



RESPUESTA DE LA *Canavalia ensiformis* A LA INOCULACIÓN MICORRÍZICA CON *Glomus cubense* (CEPA INCAM-4), SU EFECTO DE PERMANENCIA EN EL CULTIVO DEL MAÍZ

Canavalia ensiformis response to mycorrhizal inoculation with *Glomus cubense* (strain INCAM-4), their permanency effect in the maize crop

Gloria M. Martín Alonso[✉], Ramón Rivera Espinosa, Alberto Pérez Díaz y Lianne Arias Pérez

ABSTRACT. To evaluate the influence of the number of spores of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) in the soil on the response of canavalia to the inoculation with an efficient strain of AMF, they were carried out several experiments with different conditions of initial content of spores and handling of mycorrhizal inoculant: (group 1) soils in those that never this biofertilizer type had been applied before and the initial number of spores of AMF was low; (group 2) soils with high initial number of spores and in the one that they have been carried out successive applications of biofertilizers with the specie of AMF *Glomus cubense* (strain INCAM-4) during several years and (group 3) soils where this biofertilizer had never been applied and in the one that was caused by means of a previous cultivation of plants (spontaneous vegetation and *Brachiaria sp.*), a high initial number of native spores of HMA. In the soils with smaller initial number of spores of HMA (group 1) the canavalia had a positive response to the inoculation, with differences in the evaluate variable among the treatments with inoculation and without this. However, in the soils with previous applications of mycorrhizal inoculant and high number of spores (group 2) was not observed response from canavalia to the inoculation, although it presented an effective fungus colonization. In the soil with a high content of native spores (group 3), the canavalia had response to the inoculation, what evidences the high competitiveness and efficiency of the strains *Glomus cubense* (INCAM-4). In all the cases effect of permanency of the inoculation of the canavalia was presented on the mycorrhizal colonization of the later cultivation, in this case maize.

Key words: *Canavalia ensiformis*, arbuscular mycorrhiza, inoculation

RESUMEN. Para evaluar la influencia del número de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el suelo sobre la respuesta de la canavalia a la inoculación con una cepa eficiente de HMA, se realizaron varios experimentos con diferentes condiciones de contenido inicial de esporas y manejo de inoculantes micorrízicos: (grupo 1) suelos en los que nunca antes se había aplicado este tipo de biofertilizante, con un número inicial de esporas de HMA bajo; (grupo 2) suelos con alto número inicial de esporas y en el que durante varios años se han realizado aplicaciones sucesivas de biofertilizantes con la especie de HMA *Glomus cubense* (INCAM-4) y (grupo 3) suelos donde nunca se había aplicado este biofertilizante y en el que se provocó, mediante un cultivo previo de plantas (vegetación espontánea y *Brachiaria sp.*), un elevado número inicial de esporas nativas de HMA. En el suelo con menor número inicial de esporas de HMA (grupo 1) la canavalia tuvo una respuesta positiva a la inoculación, con diferencias en todas las variables evaluadas entre los tratamientos con inoculación y sin esta. Sin embargo, en los suelos con aplicaciones previas de inoculantes micorrízicos y elevado número de esporas (grupo 2) no se observó respuesta de la canavalia a la inoculación, aunque sí presentó un efectivo funcionamiento fúngico. En el suelo con un elevado contenido de esporas nativas (grupo 3), la canavalia tuvo respuesta a la inoculación, lo que evidencia la alta competitividad y eficiencia de la cepa *Glomus cubense* (INCAM-4). En todos los casos se presentó efecto de permanencia de la inoculación de la canavalia sobre la colonización micorrízica del cultivo posterior, en este caso maíz.

Palabras clave: *Canavalia ensiformis*, micorrizas arbusculares, inoculación

Dra.C. Gloria M. Martín Alonso, Investigadora Auxiliar; Dr.C. Ramón Rivera Espinosa, Investigador Titular y Lianne Arias Pérez, Especialista del departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, CP 32 700; Dr.C. Alberto Pérez Díaz, Investigador Auxiliar, Universidad de Guantánamo, Facultad Agroforestal de Montaña, Carretera a Santiago de Cuba, km 2½, Guantánamo, Cuba.

✉ gloriam@inca.edu.cu; rrivera@inca.edu.cu; aperez@fam.cug.co.cu

INTRODUCCIÓN

Entre las plantas más empleadas como abono verde se encuentra la *Canavalia ensiformis* (L.) D.C., que se destaca por establecer simbiosis con *Rhizobium* y así fijar cantidades de N atmosférico que oscilan entre

100-200 kg.ha⁻¹ de N, lo que la ubica como una especie importante para el aporte de este nutriente al suelo (1).

Los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) constituyen una asociación simbiótica mutualista que existe entre ciertos hongos del suelo y las raíces de las plantas superiores. En ella, ambos simbiosomas se benefician mutuamente. El HMA recibe fuentes carbonadas provenientes de la planta, mientras que en estas se incrementa la capacidad de exploración del suelo, la absorción de nutrientes minerales y el crecimiento y desarrollo (2).

La canavalia es una planta con elevada dependencia de estos hongos y capacidad para multiplicar los propágulos micorrizicos nativos en el suelo (3). Dentro de la agricultura sostenible, el reto es lograr el manejo de los abonos verdes e inóculos de HMA eficientes para obtener una colonización micorrizica efectiva, elevar la disponibilidad de nutrientes en el suelo y su aprovechamiento por las plantas.

Se ha encontrado que la canavalia es una planta con alta respuesta a la inoculación con cepas eficientes de HMA por tipo de suelo (4); sin embargo, no siempre se ha obtenido un incremento significativo del crecimiento y desarrollo de esta especie frente a la inoculación (1), por lo que se hace necesario estudiar algunas de las causas que regulan esta respuesta.

El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar la respuesta de la canavalia ante la inoculación micorrizica en suelos con diferente número inicial de esporas de HMA y manejo de inoculantes micorrizicos y su efecto de permanencia en el cultivo del maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en cuatro sitios muy cercanos entre sí, en el municipio San José de las Lajas, provincia Mayabeque, Cuba, a 138 m de altitud, en las áreas del departamento de Servicios Agrícolas del INCA (finca "Las Papas"), ubicado en los 23°01' latitud norte y 82°08' longitud oeste, y en tres fincas agrícolas pertenecientes a la Cooperativa de Créditos y Servicios (CCS) "Nelson Fernández", nombradas "La Asunción", "Santa Teresa" y "Zacarías". Los experimentos se realizaron durante el período comprendido entre los años 2006 y 2007.

Las fincas se agruparon en dependencia del número inicial de esporas de HMA y del manejo de la inoculación micorrizica que hasta ese momento se efectuó en ellas: nulo o aplicaciones sucesivas. Aunque se estudiaron los mismos tratamientos, las diferencias entre sitios hicieron que se considerara y evaluara a cada finca como un experimento independiente.

Así, en el grupo 1 se incluyeron las fincas con bajo número inicial de esporas de HMA y sin aplicaciones previas de inoculantes micorrizogénos. En el grupo 2 se incluyeron fincas con alto número inicial de esporas de HMA y con numerosas y continuas aplicaciones previas de inoculantes micorrizicos. En el grupo 3 se incluyó un

suelo al que nunca se le había aplicado HMA, pero con un alto número inicial de esporas nativas, como resultado del precultivo en el mismo de plantas conocidas por su alta capacidad de multiplicar propágulos micorrizicos (5).

El manejo de las inoculaciones micorrizicas previas fue quien determinó las situaciones iniciales del número de esporas de HMA en todas las fincas en estudio, a pesar de estar muy cercanas unas de otras, bajo semejantes condiciones edafoclimáticas y dedicarse las mismas a la producción continua de cultivos varios. El suelo en todos los sitios experimentales se clasificó como Ferralítico Rojo, según la nueva versión de clasificación de los suelos de Cuba (6) y algunas de sus características se presentan en la Tabla I.

En el caso de la finca INCA 2007 (grupo 3), el alto número de esporas nativas de HMA se logró al sembrar, previo al montaje del experimento, la especie *Brachiaria* híbrido, cultivar Mulato II o dejando al suelo en barbecho durante un período de tres meses. Estas plantas lograron elevar los niveles de esporas nativas presentes en el suelo hasta los valores que se informaron en este experimento. La *Brachiaria* se sembró a inicios del mes de mayo del 2007, y se dejó crecer por tres meses, al cabo de los cuales se cortó para proceder a la siembra del experimento.

El grupo 2 de experimentos se realizó en condiciones de alto número de esporas de HMA y al mismo tiempo con elevada concentración de P disponible en el suelo, debido a aplicaciones de fertilizantes minerales que se han realizado en estos sitios. Esta situación sugiere una posible adaptación de las cepas de HMA encontradas a las condiciones de fertilidad presentes en estos suelos.

Los experimentos se realizaron en los dos períodos climáticos bien definidos para la región:

- ♦ Período poco lluvioso o seco (comprende los meses de noviembre a abril) y a su vez se corresponde con el período invernal, donde se reportan los registros de temperaturas más bajas (7).
- ♦ Período lluvioso (comprendido entre mayo y octubre), se corresponde con el verano y se registran las temperaturas más altas (7).

Los tratamientos estudiados se observan en la Tabla II.

En todas las parcelas experimentales se sembró *Canavalia ensiformis*, con un marco de plantación de 0,45 x 0,30 m y se dejó crecer por 60 días, fecha en la que se cortó y se incorporó al suelo. Con posterioridad se sembró maíz, variedad Francisco mejorado y se evaluó su respuesta a la inoculación micorrizica. El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar, con cuatro repeticiones en todos los sitios donde se ejecutó el estudio.

En los tratamientos que recibieron inoculación micorrizica se aplicó el biofertilizante comercial EcoMic[®] a base de la cepa de HMA *Glomus cubense* (Rodríguez *et al.*), INCAM-4, procedente de la colección de cepas del INCA. La inoculación se realizó por el método del recubrimiento de las semillas (8), en dosis equivalentes al 10 % del peso de la semilla.

Tabla I. Algunas características iniciales del horizonte cultivable de los suelos Ferralíticos Rojos de San José de las Lajas, utilizados en los experimentos evaluados

Año/estación	Finca	pH	MO (%)	P (mg.kg ⁻¹)	Ca	Mg (cmol.kg ⁻¹)	K	Na	Número esporas HMA 50 g de suelo	Características del suelo y manejo	
Estación lluvias 2007	Santa Teresa	6,7	2,58	133	12,5	3,4	0,62	0,08	31,7	Suelo sin aplicaciones de inoculantes micorrízicos (grupo 1)	
	Zacarías	6,0	2,27	124	10,1	4,0	0,42	0,08	40,24		
Estación seca 2007	Zacarías-1	5,8	2,48	122	10,1	3,1	0,29	0,08	40,32		
	Zacarías-2	6,2	2,32	151	11,5	3,9	0,39	0,06	36,58		
Estación lluvias 2006	Las Papas	7,35	1,07	482	13,4	3,25	0,71	0,04	272,5		Suelo con aplicaciones sucesivas de inoculantes micorrízicos (grupo 2)
Estación lluvias 2007	Las Papas	7,74	1,43	442,6	13,56	3,1	0,64	0,17	232		
	La Asunción	6,6	1,93	997	11,7	4,3	0,60	0,17	107,88		
Estación seca 2007	La Asunción	8,2	1,66	806	11,7	3,3	0,55	0,12	94,42		Alto número de esporas nativas, sin aplicaciones de inoculantes micorrízicos (grupo 3)
2007	INCA*	7,3	2,80	172	14,7	4,2	1,28	0,17	643,63		

Determinaciones químicas: pH H₂O potenciómetro, MO (materia orgánica) Walkley Black, P Oniani, Cationes NH₄Ac pH 7, No (número) esporas HMA Gerdemann y Nicholson, modificada por Herrera y colaboradores.

* suelo proveniente del área de lindero (biostasia) de la finca "Las Papas"

Tabla II. Tratamientos estudiados en los experimentos

Inoculación HMA* Etapa 1 Cultivo precedente (canavalia)	Inoculación HMA* Etapa 2 Cultivo posterior (maíz)
No	No
No	Si
Si	No
Si	Si

* Inoculante comercial EcoMic® a base de *Glomus cubense* (cepa INCAM-4)

A los 60 días después de la germinación de la canavalia y del maíz, se realizó un muestreo de plantas completas, por triplicado, para evaluar masa seca, a partir del secado en estufa de las plantas extraídas a 70°C, hasta alcanzar valores de masa constante. En igual período de tiempo, se evaluaron los contenidos de N, P, K se determinó como porcentaje de la masa seca de la parte aérea, por el método de digestión húmeda con H₂SO₄+Se y determinación colorimétrica con el reactivo de Nessler para el N, el P por colorimetría con el reactivo molibdato de amonio y el K por fotometría de llama.

La extracción de N, P y K, se calculó a partir de los datos de la masa seca de la parte aérea y su correspondiente concentración de cada elemento (% N, P, K), por la siguiente fórmula:

Extracción de N, P, K = [Masa seca x (%) elemento en cada órgano] / 100.

El comportamiento de las variables de funcionamiento fúngico porcentaje de colonización y densidad visual se determinó para las dos especies de plantas.

Para la determinación de la colonización micorrízica, se motearon las raíces de las plantas colectadas hasta una profundidad de 15 cm, se lavaron con agua corriente y se secaron al aire. Se tomaron las raicillas más finas y se desmenuzaron. Para las determinaciones se pesaron aproximadamente 200 mg de raicillas que fueron secadas a 70°C, para ser teñidas según la metodología descrita por Phillips y Hayman.

La evaluación se realizó por el método de los interceptos, desarrollado por Giovanetti y Mosse. La determinación del porcentaje de densidad visual (% DV) se realizó por la metodología de Trouvelot. El conteo de esporas de HMA, se realizó en muestras de 50 g de suelo, según el método de extracción descrito por Gerdeman y Nicolson, 1963, modificado por Herrera *et al.* (9).

Se comprobó la normalidad de los datos y la homogeneidad de la varianza. La variable de origen binomial porcentaje de colonización micorrízica se transformó por el método de $\arcsen\sqrt{x}$. Con posterioridad se realizó un análisis de varianza a los datos obtenidos en cada finca por separado. En los casos en que se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, las medias fueron comparadas por la prueba de Rango Múltiple de Duncan ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Respuesta de la canavalia a la aplicación de un inoculante micorrízico. En este estudio, se evaluó cada finca por separado pues era necesario investigar el comportamiento de los cultivos frente a la inoculación en cada caso, para establecer un criterio de respuesta según las condiciones específicas de cada suelo y manejo efectuado.

En la Tabla III se observa el comportamiento de todas las variables evaluadas en la canavalia, para determinar su respuesta a la inoculación con una cepa eficiente de HMA en el suelo con bajo número inicial de esporas nativas de micorrizas y sin aplicaciones previas de inoculantes (grupo 1).

Se encontró una respuesta significativa a la inoculación micorrízica de la canavalia en las dos campañas evaluadas, al encontrarse diferencias entre los tratamientos con presencia o no de la inoculación micorrízica con una cepa eficiente para este tipo de suelo y en todas las variables que se estudiaron.

Los porcentajes de incremento de la canavalia inoculada respecto a la no inoculada oscilaron entre 18-44 % para la masa seca, extracción de nutrientes y funcionamiento fúngico.

La respuesta de la canavalia a la inoculación no dependió de las condiciones climáticas, pues en ambas campañas se encontró respuesta a la inoculación en los suelos con menor número inicial de esporas,

aunque la magnitud del crecimiento de las plantas fue superior en primavera en relación con el invierno; o sea, tanto en primavera como en invierno se observó un efecto positivo de la inoculación sobre el funcionamiento micorrízico de la canavalia, reflejado en el mayor crecimiento, nutrición y colonización radical, efectos asociados con la dependencia a los HMA de esta especie.

En la Tabla IV se presenta el comportamiento de las variables analizadas en los experimentos realizados en las fincas con mayor número de esporas de HMA al inicio de la investigación y con aplicaciones previas de inoculantes micorrízicos en el suelo (grupo 2).

Se encontró un comportamiento diferente respecto a las fincas del grupo 1 de experimentos. En los suelos con un número inicial de esporas de HMA superior a 100 esporas en 50 g de suelo no se observó respuesta a la inoculación, al no existir diferencias entre los tratamientos de inoculación o no de la canavalia, para todas las variables evaluadas.

Tabla III. Comportamiento de las diferentes variables analizadas en el cultivo de la canavalia, al evaluar su respuesta a la inoculación micorrízica en las fincas con bajo número inicial de esporas nativas y sin aplicaciones previas de inoculante micorrízico (Grupo 1)

Finca	Primavera 2007		Frío 2007	
	Santa Teresa	Zacarías	Zacarías-2	Zacarías-1
Esporas HMA	31,7	40,24	36,58	40,32
Tratamientos				
Masa seca total (t.ha⁻¹)				
Canavalia	2,24	4,54	1,34	1,35
Canavalia-HMA	2,82	5,38	1,70	1,60
Es χ	0,18 *	0,37 *	0,10 *	0,05*
Aporte total de nitrógeno (kg.ha⁻¹ de N)				
Canavalia	61,14	143,55	42,96	42,44
Canavalia-HMA	132,74	247,96	80,51	79,25
Es χ	7,51 *	20,99*	4,73 *	6,49 *
Aporte total de fósforo (kg.ha⁻¹ de P)				
Canavalia	2,98	5,32	3,02	4,85
Canavalia-HMA	3,95	6,58	3,95	5,92
Es χ	0,45 *	0,70*	0,25 *	0,27 *
Aporte total de potasio (kg.ha⁻¹ de K)				
Canavalia	43,04	94,37	28,52	29,07
Canavalia-HMA	60,55	125,86	41,13	38,08
Es χ	2,80 *	15,73*	2,72 *	1,4 *
Colonización micorrízica (%)				
Canavalia	38,50	51,75	46,25	48,25
Canavalia-HMA	52,50	58,75	52,75	55,00
Es χ	2,41 *	1,95 *	1,72 *	1,50 *
Densidad visual (%)				
Canavalia	2,09	2,73	3,25	3,12
Canavalia-HMA	4,52	4,27	4,98	4,18
Es χ	0,80 *	0,75*	0,7 *	0,35 *

* Medias con diferencias significativas según Prueba de Duncan ($p < 0.05$)

Esporas de HMA se refiere al conteo inicial de esporas de HMA en 50 g de suelo seco en cada uno de los sitios experimentales

Tabla IV. Comportamiento de las diferentes variables analizadas en el cultivo de la canavalia, al evaluar su respuesta a la inoculación micorrízica en las fincas con alto número inicial de esporas nativas y con aplicaciones previas de inoculante micorrízico (grupo 2)

Año	Frío 2007	Primavera 2007	Primavera 2007	Primavera 2006
Finca	La Asunción	La Asunción	Las Papas	Las Papas
Esporas HMA	107,88	232	272,5	94,42
Tratamientos				
Masa seca total (t.ha ⁻¹)				
Canavalia	3,40	7,92	4,93	6,19
Canavalia-HMA	3,56	8,28	5,21	6,63
Es χ	0,34 NS	1,004 NS	0,71 NS	0,58 NS
Aporte total de nitrógeno (kg.ha⁻¹ de N)				
Canavalia	183,50	221,27	106,70	115,75
Canavalia-HMA	194,10	247,84	118,32	110,99
Es χ	30,79 NS	34,73 NS	9,92 NS	10,58 NS
Aporte total de fósforo (kg.ha⁻¹ de P)				
Canavalia	8,62	7,32	6,17	12,62
Canavalia-HMA	7,96	8,46	7,01	13,39
Es χ	1,28 NS	1,21 NS	1,71 NS	1,50 NS
Aporte total de potasio (kg.ha⁻¹ de K)				
Canavalia	152,22	110,71	129,96	70,78
Canavalia-HMA	152,19	113,64	138,56	76,99
Es χ	18,28 NS	13,39 NS	15,29 NS	8,72 NS
Colonización micorrízica (%)				
Canavalia	48,25	47,50	50,25	51,62
Canavalia-HMA	50,50	49,00	51,00	52,00
Es χ	1,28 NS	2,42 NS	1,37 NS	2,33 NS
Densidad visual (%)				
Canavalia	3,67	3,57	3,47	3,40
Canavalia-HMA	3,97	3,79	3,75	3,65
Es χ	0,39 NS	0,3 NS	0,26 NS	0,49 NS

NS Las medias no presentaron diferencias significativas según Prueba de Duncan ($p < 0.05$)

Esporas de HMA se refiere al conteo inicial de esporas de HMA en 50 g de suelo seco en cada uno de los sitios experimentales

Esto no quiere decir que las plantas no tuvieron un buen comportamiento agronómico, por el contrario, la canavalia presentó un crecimiento y desarrollo profusos, con una adecuada extracción de nutrientes e indicadores de la existencia de un efectivo funcionamiento micorrízico del cultivo (porcentajes de colonización micorrízica y de densidad visual característicos), lo cual indica que las esporas presentes en el suelo, presentan una elevada eficiencia para establecer una simbiosis efectiva con las plantas.

La canavalia es una planta micótrófa y se coloniza con los HMA existentes en el suelo (10). Si el número de propágulos de estas especies de HMA es alto y son competitivas frente a la especie inoculada, no se debe observar respuesta a la inoculación con HMA (11).

Este resultado indicó, además, el posible establecimiento de la cepa inoculada en el suelo, después de varias aplicaciones del inoculante micorrízico y el cultivo continuado de especies de plantas altamente dependientes de la micorrización que multiplican los propágulos (12).

Sin embargo, es necesario profundizar en este aspecto respecto al número de aplicaciones necesarias y efectuar el seguimiento detallado de las cepas inoculadas en el suelo y su interacción con los microorganismos nativos.

La respuesta de la canavalia a la inoculación micorrízica en un suelo con muy elevado número de esporas nativas de HMA (grupo 3) se puede observar en la Tabla V.

En el suelo con estas características se observó una significativa respuesta de la canavalia a la inoculación micorrízica en cada una de las dos condiciones de número de esporas nativas, con independencia de su elevada cantidad, al detectarse diferencias estadísticas entre los tratamientos para todas las variables evaluadas.

En estudios realizados por Rivera *et al.* (13) se ha encontrado una respuesta superior en el crecimiento de posturas de café con la aplicación de cepas eficientes en comparación con inóculos concentrados de cepas nativas, lo que sugirió que la adaptabilidad a una condición edáfica dada no es sinónimo de eficiencia.

Tabla V. Comportamiento de las diferentes variables analizadas en el cultivo de la canavalia, al evaluar su respuesta a la inoculación micorrizica en un suelo con alto número inicial de esporas nativas y sin aplicaciones previas de inoculantes micorrizicos (grupo 3)

Precedente inicial	Barbecho	<i>Brachiaria</i>
Esporas HMA	454,75	832,5
Tratamientos		
Masa seca total (t, ha ⁻¹)		
Canavalia	2,83	4,20
Canavalia-HMA	5,52	5,86
Es χ	0,20*	0,36*
Aporte total de nitrógeno (kg, ha⁻¹ de N)		
Canavalia	121,40	106,50
Canavalia-HMA	176,80	162,80
Es χ	5,15*	4,20*
Aporte total de fósforo (kg, ha⁻¹ de P)		
Canavalia	6,06	6,06
Canavalia-HMA	9,80	8,80
Es χ	0,3*	0,26*
Aporte total de potasio (kg, ha⁻¹ de K)		
Canavalia	84,70	72,00
Canavalia-HMA	108,70	100,00
Es χ	2,24*	1,31*
Colonización micorrizica (%)		
Canavalia	40,74	58,65
Canavalia-HMA	57,72	71,30
Es χ	0,20*	0,36*
Densidad visual (%)		
Canavalia	2,41	2,83
Canavalia-HMA	3,69	3,96
Es χ	0,005*	0,009*

* Medias con diferencias significativas según Prueba de Duncan ($p < 0.05$). Esporas de HMA se refiere al conteo inicial de esporas de HMA en 50 g de suelo seco en cada uno de los sitios experimentales

De igual forma los resultados informados por Sánchez *et al.* (3) mostraron una respuesta positiva a la inoculación de cepas eficientes de HMA en la producción de posturas de café y en presencia, como en este caso, de contenidos de esporas nativas de 400 esporas en 50 g de suelo a 0-30 cm de profundidad. Este resultado ratifica la importancia de aplicar cepas eficientes de HMA (13), las que pueden ser efectivas, aun en presencia de cantidades relativamente altas de esporas nativas.

La información obtenida reveló que las cepas nativas aunque se encontraban con niveles elevados de esporas, no originaron una simbiosis micorrizica efectiva, lo que quedó demostrado al obtenerse un incremento significativo de las variables evaluadas en el tratamiento inoculado respecto al testigo.

De ahí, la importancia de la inoculación de cepas eficientes para alcanzar una simbiosis beneficiosa para los dos organismos involucrados y por tanto que las

plantas micorrizadas expresaran plenamente los beneficios de la simbiosis.

Además, la respuesta a la inoculación de una cepa eficiente, aun en presencia de altos contenidos de esporas nativas en el suelo indicó una alta competitividad de la cepa *Glomus cubense* a estas condiciones edáficas.

Por otro lado, los altos valores del funcionamiento fúngico de la canavalia inoculada, sugieren que el abono verde, no solo fue colonizado por la cepa inoculada, *Glomus cubense*, sino también por las cepas nativas, fenómeno más notable cuando estas se encontraban en niveles superiores a 800 esporas en 50 g de suelo.

En relación con esto, al estudiar los patrones de colonización radical de diferentes especies de HMA, se ha encontrado que la mayoría de las raíces de puerro (*Allium porrum*) y cebolla (*Allium cepa*) estaban colonizadas por más de una especie de HMA, incluso otros autores detectaron hasta cuatro especies fúngicas al mismo tiempo en el 27 % de las muestras (14).

Respuesta del maíz a la sucesión con canavalia e inoculación micorrizica. En la Tabla VI se observa el comportamiento de la colonización micorrizica en el maíz, como cultivo sucesor a la incorporación de la canavalia en las fincas con bajo número inicial de esporas de HMA y sin inoculaciones previas a la investigación.

En los suelos con menor número inicial de esporas de HMA, el funcionamiento fúngico se incrementó en los tratamientos en sucesión del maíz con el abono verde inoculado, en comparación con los obtenidos en los tratamientos del abono verde y maíz sin inocular.

Aunque no fue cuantificado, existió una reproducción de los propágulos de la cepa inoculada con la canavalia, que provocó la colonización del cultivo posterior, lo que se evidencia al no existir diferencias entre los tratamientos de respuesta del maíz a la inoculación, siempre que este cultivo estuviera en sucesión con la canavalia inoculada.

El tratamiento de maíz inoculado en sucesión a la canavalia sin inocular tuvo menores indicadores de las variables evaluadas en comparación al maíz crecido en sucesión con la canavalia inoculada. Esto probablemente se deba al efecto de mayor crecimiento del abono verde en presencia de la inoculación micorrizica, analizado en el acápite anterior, que provocó mayores beneficios del mismo sobre el cultivo en sucesión.

En la Tabla VII se observa el funcionamiento fúngico del maíz que se sembró en las fincas con alto número de esporas iniciales e inoculaciones previas de HMA.

En este grupo de experimentos, no se encontraron diferencias en los porcentajes de colonización micorrizica del maíz entre los tratamientos con abono verde, con independencia de si se inocularon o no los cultivos.

Este comportamiento indicó que al parecer, las continuas aplicaciones de inoculantes micorrizicos a base de cepas eficientes realizadas en estas fincas, han provocado la permanencia del inóculo en el suelo y esto provoca que los cultivos presenten un funcionamiento micorrizico característico de una inoculación, sin que se haya efectuado esta práctica.

Tabla VI. Evaluación de las variables micorrízicas en el cultivo del maíz sembrado después de la canavalia en las fincas con bajo número inicial de esporas nativas y sin aplicaciones previas de inoculante micorrízico (grupo 1)

Precedente	Año Finca Esporas HMA	Primavera 2007		Frío 2007	
		Santa Teresa 31,7	Zacarías 40,24	Zacarías-2 36,58	Zacarías-1 40,32
	Cultivo principal	Colonización micorrízica (%)			
Canavalia	Maíz	47,25 b	49,25 b	51,25 b	48,50 b
Canavalia	Maíz-HMA	52,25 b	51,75 b	51,25 b	51,50 b
Canavalia-HMA	Maíz	58,75 a	59,75 a	56,25 a	59,50 a
Canavalia-HMA	Maíz-HMA	59,75 a	58,75 a	59,00 a	60,00 a
Es χ		1,83*	1,37*	1,39*	1,56*
		Densidad visual (%)			
Canavalia	Maíz	1,86 c	2,04 c	2,20 b	2,36 b
Canavalia	Maíz-HMA	2,40 b	2,55 b	2,42 b	2,17 b
Canavalia-HMA	Maíz	2,69 a	2,92 a	2,86 a	3,02 a
Canavalia-HMA	Maíz-HMA	2,77 a	2,80 a	2,74 a	2,64 a
Es χ		0,39*	0,38*	0,58*	0,43*

* Medias con diferencias significativas según Prueba de Duncan ($p < 0.05$)

Esporas de HMA se refiere al conteo inicial de esporas de HMA en 50 g de suelo seco en cada uno de los sitios experimentales

Tabla VII. Evaluación de las variables micorrízicas en el cultivo del maíz sembrado después de la canavalia en las fincas con alto número inicial de esporas nativas y con aplicaciones previas de inoculante micorrízico (grupo 2)

Precedente	Año Finca Esporas HMA	Frío 2007	Primavera 2007		2006
		La Asunción 107,88	La Asunción 232	Las Papas 272,5	Las Papas 94,42
	Cultivo principal	Colonización micorrízica (%)			
Canavalia	Maíz	50,00	46,50	42,67	39,50
Canavalia	Maíz-HMA	51,75	48,50	46,00	40,00
Canavalia-HMA	Maíz	52,00	50,50	44,00	40,00
Canavalia-HMA	Maíz-HMA	54,75	50,00	46,00	40,50
Es χ		2,12 NS	2,15 NS	1,27 NS	2,44 NS
		Densidad visual (%)			
Canavalia	Maíz	1,75	1,64	2,02	2,36
Canavalia	Maíz-HMA	1,97	1,96	2,26	2,89
Canavalia-HMA	Maíz	2,06	2,00	2,32	3,20
Canavalia-HMA	Maíz-HMA	2,23	2,06	2,58	3,25
Es χ		0,23 NS	0,07 NS	0,07 NS	0,38 NS

NS. las medias no presentan diferencias significativas según prueba de Duncan ($p < 0.05$)

Esporas de HMA se refiere al conteo inicial de esporas de HMA en 50 g de suelo seco en cada uno de los sitios experimentales

En la Tabla VIII se presentan los resultados del funcionamiento fúngico del maíz en sucesión con canavalia en el suelo que inicialmente tenía un alto número de esporas nativas. De forma general, se puede encontrar una respuesta del maíz a la inoculación micorrízica en todos los tratamientos donde se inoculó al maíz o a la canavalia, en comparación al tratamiento sin inocular.

Este comportamiento indica la factibilidad de las aplicaciones de cepas eficientes de HMA aun si los propágulos nativos se encuentran en altas cantidades.

A diferencia del grupo 2 de experimentos, en este grupo sí se encontró la respuesta del maíz a la inoculación, incluso en los tratamientos donde la canavalia no fue inoculada, lo cual indica que, aunque el abono verde haya multiplicado los propágulos nativos existentes en el suelo, esto no impidió que la presencia de una cepa eficiente de HMA aumentara el funcionamiento fúngico del cultivo inoculado, lo cual indica que son el tipo de cepa y el manejo previo de la inoculación y no el número de esporas quienes determinarán la respuesta del cultivo a la inoculación.

Tabla VIII. Evaluación de las variables micorrízicas en el cultivo del maíz sembrado después de la canavalia en un suelo con alto número inicial de esporas nativas y sin aplicaciones previas de inoculantes micorrízicos (grupo 3)

Precedente inicial		Barbecho	<i>Brachiaria</i>
Esporas HMA		454,75	832,5
Precedente	Cultivo principal	Colonización micorrízica (%)	
Canavalia	Maíz	58,67 b	61,67 b
Canavalia	Maíz-HMA	75,67 a	70,33 a
Canavalia-HMA	Maíz	77,00 a	67,67 a
Canavalia-HMA	Maíz-HMA	77,67 a	71,67 a
Es χ		0,07*	1,52*
		Densidad visual (%)	
Canavalia	Maíz	3,02 c	3,82 b
Canavalia	Maíz-HMA	3,85 b	4,36 a
Canavalia-HMA	Maíz	4,11 b	4,47 a
Canavalia-HMA	Maíz-HMA	4,6 a	4,91 a
Es χ		0,67 *	0,96 *

* Medias con diferencias significativas según Prueba de Duncan ($p < 0.05$)

Esporas de HMA se refiere al conteo inicial de esporas de HMA en 50 g de suelo seco en cada uno de los sitios experimentales

En los suelos, con independencia del precedente inicial (barbecho o *Brachiaria*) se detectó un efecto de permanencia pues el tratamiento canavalia+HMA y maíz mostró un comportamiento similar al de canavalia+HMA y maíz+HMA. Posiblemente este comportamiento esté relacionado no solo con el mayor aporte y reciclaje de nutrientes que se logró con la canavalia micorrizada y que benefició en mayores cantidades al maíz, sino también con un funcionamiento micorrízico efectivo del maíz en el tratamiento en que solo se inoculó la canavalia.

Los resultados presentados indicaron que la canavalia no garantizó una simbiosis eficiente del cultivo posterior en los suelos con bajo número inicial de esporas. En este comportamiento influyó de forma relevante el historial de aplicación de HMA al suelo. Al añadirse previamente biofertilizantes a base de cepas eficientes de HMA y existir contenidos mayores de 100 esporas en 50 g de suelo, el cultivo de la canavalia, aun sin inoculación, incrementó el nivel de estos propágulos y permitió una colonización efectiva en el cultivo posterior.

En relación con esto, se plantea que la respuesta a la inoculación se dará en presencia de baja cantidad de propágulos pero muy poco probable en presencia de altos contenidos de cepas eficientes (11).

El empleo de abonos verdes con elevada dependencia micorrízica, aumentó los propágulos micorrízicos en el suelo y favoreció la simbiosis en el cultivo posterior (4); no obstante, este incremento de la micorrización nativa no tiene que garantizar una simbiosis altamente efectiva ni impedir la respuesta a la inoculación con cepas de HMA eficientes (15).

El efecto de permanencia del inoculante aplicado sobre el primer cultivo ha sido encontrado en diferentes suelos y secuencias (16) y fue consecuencia de una micorrización efectiva de las plantas inoculadas, que conllevó a una reproducción de los propágulos micorrízicos en el suelo.

El efecto de permanencia depende de la baja especificidad cepa de HMA-cultivo (14) pues ambos cultivos se micorrizan efectivamente con la misma cepa en cuestión.

Los resultados demostraron la factibilidad de inocular los abonos verdes con cepas eficientes de HMA. Así, no solo se incrementó la producción de masa seca y reciclaje de otros nutrientes en el suelo a través del empleo de la canavalia, sino que se multiplicaron los propágulos de la especie de HMA introducida y se garantizó una micorrización efectiva del cultivo posterior, de esta manera, no fue necesaria la inoculación del mismo.

La inoculación micorrízica de la canavalia y su utilización como una vía para introducir una cepa eficiente en un agroecosistema incrementó el valor y beneficio de los abonos verdes, al aumentar los contenidos de masa seca y nutrientes incorporados, multiplicar los propágulos de HMA y además se añade como una valiosa práctica dentro del manejo de los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente, sin afectar los rendimientos ni el balance nutricional del sistema.

Este resultado demostró la alta competitividad y eficiencia de la cepa *Glomus cubense* en estas condiciones edáficas, lo que corroboró los criterios de recomendación de esta cepa para la inoculación micorrízica de los cultivos en este tipo de suelo (17). Por otra parte, el número de esporas en el suelo, al ser un indicador inespecífico, no permitió relacionar el grado de respuesta de los cultivos a la aplicación del inoculante micorrízico con los contenidos de estas.

En los experimentos realizados no se estudió la composición de especies de HMA en los suelos analizados, aunque sí se encontró una respuesta a la inoculación de la canavalia y el maíz en suelos que no habían sido inoculados previamente, con independencia del contenido de esporas nativas, debido al alto valor de todas las variables analizadas, que se detectó al ser inoculadas las plantas.

Los casos de no respuesta a la inoculación micorrízica de estos cultivos en este tipo de suelo se obtuvieron en condiciones de aplicaciones sistemáticas durante algunos años de inoculantes a base de la cepa *Glomus cubense* y se encontraron en las plantas indicadores propios de un funcionamiento micorrízico eficiente, lo que sugiere que esta cepa ha podido establecerse en el agroecosistema.

Con los resultados anteriores se lograron diferenciar tres condiciones para el manejo de los inoculantes micorrízicos y de la obtención del efecto de permanencia sobre el maíz sembrado con posterioridad a la canavalia inoculada. En presencia de bajos niveles de esporas

nativas se presentó una respuesta a la inoculación de la canavalia y se obtuvo el efecto de permanencia sobre el maíz posterior, garantizando un funcionamiento micorrízico eficiente de este.

Con elevados contenidos esporas nativas entre 400 y 800 esporas en 50 g de suelo se obtiene una respuesta significativa y positiva a la inoculación micorrízica de la canavalia, alcanzándose además el efecto de permanencia de la inoculación de la canavalia sobre el cultivo posterior de maíz.

Si en el suelo se detectan, como mínimo, entre 100 y 200 esporas en 50 g de suelo y asociadas con inoculaciones precedentes y sistemáticas de cepas eficientes, no existirá respuesta a la inoculación micorrízica pero sí se establece un funcionamiento micorrízico adecuado en los cultivos.

REFERENCIAS

- Martín, G. M. Manejo de la inoculación micorrízica arbuscular, la *Canavalia ensiformis* y la fertilización nitrogenada en plantas de maíz (*Zea mays*) cultivadas sobre suelos Ferralíticos Rojos de La Habana. [Tesis de Doctorado]. INCA. 2009. 101 p.
- Rivera, R.; Ruiz, L.; Fernández, F.; Sánchez, C.; Riera, M.; Hernández, A.; Fernández, A.; Fernández, K. y Plana, R. La simbiosis micorrízica efectiva y el sistema suelo-planta-fertilizante. En: VI Congreso Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo (16: 2006 mar, 8-10: La Habana). Memorias. CD-ROM. Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo. 2006.
- Sánchez, C.; Caballero, D.; Cupull, R.; González, C.; Urquiaga, S. y Rivera, R. Los abonos verdes y la inoculación micorrízica de plántulas de *Coffea arabica* sobre suelos Cambisoles Gléyicos. *Cultivos Tropicales*, 2009, vol. 30, no. 1, p. 25-30.
- Martín, G. M.; Arias, L. y Rivera, R. Selección de las cepas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) más efectivas para la *Canavalia ensiformis* cultivada en suelo Ferralítico Rojo. *Cultivos Tropicales*, 2010, vol. 31, no. 1, p. 27-31.
- González, P. J.; Plana, R.; Rivera, R.; Fernández, F. y Arbola, J. Efectos de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en pastos del género *Brachiaria*, cultivados en suelo Pardo Mullido. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 2008, vol. 42, no. 1, p. 101-106.
- MINAG. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. La Habana. Agrinfor, 1999. 64 p.
- INSMET. Glosario de términos meteorológicos. *Boletín de la vigilancia del clima*, 2009 vol. 21, agosto, no. 8. Centro del Clima. Instituto de Meteorología. Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente. República de Cuba. 2009. 17 p.
- Fernández, F.; Gómez, R.; Vanegas, L. F.; Noval, B. M. de la y Martínez, M. A. Producto inoculante micorrizógeno. 2000. Oficina Nacional de Propiedad Industrial. Cuba, Patente no. 22641.
- Mujica, Y.; Medina, N.; Noval-Pons, B. de la. Efectividad de la inoculación líquida de HMA en el cultivo del tomate. Efectividad de la inoculación líquida de HMA en el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en suelo Ferralítico. Editorial Académica Española, 2011. 75 p.
- Filho, P. F. M. Potencial de reabilitação do solo de uma área degradada, através da revegetação e do manejo microbiano. [Tese Doutorado]. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, São Paulo, 2004. 89 p.
- Siqueira, J. O. y Franco, A. A. Biotecnología do solo. Fundamento e perspectivas. Brasília: MEC-Ministerio de Educação, ABEAS; Larras: ESAL, FAEPE, 1988. 236 p.
- Janos, D. P. Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. *Mycorrhiza*, 2007, vol. 17, p. 75-91.
- Rivera, R.; Fernández, F.; Fernández, K.; Ruiz, L.; Sánchez, C. y Riera, M. Advances in the management of effective arbuscular mycorrhizal symbiosis in tropical ecosystems. 2007. pages 151-196. En: *Mycorrhizae in Crop Production* (eds.) Chantal Hamel y Christian Plenchette. Haworth Press, Binghamton, NY. Hard Cover ISBN: 978-1-56022-306-1; Soft Cover ISBN: 978-1-56022-307-8
- Van Tuinen, D.; Jacquot, E.; Zhao, B.; Gollotte, A. y Gianinazzi-Pearson, V. Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA-targeted nested PCR. *Molecular Ecology*, 1998, vol. 7, p. 879-887.
- Rivera, R.; Sánchez, C.; Caballero, D.; Cupull, R.; González, C. y Urquiaga, S. Abonos verdes e inoculación micorrízica de posturas de cafeto sobre suelos Ferralíticos Rojos Lixiviados. *Cultivos Tropicales*, 2010, vol. 31, no. 3, p. 75-81.
- Riera, M. Manejo de la biofertilización con hongos micorrízicos arbusculares y rizobacterias en secuencias de cultivos sobre suelo Ferralítico Rojo. [Tesis de Doctorado]. INCA. Cuba 2003. 100 p.
- González, P. J.; Arzola, J.; Rivera, R. Ramírez, J. F.; Plana, R. y Cruz, M. Bases para el manejo de las asociaciones micorrízicas en agroecosistemas de pastizales. II Taller nacional de fertilidad de los suelos de la ganadería. Departamento de Pastos y Forrajes. Instituto de Ciencia Animal 29-30 abril 2008. CD-ROM. Grupo ICASoft.

Recibido: 21 de julio de 2010

Aceptado: 18 de enero de 2012

¿Cómo citar?

Martín Alonso, Gloria M.; Rivera Espinosa, Ramón; Pérez Díaz, Alberto y Arias Pérez, Lianne. Respuesta de la *Canavalia ensiformis* a la inoculación micorrízica con *Glomus cubense* (cepa INCAM-4), su efecto de permanencia en el cultivo del maíz. *Cultivos Tropicales*, 2012, vol. 33, no. 2, p. 20-28. ISSN 1819-4087