	5,30 f	0,38	239 e	9,26 d	7,00 de	83,74 a	arcillosa
8	Hidromórfico Gley Nodular Ferruginoso Típico (La Coca, Bauta)	0,86 de	0,19 d	14,67 e	2,93 cd	18,65 e	9,67 de	0,86 ns	5,13 g	0,33	212 e	20,26 c	4,00 ef	75,74 b	arcillosa
Es x : Medias con letras en común no difieren significativamente según Dócima de Duncan para p < 0.001		0.04	0.02	0.85	0.65	0.77	1.29	0.28	0.02	0.05	33.41	1.37	0.77	1.30	arcillosa

4.2. Efecto de los sustratos en la asociación Cepa HMA- Cultivo hospedante.

El análisis bifactorial realizado a las diferentes variables estudiadas si bien indicó un efecto significativo del factor sustrato, no se encontraron efectos significativos de los fondos de fertilización aplicados sobre los indicadores del crecimiento y desarrollo del cultivo hospedante ni sobre el funcionamiento micorrízico, así como tampoco se presentó interacción entre ambos factores, (sustratos y fertilización) por lo que a partir de este momento solo se presentan los efectos del factor sustratos.

4.2.1. Comportamiento de los sustratos en la relación entre masa seca total y de producción de esporas.

En la fig. 4.1 se observa que los sustratos originaron un comportamiento muy diferenciado en la producción de masa seca de la braquiaria micorrizada así como en la producción de esporas obtenidas en cada uno de ellos.

De forma general se esperaba que existieran diferencias en la producción de masa seca de la Braquiaria micorrizada, dado por las diferencias en las características físico químicas de los sustratos, y la influencia de esta sobre la efectividad de la cepa inoculada, y que la producción de esporas debía ser una consecuencia no solo de los porcentajes de colonización micorrízica sino también de la producción de masa seca total y radical fundamentalmente de la braquiaria micorrizada.

Al relacionar la producción de masa seca total y de esporas (figuras 4.1 a y b) se puede apreciar que los sustratos presentaron diferentes comportamientos y se separan en tres grupos; al centro en la figura 4.1 a, un grupo en el cual tal como se esperaba, existió una total correspondencia entre la producción de masa seca y de esporas. Este grupo es formado por los sustratos 1, 2, 3, 4 y 6, donde en la medida que la Braquiaria micorrizada produjo mayor masa seca, produjo también mayor cantidad de esporas. Si relacionamos solo los sustratos de este grupo, el grado de correlación entre la masa seca y la producción de esporas fue muy alto

($R^2 = 94 \%$) según la figura 4.1-b, dejando clara la alta dependencia entre la masa seca total de la Braquiaria micorrizada y la producción de esporas.

Otro grupo formado por los sustratos 7 y 8, y colocados por debajo de la línea de ajuste de la propia figura 4.1-a, en los cuales a pesar de una aceptable producción de masa seca, la cantidad de esporas producidas se ven restringidas a niveles muy bajos; y por último, en solitario (sobre la línea de ajuste), el sustrato 5 que con similar producción de masa seca que el grupo anterior, produjo la mayor cantidad de esporas.

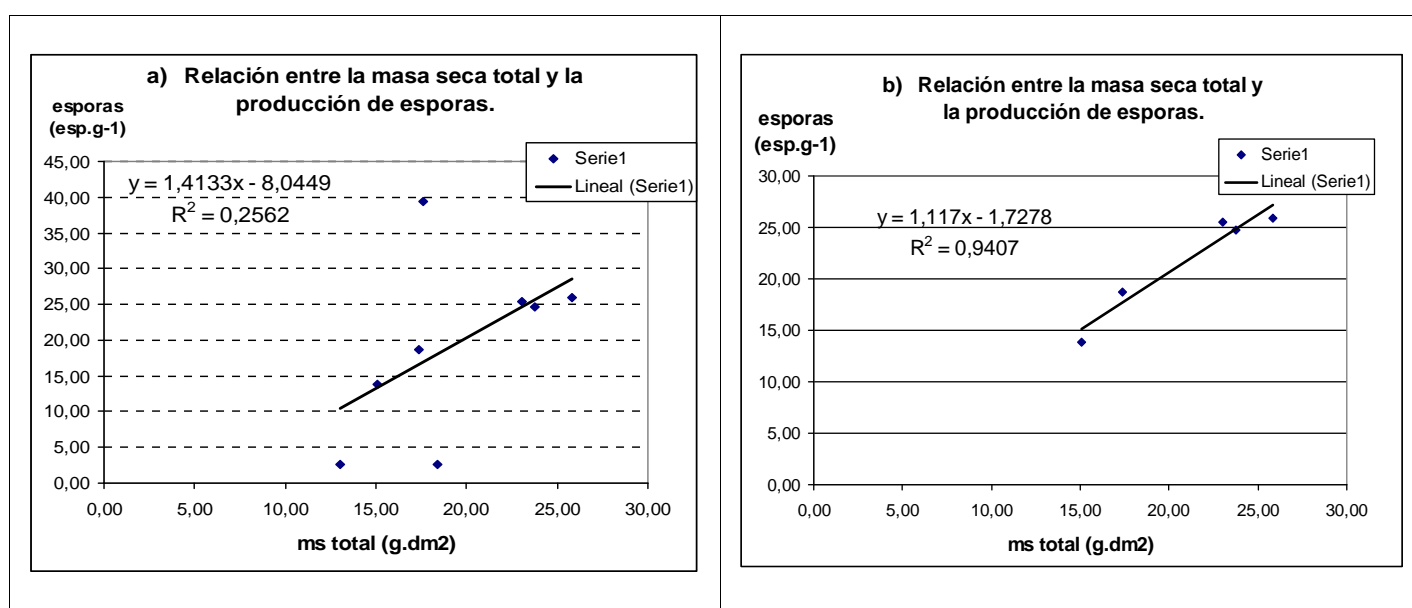


Figura 4.1. Relación entre la producción de esporas y masa seca total.

4.2.2. Efecto de los sustratos sobre el funcionamiento micorrízico y el desarrollo del cultivo hospedante.

Es bien sabido que, la presencia o producción de esporas siempre estará precedida por la colonización micorrízica del sistema radical, estando la etapa de mayores producciones de esporas asociada con los estadios finales del ciclo biológico del cultivo hospedante, de terminación de los procesos de absorción de los nutrientes en los cultivos o de interrupción del transporte de productos de la fotosíntesis a las raíces micorrizadas, y en cualquiera de estos casos, como mecanismo de supervivencia, se incrementa la esporulación.

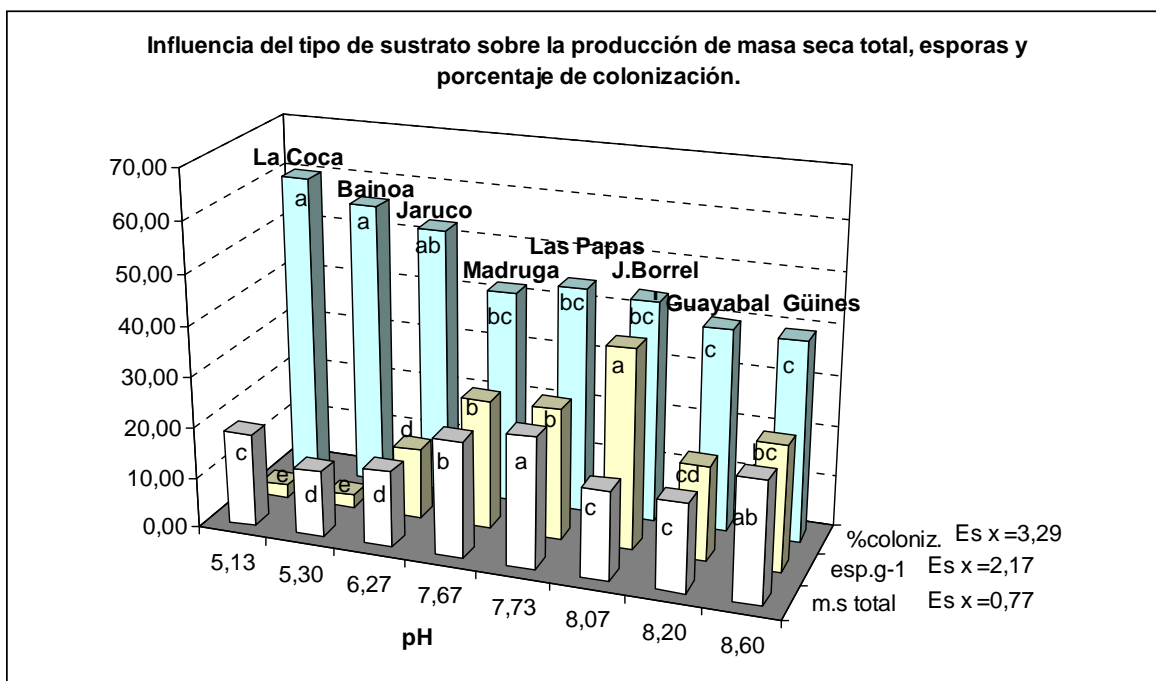
En una valoración conjunta del efecto de los sustratos sobre la producción de esporas y de masa seca (fig. 4.2), se evidenció un funcionamiento micorrízico adecuado para la cepa HMA *Glomus hoi* "like" en estudio, dado por niveles medios a altos de producción de esporas y de masa seca con una colonización radical, superior al 40 %, aceptable para este cultivo (González et al., 2008) en los sustratos 1, 3, 4, 5 y 6, en los cuales como se vio anteriormente, predominan las arcillas de tipo 2:1 de mayor fertilidad y pH básico.

La misma cepa en cambio, no parece encontrar condiciones que favorezcan su reproducción, en los sustratos con predominio de arcilla tipo 1:1, de baja fertilidad y pH ácido (sustratos 7 y 8), expresado esto por la baja producción de esporas alcanzadas aún cuando en dichos sustratos se presentaron los mayores porcentajes de colonización.

Como se puede apreciar en el sustrato 2, con características como CCB, textura y tipo de arcilla similar al sustrato 8, pero con un pH superior y solo ligeramente ácido (pH 6,27) se encontró que el número de esporas producidas, aunque bajo, fue notablemente superior a este último, sugiriendo la importancia del pH en la conducta de la cepa.

El análisis de estos resultados indicó que la cepa de HMA *Glomus hoi* "like" presentó un mejor comportamiento micorrízico en sustratos con pH mayores que 7 y alta capacidad de cambio de bases, con los cuales no solo se alcanza un desarrollo mayor de la Braquiaria micorrizada sino una mayor capacidad de reproducción de esporas, aspecto que define la efectividad en el proceso de producción de un inóculo micorrízico.

Esta conducta puede ser consecuencia de la especificidad suelo-cepa eficiente de HMA reportada anteriormente por otros autores (Fernández, 1999; Ruiz, 2001; Joao, 2002; Rivera *et al*, 2003), pero ampliándose en este caso los indicadores de expresión del concepto de especificidad suelo-cepa eficiente, pues todo parece que además del efecto agrobiológico sobre la masa seca de la planta hospedante, puede incluirse el efecto sobre la capacidad de reproducción de esporas.



Medias con letras en común no difieren significativamente según Dócima de Duncan para $p < 0.001$

Figura 4.2. Influencia del tipo de sustrato sobre la producción de Masa Seca Total, de Esporas y la Colonización en el cultivo hospedante.

El hecho de encontrarse los valores más altos de porcentajes de colonización asociados con los menores de producción de esporas (sustratos 2, 7 y 8), no debe interpretarse como un fenómeno contradictorio, sino que debió ser consecuencia de las diferentes características físico químicas y de disponibilidad de nutrientes de los sustratos estudiadas y su efecto diferenciado sobre la efectividad de esta cepa y el funcionamiento micorrízico.

Hay que partir que se trabajó con sustratos de muy diferentes características de pH, CCB, disponibilidad de nutrientes y equilibrios entre los mismos, en los cuales la cepa no tiene por qué presentar y de hecho no presentó una conducta similar en todos ellos.

Unos resultados que parecen tener relación con estos fueron los reportados por Fernández (1999) y Sánchez (2001), en trabajos de selección de cepas HMA para la producción de posturas de cafeto en diferentes suelos, donde no solo

encontraron una respuesta diferenciada de las cepas sobre el crecimiento y nutrición de las posturas para cada uno de los suelos, sino que también reportaron que en la medida que disminuyó la fertilidad de estos, se incrementó la cantidad de estructuras fúngicas necesarias asociadas al funcionamiento micorrízico de las cepas eficientes, transitando por valores de endófito de 19-22 mg/g a 39-42 mg/g al pasar de suelos de alta-media fertilidad a suelos de baja-muy baja fertilidad.

Tal parece que esta fue la situación presentada por el grupo de sustratos (2, 7 y 8) asociada a condiciones de menor fertilidad y donde el funcionamiento micorrízico requirió de mayor cantidad de estructuras fúngicas aunque no haya sido completamente eficiente.

Aquí se adiciona otro aspecto y es que en esas condiciones, si bien la colonización se establece, la reproducción sin embargo se encuentra limitada, y parece que estamos en presencia de condiciones no adecuadas para el establecimiento de la cepa, y la información sugiere que el criterio de efectividad de una cepa se amplíe no solo a tener en cuenta los indicadores de colonización y de efecto agrobiológico en general, sino también a que la cepa pueda reproducirse.

En relación con lo anterior podemos considerar que los resultados obtenidos en la utilización del abono verde como vía para inocular cepas eficientes a cultivos económicos (Martín *et al.*, 2008; Simó, 2008) y el propio efecto de permanencia del inoculante aplicado sobre el primer cultivo posterior al cultivo inoculado en secuencias de cultivo (Ruiz, 2001; Riera, 2003), no pudieran obtenerse si la cepa no se reproduce adecuadamente por el cultivo inoculado.

La información obtenida parece ser no solo adecuada para el proceso de producción de inoculantes donde el indicador número de esporas por gramo es decisivo, sino que además puede ser utilizable dentro de los indicadores a evaluar en la recomendación de cepas eficientes de HMA para los agrosistemas.

4.2.3. Dinámica del desarrollo del cultivo hospedante y la producción de esporas en diferentes sustratos.

La producción del inóculo micorrízico (*EcoMic*[®]) en el menor tiempo posible con la adecuada calidad, puede significar un ahorro de tiempo y de recursos además de una mayor pureza, al estar menos tiempo expuesto a labores y manipulaciones contaminantes.

Si bien se dispone de toda la información en los ocho sustratos y períodos de muestreo, se seleccionó el comportamiento en cuatro sustratos contrastantes en características químicas y en el propio funcionamiento micorrízico, para simplificar la información y partiendo de que los principales resultados se derivan de la conducta de estos tratamientos.

Al hacer una valoración de la asociación simbiótica en diferentes momentos del desarrollo del cultivo hospedante en cuatro de los sustratos estudiados (tabla 4.2), y representativos de los tres diferentes comportamientos antes descritos; se aprecia que el desarrollo del sistema radical (producción de masa seca) es lento en los primeros 30 días posteriores a la germinación de las plantas, acumulándose como promedio el 13% de la masa seca radical obtenida.

A los 60 días solo se ha formado aproximadamente el 45% del sistema radical, indicando que aún está en pleno desarrollo. El sustrato “Juan Borrel” (5), con apenas un 7% y un 29% acumulado a los 30 y 60 DDG, finalmente alcanzó un desarrollo radical aceptable, muy similar al obtenido con el sustrato “La Coca” (8), uno de los de más baja fertilidad natural y superior al del sitio “Guayabal” (3) y de forma general no se encontraron diferencias importantes entre la masa seca radical de la *Braquiaria* en estos sustratos.

Tabla 4.2. Dinámica de la producción de esporas y el desarrollo del cultivo hospedante.

Indicadores		Sustratos				
		3: L. Guayabal	4: Las Papas	5: Juan Borrell	8: La Coca	Es x
masa seca radical (g.dm3)	30 días	0,58 c	1,58 a	0,5 c	0,9 b	0,07
	% Acum	10,00	17,00	7,00	13,00	
	60 días	2,6 cd	4,4 a	2,1 d	3,2 bc	0,35
	% Acum	45,00	52,00	29,00	48,00	
	90 días	5,8 c	8,3 a	7,0 b	6,9 b	0,37
	% Acum	100,00	100,00	100,00	100,00	
masa seca foliar (g.dm2)	30 días	2,8 bc	5,3 a	2,7 c	3,9 b	0,36
	% Acum	23,00	30,00	25,00	34,00	
	60 días	8,6 b	12,6 a	6,9 b	8,0 b	1,02
	% Acum	75,00	73,00	65,00	69,00	
	90 días	11,5 b	17,5 a	10,6 b	11,4 b	0,59
	% Acum	100,00	100,00	100,00	100,00	
esporas x g de sustrato	30 días	1,7 bc	2,5 b	7,4 a	0,3 c	0,45
	% Acum	9,00	10,00	19,00	10,00	
	60 días	4,2 c	18,2 b	34,7 a	1,6 d	0,67
	% Acum	22,00	70,00	88,00	55,00	
	90 días	18,8 c	25,9 b	39,5 a	2,9 d	2,17
	% Acum	100,00	100,00	100,00	100,00	
esporas x g de materia seca total	30 días	1000	735	4625	125	
	60 días	750	2141	7711	286	
	90 días	2173	2008	4489	317	

Medias con letras en común no difieren significativamente según Dócima de Duncan para $p < 0.001$.

La masa seca foliar fue mayor en relación al sistema radical en cada momento evaluado, con un acumulado de 27% y 75% a los 30 y 60 DDG. Salvo el sustrato Las Papas (4), de mayor desarrollo radical y foliar que los demás, el resto de los sustratos tuvieron un comportamiento inferior y muy similar entre ellos.

La producción de esporas se incrementó con la edad del cultivo, según este aumenta en crecimiento y desarrollo, aunque no en la misma proporción para todos los sustratos. Así el sustrato "Juan Borrell" a los 60 DDG alcanzó una

producción de 34,7 esporas.g⁻¹ (alta para ese momento), representando el 88% de las esporas producidas en todo el período, mientras el sustrato del sitio Guayabal (7,20 esporas.g⁻¹) solo lo había hecho para un 38%.

De este modo el sustrato “Juan Borrell” mostró la condición deseada de permitir la extracción o cosecha del producto bruto micorrizado en un tiempo más breve (2 meses), como lo sugirió Fernández, 2003; puesto que alcanzó en ese momento una buena calidad como inóculo comercial.

Por otra parte el mismo sustrato “Juan Borrell” con similar desarrollo que el sustrato “La Coca”, tuvo la mayor producción final de esporas (39,5 esporas.g⁻¹), mientras que este último mostró incapacidad para la reproducción de la cepa HMA *G. hoi* “like” con contenidos de menos de 3 esporas.g⁻¹ de sustrato.

El hecho de no encontrar una correspondencia entre el desarrollo de la planta hospedante y la producción de esporas en ambos sustratos, supone que uno o más factores quizás no comunes, estuvieron presentes como para originar un comportamiento diferenciado como se dijo anteriormente.

De la misma manera ambos sustratos presentan diferencias notables en cuanto a la eficiencia micorrízica medida en función de la producción de esporas por masa seca total elaborada. Como se aprecia en la propia tabla, la producción del inóculo comercial en el sustrato “Juan Borrell” fue mucho más eficiente (4489 esporas.g⁻¹) no solo respecto al sustrato “La Coca” sino al resto de estos.

En el caso de los sitios “Guayabal” y “Las Papas” en los cuales se obtuvo una alta y positiva relación entre la masa seca total y las esporas (fig. 4.1 b) con un R² de 94%, la eficiencia evaluada por esporas / masa seca total fue similar y del orden de 2000 esporas.g⁻¹, siendo las diferencias en calidad del inoculante (esporas.g de sustrato) una consecuencia de las diferencias en masa seca. En este caso el sitio Las Papas produjo un 27 % más de esporas que el sitio “Guayabal”, dependiente totalmente de la mayor producción de masa seca encontrada en el sustrato “Las Papas” respecto al sustrato “Guayabal”.

En relación con la conducta de los sustratos 3, 4 y 5 donde se alcanzaron las mayores producciones de esporas; también se obtuvieron valores de porcentajes de colonización a los 60 días del orden del 40 % sin diferencias significativas entre los mismos como se vio con anterioridad. Estos porcentajes parecen ser adecuados y en correspondencia con los encontrados por Vásquez, *et al.* (2008) en una dinámica de funcionamiento micorrízico de *Brachiaria decumbens* inoculada con *Glomus hoi* "like" en canteros multiplicadores.

En dicho trabajo los porcentajes se incrementaron hasta los 90 días, disminuyendo después de ese momento, debido a que se suspendió el riego para cosechar los canteros y se provocó la terminación del ciclo biológico.

El hecho de no encontrarse diferencias significativas entre los porcentajes de colonización alcanzados por la Braquiaria inoculada en estos sustratos es indicativo del funcionamiento de la cepa en estas condiciones y explica el por qué de las relaciones entre crecimiento y esporulación, ya que todo parece indicar que el funcionamiento fue similar entre estos sustratos.

Respecto a la conducta de la cepa *Glomus hoi* "like" en el sustrato "Juan Borrell" que tuvo una producción de esporas muy superior a la estimada en función del crecimiento y desarrollo, bien pudiera explicarse como una consecuencia de una condición estresante que favoreció la producción de esporas como mecanismo de supervivencia. Lo anterior es solo una hipótesis y como aspecto a destacar, es el sustrato de mayores niveles de Mg y SST y altos valores de pH.

Es de señalar que en este experimento siempre hay más de una causa de variación entre uno y otro sustrato, que sin dudas puede ocasionar que coincidan condiciones favorables para el funcionamiento de la cepa, que permitan su colonización y funcionamiento pero que de alguna forma limiten en algún momento el normal desarrollo de la planta hospedante micorrizada y esta reaccione incrementando la esporulación. No hay dudas que es un aspecto a continuar investigando.

4.2.4. Desarrollo del sistema radical y la producción de esporas en el perfil de diferentes sustratos.

La distribución uniforme del sistema radical en todo el volumen de sustrato con una buena esporulación, es una condición muy favorable para la producción de inóculos micorrízicos, toda vez que el producto en sí, comprende el sustrato extraído en toda la profundidad del lecho bien sea en canteros, macetas y cajuelas.

La masa seca radical como expresión del desarrollo de este sistema, si bien fue diferente entre los sustratos (fig. 4.3), su distribución relativa en el perfil siguió un comportamiento semejante, al encontrarse entre el 64 y 73% de las raíces en los primeros 10 cm de profundidad y el resto entre 10-20 cm para cualquiera de los sustratos.

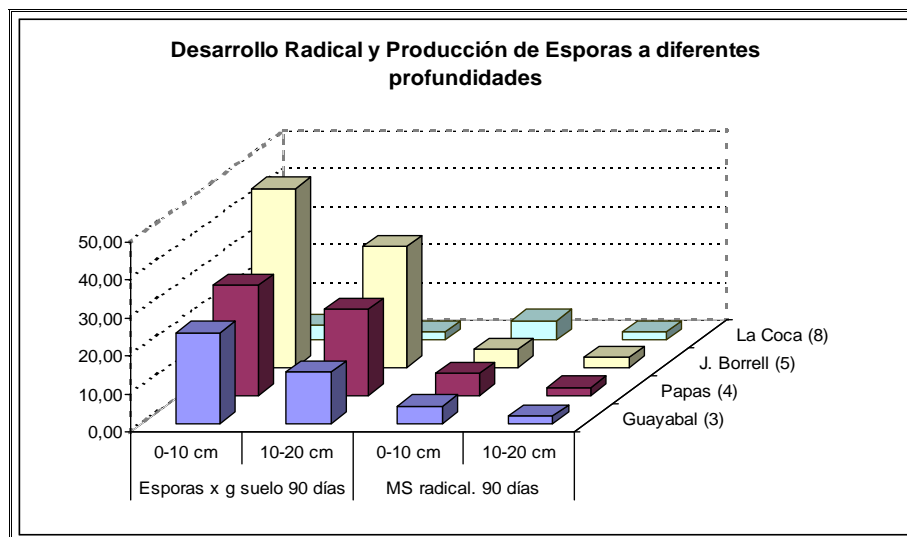


Figura 4.3. Desarrollo radical y producción de esporas a diferentes profundidades.

La producción de esporas como se presentó anteriormente, fue diferente en cada sustrato estudiado y también la mayor parte (60%) se encontró en las profundidades menores de 10 cm y el resto entre 10-20 cm. Estos resultados coinciden con los encontrados por Paneque *et al.*, 2006 (comunicación personal),

en estudios realizados en canteros multiplicadores de micorrizas y fueron explicables por la distribución del sistema radical.

No obstante se encontró comparativamente mayor cantidad de esporas/g de raíces en la profundidad de 10-20 cm que de 0-10 cm, lo que puede ser explicable por la mayor presencia de raíces más gruesas en la capa de 0-10 cm; en el propio hecho de que las raíces gruesas no se micorrizan y además, en que puede existir un movimiento hacia la profundidad, de las esporas, con el agua del riego realizado al cultivo hospedero.

La producción de esporas/gramo de raíces tuvo también un comportamiento diferenciado entre sustratos. En el sustrato “La Coca”, se alcanzó la menor eficiencia con valores entre 700 y 1000 esporas.g⁻¹m.s en profundidades de 0-10 y 10-20 cm respectivamente; los sustratos “Guayabal” y “Las Papas” con similar comportamiento entre ellos produjeron como promedio 5000 y 10000 esporas.g⁻¹ mientras que el sustrato “Juan Borrell” logró la mayor eficiencia con producciones de 9000 y 12000 esporas.g⁻¹ de materia seca radical en ambas profundidades.

4.3. Asociación entre las variables que caracterizan los sustratos y su interrelación con los indicadores de la simbiosis micorrízica.

Resultó interesante conocer el grado de asociación entre todas las variables en estudio al relacionar de forma integrada la participación individual de las mismas y asimismo por separado de cada una de ellas, para explicar el complejo fenómeno de la interacción Suelo-HMA-Planta.

El análisis de componentes principales realizado permitió obtener un pequeño número de combinaciones lineales de las variables estudiadas que explicó el 80,1 % de la variabilidad en los datos originales.

Al analizar el Figura 4.4 a y b, de componentes principales, se puede observar que la producción de esporas estuvo asociada de forma positiva con los contenidos de Sales Solubles Totales (SST), el pH y el Na, Mg y Ca intercambiables por ese

orden, mientras que se asoció de forma negativa con la arcilla expresada en porcentaje de la composición textural de los sustratos.

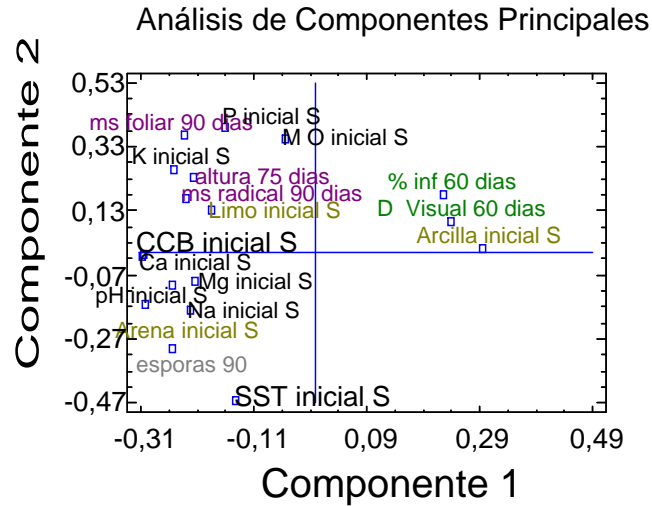


Figura 4.4. a) Análisis de componentes principales.

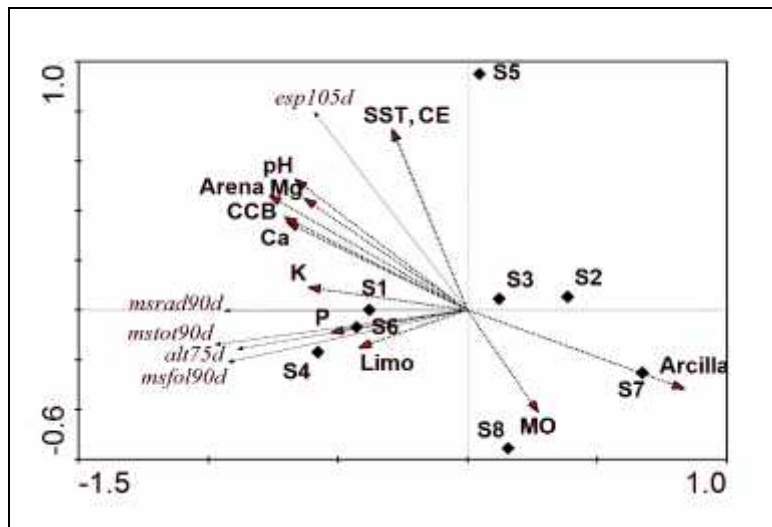


Figura 4.4. b) Análisis de componentes principales (canónico).

No se encontró de forma general una alta relación entre los indicadores del crecimiento de la Braquiaria y la producción de esporas, explicable en el sentido de que el análisis es integrador del comportamiento diferenciado que se presentó en los diferentes sustratos.

Las variables indicadoras del funcionamiento micorrízico (% de infección y densidad visual) que presentaron una relación estrecha pero negativa con la producción de esporas, se asociaron directa y positivamente al tipo y/o porcentaje de arcilla.

La negativa influencia encontrada del porcentaje de arcilla sobre la producción de esporas y por consiguiente la positiva relación entre los porcentajes de arcilla y los porcentajes de colonización es explicable por las diferencias cualitativas entre los tipos de arcillas que componen los sustratos y que impide una simple valoración en función de los porcentajes de arcilla.

Los sustratos con menores CCB y pH ácidos, asociados presumiblemente a arcillas con una composición mayoritaria del tipo 1:1, presentaron a la vez los mayores porcentajes cuantitativos de arcillas, originando una relación inversa entre contenidos de esporas y de arcillas pero más que todo explicable en el tipo de arcilla y el bajo pH asociado a estas condiciones.

La conducta intermedia de la *Braquiaria* micorrizada en cuanto a producción de esporas en el sustrato 2 con altos porcentajes de arcillas, sugiere que la elevación del pH y ligeros incrementos de la CCB, mejora la producción de esporas aun cuando los porcentajes de arcillas fuesen altos.

El crecimiento y desarrollo en general del cultivo hospedante y en particular la masa seca radical, estuvieron asociadas de forma positiva a los contenidos iniciales de K intercambiable y también pero en menor grado dichas variables se asociaron al P asimilable y la materia orgánica inicial en cada uno de los sustratos.

Las variables indicadoras del crecimiento y desarrollo del cultivo hospedante estuvieron relacionadas indirectamente en forma negativa con el porcentaje de arcilla en los sustratos.

Asimismo se presentó una fuerte relación negativa entre las variables fúngicas (colonización y densidad visual) y los contenidos de SST, pH y Na, Mg y Ca

intercambiables lo cual fue explicado con anterioridad y se asoció con el hecho de que se necesitan mayor cantidad de estructuras fúngicas en las condiciones de menor disponibilidad de cationes y bajos valores de pH.

4.3.1. Efecto de las características químicas y físicas sobre la producción de esporas.

Una vez ya encontrado que el factor sustrato influyó fuertemente en la capacidad de reproducción de esporas de la cepa *Glomus hoi* "like" y que el análisis multivariado ha discriminado entre las diferentes variables, reflejando cuales de ellas presentaron una mayor asociación con la producción de esporas, se vuelve importante encontrar qué valores o rangos de las características químicas y físicas de los sustratos condicionaron o se asociaron con las mayores producciones de esporas de esta cepa.

4 3.1a. Relación entre la producción de esporas y la colonización radical.

No hay dudas que para la producción de inoculantes, los principales indicadores de calidad del mismo están relacionados con la producción de propágulos, en este caso estimados a través de la producción de esporas, lo cual ha sido el criterio fundamental en el control de la calidad del inoculante *EcoMic*[®].

Por otra parte se encontró una relación negativa entre el porcentaje de colonización micorrízica de la Braquiaria y la producción de esporas (fig. 4.5) cuya causa se fundamentó anteriormente y que conlleva a que por ambas situaciones, todo el análisis individual del efecto de las propiedades físico químicas de los sustratos se hará sobre el indicador producción de esporas.

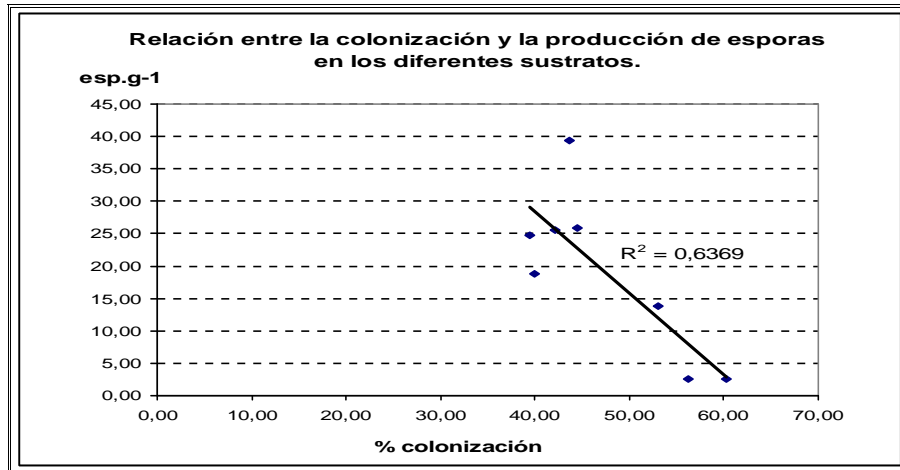


Figura 4.5. Relación entre la esporulación y la colonización radical.

4.3.2. El pH y su efecto sobre la producción de esporas.

Se encontró una alta asociación entre el pH y la producción de esporas con un $R^2=73\%$ para una correlación lineal entre ambas variables (figura 4.6). En la medida que el pH fue mayor, la producción de esporas en los sustratos se incrementó, así la mayor producción de esporas se alcanzó cuando el pH en los sustratos estuvo alrededor de 8 mientras niveles de pH por debajo de 6 deprimieron la esporulación.

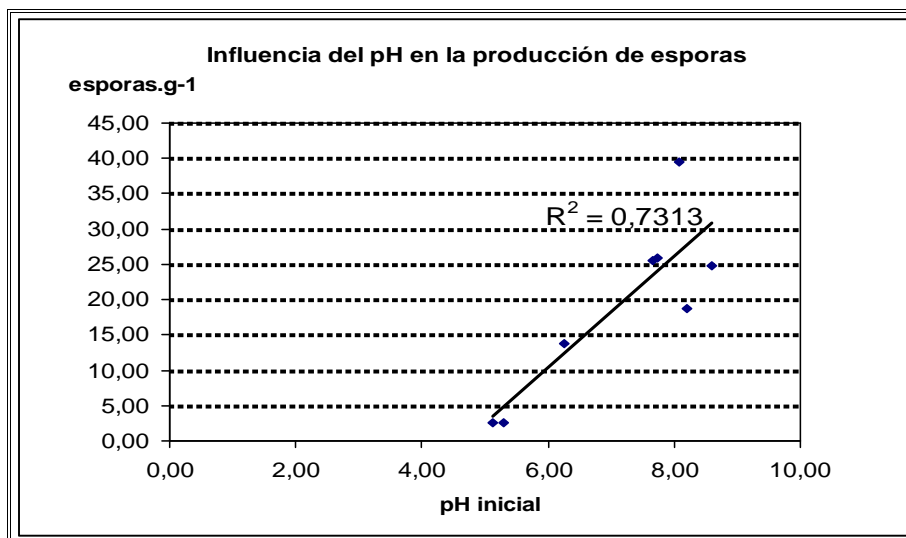


Figura 4.6. Influencia del pH en la producción de esporas.

Los resultados obtenidos indicaron que la cepa HMA *Glomus hoi* “like” mostró una mayor efectividad para la producción de inoculante en presencia de sustratos con pH 7 y hasta 8,1, mientras que en sustratos con reacción ácida no resultaron adecuados para la reproducción de esta cepa.

4.3.3. La sales solubles totales (SST) y su efecto sobre la producción de esporas.

En la figura 4.7 se presenta la influencia o efecto de las sales solubles totales en los diferentes sustratos sobre la esporulación de la cepa HMA *Glomus hoi* “like”.

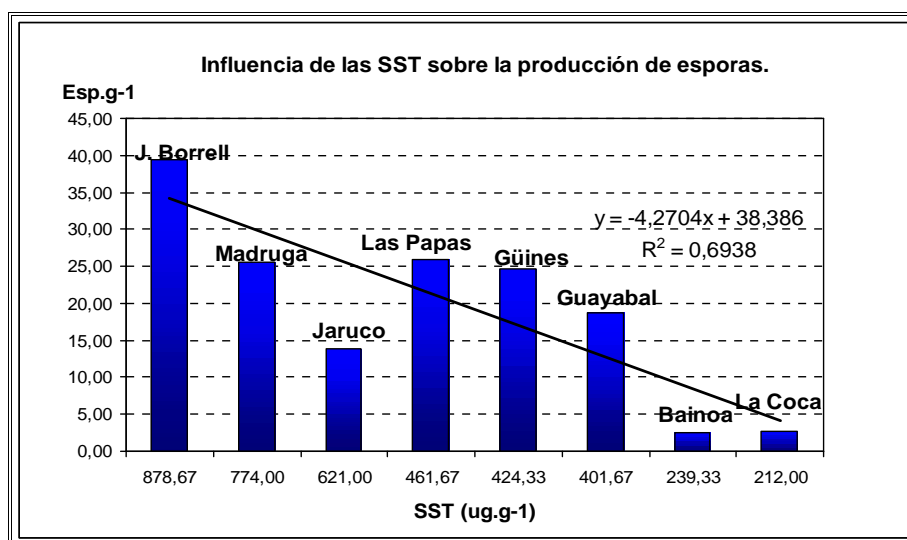


Figura 4.7. Influencia de las Sales Solubles Totales (SST) sobre la producción de esporas.

La producción de esporas parece ser estimulada o se incrementa en la medida que aumentan los contenidos de SST ($R^2 = 69\%$), aunque los niveles encontrados en los sustratos no reflejan una alta salinidad. Las más bajas producciones de esporas con contenidos bajos de SST (menores a 240 ug.g^{-1}), estuvieron asociadas con los sustratos “Bainoa” y “La Coca” de muy baja fertilidad; en cambio el sustrato Jaruco con similar fertilidad natural que “La Coca” (ver tabla 4.1) pero de más alta salinidad (621 ug.g^{-1}), presentó un mejor comportamiento en la producción de esporas. Asimismo el sustrato del sitio Juan Borrell, de alta

fertilidad, y donde se produjo el mayor número de esporas, fue el de mayor contenido de SST.

El sustrato Madrugá que presenta valores de SST muy superiores a Las Papas y Güines alcanzó una producción de esporas similar a estos, a pesar de tener una menor CCB (inferior en 16 unidades) y presentar esta variable una alta correlación con la producción de esporas.

Los resultados encontrados sugieren pensar que con similares niveles de fertilidad inicial en los sustratos que garanticen una adecuada asociación simbiótica, dada por una adecuada colonización del sistema radical, la mayor presencia de SST puede ser entre otros factores, la causa de un estrés adicional que estimule la esporulación.

4.3.4. Los cationes y su efecto sobre la producción de esporas.

En la figura 4.8 que muestra el efecto de los cationes fundamentales sobre la producción de esporas, se puede observar la alta relación que presentó el magnesio sobre este parámetro estudiado ($R^2=77\%$), donde el número de esporas se incrementó en la misma medida en que los contenidos de este nutriente en los sustratos se hacen mayores.

El Calcio, catión de mayor representatividad en las CCB de los sustratos, presentó un comportamiento ligeramente inferior al del Magnesio con ($R^2=67\%$), pero influyendo de forma positiva y significativamente al incrementar la producción de esporas según aumentan los contenidos de Calcio intercambiable en los mismos.

Estos dos elementos determinan la CCB de los sustratos y sus altos coeficientes de determinación con la producción de esporas, confirman los criterios planteados de que la cepa *Glomus hoi* "like" funcionó adecuadamente en suelos con altos contenidos de Ca y Mg intercambiables.

El Sodio seguido del Potasio en sus bajas contribuciones a la CCB en los sustratos, no tuvo una fuerte relación con la producción de esporas, mientras que los contenidos iniciales de Potasio en los sustratos no se relacionaron con este indicador micorrízico.

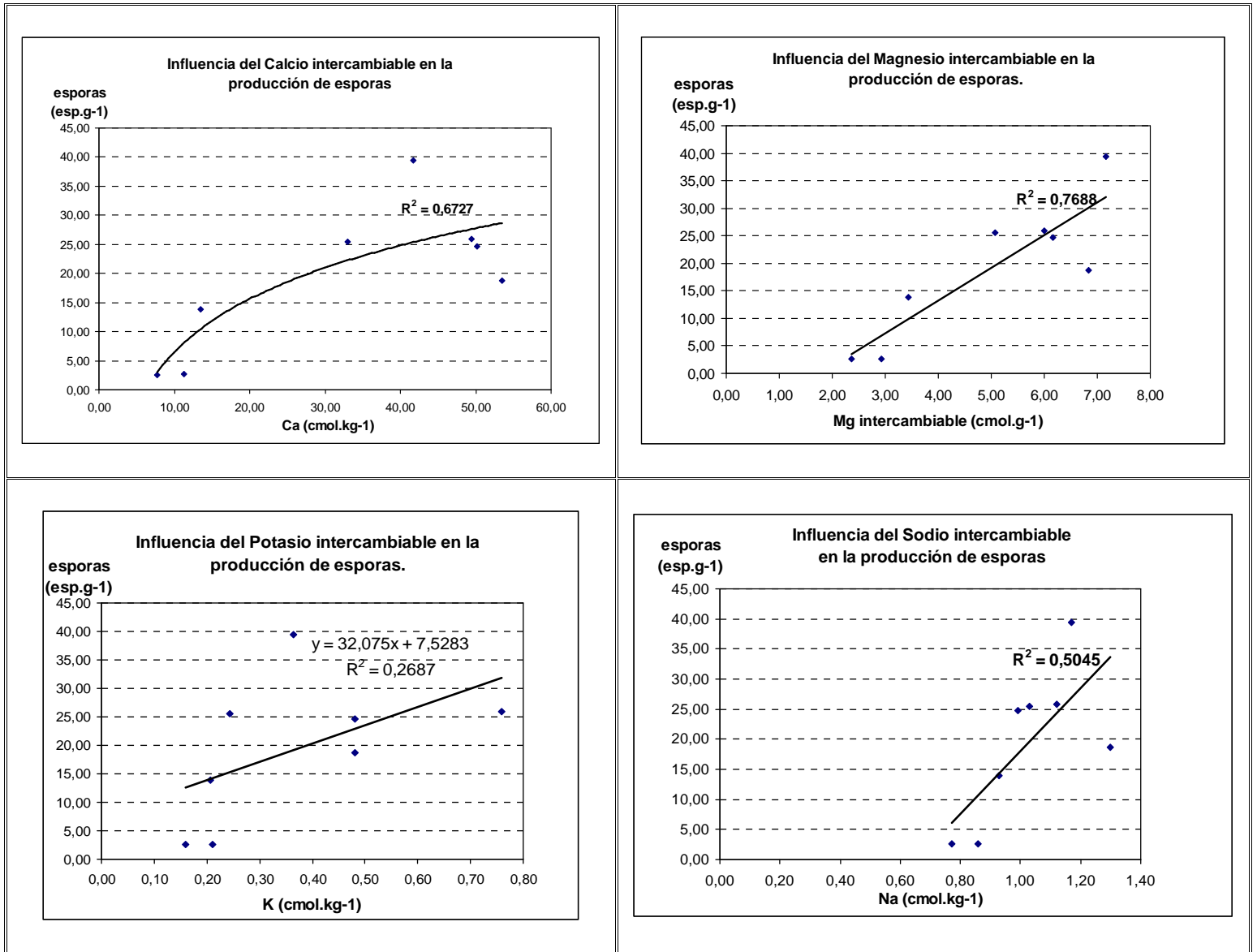


Figura 4.8. Influencia de los cationes cambiabes en la producción de esporas.

4.3.5. La arcilla y su efecto sobre la producción de esporas.

Al observar la figura 4.9, que ilustra la influencia de la arcilla en la producción de esporas, vemos que a medida que el porcentaje de arcilla presente en los sustratos fue mayor, se encontró en estos una menor esporulación.

La valoración de este resultado tiene que ser muy cuidadosa, ya que como se explicó, los diferentes sustratos están agrupados en base al tipo de arcilla en dos grupos: el de arcilla 2:1 que agrupa sustratos con pH >7, alta CCB y de Mg intercambiable que se asociaron con los menores contenidos porcentuales de arcilla y que además se asoció con los mayores contenidos de esporas.

El grupo de arcilla 1:1 que agrupa a sustratos con pH ácidos, bajos contenidos de Mg y CCB, que se asocia con los mayores porcentajes de arcilla y asimismo con los menores contenidos de esporas.

Por lo tanto la asociación entre el número de esporas/gramo de sustrato y el porcentaje de arcilla, fue la resultante de los aspectos anteriores y no permite por tanto inferir que en la medida que se incrementó el porcentaje de arcilla, disminuyó la producción de esporas, o que la cepa *Glomus hoi* "like" no se adaptó a condiciones de alto porcentaje de arcilla, ya que no solo estuvo variando el porcentaje sino la calidad y/o tipo de arcilla al mismo tiempo.

Hay que señalar además que en estos sustratos de alto porcentaje de arcilla y menor fertilidad, además de la baja producción de esporas, el crecimiento del cultivo no solo se vio limitado en cuanto a crecimiento y desarrollo, sino que presentó una clorosis generalizada y progresiva que ocasionó la muerte prematura de las hojas viejas en relación a otros sustratos, dejando estas de ser funcionales, asociado con la baja disponibilidad de nutrientes en estos sustratos, lo cual no fue compensada con los niveles complementarios de fertilización estudiados, que fueron insuficientes.

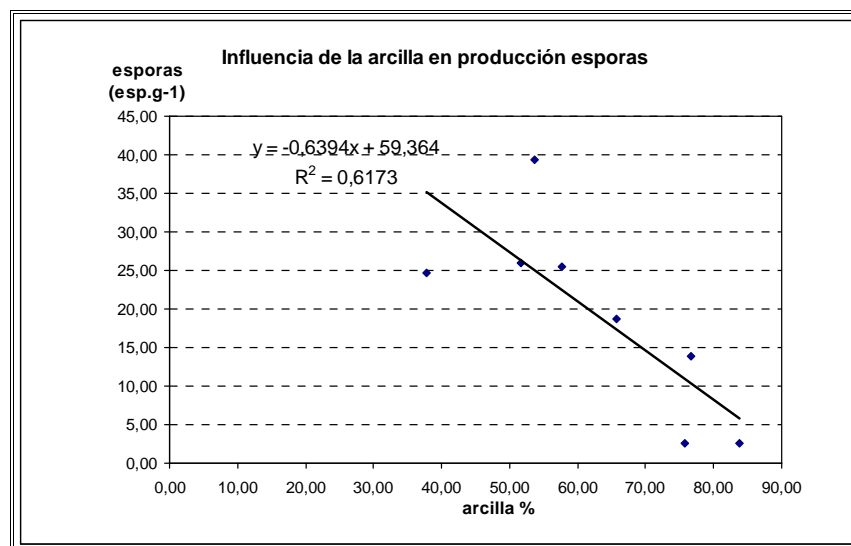


Figura 4.9. Influencia del porcentaje de arcilla en la producción de esporas.

4.4. Las características químico físicas de los sustratos y su influencia en el crecimiento y desarrollo del cultivo hospedante.

Es bien sabido que, en condiciones óptimas, el establecimiento y funcionamiento de la simbiosis MA incrementa notablemente la biomasa de la planta hospedante y que esto conlleva un aumento en la tasa de fotosíntesis de entre un 4 y un 20 % (Douds et al., 2000; Graham, 2000), citados por Bago *et al.*, 2004.

4.4.1. El pH y su efecto sobre el crecimiento y desarrollo de la Braquiaria micorrizada con la cepa *Glomus hoi* “like”.

Como se ilustra en la figura 4.10, el pH mostró un efecto positivo sobre el crecimiento del cultivo hospedante, incrementándose la altura de la Braquiaria micorrizada en la medida que el pH fue mayor en los sustratos, sin embargo la producción de materia seca total, no estuvo relacionada consistentemente con los diferentes niveles de pH presentes en cada sustrato ($R^2=52\%$).

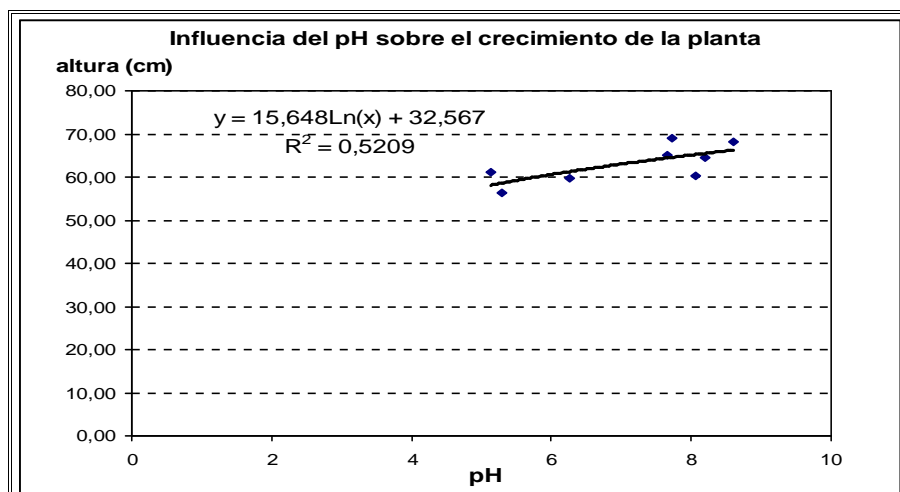


Figura 4.10. Influencia del pH en el crecimiento de la Braquiaria.

Los contenidos iniciales de sales solubles totales así como de fósforo asimilable no presentaron influencia sobre las variables indicadoras del crecimiento y desarrollo de la Braquiaria.

Es importante enfatizar el hecho de que niveles tan contrastantes de fósforo asimilable entre 1 y 172 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, en los sustratos estudiados, no hayan modificado la conducta de la asociación simbiótica Braquiaria-HMA, expresados tanto por el crecimiento y desarrollo del cultivo, como por el funcionamiento micorrízico (visto anteriormente); lo cual sugiere la alta adaptación de esta cepa a valores muy altos de fósforo disponible en el suelo.

4.4.2. Los Cationes y su efecto sobre el crecimiento del cultivo hospedero.

Resulta apreciable que el crecimiento de la Braquiaria inoculada con HMA, *G.hoi* "like", estuvo muy directamente influenciada por los contenidos de los cationes intercambiables presentes en los sustratos (figura 4.11) particularmente con el magnesio con el que se obtuvo una muy alta correlación ($R^2=79\%$).

La presencia de mayores contenidos iniciales de K y Ca intercambiables en los sustratos, conllevaron a un crecimiento mayor del cultivo en forma lineal, mientras que el comportamiento con el Mg y Na intercambiables, indicó que el máximo de

crecimiento de la planta estuvo asociado a valores de los contenidos cercanos a 6 y 1,1 cmol.kg⁻¹ respectivamente.

Los mayores coeficientes de determinación se encontraron para el catión Mg con un R² de 0.79 seguido por el grado de asociación del Ca con un R² de 0.64 y menores aunque significativos para el K (R²=0.60) y el Na (R²=0.53)

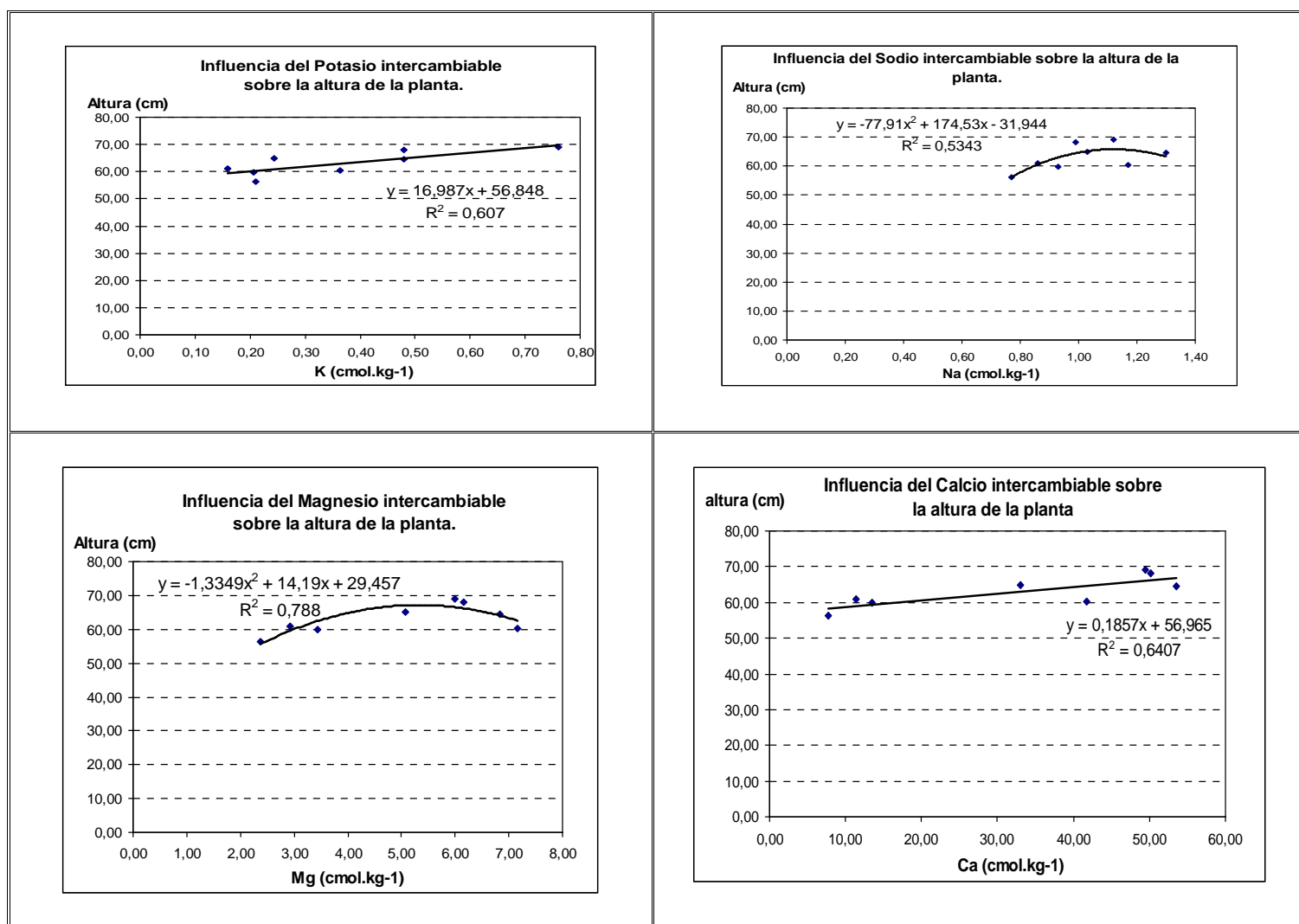


Figura 4.11. Influencia de los cationes cambiabiles sobre la altura de la planta.

4.4.3. Los Cationes y su efecto sobre el desarrollo del cultivo hospedante.

El desarrollo de la *Braquiaria* micorrizada, expresada en producción de masa seca total, no tuvo una estrecha correlación con los contenidos de los cationes intercambiables en los sustratos, salvo el Ca (fig. 4.12), donde la mayor producción de masa seca total se logró cuando los contenidos de este catión se encontraron en un rango entre 33 y 54 cmol.kg^{-1} .

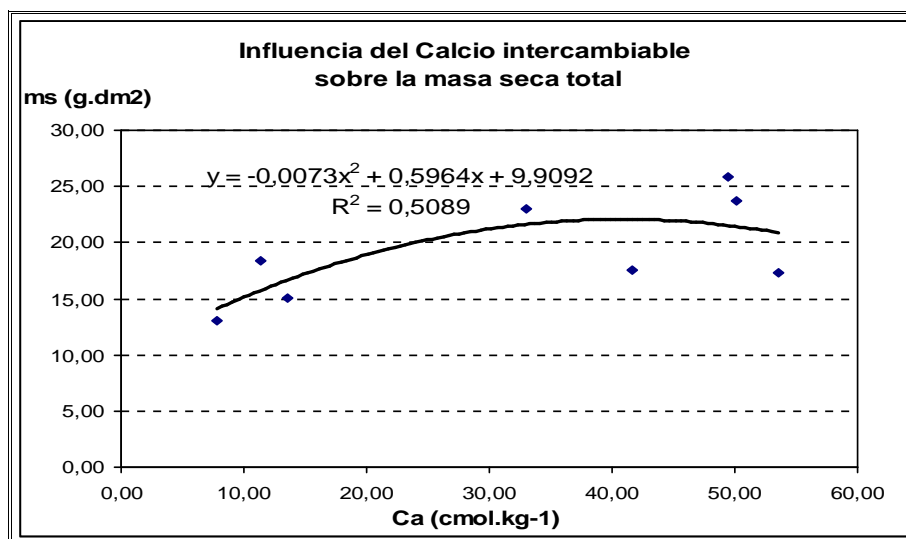


Figura 4.12. Influencia del Calcio intercambiable sobre la producción de masa seca total.

4.4.4. La arcilla y su efecto sobre el crecimiento y desarrollo del cultivo hospedante.

Como se puede apreciar en la figura 4.13 el crecimiento y desarrollo de la planta hospedante estuvieron inversamente relacionados con la arcilla, expresada esta como porcentaje de la composición textural de los sustratos con R^2 entre 0,66 y 0,68 respectivamente.

Las plantas tuvieron un menor crecimiento y desarrollo en general en la medida que fue mayor el porcentaje de arcilla, pero coincidentemente, como se explicó anteriormente, estos sustratos con mayores porcentajes de arcilla corresponden a arcillas de tipo 1:1 de menor disponibilidad de nutrientes, más bajos pH y menor

CCB, indicando también que la cepa *Glomus hoi* "like" no presenta un buen comportamiento en estos sustratos.

Por otra parte el mayor crecimiento y desarrollo de la Braquiaria micorrizada se relacionó con arcilla de tipo 2:1 de mayor fertilidad.

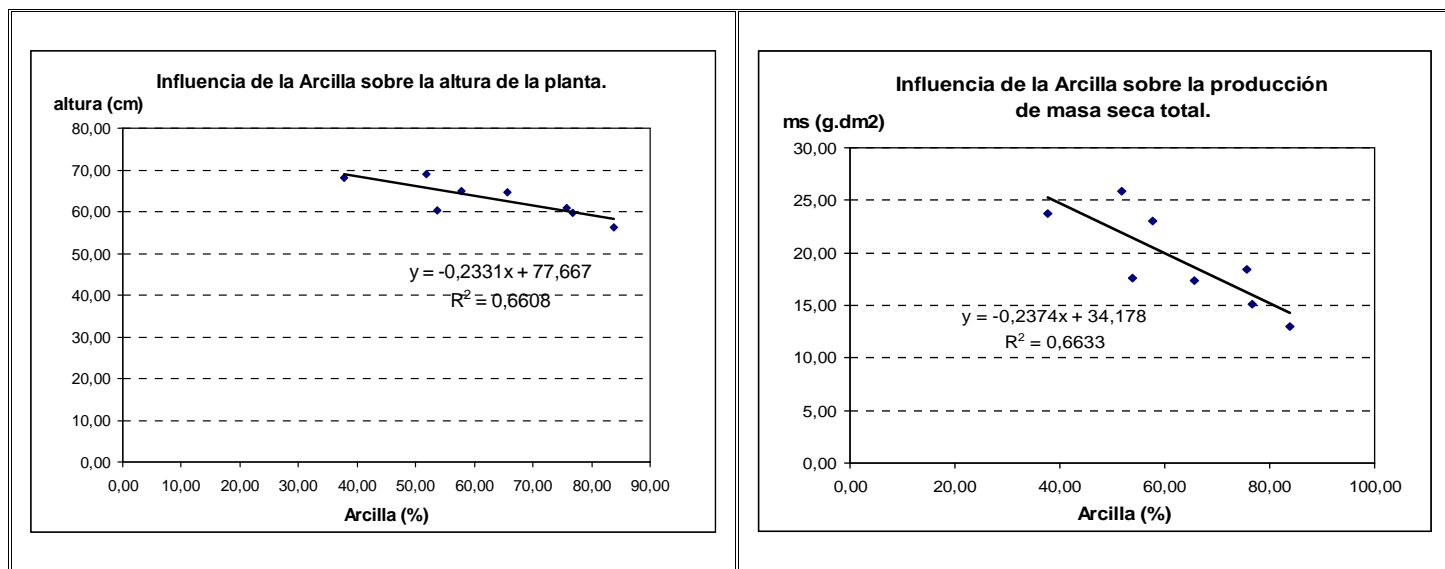


Figura 4.13. Influencia del porcentaje de arcilla en la altura y la producción de masa seca total.

4.5. Consideraciones Generales.

Los resultados obtenidos en este trabajo, permitieron no solo corroborar la alta especificidad suelo-cepa eficiente antes enunciada, sino que indicó que el tipo de sustrato, visto integralmente como un todo, es un factor decisivo que define la efectividad micorrízica de una cepa, ya que produce conductas diferentes en la asociación simbiótica en el sentido de una respuesta agrobiológica y/o producción de esporas.

El hecho de que la cepa HMA *Glomus hoi* "like" asociada con la Braquiaria como cultivo hospedante, haya mostrado una buena eficiencia micorrízica en sustratos de alta fertilidad natural y pH entre 7 y 8,2; con aceptable respuesta agrobiológica y buena producción de esporas, permite recomendar este tipo de sustratos para la producción de inoculantes basados en la cepa *Glomus hoi* "like".

El haberse encontrado diferencias en la colonización y la densidad visual, con valores muy superiores (mayor intensidad micorrízica) en sustratos de baja fertilidad natural y pH ácidos, con una débil respuesta agrobiológica y muy baja producción de esporas, sugiere que el concepto de cepa eficiente no estará completo si no llega a incluirse el número de esporas reproducidas como un indicador necesario y determinante, por tomar en cuenta no sólo la intensidad de la simbiosis sino la capacidad de reproducción natural de la cepa o especie de HMA que le permita su permanencia en un agrosistema determinado.

4.6. Repercusión práctica o económica.

El trabajo experimental realizado, al estudiar la efectividad de la cepa HMA *Glomus hoi* "like" ante diferentes sustratos seleccionados, representativos de la amplia gama de suelos de la provincia La Habana, como parte del perfeccionamiento del proceso de producción del biofertilizante *EcoMic*[®], aunque no tiene una repercusión económica directa, cuantificable, permitirá seleccionar acertadamente los suelos adecuados, como posibles yacimientos potenciales de sustratos arcillosos naturales a emplear en el montaje de nuevas plantas de producción de este biofertilizante.

Los resultados obtenidos han tenido su aplicación práctica, en permitir explicar la baja producción de esporas (menos de 10 esporas.g⁻¹) que se venía obteniendo experimentalmente en canteros multiplicadores, con el uso de un sustrato ("La Coca") no adecuado para la reproducción de la cepa HMA *Glomus hoi* "like" y de tal forma sustituir más de 15 t de ese sustrato, almacenado como materia prima o en uso en canteros, por similares cantidades de otro de adecuadas características.

Se obtuvieron resultados muy satisfactorios una vez sustituido un sustrato por otro, al incrementarse notablemente la producción de esporas (más de 50 esporas.g⁻¹) y propiciar un mejor crecimiento y desarrollo en el cultivo hospedante, todo ello en beneficio de una mejora sustancial de la calidad del biofertilizante *EcoMic*[®].

Conclusiones

V. CONCLUSIONES.

1. La cepa de HMA *Glomus hoi* "like" asociada a la *Brachiaria decumbens* como cultivo hospedante presentó un comportamiento diferenciado en función de las características físico químicas de los sustratos y alcanzó su mayor efectividad expresada por la producción de esporas y el crecimiento de la Braquiaria en sustratos con pH de 7 a 8.6, contenidos de Mg de 6 a 7 cmol.kg⁻¹, Ca entre 40 y 53 cmol. kg⁻¹ y arcilla de tipo 2:1.
2. La producción de esporas de la asociación *Glomus hoi* "like" - *Brachiaria decumbens* estuvo altamente relacionada y en sentido positivo con el pH, el Ca, el Mg, la CCB y las SST, presentando una alta especificidad con las características de los sustratos.
3. El número de esporas por gramo de sustrato al igual que la masa seca radical (g/dm³) producidas, disminuyeron a medida que se incrementó la profundidad en la cajuela, encontrándose valores de 60 % y 70 % de sus producciones totales respectivas en los primeros 10 cm.
4. El crecimiento de la Braquiaria micorrizada, expresada como altura de las plantas, estuvo relacionada de forma positiva con los incrementos de pH y los cationes cambiables, fundamentalmente el Mg ($R^2= 0.79$), mientras que su desarrollo dado por la producción de masa seca total, solo estuvo débilmente asociada en forma positiva, con los contenidos de Ca intercambiable ($R^2= 0.51$).
5. La producción de masa seca de la Braquiaria micorrizada no presentó una alta correlación con la producción de esporas, siendo consecuencia de la diversidad de características en los sustratos donde, en un grupo de ellos, la cepa de HMA *Glomus hoi* "like" no funcionó adecuadamente.
6. Los contenidos de P disponible no influyeron significativamente sobre la producción de esporas y fue poco consistente su influencia sobre el

crecimiento ($R^2= 0.34$) y el desarrollo ($R^2= 0.33$) de la Braquiaria micorrizada.

7. En el sustrato del sitio "Juan Borrell", que corresponde a un suelo Hidromórfico Gley Vértico Ócrico Carbonatado de alta fertilidad natural, (CCB = $50.4 \text{ cmol.kg}^{-1}$), contenidos importantes de Mg ($7.17 \text{ cmol.kg}^{-1}$), alto pH (8.07) y SST (878 ug.g^{-1}) se obtuvo la mayor producción de esporas ($39.5 \text{ esporas. g}^{-1}$), y la mayor efectividad en la relación esporas/masa seca total producidas de 4500 esp.g^{-1} en la evaluación final a los 105 días.

Recomendaciones

VI. RECOMENDACIONES.

- Continuar utilizando la cepa HMA *Glomus hoi* "like" como inóculo en el proceso de producción de *EcoMic*[®], en sustratos con un rango de pH de 7 a 8.6, contenidos de Mg entre 6 y 7 cmol.kg⁻¹, Ca entre 40 y 53 cmol.kg⁻¹, SST entre 400 y 900 ug.g⁻¹ y que estén asociados con arcillas de tipo 2:1.
- Acortar a dos meses el tiempo de extracción del sustrato micorrizado en el proceso de producción de inoculantes (*EcoMic*[®]), siempre que se alcance una alta eficiencia micorrízica (40 esporas.g⁻¹ de sustrato) con la cepa HMA *Glomus hoi* "like" como la obtenida en el sustrato del sitio "Juan Borrell".
- Que esta tesis constituya un material de consulta para estudiantes de pre y postgrado en los ministerios de Educación y Educación Superior.

Bibliografía

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Bago, B.; Azcón - Aguilar, C., Shachar – Hill, Y. y P. E. Pfeffer. El micelio externo de la micorriza arbuscular como puente simbiótico entre la raíz y su entorno. Pp. 78 - 92. En: Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular. Eds.: A. Alarcón y R. Ferrera - Cerrato. 2000. IRENAT. Colegio de Postgraduados. Montecillos. MundiPrensa. México.
2. Bago, B.; Azcón - Aguilar, C., P. E. Pfeffer y Shachar – Hill, Y. Metabolismo del Carbono y su Regulación en Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares. Pp. 29-43. En: Avances en el conocimiento de la biología de las micorrizas. eds. J.T. Frias y col. Univ. Guanajuato. México. 2004.
3. Barea, J. M. /et al. Morfología, anatomía y citología de las micorrizas VA. En: Fijación y Movilización de Nutrientes. Madrid. Tomo II. p 150 - 173. 1991.
4. Barea, J.M. Las micorrizas arbusculares componente clave en la productividad y estabilidad de agrosistemas. España. Disponible en: <http://www.csic.es/asociaciones/api/divulgación/micorrizas.htm>. 2008.
5. Bethlenfalvay, G.J. "Mycorrhizae in the agricultural plant-soil system". Symbiosis 14: 413-425. 1992.
6. Bonfante-Fassolo, P et Perotto, S. 1992. Plants and endomycorrhizal fungi: The cellular and molecular basis of their interaction. In: Molecular signals in plant-microbe communications. Verma DP (eds) CRC press Boca Raton.. pp 445-470.
7. Bonfante-Fassolo, P. y S. Perotto. Strategy of arbuscular mycorrhizal fungus when infecting host plant. New Phytol. 130, 13 - 21. 1995.
8. Boudarga, K. y Dexheimer, J. "Une méthode simple pour maintenir et multiplier les champignons des mycorrhizes a vesicules et arbuscules". Agronomie 10: 417-422. 1990.

9. Calderón, A. / et al /. El papel de los biofertilizantes en la actividad de extensión agrícola del INCA. Su crecimiento en los últimos tres años. INCA, la Habana 19 p., 2002.
10. Calderón, A. Estudio de sustratos y micorrizas arbusculares en la adaptación de vitroplantas de banano (*Musa sp*). Tesis en opción al grado académico de maestro en ciencias en Nutrición de las plantas y Biofertilizantes. INCA, La Habana. 105p. 2004.
11. Christie, P.; Li, X.; Chen, B. Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. *Plant and Soil*, v.261, p.209-217, 2004.
12. Cochran, W and G. Cox. Diseños experimentales. México Editorial Trellas. 132, 135. —1990.
13. Daniels, B.A y Trappe, J.M. “Factors affecting spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigaeus*”. *Mycology*. 72, 457-471. 1980.
14. De Souza, E. S.; H. A. Burity; L. C. Maia e A. C. Do Espiritu Santo. Producao de inóculo de fungos micorrízicos-VA em aeroponia.-- Florianópolis, SC, Brazil: Univ. Sta Catarina. Resúmenes V REBRAM.p. 123. 1994.
15. Douds Jr, D. D. y Shenck, N.C. “Increased sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizae fungi by manipulation of nutrient regimens”. *Applied and Environmental Microbiology* 52 (2): 413-418. 1990.
16. Elmes, R. P.; Hepper, M. C.; Hayman, D. S y Shea, O. J. 1983. The use of vesicular- arbuscular mycorrhizae roots grown by the nutrient film technique as inoculum for field sites”. *Annals of applied Biology* 104: 437-441.

17. Elmes, R. P. y Mosse, B. "Vesicular- arbuscular endomycorrhizae inoculum production. II. Experiments with maize (*Zea mays*) and others host in nutrient flow culture". *Canadian Journal of Botany* 62: 1531-1536. 1984.
18. Escobar Rebollar E., A. Monroy y R. Ríos. Caracterización de la simbiosis micorrízica de dos gramíneas de un angostadero semiárido impactado por un gradiente de salinidad en Ixmiquilpan. Hidalgo. 137-154. En *Avances en el conocimiento de la biología de las micorrizas*. eds. J.T. Frias y col. Univ. Guanajuato. México. 2004.
19. Espinosa - Victoria, D. Diálogo molecular: Hongo Micorrízico Arbuscular - Raíz. 93 - 116. En: *Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular*. En "La Simbiosis Micorrízica Arbuscular" Eds.: Alarcón, A.I. y R. Ferrera - Cerrato. IRENAT. Colegio de Postgraduados. Montecillos. Mundi Prensa. México. 2000.
20. Fernández, C. y Novo, R. *Vida microbiana en el suelo*. 2da Ed. Pueblo y Educación, La Habana. 1988.
21. Fernández, F. "Manejo de las asociaciones micorrízicas arbusculares en la producción de pasturas de cafetos. Tesis de Doctorado. 190p. INCA. Cuba. 1999.
22. Fernández, F. "Avances en la producción de inoculantes micorrízicos arbusculares". En: *El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe*. Ed. R. Rivera 3: 95-110. 2003.
23. Fernández, F., Gómez, R., Martínez, M.A. y de la Noval, B.M. Producto inoculante micorrizógeno. Patente No. 22 641. Cuba. 2001.
24. Fernández, F. /et al/, "Dinámica del funcionamiento de las MVA en un cafetal joven. Resúmenes V Congreso Latinoamericano de Botánica. La Habana, Cuba. P 25. 1990.
25. Ferrera-Cerrato, R y González Chávez, M.C "Dinámica de crecimiento de cítricos bajo el efecto de la inoculación de hongos endomicorrízicos VA y

- niveles de fertilización fosfórica”. En: Memorias del XVII Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo. Salamanca España. 1993.
- 26.** Fitter, A. H. y B. Moyersoen. Evolutionary trends in root - microbe symbioses. Phil.Trans. R. Soc. London. B 351, 1367 - 1375. 1996.
- 27.** Furlan, V y Fortin, J.A. Effects of light intensity of the formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae on *Allium cepa* by *Gigaspora calospora*. New Phytol. 79, 335-340. 1977.
- 28.** Gazey, C.; Abbot, L. K. y Robson, A.D. “The rate of development of micorrhizal affects the onset of esporulation and production of external hiphae by to species of *Acaulospora*”. *Micology Research* 96 (8):643-650. 1992.
- 29.** Gerdermann, J. W. y Nicolson, T. H. Espores of Mycorrhizae endogone especies extracted from soil by wet sieving and decanting. *Tras. Br. Mycol. Soc.* 46, 235 – 244. 1963.
- 30.** Giovanetti, M. y B. Mosse. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in rotos. *New Phytologist*, 84:489-500, 1980.
- 31.** Gómez L. Los Biofertilizantes. *Revista Despertar Lechero, COLANTA, Medellín, 2002, Vol. 21pp. 35 – 45*
- 32.** Gómez, R.; Fernández, F. y B. Noval. Resultados del recubrimiento de semillas con micorrizas va. Informe de Resultados. INCA. 1995.
- 33.** González-Chávez, M.C.; Carrillo-González, R.; The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental Pollution*, v.130, p.317-323, 2004.
- 34.** Gonzáles, P. J. Optimización de la fertilización mineral para plantaciones de *braquiaria sp* inoculadas con cepas eficientes de HMA por tipo de suelos, (comunicación personal) 2007.
- 35.** Gonzáles, P. J; J, Arsola; O, Morgan; R, Rivera y F, Fernández. Manejo de las asociaciones micorrízicas en pastos del género *braquiaria* cultivado en

- suelos Ferralíticos Rojos y Pardo Mullido. Memorias del XVI Congreso Científico, INCA. 2008.
- 36.** Green, N. E./et al./. The influence of Ph on the germination mycorrhizal spores. *Mycologia*. 68, 929 - 933. 1976.
- 37.** Guerrero, E. *Micorrizas: Recursos Biológicos del Suelo*. Guerrero. E. ed. Bogotá: Fondo Fen Colombia, 208 p. 1996.
- 38.** Hayman, D.D y M, Tabares. Plant growth responses to vesicular -arbuscular mycorrhizas XV. Influence of soil on the simbiotic effisience of different endophytes. *New Phytol*. 100:367 -377,1985.
- 39.** Herrera, R. A. /et al. /. "Estrategia de Funcionamiento de las Micorrizas VA en un Bosque Tropical". *Biodiversidad en Iberoamérica: Ecosistemas, Evolución y Procesos sociales* (Eds.: Maximina Monasterio). Programa Iberoamericano de Ciencia y tecnología para l desarrollo. Subprograma XII, Diversidad Biológica, Mérida. 1995.
- 40.** Herrera, R.A. /et al/. Caracterización y dinámica de las fitomasas de raíces y micorrizas vesiculo-arbusculares en la Sierra del Rosario. En: *Ecología de los Bosques siempre verdes de la Sierra del Rosario, Cuba*. Proyecto MAB No 1. 1971-1987. ROSTLAC, UNESCO. Capítulo21, 1988. p 447-472.
- 41.** Hung, L. L. y Silvia, D. M. "Production of vesicular- arbuscular mycorrhizae fungus inoculum in aeroponic culture". *Applied and Enviromental Microbiology* 54 (2): 353-357. 1988.
- 42.** INCA. Efecto de las aplicaciones del biofertilizante Ecomic (HMA) en cultivos de interés económico, durante el periodo 1990-1998. Informe de investigaciones INCA (La Habana) ,45p. 1999.
- 43.** Janerette, C. A. "An introduction to mycorrhizae". *The American Biol. Theacher* 53: 13-19. 1991.
- 44.** Joao, J. P. "Efectividad de la inoculación de cepas de HMA En la producción de posturas de cafeto sobre suelos Ferralítico Rojo Compactado

- y Ferralítico Rojo Lixiviado de montaña”. Tesis de Maestría “Nutrición de las plantas y biofertilizantes”. 85p. INCA. Cuba. 2002.
- 45.** Johnson, N C., Copeland, P.J. and Pflieger, F.L. A possible explanation for yield decline associated with continuous cropping of corn and soybean. *Mycorrhiza*, 2 (4): 387-390. 1992.
- 46.** Juárez, M. y Sánchez, J. Fósforo en agricultura. Murcia: Campabell. S. L., 135 p. 1996.
- 47.** Klauberg-Filho, O.; Siqueira, J.O.; Moreira, F.M.S.; Soares, C.R.F.S.; Silva, S. Ecologia, função e potencial de aplicação de fungos micorrízicos arbusculares em condições de excesso de metais pesados. In: Vidal-Torrado, P.; Alleoni, L.R.F.; Cooper, M.; Silva, A.P.; Cardoso, E.J. (Ed.). *Tópicos em Ciência do Solo*. Viçosa: UFV; Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. p.85-144.
- 48.** Martín Gloria; R, Rivera; Lianne Arias y M. Rentería. 2008. Inoculación de una cepa de HMA en la canavalia y su efecto residual en el cultivo del maíz. *Memorias del XVI Congreso Científico, INCA*. 2008.
- 49.** Moawad, M. “Ecophysiology of vesicular-arbuscular mycorrhizae in the tropics”. En: *The soil-roots interface*. Academic Press. London. p 197-209. 1979
- 50.** Montilla E.; Rivera, R y F. Fernández. Funcionamiento de la micorrización "nativa" en plantaciones de café en diferentes condiciones edáficas. *XIII Congreso Científico INCA*, 2002.
- 51.** Morton, J. B.; Bentivenga, S. P. y W. W. Wheeler. Germplasm in the international collection of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi (INVAM) and procedures for culture development, documentation and storage. *Mycotaxon* 48: 491 - 528. 1993.
- 52.** Mosse. B. y Thompson, J. P. “Vesicular- arbuscular endomycorrhizae inoculum production. I. Exploratory experiments with beans (*Phaseolus*

- vulgaris) in nutriens flow culture”. Canadian Journal of Botany 62: 1523-1530. 1984.
53. Ojeda, L. “Efecto de micorrizas Vesículo Arbusculares del genero *Glomus* en la producción de leguminosas forrajeras promisorias en la cuenca pecuaria El tablón. Tesis para optar por el grado de doctor en ciencias Agrícolas. La habana, 125p. 1998.
54. Paneque, V. M. /et al/. Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos. Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas. INCA. 2001.
55. Paneque, V. M; J. M, Calaña; R, Rivera; E Castellanos; J. D, Calvo; R, Hernández y J.D. Mederos. Estudio de la distribución de las raíces de *brachiaria decumbens* en el perfil del cantero, cuando se utiliza como planta hospedera para la producción de Ecomic® y su relación con su contenido de esporas. (documento sin publicar). 2006.
56. Phillips, J.M. y D.S. Hayman. Improved procedures for cleaning root and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infections. Transfer. Britanic: Micology Society 55: 159-211, 1972.
57. Plenchette, C.H. Les Endomicorrhiziens a vesicules et arbuscule (va): Un potentiel a exploiter en agriculture. Phytoprotection 63, 86-108. 1982.
58. Primavesi, Ana. Manejo ecológico do solo. Agricultura em regioes tropicais.- -- Sao Paulo---164-197p. 1990.
59. Riera, M. Manejo de la Biofertilización con Hongos Micorrízicos Arbusculares y Rizobacterias en Secuencias de Cultivos sobre Suelo Ferralítico Rojo. Resumen de la Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. La Habana, 30p. 2003.
60. Rivera, R. El desarrollo de productos micorrízicos, (HMA). (Documento no publicado). 2008.

- 61.** Rivera, R. A. /et al./. Efectividad de la simbiosis micorrízica, suministro de nutrientes y nutrición de las plantas. En: XV Congreso Latinoamericano y V Cubano de las Ciencias del Suelo. Programa y Resúmenes. 15, p 113. 2001.
- 62.** Rivera. R. A.; Fernández Kalyanne. “Bases científico técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente”. En: El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe. Ed: R. Rivera (2): 49-94. 2003.
- 63.** Ruiz, L. “Efectividad de las asociaciones micorrízicas en especies vegetales de raíces y tubérculos en suelos Pardos con Carbonatos y Ferralíticos Rojos de la región central de Cuba”. Tesis de Doctorado. 117p. INCA. Cuba. 2001.
- 64.** Sánchez, C. “Manejo de las asociaciones micorrízicas arbusculares y abonos verdes en la producción de posturas de cafetos en algunos tipos de suelos”. Tesis de Doctorado. 105p. INCA. Cuba. 2001.
- 65.** Sánchez, C.; R. Rivera y C. González. Efecto de diferentes cepas de micorrizas arbusculares (HMA) sobre la producción de posturas de cafetos en tres tipos de suelos del macizo montañoso Guamuahaya. Cultivos Tropicales 21 (3): 5-13 p. 2000.
- 66.** Sempere F, Santamarina P. La Aplicación de las Micorrizas. Revista “Agrícola Vergel” N° 232 de Abril, pp. 198-201. 2001.
- 67.** Sieverding, E y J.M Barea. Perspectivas de la inoculación de sistema de producción vegetal con hongos formadores de micorrizas VA. EN. Fijación y movilización de nutrientes II. fijación de N y micorrizas, pp 221-245. 1991.
- 68.** Sieverding, E. Vesicular Arbuscular Mycorrhiza in Tropical Agrosystem. Deutsche Gesellschaft fur Techniische Zusammenarbeit (GTZ) GMBH, Federal Republic of Germany. 371 pp. 1991.
- 69.** Simó, G. J; L, Ruiz; R, Rivera; M, Varela; O, Fundora; María Oliva; Dinorah Carvajal; Odalys Morales;J, García; Y, Lago y O, García. 2008.

- Contribución micorrízica en los sistemas integrados de nutrición y fertilización de bananos en Cuba. Memorias del XVI Congreso Científico, INCA. 2008.
70. Siqueira, J. O. y A. A. Franco. *Biotecnología do solo. Fundamentos e Perspectiva*. MECESAL-FAEPE-ABEAS. Brasília, DF. 235 p. 1988.
71. Smith, S.E y Bowen, G.D. "Soil temperature, mycorrhizal infection and nodulation of *Medicago truncatula* and *Trifolium subterraneum*". *Soil. Biol. Biochem.* 11, 469-473. 1980.
72. Smith, S.E.; Read, D.J. *Mycorrhizal symbiosis*. London: Academic Press, 1997. 589p.
73. Trappe, J. M. *Phylogenetic and ecologic aspect of micotrophy in the Angiosperms from an evolutionary standpoint* – Boca Ratón: CRC Press, – p. 5 – 25. 1987.
74. Vásquez, Bannie; R, Rivera y Kalyanne Fernández. 2008. Caracterización del funcionamiento micorrízico en *braquiaria decumbens* inoculada con *G. hoi "like"*. Memorias del XVI Congreso Científico, INCA. 2008.
75. Wright, S.F.; Nichols, K.A. Gaur, A.; Adholeya, A. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science*, v.86, p.528-534, 2004.

Anexos

V. ANEXO



Foto 1.- Muestras del perfil de un suelo a diferentes profundidades.



Foto 2.- Vista general del experimento 30 días después de la siembra.



Foto 3.- Bloques de 10 x 10 x 20 cm extraídos para evaluar el sistema radical y realizar los correspondientes análisis micorrízicos.



Foto 4.- Vista general del experimento antes de la siembra.











Foto 5.- Llenado de las cajuelas previa homogeneización del sustrato.



Foto 6.- Amarillamiento en fase inicial en sustratos de baja fertilidad.

Tabla No.1. Características químicas y físicas de los sustratos.

Sustratos	Suelos	cmol. Kg ⁻¹					ppm	%	pH	cmol. Kg ⁻¹	ppm	Textura (%)		
		Na	K	Ca	Mg	CCB	P	MO		C.E	SST	arena	limo	arcilla
 1	Hidromórfico Gley Vértico Mullido Crómico sin Carbonatos (Madruga)	1,03	0,24	33,00	5,07	39,34	12,00	0,74	7,67	1,42	774,4	33,26	9,00	57,74
 6	Fluvisol Mullido Diferenciado Eútrico Carbonatado (Güines)	0,99	0,48	50,17	6,17	57,80	6,00	0,73	8,60	0,66	424,33	40,26	22,00	37,74
 3	Hidromórfico Gley Vértico Carbonatado (San José, Guayabal).	1,30	0,48	53,50	6,83	62,11	34,33	0,65	8,20	0,63	401,67	16,26	18,00	65,74
 4	Fersialítico Pardo Rojizo Carbonatado (San José, Las Papas)	1,12	0,76	49,50	6,00	57,38	172,00	0,67	7,73	0,72	461,67	37,59	10,00	51,74
 5	Hidromórfico Gley Vértico Ócrico Carbonatado (Güines, J. Borrell)	1,17	0,36	41,67	7,17	50,36	19,00	0,71	8,07	1,37	878,67	43,26	3,00	53,74
 2	Hidromórfico Gley Vértico Slítico Crómico (Jaruco).	0,93	0,21	13,53	3,43	18,10	11,67	0,48	6,27	0,97	621,00	19,26	4,00	76,74
 7	Ferralítico Rojo Compactado Dístrico (Bainoa).	0,77	0,21	4,43	2,37	7,78	0,93	0,44	5,30	0,38	239,33	9,26	7,00	83,74
 8	Hidromórfico Gley Nodular Ferruginoso Típico (La Coca, Bauta)	0,86	0,19	14,67	2,93	18,65	9,67	0,86	5,13	0,33	212,00	20,26	4,00	75,74