



UNIVERSIDAD AGRARIA DE LA HABANA  
"Fructuoso Rodríguez Pérez"

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

DEPARTAMENTO DE BIOFERTILIZANTES Y NUTRICIÓN DE LAS PLANTAS

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 en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas

Autor: Ing. Gloria Marta Martín Alonso, M.Sc.

San José de las Lajas, La Habana

2009



UNIVERSIDAD AGRARIA DE LA HABANA  
"Fructuoso Rodríguez Pérez"

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

DEPARTAMENTO DE BIOFERTILIZANTES Y NUTRICIÓN DE LAS PLANTAS

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 en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas

Autor: Ing. Gloria Marta Martín Alonso, M.Sc.

Tutor: Dr.C. Ramón Antonio Rivera Espinosa

San José de las Lajas, La Habana

2009

## AGRADECIMIENTOS

A la Revolución Cubana, por la posibilidad de que una nieta de obreros y campesinos pudiera estudiar

A mis padres, ejemplo de dedicación al estudio y al trabajo y a Mario Rentería, por su apoyo y comprensión

Al INCA, mi centro de trabajo, por acogerme y brindarme las facilidades para mi formación

A mi tutor, Dr. Ramón Rivera, por sus peleas, regaños, orientaciones y también buenos ratos en esta difícil tarea

A mi técnico Reynerio Reyes, sin su ayuda poco se habría podido hacer

A la memoria de Víctor Manuel Paneque, por sus enseñanzas, profesor de todos

A Lianne Arias, por su valiosa cooperación

A mi amigo Alberto Pérez, por su inestimable ayuda y oportunas recomendaciones

A Fabiana Días Carvalho y Ednaldo Araujo da Silva, amigos lejanos y sin embargo, siempre brindando su ayuda incondicional

A los técnicos del departamento Tomás Hernández, Dayne Horta, Máximo Caruncho, Roxana Pérez, Herminio Acosta, Kirenía Aguilera, Hilda Bompío, Leonor Lugo, Magali Díaz, por la ayuda brindada en todos estos años

A los amigos y compañeros Pedro José González, Luis Roberto Fundora, Fernando Morell y Joan Arzola, por el trabajo conjunto

A José Roberto Martín, Alberto Hernández, Mario Varela, Adriano Cabrera, Nicolás Medina y a los otros profesores del claustro de la maestría, por los conocimientos brindados

A Blanca de la Noval, José A. Herrera, Francisco Soto, Ángel Leyva, María de los Ángeles Pino, Walfredo Torres, Kalyanne Fernández, María Mariana Pérez, Inés Reinaldo, María Caridad González, Luis Miguel Mazorra, Fernando Guridi, Martín Bertolí, José Víctor Martín, Alejandro Hernández, por todas las recomendaciones ofrecidas

A Segundo Urquiaga, Bruno José Rodríguez Alves, Robert Michael Boddey, Janaina Ribeiro Costa, Luc Rouws, Norma E. García Calderón, por los conocimientos y la cooperación ofrecida

A Rolando Muñoz y Edenio Gallardo, por abrirme las puertas de sus hogares y permitir que montara experimentos en sus áreas

A todos, muchas gracias

DEDICATORIA

*A mi familia*

## SÍNTESIS

Para integrar el uso de la inoculación de cepas eficientes de HMA, de *Canavalia ensiformis* como abono verde precedente y del fertilizante mineral nitrogenado dentro del manejo de las asociaciones micorrízicas en el cultivo del maíz sobre suelos Ferralíticos Rojos se desarrolló el presente trabajo. Se efectuaron seis experimentos en condiciones de macetas, microparcels y de campo. El suministro conjunto de N en forma de abonos verdes y fertilizante mineral resultó más efectivo en el crecimiento y absorción de N en las plantas de maíz que aplicar solamente fertilizante mineral. El uso combinado de la canavalia y la inoculación de cepas de HMA presentó incrementos de los rendimientos del maíz, con disminución entre 30 – 50 % de las dosis de fertilizantes necesarias para alcanzar un rendimiento máximo estable. Se encontró que la canavalia se integró satisfactoriamente dentro del esquema de manejo de la inoculación micorrízica en la sucesión con maíz, aportando no sólo los beneficios de los abonos verdes sino resultando una vía efectiva para alcanzar la micorrización eficiente del cultivo posterior. En suelos con un número inicial de esporas de HMA entre 30 y 40 esporas en 50 g de suelo, la canavalia presentó una respuesta positiva a la inoculación micorrízica y no tuvo respuesta en condiciones de número de esporas superior a 100 esporas en 50 g de suelo y resultantes de aplicaciones continuadas de biofertilizantes, aunque sí presentó un funcionamiento micorrízico efectivo. También se presentó respuesta de la canavalia a la inoculación en suelos con número de esporas nativas entre 800 – 1500 esporas/50 g de suelo pero sin haber recibido aplicaciones anteriores de biofertilizantes micorrízicos.

## ÍNDICE

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Abonos verdes	4
2.1.1 Definición e importancia	4
2.1.2 Desarrollo vegetativo y contenido de nutrientes. Influencias climáticas.	5
2.1.3 Influencia de los abonos verdes sobre algunas propiedades del suelo	6
2.1.4. Evaluación del aprovechamiento del nitrógeno de los abonos verdes	9
2.1.4.1. Utilización del isótopo $^{15}\text{N}$ en los estudios sobre los abonos verdes	10
2.1.4.1. Marcaje de plantas con $^{15}\text{N}$	11
2.1.5 Sustitución de otras fuentes nitrogenadas por los abonos verdes en los sistemas agrícolas	11
2.1.6 Intervalo de sincronía incorporación del abono verde – siembra del cultivo posterior.	12
2.1.7 Principales características de la especie <i>Canavalia ensiformis</i>	13
2.2 Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)	14
2.2.1 Características y beneficios	15
2.2.2 Papel de los HMA en la nutrición vegetal	16
2.2.3. Factores que influyen en la eficiencia de los HMA	17
2.2.4. Efecto de la micorrización sobre la optimización del suministro de nutrientes.	21
2.2.5. Inoculación micorrízica y rotación con abonos verdes	22
2.2.6. Sistemas agrícolas micorrizados eficientemente	23
2.3 Maíz	24
2.3.1 Generalidades sobre el cultivo del maíz	24
2.3.2 Descripción botánica	25

2.3.3 Condiciones edafoclimáticas	25
2.3.4 Necesidades nutricionales y fertilización	25
2.3.5. Rotación del maíz con abonos verdes e inoculación micorrízica.	27
3. MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1 Condiciones edafoclimáticas.	29
3.2 Descripción de los experimentos.	31
3.2.1 Experimento 1: Participación del nitrógeno de <i>Canavalia ensiformis</i> y del fertilizante mineral – N en la nutrición nitrogenada del maíz.	31
3.2.2 Experimento 2: Efectos del abono verde, la inoculación micorrízica y dosis de fertilizante – N sobre la nutrición nitrogenada del maíz.	33
3.2.3 Experimento 3: Manejo de <i>Canavalia ensiformis</i> , la inoculación micorrízica y la fertilización mineral nitrogenada en el maíz.	35
3.2.3.1 Evaluación del crecimiento de la canavalia y de las arvenses del barbecho	36
3.2.3.2 Respuesta del maíz a la fertilización – N en las secuencias estudiadas	37
3.2.4 Experimento 4: Selección de las cepas de HMA más efectivas para <i>Canavalia ensiformis</i> cultivada en suelo Ferralítico Rojo.	37
3.2.5 Experimento 5: Influencia de diferentes antecedentes de manejo de inoculantes micorrízicos sobre la respuesta a la inoculación con HMA en la secuencia canavalia – maíz.	38
3.2.5.1 Experimento ejecutado en el Departamento de Servicios Agrícolas, Finca Las Papas.	39
3.2.5.2 Experimentos ejecutados en fincas campesinas.	40
3.2.6 Experimento 6: Influencia de los contenidos de esporas nativas del suelo en la respuesta de <i>Canavalia ensiformis</i> a la inoculación micorrízica con cepas eficientes y su influencia sobre el maíz en sucesión.	42
3.3 Determinaciones realizadas	43
3.3.1 Análisis de tejidos vegetales (canavalia, maíz y vegetación del	43

barbecho)	
3.3.2 Muestreo de raíces	44
3.3.3 Determinación del rendimiento y sus componentes	45
3.3.4 Análisis de suelo	45
3.4 Procedimiento estadístico	46
3.7 Análisis económico.	47
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
4.1 Experimento 1: Participación del nitrógeno de <i>Canavalia ensiformis</i> y del fertilizante mineral – N en la nutrición nitrogenada del maíz.	49
4.2 Experimento # 2: Efectos del abono verde, la inoculación micorrízica y dosis de fertilizante – N sobre la nutrición nitrogenada del maíz.	55
4.3 Experimento 3: Manejo de <i>Canavalia ensiformis</i> , la inoculación micorrízica y la fertilización mineral nitrogenada en el maíz.	60
4.3.1 Evaluación del crecimiento de la canavalia y de las arvenses del barbecho	60
4.3.2 Respuesta del maíz a la fertilización – N en las secuencias estudiadas.	63
4.4. Experimento 4: Selección de las cepas de HMA más efectivas para <i>Canavalia ensiformis</i> cultivada en suelo Ferralítico Rojo.	71
4.5 Experimento 5: Manejo de la inoculación micorrízica en la sucesión <i>Canavalia ensiformis</i> – maíz en suelos Ferralíticos Rojos con diferentes antecedentes de inoculación.	76
4.5.1 Respuesta de la canavalia a la inoculación micorrízica en las diferentes fincas. Etapa 1.	76
4.5.2 Respuesta del maíz a la sucesión con canavalia e inoculación micorrízica. Etapa 2.	79
4.6 Experimento 6: Influencia de los contenidos de esporas del suelo en la respuesta de <i>Canavalia ensiformis</i> a la inoculación micorrízica y su influencia en el maíz en sucesión.	82
4.6.1 Respuesta de la canavalia a la inoculación micorrízica en presencia	82

de alto número de esporas nativas de HMA. Etapa 1.	
4.6.2 Respuesta del maíz a inoculación en la sucesión con canavalia.	87
Etapa 2.	
4.7 Análisis de la factibilidad económica del uso combinado de abonos verdes y HMA en el cultivo del maíz.	90
4.8 Consideraciones generales sobre el manejo integrado de la inoculación micorrízica, los abonos verdes y la fertilización nitrogenada en el cultivo del maíz.	93
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	100
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS	

## ABREVIATURAS EMPLEADAS EN EL DOCUMENTO

at % <sup>15</sup> N exc	Porcentaje de átomos de <sup>15</sup> N en exceso
BCC	Banco Central de Cuba
CCB	Capacidad de Cambio de Bases
CCS	Cooperativa de Créditos y Servicios (República de Cuba)
CIAT	Centro Internacional de Agricultura Tropical (República de Colombia)
CIC	Capacidad de Intercambio Catiónico
CIDICCO	Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (República de Honduras)
ddg	Días después de la germinación
ddi	Días después de la incorporación
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (República Federativa do Brasil)
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FBN	Fijación Biológica del Nitrógeno
FPP	Factor Parcial de Productividad
HMA	Hongos Micorrizógenos Arbusculares
INCA	Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (República de Cuba)
INPOFOS	Instituto de la Potasa y el Fósforo (República del Ecuador)
INSMET	Instituto de Meteorología (República de Cuba)
MFP	Ministerio de Finanzas y Precios (República de Cuba)
MINAG	Ministerio de Agricultura (República de Cuba)
msnm	Metros sobre el nivel del mar
MTSS	Ministerio del Trabajo y Seguridad Social (República de Cuba)
N – canavalia	Nitrógeno proveniente de la canavalia
N – fertilizante	Nitrógeno proveniente del fertilizante
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ión amonio
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Ión nitrato
NRAG	Normas Ramales de la Agricultura (República de Cuba)
OISAT	Online Information Service for Non – Chemical Pest Management in the Tropics (República Federal de Alemania)

## 1. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es considerado como el tercer cereal en importancia después del trigo y el arroz. Durante el 2006, la producción mundial alcanzó los 692 millones de toneladas (Umarán, 2006), que en los próximos años alcanzará niveles record debido a la demanda de la industria de los biocombustibles (FAO, 2007).

Para garantizar una alta producción se requiere del suministro adecuado de nutrientes. Según FAO (2002) el maíz requiere de dosis de fertilizantes entre 45 – 180 kg N.ha<sup>-1</sup>, en dependencia de la variedad, condiciones edafoclimáticas y modelos productivos empleados. En Cuba se recomienda aplicar dosis entre 100 – 150 kg N.ha<sup>-1</sup> para alcanzar rendimientos de cinco t.ha<sup>-1</sup> (MINAG, 1992).

Sin embargo, el uso indiscriminado de fertilizantes minerales nitrogenados puede ocasionar la contaminación del suelo, agua, atmósfera, los productos agrícolas y desequilibrio en los agroecosistemas (Beltrán y col., 2004). En la actualidad el precio de los fertilizantes minerales es muy elevado y su aplicación está restringida para los productores de bajos y medianos ingresos.

El N es el nutriente más limitante en los sistemas agrícolas, por las altas cantidades que los cultivos requieren y la relativamente baja disponibilidad existente en los suelos. Es por ello que el valor de los abonos verdes como vía para el suministro de este elemento ha sido reconocido durante siglos por los agricultores.

Este efecto consiste fundamentalmente en el aporte de N de las leguminosas, en simbiosis con bacterias del género *Rhizobium*, a través de la fijación biológica del nitrógeno (FBN) y posterior mineralización del N en el suelo, lo que reduce los requerimientos de fertilizantes nitrogenados de los cultivos (Oberson y col., 2007).

Entre las plantas más empleadas como abono verde se encuentra *Canavalia ensiformis* (L.) D.C., que se destaca por establecer simbiosis con *Rhizobium* y fijar cantidades de N atmosférico que oscilan entre 100 – 200 kg N.ha<sup>-1</sup>, lo que la ubica como una especie importante para el aporte de este nutriente al suelo (Álvarez, 2000).

Otro beneficio asociado a la utilización de los abonos verdes, según Barrios y col. (2006), es que incrementan la actividad y diversidad de los microorganismos del suelo, como los fijadores de N y los hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

Precisamente, las micorrizas arbusculares constituyen una asociación simbiótica que existe entre ciertos hongos del suelo y las raíces de las plantas superiores. En ella, ambos simbioses se benefician mutuamente. Las micorrizas reciben fuentes carbonadas provenientes de la planta, mientras que a través de las estructuras fúngicas, en las plantas se incrementa la capacidad de exploración del suelo, la absorción de nutrientes y el crecimiento y desarrollo (Siquiera y Franco, 1988).

La efectividad micorrízica es la capacidad de un simbiote de influir positivamente sobre el crecimiento de la planta, aumentar el número de propágulos en el suelo o mejorar la transferencia de nutrientes a la planta (Janos, 2007). Esta simbiosis es muy importante en suelos tropicales debido a la baja disponibilidad de nutrientes que presentan (Salas y Blanco, 1999).

Con la inoculación de cepas eficientes de HMA la fertilización se hace más eficiente, se reducen las dosis de fertilizantes a aplicar a las plantas micorrizadas y de esta forma se disminuyen los efectos de la contaminación de los suelos y las aguas (Ruiz, 2001).

Inherente al uso de los abonos verdes se encuentra la asociación de éstos con las poblaciones nativas de HMA y así provocar modificaciones cualitativas y cuantitativas en la población de estos hongos del suelo y en la colonización de los cultivos posteriores (Espíndola y col., 1998; Sánchez, 2001), aunque por lo general esta micorrización no llega a ser totalmente efectiva y los cultivos responden a la inoculación con cepas eficientes de HMA (Rivera y col., 2007).

Hasta el momento han sido poco los estudios, entre ellos los de Simó y col. (2008), relacionados con la respuesta de los abonos verdes a la inoculación con cepas eficientes de HMA y su efectividad para multiplicar los propágulos micorrízicos de estas cepas eficientes en el suelo y favorecer una micorrización efectiva del cultivo posterior.

Precisamente, uno de los retos dentro de la agricultura sostenible, es garantizar un suministro adecuado de nutrientes para asegurar altos rendimientos, por lo que el empleo de los abonos verdes, su inoculación con cepas eficientes y su integración con el manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, se destacan por sus posibilidades y beneficios.

Asimismo se hace necesario evaluar la integración entre el empleo de los abonos verdes, la inoculación de cepas eficientes de HMA y las aplicaciones complementarias de

fertilizante mineral, para establecer en los cultivos micorrizados eficientemente las menores necesidades de fertilizantes minerales (Rivera y Fernández, 2003).

A partir de lo anteriormente expuesto se desarrolló el trabajo experimental basado en la siguiente hipótesis:

El uso de los abonos verdes y la inoculación de cepas eficientes de HMA se integran satisfactoriamente dentro del manejo efectivo de la simbiosis micorrízica en los agroecosistemas, al contribuir con mayores cantidades de masa seca y nutrientes, disminuir las necesidades de fertilizante mineral nitrogenado y ser una vía efectiva para lograr la micorrización eficiente de los cultivos en sucesión.

A partir de ésta se estableció el siguiente objetivo general:

Integrar el uso de la inoculación de cepas eficientes de HMA, de *Canavalia ensiformis* como abono verde precedente y del fertilizante mineral nitrogenado dentro del manejo de las asociaciones micorrízicas en el cultivo del maíz sobre suelos Ferralíticos Rojos.

Objetivos específicos:

- Determinar la participación del N – *Canavalia ensiformis* y de la fertilización mineral nitrogenada en el maíz cultivado sobre suelo Ferralítico Rojo
- Optimizar el suministro de N para el maíz por el uso combinado de la inoculación con cepas eficientes de HMA, de la canavalia y de dosis complementarias de fertilización nitrogenada
- Evaluar la respuesta de la canavalia ante la inoculación micorrízica y su factibilidad para introducir cepas eficientes de HMA en el cultivo del maíz.
- Establecer criterios para el manejo efectivo de la inoculación micorrízica en la sucesión canavalia – maíz sobre suelos Ferralíticos Rojos.

**Novedad Científica:**

En este trabajo se integra el empleo de los abonos verdes dentro del manejo de la inoculación de cepas eficientes de HMA en la sucesión de cultivos, para disminuir los requerimientos de fertilizantes minerales en el maíz. Además, se estudió la respuesta de la canavalia a la inoculación micorrízica en función del número de propágulos de HMA presentes en el suelo; así como se alcanzó un efectivo funcionamiento de la simbiosis del cultivo en sucesión a través de la inoculación de la canavalia.

## **2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Abonos verdes**

#### **2.1.1. Definición e importancia**

Los abonos verdes constituyen una práctica agronómica que consiste en la incorporación de una masa vegetal no descompuesta de plantas cultivadas con la finalidad de mejorar la disponibilidad de nutrientes y las propiedades del suelo (da Costa, 1991). En la actualidad se ha ampliado la definición a las plantas que se siembran para la cobertura del suelo, protegerlo de la erosión, controlar las arvenses y uso como alimento animal y humano (Wortmann y col., 2000; Florentín y col., 2001; CIDICCO, 2004a).

Las leguminosas tienen gran valor como abonos verdes debido al aporte de N por el proceso de FBN en asociación con bacterias del género *Rhizobium*, aunque se pueden cultivar otras especies de crecimiento rápido y de buena producción de masa verde, como las gramíneas, y las combinaciones de algunas de ellas en forma de mezcla (Álvarez y col., 1995).

Según Florentín y col. (2001) y Muraoka y col. (2002), las funciones de los abonos verdes están asociadas a la protección del suelo contra la erosión y reducción de la temperatura y de la evaporación del agua. Mejoran las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo; incrementan su contenido en materia orgánica, así como el aporte, reciclaje y movilización de nutrientes; combaten los nematodos, las plagas, enfermedades y controlan las arvenses.

Entre los principales beneficios en el uso de los abonos verdes están la reducción del empleo de herbicidas y plaguicidas, aumento del rendimiento y calidad de los cultivos, conservación de la humedad y la materia orgánica del suelo, disminución de los costos de fertilización y elevación de los ingresos con la venta de semillas (Florentín y col., 2001; Guerra y col., 2007).

La selección de especies y la forma de uso de los abonos verdes debe cumplir algunos requisitos, entre los que se encuentran: adecuarse al sistema de producción utilizado por el agricultor, con bajo costo de implantación y conducción, ser resistentes a plagas y enfermedades, de rápido crecimiento, producir un efecto favorable al aumentar el rendimiento de los cultivos y tener una mayor rentabilidad en relación al sistema tradicional (Filho y col., 2004).

La principal limitante en la adopción del empleo de los abonos verdes es que, según algunos productores, para producir suficiente masa verde, deben recibir nutrientes y atenciones culturales, mientras que en esa etapa el área ocupada no produce alimentos (Bunch, 1994). Esta es una concepción errónea de su uso.

El análisis correcto debe ser que al mejorarse el suelo, se podrán obtener cosechas mayores, con ahorros de fertilizantes y se conserva el principal recurso natural con que se cuenta, el suelo.

Otra limitante de la utilización de los abonos verdes en gran escala son los problemas relacionados con el alto costo de las semillas y la dificultad de obtener una sincronía entre la liberación de los nutrientes contenidos en estas plantas y la demanda del cultivo principal (de Resende y col., 2001).

Entre las opciones prácticas de su uso es sembrarlos en sucesión o en bandas dentro de los campos cultivados, o en asociación, tanto con cultivos de ciclo corto o perennes. Si se insertan dentro de las especies presentes en los pastizales cumplirían doble función de mejoradores del suelo y como alimento animal (Florentín y col., 2001).

Para que los abonos verdes sean adoptados, es necesario que los productores perciban que pueden obtener más de un beneficio de su cultivo. De ahí que se fomente la innovación por parte de los agricultores, para que manipulen y adapten los sistemas de abonos verdes a sus condiciones (CIDICCO, 2003).

### **2.1.2. Desarrollo vegetativo y contenido de nutrientes. Influencias climáticas.**

La selección de una especie de planta para ser utilizada como abono verde depende en gran medida de su tasa de crecimiento (Álvarez, 2000). Los abonos verdes deben ser rústicos, de crecimiento rápido y alta producción de biomasa, esto último depende de las condiciones edafoclimáticas y fitosanitarias (Filho y col., 2004).

En Cuba se demostró que la época de siembra óptima coincide con la más lluviosa y de días largos (mayo – octubre), factores que favorecen un incremento vegetativo exuberante en cortos períodos de tiempo y en la cual se ha observado un abundante crecimiento de las plantas, con promedios que oscilaron entre 3 – 11 t.ha<sup>-1</sup> de masa seca y aportes entre 150 – 250 kg N.ha<sup>-1</sup>, en dependencia de las especies empleadas (García, 2001).

En el período poco lluvioso, con días cortos y temperaturas bajas, el crecimiento y desarrollo de las plantas es mucho más lento y la biomasa total obtenida es baja, con promedios entre 0.8 – 1.8 t.ha<sup>-1</sup> de masa seca y aportes de N entre 25 – 50 kg.N.ha<sup>-1</sup> (García, 1997; Espíndola y col., 1997).

Los abonos verdes en el verano crecen más rápido y acumulan más N, debido a la intensidad de la luz solar (Cherr y col., 2006). Al aumentar las precipitaciones, se intensifica el crecimiento de las plantas empleadas como abono verde (Filho y col., 2004) y a mayor producción de fitomasa, se incrementa el contenido de nutrientes (Perín y col., 2004).

Las especies promisorias utilizadas como abono verde deben aportar cantidades de fitomasa seca y N iguales o superiores a 5 t.ha<sup>-1</sup> y 100 kg.N.ha<sup>-1</sup> respectivamente, para que tengan un impacto positivo sobre los cultivos y algunas propiedades del suelo (García, 1997).

### **2.1.3. Influencia de los abonos verdes sobre algunas propiedades del suelo.**

La aplicación de abonos verdes al suelo mejora sus propiedades, aunque en zonas tropicales no siempre este efecto es cuantificable a corto plazo, debido a que la descomposición de las plantas ocurre rápidamente bajo condiciones de altas temperaturas y humedad (Sangakkara y col., 2004).

Efectos sobre las propiedades físicas. Los abonos verdes elevan los tenores de materia orgánica del suelo y mejoran sus propiedades físicas, principalmente la estabilidad de los agregados, la densidad, porosidad, tasas de infiltración de agua y retención de humedad. Los constituyentes orgánicos pueden actuar como agentes cementantes en conjunto con los minerales arcillosos y contribuyen a la formación de agregados estables, lo que evita la formación de costras y el escurrimiento superficial (Mandal y col., 2003; Kumar y col., 2003; Creamer y Baldwin, 2004; Espíndola y col., 2004).

El efecto de los abonos verdes sobre el nivel de materia orgánica del suelo depende de las características del material añadido, del suelo, clima, la actividad microbiana y las prácticas agrícolas. Los materiales con alto tenor de N no mantienen elevados niveles de este componente del suelo debido a que su descomposición ocurre muy rápidamente (MacRae y Mehuys, 1985).

Coincidente con esto, Álvarez (2000) demostró la positiva influencia que tienen algunas especies de abonos verdes sobre los índices de materia orgánica, humedad natural y estabilidad de los agregados del suelo. El comportamiento más efectivo estuvo en correspondencia con su relación C:N, mientras más alto fue su valor, menor fue la velocidad de descomposición de los restos orgánicos y por ende, se detectó una mayor mejora en las propiedades físicas analizadas.

Efectos sobre las propiedades químicas. Entre los efectos de los abonos verdes sobre las propiedades químicas del suelo están el aumento de la disponibilidad de nutrientes y de la saturación por bases. Además, favorecen la producción de ácidos orgánicos que intervienen en la solubilización de minerales, disminuyen los tenores de Al cambiante e incrementan la capacidad de reciclaje y movilización de nutrientes lavados o poco solubles que están en las capas más profundas del perfil (de Alcántara y col., 2000; Vallejos y col., 2001; Kumar y col., 2003; Salamanca y col., 2004).

La influencia de los abonos verdes en el contenido de N de los suelos es atribuida a la incorporación del N derivado de la FBN, si se utilizan plantas de la familia de las leguminosas, que aumentan su disponibilidad para los cultivos en sucesión y tornan positivo el balance del nutriente en el sistema suelo – planta (Pozzi, 2005).

Con la rápida mineralización de las leguminosas en el suelo, se liberan significativas cantidades de N y otros elementos que favorecen el crecimiento de las plantas y la fracción no aprovechada queda como efecto residual para los cultivos siguientes (Urquiaga y Zapata, 2000).

Además, los abonos verdes reducen la adsorción de P en el suelo, efecto asociado al incremento del tenor de materia orgánica, lo que conlleva a la formación de complejos que bloquean los sitios de adsorción en la superficie de óxidos e hidróxidos de Fe y Al (Espíndola y col., 2004).

Por otra parte, se ha comprobado que el sistema radical de algunas leguminosas posee facilidad para extraer del suelo elementos poco solubles. Entre las plantas más eficientes en este aspecto se encuentran *Lupinus albus*, *Cajanus cajan* y *Arachis hypogaea* (Shibata y Yano, 2003).

Algunas de estas especies, bajo condiciones de déficit de P, en suelos de pH neutro o ligeramente alcalino, pueden autoabastecerse del elemento y dejar disponible una

fracción para otros cultivos, debido a sus exudados radicales que provocan descensos de pH en la rizosfera y movilizan al P presente en esta zona del suelo (Rodas y col., 2001).

Un efecto benéfico de los abonos verdes es el reciclaje de nutrientes, si se utilizan plantas que expanden su sistema radical a horizontes profundos del suelo y absorben nutrientes de estas capas. Después del corte y mineralización de las plantas, ocurre la liberación gradual de los nutrientes disponibles para los cultivos en el horizonte superficial (Espíndola y col., 2004).

En correspondencia con esto, García y col. (2000a) demostraron en Cuba, que con el empleo de los abonos verdes aumentó el contenido foliar de los nutrientes esenciales en los cultivos, lo cual es un efecto directo del aporte, reciclaje y movilización de nutrientes en formas asimilables para las plantas.

Efectos sobre las propiedades biológicas. Los abonos verdes incrementan la actividad microbiana en general y la diversidad de los microorganismos benéficos como los fijadores de nitrógeno y los HMA y pueden minimizar la actividad de los patógenos (Barrios y col., 2006).

Esto se debe a que aportan un material orgánico que favorece la actividad de los microorganismos, al constituir una fuente de energía para su desarrollo (Salamanca y col., 2004), lo que favorece el equilibrio natural entre las especies benéficas y las plagas y enfermedades.

Además, se muestran eficientes en el control de nematodos, pues la descomposición de algunas especies vegetales libera sustancias tóxicas para estos animales (Espíndola y col., 1997; CIDICCO, 2001; Nunez, 2003; Espíndola y col., 2004).

Uno de los microorganismos del suelo más favorecidos por los abonos verdes son las bacterias que realizan la FBN. La capacidad de las leguminosas para reducir el N<sub>2</sub> atmosférico a través de la simbiosis leguminosas – *Rhizobium* es de gran importancia en el reciclaje de este nutriente (Jiménez y Peña, 2000).

*Rhizobium* es un habitante natural del suelo, aunque su población depende de diversos factores como el pH, temperatura, humedad y las fuentes de energía. La rizosfera de las leguminosas estimula la proliferación de géneros de *Rhizobium*, debido a que éstos encuentran allí el ambiente más favorable que en el resto del suelo (Espíndola y col., 1997; Biederbeck y col., 2005).

Para la selección de plantas a emplear como abono verde es necesario que se elijan especies con elevadas contribuciones de N vía FBN, que garantizan el suplemento del nutriente y su balance positivo en el suelo (Macedo y col., 2003).

La proporción de N – FBN varía de acuerdo a la disponibilidad del N – suelo y la eficiencia de fijación de las estirpes de *Rhizobium* (Perín y col., 2004). Para que la FBN sea alta y eficiente, las leguminosas y las bacterias deben estar bien adaptadas a las condiciones edafoclimáticas de la región donde se empleen (CIDICCO, 2004b).

#### **2.1.4. Evaluación del aprovechamiento del nitrógeno de los abonos verdes.**

El uso eficiente de nutrientes ha ganado más atención con el incremento de los costos de fertilización y la continua preocupación por el impacto ambiental (Stewart, 2007). Para cuantificar el aprovechamiento de los nutrientes se han desarrollado diversas metodologías. Entre estas, el método de las diferencias se basa en la suposición que la cantidad de nutrientes del suelo que toma el cultivo es independiente de la cantidad del nutriente aplicado.

El método se ejecuta a través de la evaluación de la absorción del N en dos parcelas, una sin fertilizante nitrogenado (o fuente orgánica nitrogenada), donde se estima la cantidad de N que aporta el suelo. En la parcela con fertilizante se evalúa la cantidad de N que el cultivo absorbe, del suelo y del fertilizante y por diferencia se estima la cantidad del nutriente de la fuente aplicada absorbida por el cultivo (Rivera, 1999).

Es un método muy representativo, de fácil aplicación en condiciones de parcelas experimentales o áreas de producción y en el cual se logra calcular con rapidez los efectos de la aplicación de nutrientes. Sin embargo, tiene como desventaja que en experimentos con respuesta a la fertilización, las plantas de las parcelas fertilizadas toman más N del suelo que las no fertilizadas (efecto *primming*), lo cual se atribuye a un efecto del fertilizante sobre la disponibilidad de nutrientes del suelo (Broeshart, 1974).

Kuzyakov y col. (2000) plantearon además que las plantas fertilizadas crecen más vigorosas, desarrollan mejor sus raíces y exploran así un mayor volumen de suelo. Los abonos verdes parecen provocar el efecto *primming*, al liberar N del suelo como consecuencia de su incorporación (Muraoka y col., 2002).

La eficiencia del N incorporado con los abonos verdes depende, además del volumen y calidad del material incorporado, de efectos alelopáticos, control de arvenses y patógenos, conocidos en su conjunto como efecto de rotación (Álvarez y col., 1999).

En general se ha demostrado que en términos de suministro de nutrientes, la crotalaria y la mucuna aportaron al cultivo del arroz entre 25 – 38 % del N total absorbido (Muraoka y col., 2006). Por su parte, Hasegawa y Denison (2005), encontraron que del 5 – 17 % del N es recuperado por el cultivo del trigo en sucesión, del 7 – 12 % del N se pierde por lavado o volatilización y del 50 – 78 % es retenido en el suelo.

Diversos autores han estudiado el efecto de los abonos verdes en la nutrición del maíz y han encontrado coeficientes de aprovechamiento que varían entre 30 % y 72 %, (Crozier y col., 1998; Álvarez, 2000; Urquiaga y Zapata, 2000; Couillet y col., 2001). Las causas de la baja eficiencia pudieran ser por lixiviación, desnitrificación, volatilización e inmovilización del N por los microorganismos del suelo.

#### **2.1.4.1. Utilización del isótopo $^{15}\text{N}$ en los estudios sobre los abonos verdes.**

El  $^{15}\text{N}$  se utiliza en la investigación agrícola para la cuantificación de la FBN, eficiencia y aprovechamiento de las fuentes nitrogenadas y el estudio de la dinámica del N en el suelo, agua y plantas (Zapata y Hera, 1995; Rivera, 1999; Urquiaga y Zapata, 2000).

En los estudios sobre la dinámica del N, es difícil distinguir el origen de este elemento. El uso del  $^{15}\text{N}$  puede estimar con precisión las rutas que el N sigue en el sistema (Muraoka y col., 2002; Ambrosano y col., 2005). Es un método muy exacto, sin embargo, su empleo es costoso y requiere de equipamiento y condiciones especiales de aplicación, por lo que casi siempre se emplea en ambientes controlados, no representativos de las condiciones de producción.

El método de dilución isotópica se basa en las diferencias en composición isotópica de las diferentes fuentes de N disponible para el crecimiento de las plantas (Pino y col. 1995). Así es posible estudiar y cuantificar la absorción que realiza la planta con independencia de la fuente de nutrientes que se emplee (Broeshart, 1974).

Para la determinación de la eficiencia de la fertilización nitrogenada se utilizan dos parámetros muy relacionados: el porcentaje de N derivado del fertilizante (%Nddf), que es una cuantificación isotópica, independiente del rendimiento y sensible para detectar diferencias entre los tratamientos de fertilización. El segundo es la eficiencia de

recuperación del N – fertilizante (ERNF), que es dependiente del rendimiento y se basa en el balance de masas, obtenido por cálculo en cadena y por consiguiente, sujeto a mayor error experimental (Urquiaga y Zapata, 2000).

La aplicación del método de las diferencias presenta resultados más similares a los obtenidos con el método isotópico en la medida que el suelo tenga menores contenidos de materia orgánica y N total (Álvarez, 2000).

#### **2.1.4.2. Marcaje de plantas con $^{15}\text{N}$ .**

Los isótopos son una herramienta para la medición cuantitativa y precisa de las cantidades de nutrientes que los cultivos utilizan de los abonos verdes. Estos se pueden marcar isotópicamente con  $^{15}\text{N}$  para los estudios (Rivera, 1994; Muraoka y col., 2006).

Mediante la obtención de plantas enriquecidas con  $^{15}\text{N}$  es posible cuantificar la cantidad del N proveniente de las leguminosas que se mineraliza, inmoviliza, es absorbida por los cultivos o sale del sistema producto de pérdidas por volatilización o lavado (Ambrosano y col., 1997).

Rivera (1994), para enriquecer con  $^{15}\text{N}$  a los abonos verdes, hizo crecer las plantas en macetas con una mezcla de vermiculita y arena de río. El  $^{15}\text{N}$  se aplicó cada tres días, para que las plantas absorbieran la mayor cantidad posible del elemento marcado y que la FBN se redujera al mínimo (Urquiaga y col., 1992, Barrientos, 1995).

Álvarez (2000) y Delphin (2000) marcaron plantas de abono verde mediante la fertilización, con dosis de fertilizante enriquecido con  $^{15}\text{N}$  en un área de  $1.80\text{ m}^2$  situada en los dos metros centrales del tercer surco de cada parcela experimental, lo cual coincide con Broeshart (1974), el cual planteó que el resto de la parcela se debe fertilizar con la misma fuente nitrogenada pero sin marcar.

La obtención de plantas marcadas se debe realizar en el fotoperíodo más favorable para el desarrollo vegetativo de las plantas porque de lo contrario, estas florecerían rápidamente y el crecimiento y contenido de nutrientes disminuirían (Rivera, 1994).

#### **2.1.5. Sustitución de otras fuentes nitrogenadas por los abonos verdes en los sistemas agrícolas.**

La sustitución de fertilizantes minerales por orgánicos se ha visto limitada por la necesidad de producirlos en el mismo lugar donde van a ser utilizados (Treto y col., 2001).

Samasundaran y col. (1996) y Mandal y col. (2003) en la India indicaron que con la incorporación de *Sesbania rostrata* se puede suplir el 50 % del fertilizante nitrogenado en el arroz. Los rendimientos de este cultivo, después de la incorporación de 20 t.ha<sup>-1</sup> de *Vigna unguiculata* como abono verde, fueron superiores al testigo sin N. El tratamiento combinado de vigna más 60 kg N.ha<sup>-1</sup> de fertilizante mineral rindió el doble de arroz que el testigo y un 24 % superior al tratamiento con la dosis óptima de fertilización de 120 kg N.ha<sup>-1</sup> (Milkha y col., 2004).

Al estudiar el coeficiente de aprovechamiento del N de los abonos verdes, determinado por el método isotópico, Muraoka y col. (2002) encontraron un 42 % del N – mucuna por el arroz y un 20 % del N – crotalaria por el maíz. Al combinar fertilizantes nitrogenados y abonos verdes, el efecto fue aditivo, con un incremento de los rendimientos, que superó al tratamiento de mayor dosis de fertilizante mineral.

El uso combinado de abonos verdes y fertilizantes minerales promovieron el aumento de los tenores de nutrientes, con disminución de la acidez potencial del suelo y aumento de los contenidos de Ca y Mg en la parte aérea de las plantas (Ambrosano y col., 2005).

De acuerdo a Mandimba (1995), la contribución de los abonos verdes al rendimiento del maíz fue equivalente a la aplicación de 97, 91, 89 y 78 kg N.ha<sup>-1</sup> para *Mucuna pruriens*, *Crotalaria juncea*, *Cajanus cajan* y *Arachys hipogaea* respectivamente. El maíz tuvo una mayor respuesta en el aumento de rendimientos y contenido foliar de N y P en sucesión con leguminosas empleadas como abono verde, en comparación a la sucesión con gramíneas (Astier y col., 2006).

En el cultivo de la papa en Cuba, la canavalia sustituyó hasta el 50 % de sus necesidades de fertilizante N. Los más altos rendimientos se obtuvieron al combinar la canavalia y 40 kg N.ha<sup>-1</sup>, al sustituir hasta el 75 % de la dosis recomendada de fertilizante mineral (Treto y col., 2001).

#### **2.1.6. Intervalo de sincronía incorporación del abono verde – siembra del cultivo posterior.**

Para maximizar el aprovechamiento del N de las leguminosas, se debe efectuar la siembra del cultivo inmediatamente después de la incorporación del abono verde o buscar estrategias para que la tasa de mineralización del N de los abonos verdes ocurra en el período de mayor demanda de N por el cultivo (Espíndola y col., 2004; Pozzi, 2005).

Sangakkara y Nissanka (2003) demostraron la importancia del intervalo de sincronía entre la incorporación y la siembra del cultivo posterior, al obtener los mayores coeficientes de aprovechamiento del N mientras más rápida fue la siembra.

Para optimizar el uso del N incorporado con las leguminosas, es necesario llegar a estimar con precisión la velocidad de mineralización del material vegetal después de ser incorporado al suelo (Haggar y col., 1993), que es un proceso biológico influido por numerosos factores como: cantidad y calidad del material incorporado, temperatura, humedad, precipitaciones, pH y la fauna activa del suelo, entre otros (Ajwa y Tabatabai, 1994).

En Cuba, Álvarez (2000) encontró una eficiencia del N de los abonos verdes por el cultivo del maíz, que osciló entre 25 % y 80 %, en dependencia de la especie de abono verde empleada, debido fundamentalmente a la relación C:N del material incorporado y las altas temperaturas y precipitaciones, que favorecieron la mineralización del N incorporado.

#### **2.1.8. Principales características de la especie *Canavalia ensiformis*.**

##### Taxonomía de la planta:

Reino *Plantae*, División *Magnoliophyta*, Clase *Magnoliopsida*, Subclase *Rosidae*, Familia *Fabaceae*. Sub – familia: *Faboideae*, Tribu *Phaseolae*, Subtribu *Diocleinae*, Género *Canavalia*, Especie *Canavalia ensiformis* (L.) De Candolle. Nombre vulgar: Frijol espada, canavalia (Código Internacional de Nomenclatura Botánica, 2009).

Es una planta nativa de América y se le encuentra en zonas tropicales africanas y asiáticas. Es muy rústica, herbácea y de crecimiento determinado (Da Costa, 1991; Embrapa, Agrobiología, 2007).

Tiene un ciclo anual que puede llegar a los 9 meses. Alcanza una altura de 0.6 – 1 m, con raíces pivotantes, profundas, tallos poco ramificados, hojas trifoliadas, folíolos grandes, inflorescencia de color violáceo. Fruto ensiforme, indehiscente, de 12 – 20 semillas, oblongas, lisas y blancas (CIDICCO, 2004c).

Tiene una alta sensibilidad al fotoperíodo y su tasa inicial de crecimiento es rápida. La biomasa en floración pueda alcanzar de 13.6 – 60 t.ha<sup>-1</sup> de masa fresca y de 2.5 – 8.4 t.ha<sup>-1</sup> de masa seca. Como mínimo, es capaz de fijar 49 kg N.ha<sup>-1</sup> derivado de la FBN y acumular en sus tejidos vegetales 57 kg N.ha<sup>-1</sup> (Embrapa, Agrobiología, 2007).

Características agroecológicas: temperaturas de 15 – 30°C, precipitaciones de 640 – 4200 mm.año<sup>-1</sup>. Altura geográfica de 0 – 1800 msnm. Tiene excelente tolerancia a la sequía, moderada a la inundación y buena a la sombra (CIDICCO, 2004c).

Se caracteriza por ser poco exigente en condiciones de productividad del suelo para lograr un óptimo desarrollo vegetativo. Tolera un amplio rango de textura y fertilidad, crece bien en suelos bajos, tropicales, altamente lixiviados, pobres en nutrientes y pedregosos, así como en suelos ácidos y salinos con un rango de pH entre 4.3 a 7.5 (Bernal y Jiménez, 1990; Espíndola y col., 1997).

Su uso como cultivo de cobertura se emplea intercalado en frutales, cereales y caña de azúcar (CIDICCO, 2004c). Realiza una rápida cubierta inicial del suelo debido al gran tamaño de sus hojas y le hace competencia a las arvenses (CIAT, 2001).

El mayor beneficio de la canavalia se tiene al emplearse como abono verde, al hacer un aporte de masa seca de 5.41 t.ha<sup>-1</sup> y 145 kg N.ha<sup>-1</sup> y el maíz en sucesión eleva sus rendimientos hasta 7.68 Mg. ha<sup>-1</sup> (Bernal y Jiménez, 1990).

*Canavalia ensiformis* es una especie muy bien adaptada a las condiciones de Cuba debido a su vigoroso crecimiento, fijar grandes cantidades de N vía FBN y reciclar cantidades apreciables de P y K. (Treto y col., 2001). Tiene un rápido crecimiento y vigor en la época de primavera – verano. Inicia los períodos de floración y formación de vaina a los 100 y 120 días respectivamente. El ciclo completo de la planta es de 240 días (García y col., 1993).

*Canavalia ensiformis* es una especie que nodula con cepas nativas de *Rhizobium*, por lo que no es indispensable la inoculación (CIDICCO, 2004c; Embrapa, Agrobiología, 2007). Por otro lado, se ha demostrado que canavalia posee un alto potencial de colonización por HMA nativo del suelo y es capaz de propiciar la colonización del cultivo siguiente en la rotación (de Souza y col., 1999; Bonilla, 1999; Sánchez, 2001).

Según García y col. (2002a) *Canavalia ensiformis* se puede sembrar en las condiciones de Cuba durante todo el año, incluso durante el período invernal seco, aunque su etapa óptima de siembra es entre el 15 de mayo y el 15 de agosto.

## **2.2. Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA).**

Las micorrizas son asociaciones simbióticas mutualistas existentes entre ciertos hongos del suelo y las raíces de las plantas superiores. Los hongos se benefician con el

suministro de fuentes carbonadas provenientes de la planta y ésta se beneficia por la mayor exploración del suelo, lo que aumenta la capacidad de absorción de agua, nutrientes minerales y el crecimiento y desarrollo de las plantas (Sánchez, 2001).

### **2.2.1. Características y beneficios**

Entre las funciones y beneficios que las micorrizas le brindan a las plantas están el incremento de la capacidad de absorción de agua y nutrientes, por lo que ayudan al hospedante a resistir mejor las condiciones adversas de suelo y clima, favorecen el aumento de la biomasa y producción de los cultivos y contribuyen a la formación de agregados estables en el suelo (Sieverding, 1991; Espíndola y col., 1998; Montaña y col., 2001; Filho, 2004).

Se han definido tres tipos de asociaciones micorrízicas, al tomar en consideración sus características morfoanatómicas y ultraestructurales: Ectomicorrizas, Ectendomicorrizas y Endomicorrizas. Las endomicorrizas no son detectadas visiblemente, forman una red externa de hifas y penetran el interior de las células corticales sin llegar a colonizar el endodermo. Es el grupo más difundido en el planeta y se divide en varios subtipos, de los cuales el más representativo es el arbuscular, que es el más importante en los ecosistemas tropicales.

Dentro de los HMA, el género *Glomus* se incluye en la familia *Glomaceae* que pertenece al suborden *Glominae* y al orden *Glomales* perteneciente al *Phylum Glomeromycota* (Fernández, 2003a; Peña y col., 2006).

La extensa red de hifas extrarradicales juega un importante papel en la conservación del suelo, al mejorar la agregación del mismo. La producción de componentes orgánicos por las hifas de HMA y otros microorganismos en la micorrizosfera puede ayudar a unir los microagregados en macroagregados (Kabir y Koide, 2000).

La propagación de los HMA se da a través de esporas, micelio y fragmentos de raíces colonizadas, que de manera conjunta constituyen los propágulos y colonizan las raíces de las plantas hospedantes para desarrollarse y dar origen a nuevos propágulos (de Souza y col., 1999). La mayor cantidad de propágulos en el suelo se encuentra en los primeros 15 – 20 cm de profundidad, en relación directa con la aireación y contenido de materia orgánica (Peña y col., 2006).

La simbiosis micorrízica en cultivos de ciclo corto se desarrolla de manera secuencial, al pasar por diferentes fases de crecimiento, tanto microbianas: latencia, exponencial, estabilización o meseta y muerte o esporulación total, como vegetal, de acuerdo a las fases fenológicas de la planta hospedante. En el inicio de la fructificación de las plantas, siempre se encuentran mayores valores de porcentaje de colonización y micelio y menores de esporas que al finalizar la cosecha, lo que evidencia una relación estrecha con el suministro de carbono hacia las raíces (Fernández, 2003a).

### **2.2.2. Papel de los HMA en la nutrición vegetal.**

La inoculación de las plantas con especies efectivas de HMA provoca un marcado incremento en los procesos de absorción y traslocación de nutrientes, ya sea por interceptación, flujo de masa o difusión (Netto, 2008).

Este beneficio es complejo y puede ser resultado de varios mecanismos como: aumento de la superficie de exploración del suelo, elevación de la capacidad absorptiva de las raíces, toma de nutrientes no accesibles a las raíces no micorrizadas, beneficio de otros microorganismos en la rizosfera, amortización de los efectos adversos del pH del suelo, Al, Mn, metales pesados, salinidad, estrés hídrico y ataque de patógenos (Siqueira y Franco, 1988; Bonilla, 1999; Entry y col., 2002; Bucher, 2007).

El principal mecanismo de absorción de N es por flujo de masa, que es el transporte de la solución del suelo a lo largo del gradiente de potencial de agua, regulado por la transpiración (Matos y col., 1999).

El aumento en la absorción de N en forma de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ , se facilita por los HMA en simbiosis efectiva con el hospedante y provoca la toma de los nutrientes, necesarios por la estimulación del crecimiento vegetal. En condiciones de bajos niveles, los HMA propician la absorción de los nutrimentos menos disponibles (Azcón y col., 2003).

Los HMA juegan un papel vital en la toma del P presente en los suelos, principalmente en las zonas tropicales donde las cantidades asimilables de este elemento son bajas. El mecanismo para incrementar la absorción vía HMA se desarrolla a partir de la capacidad de explorar un mayor volumen de sustrato y aumentar la capacidad absorptiva de las raíces (interceptación) y por difusión, que es el transporte de nutrientes a los largo de un gradiente de concentración (Matos y col., 1999).

Además, las micorrizas pueden acelerar la absorción de P no disponible por las plantas por la interacción entre los exudados radicales de algunas especies de plantas que son capaces de solubilizar P (Shibata y Yano, 2003).

El K y Mg son encontrados en altas concentraciones, tanto en las plantas micorrizadas como en las que no lo están. Estos elementos se mueven en la solución del suelo con mayor facilidad que el P. En algunos casos la elevada absorción de estos nutrientes coincide con un efecto indirecto para eliminar deficiencias de P (Fernández, 2003a), aunque algunos trabajos experimentales sugirieron que la toma del K en suelos deficientes del elemento se realiza a través de las hifas de micorrizas (Ruiz, 2001).

### **2.2.3. Factores que influyen en la eficiencia de los HMA.**

Numerosos factores bióticos y abióticos influyen sobre el establecimiento y funcionamiento de la simbiosis micorrízica.

Luz: en las zonas con alta radiación solar, los niveles de colonización son generalmente elevados, sin embargo, si se ve atenuada, la respuesta de las plantas a esta simbiosis disminuye. La alta colonización depende, entre otros factores, del incremento de la tasa fotosintética, lo que implica una mayor producción e intercambio de metabolitos (Escobar y col., 1998).

Temperatura: los HMA se forman bajo rangos de temperatura que oscilan entre 18 y 40°C, con el óptimo para la mayoría de las especies, cercano a los 30°C. La influencia de la temperatura en las plantas micorrizadas con HMA es variable y está relacionada con la combinación exacta de especie de hongo – hospedante, así como la fase de desarrollo de las plantas (Entry y col., 2002).

pH: la respuesta de los HMA al pH ha sido estudiada debido a su efecto en la productividad de las plantas, el efecto directo en la fisiología del endófito y la planta hospedante y el efecto indirecto vía cambios en la CCB. Las diferentes especies de HMA toleran diversos rangos de pH (Alvarado y col., 2004).

En los estudios de selección de especies de HMA con alta eficiencia simbiótica, hay que tener en cuenta el efecto del pH, ya sea sobre la productividad de la asociación o sobre los mecanismos de reproducción fúngicos (Fernández, 2003a). Algunas especies de HMA no se adaptan a condiciones de pH diferentes al suelo nativo de donde fueron

aisladas, por eso se considera al pH esencial en el establecimiento de especies de HMA por tipo del suelo (Entry y col., 2002).

Estacionalidad: Peña y col. (2006) plantearon que en regiones geográficas donde sea posible contrastar al menos dos épocas climáticas como lluviosa y seca, la diversidad de especies nativas de HMA y su funcionalidad pueden variar. Factores externos como la estacionalidad y el manejo influyen en la propagación de los HMA y pueden afectar las simbiosis en condiciones de campo (Lugo y Cabello, 2002).

En varios trabajos realizados por diferentes autores se pudo comprobar la influencia del tipo de suelo sobre el funcionamiento micorrízico y la estacionalidad, pues en suelos con mal drenaje y alta retención de humedad, los mayores porcentajes de colonización se encuentran durante la estación seca (Adriano y col., 2006), mientras que en suelos con buen drenaje, los mayores porcentajes de colonización se encuentran en la estación lluviosa (Apple y col., 2005; de Oliveira y de Oliveira 2005; Becerra y col. 2007).

Cobertura del suelo: Como los HMA son simbioses obligatorios, su distribución en suelos cultivados está fuertemente influenciada por la vegetación (Espíndola y col., 1998).

En barbecho, la micorrización natural de las plantas está pobremente desarrollada y no se ha encontrado correlación entre la población de esporas y la duración del barbecho (Duponnois y col., 2001), pero el número de esporas de HMA se incrementó significativamente con el aumento del número de especies (diversidad) de arvenses presentes en el barbecho (Chen y col., 2004).

Mientras el suelo se mantenga al desnudo durante su preparación, la viabilidad de las hifas decrece bruscamente, por ausencia de plantas hospedantes o si, en el esquema de rotación de cultivos, se introducen plantas no micótrofas (Kabir y Koide, 2000).

Peña y col. (2006) al realizar el análisis de frecuencia de aparición de esporas nativas de HMA por tipo de cobertura, encontraron que los sistemas agroforestales, seguidos por el bosque natural, presentaron los mayores promedios de colonización radical, por encima del 30 %. Por el contrario, las coberturas de parcelas, monocultivo y potrero presentaron los valores de porcentaje de colonización radical más bajos.

En otros estudios, estos autores demostraron que la simbiosis micorrízica arbuscular nativa fue más efectiva en ecosistemas con coberturas altamente heterogéneas, de allí la

importancia que tiene promover sistemas de producción agrícola agrobiodiversos (Peña y col., 2007).

Dependencia micorrízica de las plantas (DM): está dada por el grado de relación existente entre la planta y el hongo para obtener la máxima productividad en un nivel de fertilidad de suelo dado y es una propiedad intrínseca de las plantas (Siqueira y Franco, 1988; Guzmán y Ferrera, 1990; Alí y col., 2001; Fernández, 2003a; Janos, 2007).

El cálculo de la DM no se puede extrapolar a condiciones naturales donde se desarrolla la micorrización nativa (Fernández, 2003a). Los requerimientos de nutrientes y una baja capacidad de absorción, si no hay micorrizas, se correlacionan con una alta DM, la que no es igual a la alta respuesta a la micorrización (Sieverding, 1991).

Las plantas pueden ser agrupadas según el grado de la DM en: plantas micorrízicas obligadas: presentan un crecimiento muy reducido en ausencia de la simbiosis con HMA, las tasas de colonización son superiores al 60 %. Plantas micorrízicas facultativas: tienen un sistema radical más profuso y desarrollado, aunque bajo condiciones edáficas adversas responden a la micorrización. Las tasas de colonización son inferiores al 50 %. Plantas no micorrízicas: no forman la asociación (Janos, 2007).

Efectividad micorrízica: es la capacidad de un endófito de influir positivamente sobre el crecimiento de la planta, aumentar el número de propágulos o mejorar la transferencia de nutrientes. Es resultado de la interacción fisiológica entre los simbiosiontes (Janos, 2007).

Está determinada por el tipo de hongo micorrizógeno, la planta hospedante, la interfase simbiótica y el tipo específico de suelo o sustrato (Fernández, 2003a), su grado de fertilidad y disponibilidad de agua (Bolleta y col., 2002). La principal forma de cuantificar la efectividad micorrízica es mediante la evaluación de la respuesta de la planta hospedante en su crecimiento (Janos, 2007).

Las cepas nativas en ocasiones no originan la mayor efectividad, lo cual puede estar relacionado con una baja concentración de propágulos nativos, o que presentan una mayor adaptabilidad y posible funcionalidad microbiana, pero esto no siempre significa una mayor eficiencia micorrízica (Fernández, 2003a; Rivera y Fernández, 2003).

Especificidad suelo – cepa: la respuesta positiva a la inoculación con HMA depende de tres factores: la especie inoculada, cantidad de propágulos micorrízicos presentes y el

tipo de suelo y su fertilidad. Este último define cuáles son las especies eficientes para una condición edafoclimática, aunque la efectividad alcanzada por la inoculación depende del manejo dado a la planta y al suelo (Rivera y Fernández, 2003).

Uno de los resultados más importantes encontrados por Sánchez (2001) y Ruiz (2001) fue que, con independencia de los cultivos estudiados, existió para cada suelo una cepa de HMA altamente eficiente, con cuya inoculación se obtuvieron las mayores respuestas. Es decir se encontró una alta especificidad suelo – cepa eficiente y este efecto fue completamente reproducible en los diferentes años en que se repitieron los experimentos.

Lo anterior indudablemente es un elemento positivo y de alta repercusión para el manejo de las asociaciones micorrízicas en los cultivos, ya que facilita la selección de las cepas eficientes para una determinada condición.

También de Souza y col. (1999) y Cruz y col. (2002) coincidieron al plantear que la mayoría de los HMA no presentan una alta especificidad con el hospedante, lo cual es una de las bases del manejo de la inoculación en secuencias de cultivos. Normalmente ocurre una selectividad entre las especies de una población de HMA y la planta, por influencia de las condiciones edáficas.

Las especies del género *Glomus* tienen un amplio rango de distribución funcional con predominio en ecosistemas de alta y media fertilidad, donde resultan extremadamente eficientes y competitivas. Los resultados obtenidos en Cuba permitieron extender dicho rango a las condiciones de baja fertilidad y establecer que la especie *Glomus hoi* – like es la de mejores resultados en suelos Ferralíticos Rojos, al estudiarse la efectividad de esta cepa en la inoculación de diferentes cultivos (Rivera y Fernández, 2003; González y Rodríguez, 2004; González y col., 2008a y 2008b).

Disponibilidad de nutrientes: depende del tipo de suelo y de los suministros de nutrientes necesarios para complementar los requerimientos de los cultivos. Con muy alta disponibilidad de nutrientes se obtienen los menores efectos de la inoculación con cepas eficientes y se alcanza la mayor efectividad con disponibilidad media. Si esta es baja o nula, tampoco funciona adecuadamente la simbiosis y se obtienen plantas con menor crecimiento y baja efectividad de la inoculación (Sieverding, 1991; Ruiz, 2001; Rivera y Fernández, 2003; Mohammad y col., 2004; Gamper y col., 2005).

Se estima que la asociación entre el hospedante y los HMA consume entre 5 – 10 % de los productos de la fotosíntesis, costo que será compensado si la planta se encuentra en condiciones subóptimas de suministro de nutrientes (Siqueira y Franco, 1988).

Para que la simbiosis sea eficiente, la disponibilidad de nutrientes en el sistema debe ser inferior a la comúnmente utilizada para las plantas no micorrizadas. La obtención de plantas con óptimo crecimiento en presencia de cantidades menores de nutrientes se debe al incremento en eficiencia del proceso de absorción de estos por las plantas micorrizadas y por tanto al aumento del coeficiente de aprovechamiento de los nutrientes (Rivera y Fernández, 2003).

La alta disponibilidad de nutrientes hace decrecer la presencia de estructuras micorrízicas en el interior de las raíces, lo que indica que la disminución en la efectividad micorrízica es consecuencia de un mal funcionamiento o de la inhibición de la simbiosis. En suelos de baja fertilidad se hace necesaria una mayor cantidad de estructuras fúngicas para garantizar el funcionamiento adecuado de la simbiosis (Azcón y col., 2003).

#### **2.2.4. Efecto de la micorrización sobre la optimización del suministro de nutrientes.**

La aplicación conjunta de la inoculación y dosis bajas de fertilizantes minerales aumentan la efectividad de la simbiosis, lo cual se expresa en el incremento de la colonización micorrízica y el rendimiento y se obtiene una dosis óptima de fertilizantes menor que la recomendada para obtener volúmenes de producción similares, en ausencia de inoculación (Montaño y col., 2001; Rivera y Fernández, 2003).

La aplicación de dosis superiores a las óptimas para las plantas micorrizadas reduce la simbiosis micorrízica hasta casi inhibirla, sin embargo los rendimientos no disminuyen, lo que indica que las plantas garantizan sus requerimientos nutricionales pero no a través de la micorrización. Las dosis óptimas de fertilizantes para las plantas micorrizadas dependen de los cultivos en cuestión y de la fertilidad del suelo (Siqueira y Franco, 1988; Bittman y col., 2006).

La disminución de las dosis de nutrientes con el empleo de HMA oscila entre 25 – 50 % de la dosis de fertilizante mineral recomendada para cada cultivo (Ruiz, 2001; Xoconostle y Ruiz, 2002), lo que se logra a expensas de incrementos en la absorción de los nutrientes provenientes del suelo y de los fertilizantes y conduce a incrementos en

los coeficientes de aprovechamiento de estos, así como a una disminución de los índices críticos de los elementos en el suelo (Rivera y Fernández, 2003).

#### **2.2.5. Inoculación micorrízica y rotación con abonos verdes.**

A través de la rotación de cultivos, plantas eficientes en la multiplicación de los HMA aumentan la cantidad de inóculo en el suelo, lo que favorece la colonización de los cultivos siguientes y mejora su nutrición y producción (Espíndola y col., 1998; Karasawa y col., 2002; Rivera y Fernández, 2003).

La inoculación con cepas eficientes de HMA eleva el número de esporas en cualquier tipo de secuencia aunque depende del número de inoculaciones, del cultivo en cuestión y hasta del cultivo precedente (Rivera y Fernández, 2003).

El crecimiento de los abonos verdes micótrofos origina, en ausencia de la inoculación micorrízica, una elevación del porcentaje de colonización nativa en el cultivo sucesor (Espíndola y col., 1998).

Este efecto está directamente relacionado con la elevación del número de propágulos nativos que se produce con el crecimiento de este tipo de plantas (Kabir y Koide, 2000), aunque en ocasiones este desarrollo no logra una reproducción adecuada de los HMA del suelo o una respuesta positiva de las plantas, porque los propágulos se encuentran en muy bajas cantidades o las especies presentes no son efectivas (Rivera y Fernández, 2003).

Si los abonos verdes son inoculados con una cepa efectiva de HMA, incrementan el contenido de inóculos micorrízicos en el suelo y el crecimiento de los cultivos posteriores (Bajwa y col., 2002).

El uso de los abonos verdes no se debe circunscribir a la aplicación conjunta con cepas de HMA al sembrarlos, sino que su mayor importancia debe estar dada por la inoculación inicial de las especies de abonos verdes con cepas eficientes de HMA. De esta manera se lograría la reproducción de la micorriza en el suelo, el crecimiento más vigoroso del abono verde y la conformación de un sustrato con muy alta concentración de propágulos eficientes que facilite una efectiva y más económica micorrización de las plantas (Trannin y col., 2000; Rivera y Fernández, 2003).

En ciertos tipos de suelo y sistemas agroproductivos el empleo de los abonos verdes no garantiza totalmente los requerimientos nutricionales para una micorrización efectiva, en

estos casos es necesario suplementar con algunas cantidades de abono orgánico o mineral, las cuales son muy inferiores a las que se aplican en sistemas productivos intensivos o en presencia de cultivos no micorrizados (Rivera y Fernández, 2003).

Otro efecto de los HMA sobre las leguminosas está en la simbiosis tripartita con bacterias del género *Rhizobium*. La simbiosis con las bacterias provee de N fijado biológicamente, mientras que los HMA aumentan la absorción de P, que favorece la FBN. Las leguminosas proveen a las bacterias y a los HMA de fotosintatos (Filho, 2004; Gamper y col., 2005).

*Canavalia ensiformis* es una planta de alto potencial de colonización por HMA, y es capaz de propiciar la colonización del cultivo siguiente en la sucesión (de Souza y col., 1999; Bonilla, 1999).

En resultados obtenidos en Cuba se ha encontrado que la canavalia multiplica en grandes cantidades los propágulos micorrízicos nativos en el suelo (Sánchez, 2001) por lo que se hace interesante el estudio de la introducción y multiplicación de cepas eficientes a través de la inoculación de esta planta.

#### **2.2.6. Sistemas agrícolas micorrizados eficientemente.**

Los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente son aquellos donde, a través de la inoculación de cepas eficientes de HMA, las plantas logran un mejor funcionamiento de la simbiosis micorrízica, reflejado en un mayor crecimiento, absorción de nutrientes y rendimientos, en comparación a aquellas plantas que no fueron inoculadas (Rivera y col., 2006).

Por lo tanto el uso de estos microorganismos edáficos en la agricultura constituye una alternativa frente a los fertilizantes minerales. Desde el punto de vista ecológico, su utilización permite reducir el uso de energía, la degradación del agroecosistema y las pérdidas de nutrientes de los suelos agrícolas. En adición, se mantiene la capacidad productiva del sistema, se preserva la biodiversidad y se contribuye con una producción más estable y sostenida a largo plazo en equilibrio con el entorno (Vacacela, 2001)

Estos sistemas son válidos para condiciones de bajos insumos y para una agricultura tecnificada que permita obtener altos rendimientos y se potencie la vida del suelo. Al mismo tiempo se disminuyen las contaminaciones por aplicaciones excesivas de fertilizantes y los efectos negativos de la sequía (Rivera y Fernández, 2003).

El manejo efectivo de los hongos nativos necesita predecir el potencial inoculante de las poblaciones, el conocimiento de las especies de HMA que van a ser manejadas y la influencia de las prácticas agronómicas sobre estas (Blanco y Salas, 1997).

Aquellos suelos dominados por hongos nativos con elevada efectividad no son indicados para la inoculación. En este caso los HMA precisan ser manejados para mantener su población en niveles altos, lo que permitirá ser utilizados en programas de inoculación (Siqueira y Franco, 1988).

Franke – Snyder y col. (2001) plantearon que el mayor número de especies e inóculos de HMA se encuentra en los sistemas de bajos insumos. Muchas prácticas agrícolas empleadas en los sistemas de altos insumos tienen relativamente poca población de HMA nativos, mientras que los sistemas orgánicos aumentan su población pues evitan el uso de agroquímicos y favorecen la biodiversidad (Goslin y col., 2006).

La utilización de las micorrizas como biofertilizantes no implica que se pueda dejar de fertilizar, sino que la fertilización se hace más eficiente y puede disminuirse la dosis a aplicar en rangos de 50 – 80 % (Vacacela, 2001).

En estos momentos, se hace necesaria la compatibilidad entre la simbiosis micorrízica y el manejo adecuado de la fertilización y la necesidad de redefinir para los cultivos micorrizados con cepas eficientes, los requerimientos de fertilizantes e índices críticos de los nutrientes en el suelo, esto se debe introducir de forma consciente como base para la explotación agrícola.

## **2.3. Maíz.**

### **2.3.1. Generalidades sobre el cultivo del maíz.**

El maíz (*Zea mays* L.) ocupa en la agricultura de América Latina una posición destacada, al destinarse para el consumo humano y animal. En los últimos años se ha potenciado su uso como biocombustible, lo cual ha traído como consecuencia un encarecimiento del producto a nivel mundial. Hoy día es uno de los cereales más cultivados en todo el mundo (infoAgro.com, 2004).

### **2.3.2. Descripción botánica.**

#### Taxonomía de la planta:

Reino *Plantae*, División *Magnoliophyta*, Clase *Liliopsida*, Subclase *Commelinidae*, Familia *Poaceae*. Sub – familia: *Panicoideae*, Tribu *Andropogoneae*, Género *Zea*, Especie *Zea mays* (L.). Nombre vulgar: Maíz (Código Internacional de Nomenclatura Botánica, 2009).

Es una gramínea anual con raíces fasciculadas. Presenta un solo tallo, erguido y macizo, con entrenudos. Tiene hojas alternas en ambos lados del tallo que termina en una inflorescencia masculina en forma de panícula. La inflorescencia femenina surge de las axilas de las hojas inferiores. El polen de la panícula masculina, arrastrado por el viento, cae sobre los estilos, donde germina y avanza hasta fecundar al ovario; que crece hasta transformarse en un grano de maíz. (Skerman y Riveros, 1992; infoAgro.com, 2004).

### **2.3.3. Condiciones edafoclimáticas.**

De los factores ambientales, la temperatura es uno de los que más influye en la velocidad o ritmo de crecimiento de la planta. El maíz crece a una temperatura de 25 – 30°C. Requiere bastante incidencia de luz solar (infoAgro.com, 2004) y necesita precipitaciones de 800 – 3000 mm durante el período del cultivo. Es preferible que ocurran lluvias cortas seguidas por sol, que lluvias muy prolongadas (Skerman y Riveros, 1992; CIAT, 1994).

El maíz es un cultivo que se adapta ampliamente a diversas condiciones edáficas, es por ello que se cultiva en casi todo el mundo (Gruneberg, 1972; Pasdón, 1982), aunque suelos con pH entre seis y siete son a los que mejor se adapta.

El maíz cultivado continuamente en la misma área ocasiona con el transcurso de los años, una considerable pérdida de la fertilidad de los suelos y la depresión de los rendimientos, es por ello que debe emplearse un suministro de nutrientes.

### **2.3.4. Necesidades nutricionales y fertilización**

El N es indispensable para el crecimiento y fructificación de este cultivo. Es un constituyente proteico del protoplasma vegetal, además de intervenir en el metabolismo, crecimiento y desarrollo de las plantas. A comienzos del período vegetativo, la absorción de N por la planta es intensa y prosigue hasta la floración y maduración donde decae gradualmente (Ustimenko, 1982; Skerman y Riveros, 1992).

La deficiencia de este elemento provoca escaso desarrollo de las plantas. La prolongada falta de N conduce a la necrosis local de las hojas y después a su completa senescencia (Ustimenko, 1982).

La fertilización fosfórica y potásica estará en dependencia del contenido de estos elementos en el suelo (OISAT, 2005). Con la escasez de P, la maduración se retarda y se restringe el desarrollo de las raíces. La deficiencia de K provoca desarrollo reducido de la raíz, las mazorcas no se llenan completamente y se produce el acame del cultivo (INPOFOS, 1993).

Muñoz (1995) planteó que una cosecha del maíz extrae del suelo cantidades de N y P aproximadamente de 179 y 67 kg.ha<sup>-1</sup>, respectivamente. El maíz tiene una alta respuesta a la aplicación de fertilizantes nitrogenados (Lagos y col., 1995), a menos que exista una alta incidencia de arvenses, en cuyo caso, la respuesta es difícil de detectar, debido a la competencia por el nutriente (Torres y col., 1995).

La fertilización se recomienda en suelos con un contenido de materia orgánica menor al 2 %, por lo que antes de considerar la posibilidad de aplicar fertilizantes al suelo es necesario contar con un análisis de su contenido de nutrientes (Alvarado, 1985; CIAT, 1994).

Se recomienda aplicar el fertilizante fraccionado al 30 % en la siembra, 40 % a los 20 días después y el restante 30 % a los 40 días después. Si la fertilización se hace en dos aplicaciones, se recomienda aplicar el 40 % en siembra y el 60 % a los 30 días después (Alves y col., 2006).

El maíz sin fertilización química sólo tiene altos rendimientos en parcelas con un alto nivel de materia orgánica o donde se hayan realizado aplicaciones de estiércol o de abonos verdes (Laird y Rodríguez, 1965). Además, se han obtenido altos rendimientos al rotar el maíz con leguminosas y con aplicaciones de 40 kg N.ha<sup>-1</sup> como fertilizante mineral (Torres y col., 1995, Bordón, 1995).

En las condiciones de Cuba, para obtener cinco t.ha<sup>-1</sup> de rendimientos de maíz se hace necesario emplear dosis de 100 – 150 kg.ha<sup>-1</sup> de N, de 25 – 53 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y de 150 – 300 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O (MINAG, 1992).

Burkles (1994), Bordón (1995), Torres y col. (1995) y Van der Mey (1995) indican la necesidad de utilizar leguminosas en asociación o sucesión con el maíz, con la finalidad

de que todo el N acumulado por estas plantas, así como la materia verde descompuesta resulte un abono económico y efectivo.

### **2.3.5. Rotación del maíz con abonos verdes e inoculación micorrízica.**

Con la introducción de las rotaciones leguminosas – maíz, disminuye la dependencia de los agricultores a los insumos externos, aumenta la rentabilidad del sistema, el balance de nutrientes se hace positivo y mejora la calidad de los suelos (Astier, 2002; Okito y col., 2004; Robertson y col., 2005; Kaizzi y col., 2006)

El empleo de canavalia en sucesión con el cultivo del maíz hace que este eleve sus rendimientos hasta  $6.3 \text{ t.ha}^{-1}$  y haga un aprovechamiento de 40 – 60 % del N – abonos verdes. Los rendimientos obtenidos en maíz son equivalentes a los obtenidos con  $200 \text{ kg N.ha}^{-1}$  de fertilizante mineral (Aguiar, 2001; Candle, 2006).

La incorporación de abonos verdes promueve la absorción de NPK por el cultivo del maíz debido a la mayor disponibilidad de los elementos estimulada por el abono verde (Horst y col., 2001). El uso de fertilizantes minerales en dosis bajas aumenta el impacto benéfico de los abonos verdes sobre el cultivo (Sangakkara y col., 2004).

Baijukya y col. (2006) reportaron que el incremento de los rendimientos de maíz, sembrado después de incorporar leguminosas fue de  $1.1 - 3.2 \text{ t.ha}^{-1}$  y de  $1.4 - 3.8 \text{ t.ha}^{-1}$  en zonas de bajas y altas precipitaciones respectivamente y recomiendan que junto a la incorporación de leguminosas, se deben aplicar dosis menores de fertilizantes minerales para aumentar el coeficiente de aprovechamiento del N.

En las condiciones de Cuba, Álvarez (2000) reportó que los abonos verdes tienen una influencia positiva sobre el rendimiento del maíz. Este, sembrado en sucesión con canavalia, tuvo rendimientos similares a la variante con fertilización mineral y superior al testigo absoluto en una  $\text{t.ha}^{-1}$ . Este tipo de respuesta tiene muy buenos resultados con independencia de la época del año en que se emplee (Treto y col., 2001).

En estudios realizados para evaluar la respuesta del maíz a la inoculación micorrízica, Paré y col. (2000) reportaron que las plantas inoculadas con HMA acumularon un 40 % más de masa seca y N que las no inoculadas, al crecer en un suelo con residuos de alfalfa. El empleo de la cepa *Glomus fasciculatum* en maíz presentó un incremento de los rendimientos que osciló entre 21 – 77 % según el tipo de suelo (Rivera, 2003).

Por otra parte, el maíz presentó una alta colonización con cepas nativas de HMA, al ser sembrado en sucesión con un pastizal o un barbecho con plantas micótrofas, que facilitaron la propagación de los endófitos micorrízicos nativos (Álvarez y Anzueto, 2004).

El efecto del cultivo precedente en el crecimiento del maíz es debido en parte al aumento del número de propágulos de HMA causada por el cultivo precedente. Al respecto, Karasawa y col. (2002) informaron que el maíz en sucesión con girasol aumentó 49 % de masa seca en comparación con tratamientos sin inocular y aumentó la colonización radical del cultivo.

Boswell y col. (1998) plantearon que el manejo de los HMA a través de los abonos verdes puede ser una práctica útil dentro de la agricultura sostenible. Los abonos verdes de invierno multiplicaron los inóculos nativos de HMA en el suelo, con alta colonización del maíz sucesor y aumento de la densidad de las hifas extrarradicales. El grado de micorrización del maíz (% de colonización) fue correlacionado con el crecimiento y los rendimientos del maíz.

Araujo y de Almeida (1993) plantearon que los abonos verdes elevan significativamente la colonización por HMA del cultivo posterior y su empleo combinado con fertilizantes minerales complementa las necesidades de N del cultivo, con una disminución significativa de las dosis a emplear debido a la promoción de la absorción por los HMA.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

Para el desarrollo del trabajo se realizaron un conjunto de seis experimentos en condiciones de macetas, microparcels, parcelas experimentales y ensayos en condiciones de producción (Figura 1).

#### **3.1. Condiciones edafoclimáticas.**

Los experimentos de macetas y microparcels se efectuaron en las áreas del Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas, el experimento 3, en el Departamento de Servicios Agrícolas (finca Las Papas), ambos del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), ubicado en los 23°01' Latitud Norte y 82°08' Longitud Oeste, a 138 msnm. El experimento 5, se realizó en la finca Las Papas y en tres fincas agrícolas pertenecientes a la Cooperativa de Créditos y Servicios (CCS) Nelson Fernández, en el municipio San José de las Lajas, La Habana, nombradas La Asunción, Santa Teresa y Zacarías (Anexo 1).

El suelo en todos los sitios experimentales se clasificó como Ferralítico Rojo Lixiviado, excepto en las fincas La Asunción y Santa Teresa, que se clasificó como Ferralítico Rojo Típico, según la Nueva Versión de Clasificación de los Suelos de Cuba (MINAG, 1999a) y algunas de sus características se presentan en la Tabla 1. La descripción de los perfiles de suelos se puede consultar en el Anexo 2.

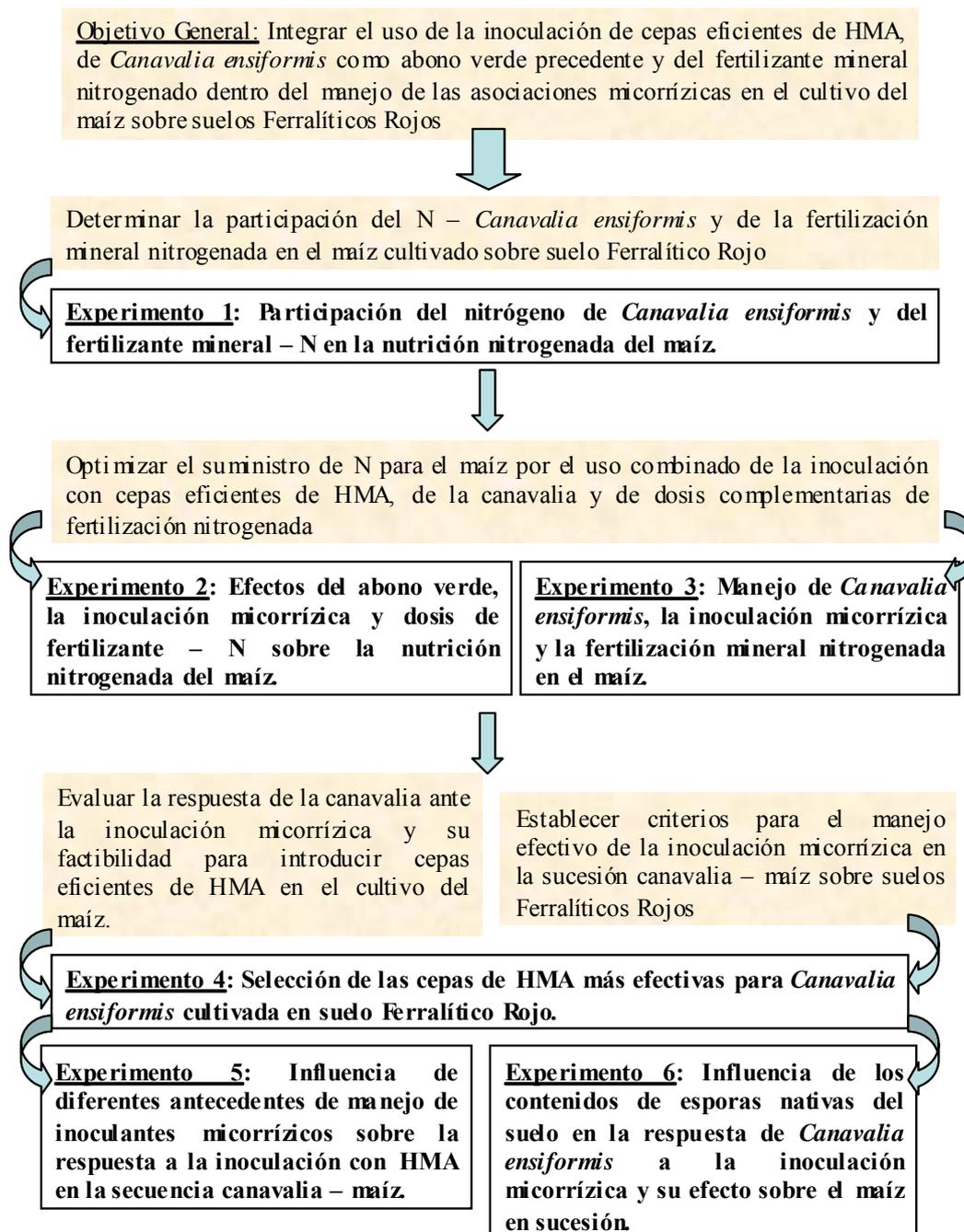
El pH del suelo en todos los experimentos realizados en las áreas del INCA osciló de neutro a ligeramente alcalino, el pH de la finca La Asunción osciló de ligeramente ácido a alcalino y en las fincas Santa Teresa y Zacarías ligeramente ácido.

El contenido de materia orgánica fue bajo de manera general, como consecuencia directa del alto laboreo y explotación que de estos suelos se ha realizado durante muchos años sin aplicarles estrategias de conservación y mejoramiento. En los experimentos 4 y 6 presentaron valores mas elevados pues fue tomado de áreas de lindero y eran suelos conservados.

El contenido de P fue alto en los sitios experimentales. En las fincas La Asunción y Las Papas, el contenido de P fue muy alto en relación a las demás fincas y se debió a las abundantes fertilizaciones minerales que han realizado para obtener altos rendimientos agrícolas (Bertolí, 2006 y Muñoz, 2007; comunicaciones personales). En las fincas Santa Teresa y Zacarías, no se aplicaron fertilizantes minerales y los suelos recibieron a veces

algunas aplicaciones de estiércol vacuno como fuente de nutrientes (Gallardo, 2007 y Martín, 2007; comunicaciones personales).

**Figura 1. Esquema experimental desarrollado en función del cumplimiento de los objetivos de trabajo**



**Tabla 1. Algunas características iniciales del horizonte cultivable de los suelos Ferralíticos Rojos de San José de las Lajas utilizados en los diferentes experimentos.**

Experi- mentos	Suelo	Finca	Año	pH	M.O	P	Ca	Mg	K	Na	No Esporas HMA en 50 g de suelo
					(%)	(mg.kg <sup>-1</sup> )	(cmol . kg <sup>-1</sup> )				
1	FRL	INCA*	1999	7.03	3.14	363.67	14.83	3.43	1.18	0.09	ND
			2000	7.14	2.66	251.36	12.24	2.30	0.89	0.11	ND
2	FRL	INCA*	2003	7.65	2.47	284.00	11.83	2.50	0.46	0.16	114.00
			2004	7.50	2.93	266.00	11.20	4.40	0.68	0.08	115.50
3	FRL	Las Papas	2003	7.00	1.80	419.40	12.50	3.18	0.81	0.12	225.50
			2006	7.25	1.54	430.75	12.03	3.60	0.64	0.05	307.75
4	FRL	INCA**	2007	7.05	3.50	90.50	13.15	2.20	0.46	0.17	84.50
			2008	7.36	3.79	122.60	16.84	2.66	1.15	0.21	81.60
5	FRL	Las Papas	2006	7.35	1.07	482.00	13.40	3.25	0.71	0.04	272.50
			2007	7.74	1.43	442.60	13.56	3.10	0.64	0.17	232.00
	FRT	La Asunción	Estación lluvias 2007	6.60	1.93	997.00	11.70	4.30	0.60	0.17	107.88
	FRT	Santa Teresa		6.70	2.58	133.00	12.50	3.40	0.62	0.08	31.70
	FRL	Zacarías	Estación seca 2007	6.00	2.27	124.00	10.10	4.00	0.42	0.08	40.24
	FRT	La Asunción		8.20	1.66	806.00	11.70	3.30	0.55	0.12	94.42
	FRL	Zacarías - 1		5.80	2.48	122.00	10.10	3.10	0.29	0.08	40.32
	FRL	Zacarías - 2		6.20	2.32	151.00	11.50	3.90	0.39	0.06	36.58
6	FRL	INCA**	2007	7.30	2.80	172.00	14.70	4.20	1.28	0.17	83.00

ND: No Determinado. Determinaciones químicas: pH H<sub>2</sub>O potenciómetro, M.O. (materia orgánica) Walkley Black, P Oniani, Cationes NH<sub>4</sub>Ac pH 7, No (número) esporas HMA Gerdemann y Nicholson (1963). FRL: Suelo Ferralítico Rojo Lixiviado FRT: Suelo Ferralítico Rojo Típico. \* Suelo proveniente del área de producción de la finca Las Papas. \*\* Suelo proveniente del área de lindero (biostasia) de la finca Las Papas.

Los contenidos de Ca y Mg intercambiables fueron típicos de estos suelos y garantizaron un adecuado suministro de estos nutrientes para los cultivos, el Na fue muy bajo y el contenido de K osciló de medio a alto en todos los experimentos y fincas, excepto en Zacarías que osciló de medio a bajo. Todas las evaluaciones se hicieron según las tablas de interpretación de análisis de suelo (Paneque, 2001).

En los suelos de Las Papas y La Asunción el número de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) fue mayor, en relación a los otros experimentos, lo cual estuvo en correspondencia con las numerosas y continuas aplicaciones de biofertilizantes micorrízicos que durante un período de cinco a siete años se han efectuado en estas fincas (Bertolí, 2006 y Muñoz, 2007; comunicaciones personales).

El suelo empleado en los experimentos 4 y 6, al ser del área de lindero, alejado de las zonas agrícolas, no fue sometido a aplicaciones de inoculantes micorrízicos y presentó un número inferior de esporas nativas de HMA, en comparación a los encontrados en las áreas productivas.

Las fincas Santa Teresa y Zacarías tuvieron un número inicial de esporas inferior con respecto a las fincas Las Papas y la Asunción y en ellas nunca antes se había aplicado biofertilizantes micorrízicos (Gallardo, 2007 y Martín, 2007; comunicaciones personales). El manejo de las inoculaciones micorrízicas 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 (Anexo 1) y dedicarse las mismas a la producción continuada de cultivos varios.

Las condiciones climáticas durante el periodo experimental aparecen en la Figura 2 en la que se refleja el comportamiento de las principales variables. La región se caracteriza por poseer una temperatura promedio anual de 23,7 °C y dos estaciones bien definidas: período poco lluvioso o seco, que en las condiciones de Cuba es el período comprendido entre los meses de noviembre y abril (como promedio) y es donde se reportan los acumulados menos significativos históricamente. Se corresponde con el periodo invernal, con los registros de temperaturas más bajas (INSMET, 2009).

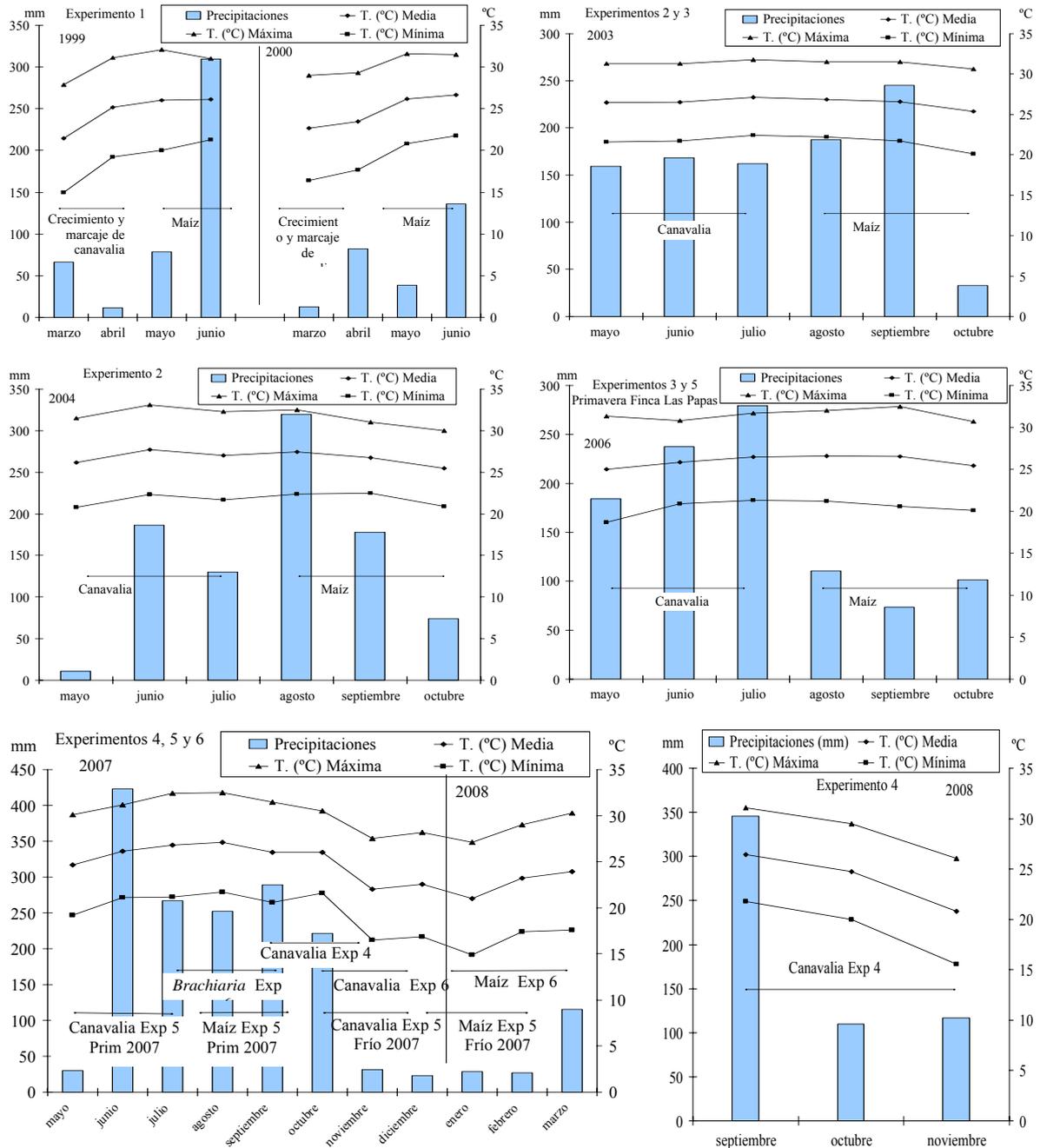
El otro período es el lluvioso, que en las condiciones de Cuba es el período comprendido entre los meses de mayo y octubre (como promedio) y en el cual se reportan los acumulados de precipitaciones más significativos históricamente. Se corresponde con el periodo de verano y los registros de temperaturas más altas (INSMET, 2009).

### **3.2. Descripción de los experimentos.**

#### **3.2.1. Experimento 1: Participación del nitrógeno de *Canavalia ensiformis* y del fertilizante mineral – N en la nutrición nitrogenada del maíz.**

Para evaluar la participación del N – *Canavalia ensiformis*, del fertilizante nitrogenado y de una combinación de estos sobre la nutrición nitrogenada del maíz, mediante el método isotópico y el de las diferencias, se realizó un experimento en condiciones de macetas de 5 kg de capacidad con suelo Ferralítico Rojo Lixiviado (Tabla 1), que se repitió durante dos años en el período marzo – junio de 1999 y 2000. Los tratamientos estudiados se muestran en la Tabla 2, así como las cantidades de N aplicadas en cada tratamiento y su enriquecimiento en <sup>15</sup>N.

**Figura 2. Comportamiento de las variables meteorológicas temperatura (media, mínima y máxima) y las precipitaciones durante el período experimental. Estación Meteorológica de Tapaste (INSMET, 2008).**



Las barras horizontales indican los períodos de crecimiento de las plantas utilizadas durante la ejecución de los experimentos. Estación meteorológica ubicada en los 23°01' Latitud Norte y 82°08' Longitud Oeste, a 138 msnm.

**Tabla 2. Dosis de N y enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  de las fuentes nitrogenadas aplicadas al maíz en el experimento 1.**

Tratamientos	Dosis de N aplicadas (mg. kg <sup>-1</sup> por maceta)	at% $^{15}\text{N}$ exc por maceta
1) Fertilizante mineral – N	100	5.1045
2) <i>Canavalia ensiformis</i>	100	3.664
3) <i>Canavalia ensiformis</i> + Fertilizante mineral – N	100	1.832
4) Testigo	0	-

Fertilizante mineral:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

En el primer tratamiento se aplicó el fertilizante mineral sulfato de amonio  $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$  enriquecido con 5.1045 at%  $^{15}\text{N}$  exc. En el segundo tratamiento se aplicó *Canavalia ensiformis*, con 3.664 at%  $^{15}\text{N}$  exc. de enriquecimiento. En el tercer tratamiento se combinaron ambas fuentes, el enriquecimiento inicial en  $^{15}\text{N}$  estuvo presente en el abono verde, el fertilizante mineral en este caso no estaba enriquecido y se alcanzó en la mezcla de las dos fuentes nitrogenadas 1.832 at%  $^{15}\text{N}$  exc. Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado con 3 repeticiones. La descripción de la obtención de canavalia enriquecida con  $^{15}\text{N}$  se ofrece en el Anexo 3.

El fertilizante mineral se aplicó fraccionado al 50 % en la siembra y 50 % a los 30 días después. La canavalia, en estado seco, se desmenuzó en un molino de cuchillas hasta lograr partículas con tamaño igual o menor a 0.5 mm. Después se mezcló con el suelo 11 días antes de realizar la siembra del maíz y la aplicación del N mineral.

En el tratamiento donde sólo se aplicó canavalia se añadió una dosis de 500 mg N por maceta contenida en 20.36 g de material vegetal por maceta (equivalente a 8.14 t M.S. ha<sup>-1</sup>), que se mezclaron bien con el suelo. En el tratamiento donde se combinaron las dos fuentes de nitrógeno se aplicaron 10.18 g de material vegetal por maceta, con la cual se aportaron 250 mg N por maceta (4.07 t M.S. ha<sup>-1</sup>) y los 250 mg N restantes en forma de fertilizante mineral; este último se fraccionó al 50 % en la siembra del maíz y el restante 30 días después de la siembra.

Se aplicó una dosis común de 60 mg. kg<sup>-1</sup> de  $\text{P}_2\text{O}_5$  y 180 mg. kg<sup>-1</sup> de  $\text{K}_2\text{O}$  por maceta como fertilización de fondo a todos los tratamientos en el momento de la incorporación de la canavalia.

El tratamiento testigo no recibió ninguna fuente externa de nitrógeno, sólo tuvo disponibilidad del N – suelo.

A los 11 días después de la incorporación del abono verde, se procedió a la siembra del maíz, variedad Francisco mejorado, a razón de 3 semillas por maceta, las que se colocaron al aire libre en áreas experimentales del Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas. Desde el momento de la incorporación de la canavalia se aplicó riego de manera uniforme a todas las macetas, hasta alcanzar la saturación del suelo. Este riego se realizó cada tres días para mantener la humedad.

Los muestreos se realizaron a los 15, 30, 45 y 60 días después de la emergencia del maíz. Se tomaron muestras por triplicado de plantas completas para determinar masa seca, contenido de N y enriquecimiento de  $^{15}\text{N}$ . El coeficiente de aprovechamiento del N por los métodos isotópico y de las diferencias se determinó por las siguientes fórmulas, descritas por Rivera (1999):

#### Método isotópico

$\% \text{Nddf} (\% \text{ N derivado de las fuentes aplicadas}) = \text{at}\%^{15}\text{N exc (planta)} / \text{at}\%^{15}\text{N exc (fuente aplicada)} * 100$

$\text{Coeficiente de aprovechamiento (\%)} = \% \text{Nddf} * \text{N total (planta)} / \text{Dosis N aplicada}$

El  $\text{at}\%^{15}\text{N}$  de las plantas se determinó en un espectrómetro de emisión automático del tipo NOI – 6, con un rango de medición de 0.365 hasta 99  $\text{at}\%^{15}\text{N}$  para una cantidad de muestra de  $10\mu\text{g}$  y una desviación estándar relativa de 0.6 % (Faust y col., 1987).

#### Método de las diferencias

$\text{Coeficiente de aprovechamiento (\%)} = \frac{\text{Extracción N (tratamiento fertilizado)} - \text{Extracción N (testigo)}}{\text{Dosis N aplicada}} * 100$

### **3.2.2. Experimento 2: Efectos del abono verde, la inoculación micorrízica y dosis de fertilizante – N sobre la nutrición nitrogenada del maíz.**

Para evaluar la influencia de la inoculación micorrízica del maíz con una cepa eficiente de HMA, el período de sincronía entre la incorporación de los abonos verdes y la siembra del cultivo, así como de diferentes dosis de fertilización mineral sobre el crecimiento y desarrollo del maíz, se ejecutó un experimento en condiciones de microparcels en áreas del Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas del INCA, repetido durante dos años, en el período comprendido entre los meses de agosto – octubre de 2003 y 2004.

Las microparcels tuvieron dimensiones de: 0.63 m de ancho por 2.55 m de longitud y altura de 0.70 m y contenían suelo Ferralítico Rojo Lixiviado procedente del

Departamento de Servicios Agrícolas del INCA (Tabla 1). El suelo se tomó del horizonte superficial y se trasladó hacia las microparcels.

Se estudiaron tres dosis de fertilizante mineral – N, dos períodos de sincronía incorporación – siembra (7 y 21 días) y dos niveles del factor inoculación micorrízica del maíz (con y sin inoculación), en un diseño experimental completamente aleatorizado, con arreglo trifactorial (3x2x2) y tres testigos de referencia, para un total de 15 tratamientos (tabla 3).

**Tabla 3. Factores en estudio, sus niveles y testigos de referencia empleados en el experimento 2.**

Tratamientos	Período de sincronía (ddi)*	Dosis de Fertilizante mineral nitrogenado (kg N.ha <sup>-1</sup> )**	Inoculación con HMA***
<i>Canavalia ensiformis</i>	7	0	Si
<i>Canavalia ensiformis</i>	7	0	No
<i>Canavalia ensiformis</i>	7	40	Si
<i>Canavalia ensiformis</i>	7	40	No
<i>Canavalia ensiformis</i>	7	80	Si
<i>Canavalia ensiformis</i>	7	80	No
<i>Canavalia ensiformis</i>	21	0	Si
<i>Canavalia ensiformis</i>	21	0	No
<i>Canavalia ensiformis</i>	21	40	Si
<i>Canavalia ensiformis</i>	21	40	No
<i>Canavalia ensiformis</i>	21	80	Si
<i>Canavalia ensiformis</i>	21	80	No
TR: Control	-	0	No
TR: 80 kg N.ha <sup>-1</sup>	-	80	No
TR: 160 kg N.ha <sup>-1</sup>	-	160	No

\*ddi Días después de la incorporación del abono verde. \*\*Fertilizante mineral: NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>.

\*\*\*Inoculación con HMA: a base de *Glomus hoi* – like. TR: Testigos de referencia.

En los tratamientos con abono verde se empleó la especie *Canavalia ensiformis*, que se incorporó en el surco de siembra, bien mezclado y tapado con el suelo. El abono verde se encontraba seco, finamente desmenuzado con un molino de cuchillas y tamiz de 0.5 mm, se aplicó en una dosis equivalente a 1.5 t.ha<sup>-1</sup> de masa seca y a 34 kg N.ha<sup>-1</sup>.

Las condiciones de crecimiento de estas plantas se describen en el Anexo 4. La siembra de maíz se realizó a los 7 y 21 días después de la incorporación de la canavalia, con un marco de plantación de 0.40 x 0.20 m, por lo que quedaron 12 plantas por surco para un total de 24 plantas por canaleta. Se sembró la variedad Francisco mejorado. Se utilizaron tres repeticiones por tratamiento.

A los tratamientos con inoculación micorrízica se les aplicó la especie de HMA *Glomus hoi* – like, cepa INCAM 4, procedente del cepario del INCA y recomendada como cepa

eficiente para las condiciones de suelo Ferralítico Rojo (Rivera y Fernández, 2003). La inoculación se realizó por el método del recubrimiento de las semillas de maíz (Fernández y col., 2000), en dosis equivalentes al 10 % de la masa de la semilla. El biofertilizante presentaba una concentración mínima de 20 esporas por gramo.

Las dosis de fertilizante mineral nitrogenado estudiadas fueron 0, 40 y 80 kg. N.ha<sup>-1</sup>. Se aplicó fraccionado al 50 % en el momento de la siembra de maíz y el restante a los 30 días después de la germinación; como portador se empleó el nitrato de amonio (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>). Los testigos de referencia fueron: tres dosis de fertilizante mineral (0, 80 y 160 kg N.ha<sup>-1</sup>) en ausencia de abono verde e inoculación micorrízica y se empleó el mismo portador mineral.

Se aplicó además una dosis común equivalente a 60 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 180 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O por microparcela como fertilización de fondo a todos los tratamientos en el momento de la incorporación de la canavalia.

A los 60 días después de la germinación del maíz se realizaron muestreos de plantas completas por triplicado, en todos los tratamientos, para determinar masa seca total, contenido de nutrientes (N, P, K) y funcionamiento fúngico (% colonización).

### **3.2.3. Experimento 3: Manejo de *Canavalia ensiformis*, la inoculación micorrízica y la fertilización mineral nitrogenada en el maíz.**

Para determinar la influencia de la canavalia utilizada como abono verde precedente y de la inoculación micorrízica con una cepa eficiente del maíz sobre los requerimientos de fertilizante nitrogenado de este cultivo en suelo Ferralítico Rojo Lixiviado (Tabla 1), se realizó un experimento en parcelas experimentales ubicadas en el Departamento de Servicios Agrícolas del INCA, durante el período mayo – octubre de los años 2003 y 2006. Se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas con cuatro réplicas.

Para la ejecución del experimento en el primer año (2003) en las parcelas principales se establecieron las secuencias siguientes: 1) barbecho por dos meses y siembra posterior de maíz, 2) canavalia como abono verde precedente al cultivo de maíz y 3) canavalia como precedente y el maíz se inoculó por la técnica de recubrimiento de semillas (Fernández y col., 2000), con la especie de HMA *Glomus hoi* – like, cepa INCAM 4, procedente del cepario del INCA.

En las secuencias 1 y 2 el maíz se sembró sin inoculación con HMA. Se empleó la variedad de maíz Francisco. El tamaño de las parcelas experimentales fue de 5.4 m por 7.0 m, con seis surcos. Se dejaron los cuatro surcos centrales de cada parcela, excepto el metro inicial y final de cada surco, como área de cálculo, para un total de 18 m<sup>2</sup>.

Durante el segundo año (2006) se estudiaron las mismas secuencias descritas para el año 2003 y se añadió una secuencia más, consistente en barbecho por dos meses y siembra posterior de maíz inoculado con la misma cepa de HMA referida. El biofertilizante micorrizógeno en todos los casos presentó una concentración mínima de 20 esporas por gramo de inoculante y se aplicó mediante recubrimiento, en dosis equivalentes al 10 % de la masa de la semilla. En las subparcelas se evaluaron cinco dosis de fertilizante mineral nitrogenado.

### **3.2.3.1 Evaluación del crecimiento de la canavalia y de las arvenses del barbecho**

La canavalia precedente al maíz se sembró de forma manual, en el mes de mayo de los años estudiados, inmediatamente después de comenzadas las primeras precipitaciones de la estación de lluvias. Se empleó como marco de plantación la distancia de 0.45 m por 0.30 m y dos semillas por nido. La canavalia no se inoculó con *Rhizobium* debido a la facilidad de esta especie de establecer simbiosis con las especies nativas presentes en el suelo, lo cual se comprobó de forma visual, al observarse la nodulación en el campo, aunque no fue cuantificada. Estas plantas no recibieron riego.

El barbecho por dos meses consistió en dejar al suelo en descanso, en el cual crecieron libremente las arvenses en las parcelas, previas a la siembra de maíz. La identificación de las principales especies de arvenses que componían el barbecho se hizo por recorrido visual de las parcelas y fueron: Don Carlos (*Sorghum halepense* Sibthorp), cebolleta (*Cyperus rotundus* L.) y bleado (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.).

A los 60 días después de la germinación de la canavalia se procedió a la extracción de 8 plantas por parcela, comprendidas en 0.45 m<sup>2</sup> dentro del área de cálculo. En ese mismo momento, en los tratamientos en barbecho, se tomaron muestras de las arvenses crecidas. En todos los casos se determinaron masa seca, contenido de nutrientes y evaluación del funcionamiento fúngico, asimismo, se realizó un muestreo de suelo para evaluar el número de esporas de HMA.

Durante el período de crecimiento vegetativo de la canavalia, se realizó la limpieza manual del campo, para la eliminación de arvenses. La incorporación del abono verde y de la vegetación del barbecho al suelo se efectuó al inicio de la floración (aproximadamente entre los 60 – 70 días de edad de las plantas), con una chapeadora para cortar las plantas y estas se mezclaron con el suelo mediante un arado de discos.

### **3.2.3.2 Respuesta del maíz a la fertilización – N en las secuencias estudiadas**

Después de la incorporación de la canavalia y de las arvenses, se hizo la preparación del suelo, mediante labranza reducida con dos araduras con un arado de discos integral de tres órganos, dos pases de gradas de discos y surcado.

La siembra del maíz se realizó en el mes de agosto, de forma manual, 15 días después de la incorporación del abono verde y de las arvenses del barbecho. Se empleó como marco de plantación la distancia de 0.90 m x 0.30 m.

En las subparcelas de todas las secuencias se evaluaron 5 dosis crecientes de fertilizante mineral nitrogenado (0; 50; 100; 150 y 200 kg N.ha<sup>-1</sup>). Se utilizó nitrato de amonio (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) como portador, fraccionado al 50 % de la dosis en el momento de la siembra y 50 % a los 30 días después de la germinación del maíz. Se realizaron las labores culturales tradicionales para el control de arvenses, según el Instructivo Técnico (MINAG, 1992). Como el maíz se sembró dentro de la estación lluviosa, al cultivo no se le aplicó riego.

Al maíz se le determinó masa seca, contenido de nutrientes y porcentaje de colonización micorrízica a los 60 días después de la germinación y al alcanzar la madurez fisiológica se cosechó. El rendimiento se expresó en t.ha<sup>-1</sup> y se clasificaron las mazorcas por calibres según su peso.

### **3.2.4. Experimento 4: Selección de las cepas de HMA más efectivas para *Canavalia ensiformis* cultivada en suelo Ferralítico Rojo.**

Para evaluar la respuesta de la canavalia a la inoculación con diferentes cepas de HMA se ejecutó un experimento en macetas de 5 kg de capacidad, en el área del Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas del INCA, durante el período septiembre – noviembre del 2007 y del 2008.

La especie *Canavalia ensiformis* se inoculó con tres especies de HMA: *Glomus mosseae* (Nicol. & Berd. enmendado por Gerderman & Trappe) cepa INCAM 2; *Glomus*

*claroideum* (Schenk & Smith) cepa INCAM 8 y *Glomus hoi* – *like*, cepa INCAM 4, procedentes del cepario del INCA y un testigo sin inoculación. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con seis repeticiones.

El suelo utilizado fue un Ferralítico Rojo Lixiviado (Tabla 1). En cada una de las macetas se sembraron dos semillas de canavalia y a los 15 días después de la germinación se dejó una planta por maceta. Para la inoculación micorrízica se aplicó en cada maceta, en el momento de la siembra y debajo de las semillas, 10 g de inoculante con una concentración superior a las 25 esporas de HMA por gramo de inoculante.

A los 60 días después de la germinación se procedió al muestreo del suelo de las macetas para conteo de esporas de HMA, a la extracción de las plantas completas para determinar masa seca total y contenido de nutrientes (N, P, K), así como a la determinación del porcentaje de colonización micorrízica (%) y de la densidad visual (%) en las raíces.

### **3.2.5. Experimento 5: Influencia de diferentes antecedentes de manejo de inoculantes micorrízicos sobre la respuesta a la inoculación con HMA en la secuencia canavalia – maíz.**

Con el objetivo de evaluar la influencia de diferentes antecedentes de manejo de la inoculación micorrízica sobre la efectividad de la inoculación de cepas eficientes de HMA en *Canavalia ensiformis* y su efecto sobre la micorrización del cultivo posterior de maíz, se procedió a ejecutar un grupo de experimentos.

El primero se ejecutó en el Departamento de Servicios Agrícolas del INCA (finca Las Papas), con un historial de aplicaciones sucesivas de productos micorrízicos durante los últimos cinco años en siembras consecutivas de cultivos varios (Bertolí, 2006; comunicación personal), lo que tuvo por consecuencia un contenido inicial de esporas de HMA en el suelo Ferralítico Rojo Lixiviado, que se consideró como alto (Tabla 1).

El segundo grupo de experimentos se realizó con los mismos objetivos en fincas de campesinos, pero con diferentes antecedentes de inoculación micorrízica. En La Asunción, con condiciones de producción semejantes a la finca Las Papas: siembras consecutivas de cultivos varios y aplicaciones continuadas de biofertilizantes micorrízicos, que provocaron un elevado número inicial de esporas de HMA (Muñoz, 2007; comunicación personal) sobre suelo Ferralítico Rojo Típico.

En comparación, las fincas Santa Teresa, sobre suelo Ferralítico Rojo Típico y Zacarías, con Ferralítico Rojo Lixiviado son dos fincas de cultivos varios que nunca habían recibido aplicaciones de productos micorrízicos (Gallardo, 2007 y Martín, 2007; comunicaciones personales) y que consecuentemente presentaron contenidos de esporas nativas de HMA entre 30 – 40 esporas en 50 g de suelo (Tabla 1).

### 3.2.5.1. Experimento ejecutado en el Departamento de Servicios Agrícolas, Finca Las Papas.

Se condujo un experimento en el Departamento de Servicios Agrícolas del INCA, durante los períodos mayo – octubre de 2006 y 2007 (estación de lluvias) en los que se estudió la respuesta de los abonos verdes a la inoculación con una cepa de HMA (etapa 1) y su efecto sobre el cultivo posterior de maíz (etapa 2). Los tratamientos estudiados se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 4. Inoculaciones micorrízicas realizadas a los cultivos en la secuencia canavalia – maíz estudiada en un suelo con aplicaciones previas y continuadas de biofertilizantes micorrízicos. Finca Las Papas. Experimento 5.**

<b>Etapa 1. Cultivo Precedente (Canavalia)</b>	<b>Etapa 2. Cultivo principal (Maíz)</b>
<b>Inoculación HMA*</b>	<b>Inoculación HMA*</b>
No	No
No	Si
Si	No
Si	Si

\* Inoculante a base de *Glomus hoi – like*. \*\*Fertilizante mineral:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .

En todas las parcelas experimentales se sembró *Canavalia ensiformis* en el mes de mayo (etapa 1), con un marco de plantación de 0.45 m por 0.30 m. En los tratamientos que recibieron inoculación micorrízica, se aplicó el inoculante a base de la especie *Glomus hoi – like*, cepa INCAM 4, procedente del cepario del INCA, vía recubrimiento de las semillas (Fernández y col., 2000), en dosis del 10 % del peso total de la semilla a inocular.

La canavalia se manejó de la misma forma descrita en el experimento 3 y se dejó crecer hasta el inicio de la floración, sin aplicarle riego, con posterioridad se cortó y se incorporó al suelo. El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar, con 4 réplicas. El tamaño de las parcelas y el área de cálculo fue la misma que se empleó en el experimento 3 (acápite 3.3.3).

Los muestreos de canavalia se realizaron a los 60 días de edad de las plantas. Se tomaron muestras de plantas completas en cada parcela experimental, para determinar masa seca de la parte aérea, contenido de nutrientes (N, P, K) y funcionamiento fúngico (porcentajes de colonización y de densidad visual).

En el mes de agosto (etapa 2), 15 días después de la incorporación de la canavalia al suelo, se sembró el maíz, con aplicación del mismo tipo de biofertilizante micorrízico a dos tratamientos de maíz, uno en sucesión con la canavalia sin inocular y el otro posterior a la canavalia inoculada, según se observa en la tabla 4. El biofertilizante tenía una concentración mínima de 20 esporas por gramo de inoculante. El maíz se sembró a la distancia de 0.90 m por 0.30 m.

En todas las parcelas de maíz se aplicaron 50 kg N.ha<sup>-1</sup> como fertilizante mineral. Se utilizó el nitrato de amonio (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) como portador, fraccionado al 50 % en el momento de la siembra y 50 % a los 30 días después de la germinación. Este cultivo no recibió riego.

A los 60 días de edad se tomaron muestras de maíz para determinar las variables de funcionamiento fúngico y al alcanzar la madurez fisiológica se cosechó. El rendimiento se expresó en t.ha<sup>-1</sup>

### **3.2.5.2. Experimentos ejecutados en fincas campesinas.**

Estos experimentos se ejecutaron durante dos campañas: primavera 2007 (mayo – septiembre, estación de lluvias) y frío 2007 (octubre – febrero, estación seca).

Los tratamientos en estudio se observan en la Tabla 5. Para evaluar la respuesta del abono verde a la inoculación micorrízica, en una primera etapa, se dejó al suelo en barbecho o se sembró con *Canavalia ensiformis* sin inoculación micorrízica y canavalia con inoculación de HMA, especie *Glomus hoi – like*, cepa INCAM 4, procedente del cepario del INCA, mediante la técnica de recubrimiento manual de las semillas (Fernández y col., 2000). El inóculo presentaba una concentración mínima de 20 esporas por gramo de inoculante.

**Tabla 5. Inoculaciones micorrízicas realizadas a los cultivos en las secuencias estudiadas en suelos con diferente manejo previo de aplicación de inoculantes a base de HMA, experimento 5.**

Fincas	Etapa 1. Cultivo Precedente		Etapa 2. Cultivo principal (Maíz)	
		Inoculación HMA*		Inoculación HMA*
La Asunción (con aplicaciones previas)	Barbecho	No	No	No
		No	Si	Si
Santa Teresa y Zacarías (sin aplicaciones de HMA)	Canavalia	No	No	No
		No	Si	Si
		Si	No	No
		Si	Si	Si

Barbecho: suelo en descanso por dos meses. \* Inoculante a base de *Glomus hoi* – like.

La siembra de la canavalia se efectuó en el mes de mayo de 2007 para la campaña de primavera y en el mes de octubre para la campaña de frío, con un marco de plantación de 0.45 m por 0.30 m. El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar con cuatro réplicas. El tamaño de las parcelas fue de 5.4 m de ancho por 15 m de largo. El abono verde no recibió riego.

A los 60 días después de la germinación de la canavalia se procedió al muestreo de plantas completas para determinar biomasa aérea, contenido de nutrientes y evaluación del comportamiento fúngico, para lo cual se tomaron cuatro plantas por parcela. Similar procedimiento fue empleado para las especies que componían el barbecho.

La identificación de las principales especies de arvenses que componían el barbecho se hizo por recorrido visual de las parcelas y fueron: Don Carlos (*Sorghum halepense* Sibthorp), Yerba de Guinea (*Panicum maximum* Jacq.), cebolleta (*Cyperus rotundus* L.) y bleado espinoso (*Amarantus spinosus* L.).

Con posterioridad se cortó e incorporó toda la biomasa vegetal del barbecho o canavalia, al inicio de la floración de esta y se preparó el suelo para la siembra del maíz a los 15 días después de la incorporación (etapa 2). Este se inoculó por recubrimiento de las semillas (Fernández y col., 2000), con el mismo tipo de biofertilizante, de acuerdo con el esquema experimental (Tabla 5). En la campaña de primavera, el maíz se sembró a finales del mes de julio y en la de frío se sembró en el mes de diciembre del 2007.

El maíz se sembró a una distancia de 0.90 m por 0.30 m. Para establecer la secuencia, las antiguas parcelas de canavalia o dejadas en barbecho se dividieron en dos, por lo que las

parcelas de maíz quedaron con un tamaño de 5.4 m de ancho por 7 m de largo. El cultivo no recibió riego.

A los 60 días después de la germinación del maíz se tomaron muestras de raíces para precisar los porcentajes de colonización radical y de densidad visual y al alcanzar la madurez fisiológica se cosechó. El rendimiento se expresó en t.ha<sup>-1</sup>

### **3.2.6. Experimento 6: Influencia de los contenidos de esporas nativas del suelo en la respuesta de *Canavalia ensiformis* a la inoculación micorrízica con cepas eficientes y su efecto sobre el maíz en sucesión.**

Para evaluar la respuesta a la inoculación de la canavalia y del maíz con una cepa eficiente de HMA en suelos con diferentes contenidos de esporas nativas de HMA se realizó un experimento en el área del Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas del INCA y se empleó el mismo tipo de microparcels descrito en el experimento 2 (acápito 3.2.2), durante el período comprendido entre julio del 2007 y marzo del 2008.

En todas las microparcels se utilizó suelo Ferralítico Rojo Lixiviado (Tabla 1) y se obtuvieron diversos contenidos de esporas micorrízicas en el suelo, a partir de mantener el suelo en barbecho (suelo en descanso por tres meses con libre crecimiento de la vegetación natural) y del crecimiento de *Brachiaria* híbrido, cv Mulato II (CIAT 36087) como precedentes culturales de la canavalia. La *Brachiaria* se sembró en el mes de julio de 2007 y se dejó crecer durante tres meses. En este momento, se eliminó la *Brachiaria* y la vegetación natural de las microparcels en barbecho y se hizo un muestreo de suelos en dos profundidades (0 – 15 y 15 – 30 cm) para evaluar contenido de esporas de HMA. A partir de lo anterior se estudió las respuestas a la inoculación micorrízica de *Canavalia ensiformis* (etapa 1) y del maíz (etapa 2) como cultivo en sucesión con el abono verde.

La canavalia se sembró en el mes de octubre de 2007 y se inocularon la mitad de las microparcels con HMA, según el esquema experimental (Tabla 6). Las evaluaciones de la etapa 1 se procesaron de acuerdo con un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 2x2 y tres repeticiones. Los factores y sus niveles, en esta parte del experimento fueron: precedente cultural de la canavalia (2) e inoculación o no de la canavalia con una cepa eficiente de HMA (2).

**Tabla 6. Factores en estudio: precedente cultural e inoculación micorrízica de los cultivos en las secuencias estudiadas en el experimento 6.**

Precedente cultural	Abono verde (etapa 1)	Cultivo principal (etapa 2)
Barbecho	Canavalia	Maíz
Barbecho	Canavalia	Maíz – HMA
Barbecho	Canavalia – HMA	Maíz
Barbecho	Canavalia – HMA	Maíz – HMA
<i>Brachiaria</i>	Canavalia	Maíz
<i>Brachiaria</i>	Canavalia	Maíz – HMA
<i>Brachiaria</i>	Canavalia – HMA	Maíz
<i>Brachiaria</i>	Canavalia – HMA	Maíz – HMA

Barbecho: suelo en descanso por tres meses. HMA: inoculante a base de *Glomus hoi* – like.

Al inicio de la floración de la canavalia, se cortó e incorporó y 10 días después se procedió a sembrar el maíz en diciembre del 2007, de acuerdo con el esquema experimental (Tabla 6). En la etapa 2, para la evaluación estadística se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado con arreglo trifactorial (2x2x2). Los factores en estudio y sus niveles fueron: precedente cultural de la canavalia (2), inoculación o no de la canavalia con una cepa eficiente de HMA (2) e inoculación del maíz, variedad Francisco mejorado con HMA (2).

En todos los tratamientos inoculados, se empleó la especie de HMA *Glomus hoi* – like, cepa INCAM 4, procedente del cepario del INCA, en dosis equivalente al 10 % del peso de la semilla a inocular, por el método de recubrimiento de las semillas (Fernández y col., 2000). El biofertilizante presentaba una concentración de 20 esporas por gramo de inoculante como mínimo.

A los 60 días después de la germinación de la canavalia y del maíz, se realizó un muestreo de plantas completas, por triplicado, en cada microparcela, para evaluar masa seca, contenido de nutrientes (N, P, K) y el comportamiento de las variables de funcionamiento fúngico porcentaje de colonización, densidad visual y contenido de esporas de HMA en el suelo a dos profundidades (0 – 15 y 15 – 30 cm).

### **3.3. Determinaciones realizadas**

#### **3.3.1. Análisis de tejidos vegetales (canavalia, maíz y vegetación del barbecho)**

La masa seca, se determinó al secar en estufa las plantas extraídas a 70°C, hasta alcanzar valores de masa constante.

En el experimento 1 se determinó el % de N en la parte aérea por digestión húmeda con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y determinación del N por el método de destilación en presencia de NaOH al 40 % (microKjeldahl).

En los demás experimentos, el contenido de N, P, K se determinó como porcentaje de la masa seca de la parte aérea por los siguientes métodos:

- Nitrógeno (N): digestión húmeda con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + Se y determinación colorimétrica con el reactivo de Nessler
- Fósforo (P): digestión húmeda con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + Se y determinación colorimétrica con el reactivo molibdato de amonio
- Potasio (K): digestión húmeda con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + Se y determinación 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.

### **3.3.2. Muestreo de raíces**

Para determinar la colonización micorrízica, se motearon las raíces de las plantas colectadas hasta una profundidad de 15 cm, se lavaron con agua corriente, para eliminar todo el suelo 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 (1970). La evaluación se realizó por el método de los interceptos, desarrollado por Giovanetti y Mosse (1980), mediante el cual se determinó el porcentaje de colonización micorrízica o frecuencia de colonización.

La determinación del porcentaje de Densidad Visual (% DV) se realizó por la metodología de Trouvelot (1986), mediante la cual se evaluó la ocupación fúngica de cada intercepto y se le asignó un nivel (Tabla 7).

Posteriormente se realizó el cálculo según la fórmula:

$$\% DV = \frac{\sum A}{\sum Z}$$

Donde: Z es el número de interceptos contados en cada nivel y A es el resultado de la multiplicación del número de interceptos contados en cada nivel (Z), por el porcentaje de ocupación observada.

**Tabla 7. Transformación de los porcentajes de ocupación fúngica intrarradical en niveles, según Trouvelot (1986).**

Nivel de evaluación	% de ocupación observada
0	0
1	1
2	2.5
3	15.5
4	35.5
5	47.5

El índice de eficiencia se determinó a las variables porcentaje de colonización (% col) y rendimiento en masa seca de la canavalia (Rdto) en el experimento 5 a través de las siguientes fórmulas descritas por Rivera y Fernández (2003):

$$IE \text{ Rdto} = \frac{\text{Masa seca (tratamiento inoculado)} - \text{Masa seca (tratamiento sin inocular)}}{\text{Masa seca (tratamiento sin inocular)}} * 100$$

$$IE \% \text{ Col} = \frac{\% \text{ colonización (tratamiento inoculado)} - \% \text{ colonización (tratamiento sin inocular)}}{\% \text{ colonización (tratamiento sin inocular)}} * 100$$

### 3.3.3. Determinación del rendimiento y sus componentes

Se tomaron todas las mazorcas comprendidas en el área de cálculo (18 m<sup>2</sup>) de cada parcela experimental y se masaron en una balanza técnica. El área de cálculo comprendió los cuatro surcos centrales de cada parcela, sin contar el metro inicial y final de cada surco. Asimismo se evaluó el porcentaje de mazorcas de las clases A, B y C, en el experimento 3, de acuerdo a su masa, en cada parcela. Los rangos de masa para clasificar las mazorcas fueron los siguientes: Clase A > 100 g; Clase B: 50 – 100 g; Clase C < 50 g.

El factor parcial de productividad (FPP) se calculó según la fórmula (Stewart, 2007):

$$FPP = \text{rendimiento del cultivo (kg.ha}^{-1}) / \text{dosis del nutriente aplicado (kg.ha}^{-1})$$

### 3.3.4. Análisis de suelo

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), basado en el tamizado y decantado por vía húmeda de los propágulos del hongo. Las esporas se colectaron sobre

una malla de 40  $\mu\text{m}$  de apertura, se separaron por centrifugación con sacarosa y Tween 80 y se observaron posteriormente en un estereomicroscopio óptico (20 – 40x).

Para el análisis químico del suelo, se emplearon los métodos descritos por las Normas Ramales de la Agricultura (NRAG, 1987 y 1988): pH ( $\text{H}_2\text{O}$ ) por el método potenciométrico, con relación suelo:solución de 1:2.5. Materia orgánica del suelo por el método de Walkley y Black. P asimilable ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) por extracción con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.1N con relación suelo:solución 1:2.5. Cationes intercambiables ( $\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), por extracción con  $\text{NH}_4\text{Ac}$  1  $\text{Mol}\cdot\text{l}^{-1}$  a pH 7 y determinación por complejometría (Ca y Mg) y fotometría de llama (Na y K).

#### **3.4. Procedimiento estadístico**

Se comprobó la normalidad de los datos y la homogeneidad de la varianza. En los casos que no cumplieran los supuestos del análisis de varianza, las variables se transformaron por los métodos de:  $\log(x)$  para las variables continuas y  $\arcsen\sqrt{x}$  para las variables de porcentajes no referidas a concentraciones (% de mazorca de cada clase) y para las de origen binomial (% colonización). Con posterioridad se realizó un análisis de varianza a los datos obtenidos, en función del diseño experimental empleado en cada experimento.

En los casos en que se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, las medias fueron comparadas por la prueba de Rango Múltiple de Duncan ( $p < 0.05$ ). En los experimentos factoriales 2 y 6 se compararon los tratamientos y sus interacciones. En el experimento 2 a los testigos de referencia se les calculó el intervalo de confianza.

En el experimento 3, se compararon los tratamientos de las parcelas principales, las subparcelas y la interacción de las subparcelas dentro de las parcelas principales. El ajuste de los datos de la respuesta al fertilizante se realizó según el modelo discontinuo rectilíneo descrito por Waugh, Cate y Nelson (1972), tomando las medias de los rendimientos obtenidos en todos los tratamientos. La descripción del modelo propuesto por estos autores se ofrece en el Anexo 5.

En el experimento 5 se realizaron análisis de regresiones entre el porcentaje de colonización micorrízica de la canavalia en los tratamientos inoculados y el P disponible en el suelo y entre el índice de eficiencia de la colonización micorrízica de la canavalia y el índice de eficiencia de los rendimientos en masa seca de la canavalia con el número de esporas en el suelo. El modelo de mejor ajuste (mayor coeficiente de determinación,

$R^2$  y el error estándar de la estimación,  $Es\hat{y}$ ) se obtuvo a partir del programa Statgraphics Plus para Windows 5.1.

### **3.5. Análisis económico.**

La valoración económica de los resultados de los experimentos se realizó sobre la base de los tratamientos recomendados en los experimentos 3 y 5 y se evaluaron los siguientes indicadores (Trujillo y col., 2007):

- Valor de la producción (valor total de la producción en \$.  $ha^{-1}$ ): rendimiento del cultivo multiplicado por el precio de venta de una tonelada de producto.
- Costos de producción por hectárea (costo total en \$.  $ha^{-1}$ ): sumatoria de los gastos incurridos por la aplicación de los fertilizantes minerales y/o los biofertilizantes empleados y los abonos verdes más el costo de de preparación del suelo, cultivo y costo de la mano de obra.
- Ganancia (\$.  $ha^{-1}$ ): diferencia entre el valor de la producción y los costos de producción.
- Beneficio Económico (\$.  $ha^{-1}$ ): diferencia entre la ganancia del tratamiento analizado y la del tratamiento testigo
- Costo relativo del tratamiento (\$.  $ha^{-1}$ ): diferencia entre los costos del tratamiento analizado y los del tratamiento testigo
- Relación B/C: cociente obtenido de dividir el beneficio económico entre el costo relativo.

Valores de la relación B/C mayores a 1 indican el aporte de ganancia y un valor de 2 la obtención de un beneficio del 100 %. Valores de 3 o superiores corresponden a ganancias muy notables.

Los gastos de mano de obra se distribuyeron en función del tiempo utilizado en la atención que se le dio a cada tratamiento tomando como base la tarifa horaria (\$.hora<sup>-1</sup>), teniendo en cuenta la cantidad de personas y tiempo utilizado.

Para el cálculo de estos indicadores, se utilizó como información básica la ofrecida en la Tabla 8.

**Tabla 8. Valor de los diferentes insumos y costo de las actividades agrícolas en el empleo de abonos verdes y producción de maíz.**

	Unidad de medida	Valor	Referencia
<b>1) Precios de los fertilizantes minerales</b>			
Nitrato de amonio	\$. t <sup>-1</sup> (CUP)	257.36	MINAG (2007)
	\$. t <sup>-1</sup> (CUC)	240.36	
<b>2) Precios de venta de biofertilizantes</b>			
EcoMic <sup>®</sup> (HMA)	\$. kg <sup>-1</sup> (CUP)	2.50	Ficha de Costo EcoMic <sup>®</sup> (INCA, 2005)
<b>3) Costo de los abonos verdes</b>			
Preparación de suelo	\$. ha <sup>-1</sup> (CUP)	20.00	Listado Oficial de Precios de Servicios Agropecuarios (MINAG, 1999b)
Siembra		5.00	
Incorporación		20.00	
Total		45.00	
<b>4) Precios de las semillas adquiridas</b>			
Canavalia	\$. kg <sup>-1</sup> (CUP)	6.30	Instituto de Pastos y Forrajes (2002)
Maíz	\$. kg <sup>-1</sup> (CUP)	4.93	Resolución No 80/08 MINAG (MINAG, 2008)
<b>5) Tarifas de preparación de suelos y atenciones culturales del maíz</b>			
Rotura	\$. ha <sup>-1</sup> (CUP)	31.60	Listado Oficial de Precios de Servicios Agropecuarios (MINAG, 1999b)
Cruce		17.28	
Grada de 965 kg		4.80	
Surcar		17.28	
Siembra de maíz		56.21	
Atenciones culturales		14.75	
Total		141.92	
<b>6) Tarifa horaria de la mano de obra</b>	\$. hora <sup>-1</sup> (CUP)	2.4147	Resolución 3 – 2005 MTSS (2005)
<b>7) Precios de producto acopiado</b>			
Maíz	\$. kg <sup>-1</sup> (CUP)	3.74	Resolución No 161 – 2008 MFP (MFP, 2008)

Nota: \$1.00 CUC = \$25.00 CUP (BCC, 2009).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Experimento 1: Participación del nitrógeno de *Canavalia ensiformis* y del fertilizante mineral – N en la nutrición nitrogenada del maíz.

Se encontró una respuesta significativa de la masa seca del maíz a la aplicación de N (Tabla 9). Los mayores acumulados se alcanzaron con los tratamientos donde se combinaron las dos fuentes nitrogenadas y en el que se aplicó sólo en forma de canavalia, con incrementos significativos con respecto al testigo, durante las dos repeticiones del experimento.

El tratamiento que recibió el N sólo en forma mineral, si bien presentó un comportamiento superior al testigo no fertilizado, fue inferior a los tratamientos que recibieron parcial o totalmente el N en forma orgánica.

**Tabla 9. Efecto de las fuentes nitrogenadas estudiadas sobre la masa seca total del maíz (g por maceta).**

Tratamientos	1999							
	15 ddg	% Inc	30 ddg	% Inc	45 ddg	% Inc	60 ddg	% Inc
Fertilizante mineral – N	16.78 a	77.19	65.20 a	87.90	106.45 b	46.42	124.96 b	53.01
Canavalia	14.53 a	53.43	61.55 a	77.38	139.89 a	92.42	160.99 a	97.12
Canavalia + Fertilizante mineral – N	14.21 a	50.05	81.16 a	133.89	138.98 a	91.17	169.41 a	107.43
Testigo	9.47 b		34.70 b		72.70 c		81.67 c	
Es $\chi$	0.94 *		6.43 *		6.21 *		2.70 *	
	2000							
Fertilizante mineral – N	16.79 a	131.91	52.91 b	73.87	86.82 a	53.31	121.67 a	78.82
Canavalia	11.83 b	63.40	49.74 b	63.46	90.62 a	60.02	132.17 a	94.25
Canavalia + Fertilizante mineral – N	13.66 b	88.67	67.30 a	121.16	98.16 a	73.34	143.59 a	111.04
Testigo	7.24 c		30.43 c		56.63 b		68.04 b	
Es $\chi$	0.63 *		2.09 *		5.99 *		7.45 *	

\*Medias con letras distintas en la misma columna dentro de cada año difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). ddg: días después de la germinación. Fertilizante mineral  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  % Inc: porcentaje de incremento con respecto al testigo.

La canavalia influyó de forma positiva en el crecimiento del maíz, al obtenerse resultados significativamente superiores al tratamiento que sólo recibió fertilizante mineral nitrogenado a partir de los 45 días después de la germinación, durante el primer año evaluado. Durante el segundo año, los tratamientos que recibieron N fueron similares entre sí y superiores al testigo, lo cual demuestra como el abono verde incorporado al suelo contribuyó a la mayor productividad en masa seca del maíz, para iguales cantidades de N total aplicado en forma de fertilizante mineral.

Acerca del uso de mezclas de fuentes orgánicas y minerales de nitrógeno se plantea que es una práctica de manejo empleada para preservar la calidad del ambiente sin prescindir

de la obtención de altos rendimientos agrícolas. Los fertilizantes minerales aceleran la descomposición y mineralización de los restos vegetales añadidos al suelo, suministran N disponible para el cultivo y probablemente de esta forma las plantas de maíz tienen una mayor disponibilidad de N durante la etapa del ciclo de vida estudiada (Siqueira y Franco, 1988), así se evita la competencia entre plantas y microorganismos por este elemento (Boddey y col., 1997).

Esta influencia positiva de los abonos verdes sobre el cultivo del maíz ya ha sido encontrada por Araujo y de Almeida (1993) y Álvarez (2000). Además, Collier y col. (2006) y Cherr y col. (2006) plantearon que el maíz alcanzó el mayor desarrollo vegetativo al combinar el empleo de abonos verdes con dosis medias de fertilizante mineral, debido a una liberación más gradual del N y de los otros nutrientes que aporta la canavalia (Arf y col., 1999).

Al analizar la absorción de N que realizó el cultivo (Tabla 10), se observó que en los dos años de ejecutado el experimento, los tratamientos que recibieron la aplicación de fuentes nitrogenadas fueron los que efectuaron las mayores extracciones del elemento con respecto al testigo. Durante el primer año, el tratamiento que combinó las dos fuentes nitrogenadas presentó los mayores acumulados de extracción del elemento a partir de los 30 días después de la germinación.

**Tabla 10. Efecto de las fuentes nitrogenadas en estudio sobre la extracción total de N por el maíz (mg por maceta).**

Tratamientos	1999							
	15 ddg	log (x)	30 ddg	log (x)	45 ddg	log (x)	60 ddg	log (x)
Fertilizante mineral – N	345.51 a		432.12 b		535.82 b		633.12 b	
Canavalia	291.96 b		433.14 b		538.17 b		663.99 b	
Canavalia + Fertilizante mineral – N	307.52 b		572.21 a		689.00 a		779.82 a	
Testigo	194.46 c		251.95 c		399.93 c		502.84 c	
Es $\chi$	5.76 *	**	6.05 *	**	8.93 *	**	9.51 *	**
	2000							
Fertilizante mineral – N	395.22	5.98 a	581.71 a	6.36 b	622.84 a	6.42 a	636.94	6.46 a
Canavalia	242.57	5.48 b	575.66 a	6.35 b	621.54 a	6.43 a	683.89	6.53 a
Canavalia + Fertilizante mineral – N	325.76	5.78 ab	706.53 a	6.56 a	723.92 a	6.58 a	747.42	6.61 a
Testigo	160.51	5.06 c	363.93 b	5.90 c	382.87 b	5.94 b	408.14	5.99 b
Es $\chi$		0.09 *		0.65 *		0.08 *		0.06 *

\*Medias con letras distintas en la misma columna dentro de cada año difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). ddg: días después de la germinación. Fertilizante mineral  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  \*\* Las variables cumplieron los supuestos del análisis de varianza y no se transformaron.

La acumulación de N en los tejidos de maíz en los tratamientos con incorporación de canavalia fue semejante a los contenidos de N acumulados en el tratamiento con

aplicación de N mineral después de los 45 días de la germinación, lo que demostró la eficiencia en el suministro de este nutriente por la canavalia. En coincidencia con este resultado, Rivera y col. (1999) plantearon que esta especie mineralizó rápidamente en condiciones de altas temperaturas y humedad, debido a su baja relación C:N.

Por otra parte, Salamanca y col. (2004) al estudiar seis especies de abonos verdes señalaron que estos acumularon en su biomasa vegetal varios elementos esenciales, además de N, y al igual que otros abonos orgánicos enterrados, redujeron en cierto grado la acidez del suelo, la movilidad del Al, elevaron la capacidad de absorción de nutrientes, la retención de humedad, la infiltración del agua y mejoraron la estructura del suelo, factores que se combinan para mejorar las condiciones de crecimiento de las plantas.

En la Tabla 11 se muestra el porcentaje de N derivado de las fuentes bajo estudio en las plantas de maíz.

**Tabla 11. Influencia de las fuentes nitrogenadas en estudio sobre el porcentaje de N derivado de las mismas en las plantas de maíz (%).**

Tratamientos	1999			
	15 ddg	30 ddg	45 ddg	60 ddg
Fertilizante mineral – N	29.27	26.68 b	16.73 b	16.01 b
Canavalia	20.98	32.00 b	19.44 b	15.58 b
Canavalia + Fertilizante mineral – N	27.60	42.29 a	28.58 a	27.20 a
Es $\chi$	2.78 n.s.	1.60 *	1.78 *	1.54 *
	2000			
Fertilizante mineral – N	25.86	25.73	28.54	31.80 b
Canavalia	28.11	30.20	30.39	39.57 a
Canavalia + Fertilizante mineral – N	30.57	27.66	31.30	36.85 ab
Es $\chi$	3.55 n.s.	2.15 n.s.	1.90 n.s.	1.75 *

\*Medias con letras distintas en la misma columna dentro de cada año difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). ddg: días después de la germinación. Fertilizante mineral  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Al analizar las proporciones del N derivado de las fuentes, se evidenció una participación menor del 50 % de estas en el contenido total de la planta en todos los tratamientos.

Al comparar los tratamientos entre sí, se evidenció durante el primer año, que a partir de los 30 días después de la germinación, el tratamiento combinado tuvo una mayor participación en la nutrición de las plantas que al aplicar las fuentes nitrogenadas mineral y orgánica por separado. Durante el segundo año, esta diferenciación se observó a los 60 días después de la germinación.

Es posible que este resultado se debió a que el fertilizante mineral durante 1999 realizó una hidrólisis del nutriente mucho más rápida que en el 2000, en correspondencia con las mayores precipitaciones del primer año (309 mm en el 1999 y 136 mm en el 2000, Figura 2, acápite 3.1) pues, aunque se aplicó riego controlado, las macetas estaban al aire libre y recibieron toda la lluvia caída durante la etapa experimental y también debido a esto se pudo presentar pérdidas del nutriente.

Según de Alcántara y col. (2000) este comportamiento tiene importancia en los suelos donde se cultiva el maíz pues la aplicación de dosis bajas o medias de una fuente nitrogenada (orgánica o mineral) hará que se movilice el N presente en el suelo y de esta forma se puede hacer un uso más eficiente del elemento en el sistema.

En coincidencia con los resultados obtenidos, González y col. (1992) plantearon que más de la mitad del N que absorbe el maíz proviene del suelo. Resultados similares han sido encontrados por Bowen y col. (1993) los cuales no encontraron valores del porcentaje de N en la planta derivado del fertilizante mayores del 40 %.

El coeficiente de aprovechamiento del N, determinado por el método isotópico se ofrece en la Tabla 12.

**Tabla 12. Efecto de las fuentes nitrogenadas en estudio sobre el coeficiente de aprovechamiento del N realizado por el cultivo de maíz, determinado por el método isotópico (%).**

Tratamientos	1999			
	15 ddg	30 ddg	45 ddg	60 ddg
Fertilizante mineral – N	20.18 a	23.09 b	17.87 b	20.32 b
Canavalia	12.20 b	27.74 b	20.86 b	20.67 b
Canavalia + Fertilizante mineral – N	16.94 ab	48.41 a	39.34 a	42.52 a
Es $\chi$	1.62 *	1.80 *	1.70 *	2.55 *
	2000			
Fertilizante mineral	20.56	29.92 b	35.00 b	40.61 b
Canavalia	13.38	34.41 ab	37.80 ab	50.17 a
Canavalia + Fertilizante mineral – N	19.81	38.92 a	45.33 a	55.15 a
Es $\chi$	2.25 n.s.	1.87 *	2.78 *	2.94 *

\*Medias con letras distintas en la misma columna dentro de cada año difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). ddg: días después de la germinación. Fertilizante mineral  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

El tratamiento que mejor comportamiento tuvo a los 15 ddg y durante el primer año de realizado el experimento, fue el correspondiente a la aplicación del fertilizante mineral, aunque sin diferencias con el tratamiento que combinó las dos fuentes de N y explicable

debido a la alta velocidad de hidrólisis de las fuentes en forma mineral y por lo tanto, una mayor disponibilidad del N en los momentos iniciales.

A partir de los 30 ddg, el tratamiento que empleó la combinación de ambas fuentes nitrogenadas presentó un aprovechamiento significativamente superior, incluso con un comportamiento muy elevado con respecto al tratamiento que recibió todo el N en forma orgánica.

En el año 2000, a los 15 ddg, no se encontraron diferencias en el coeficiente de aprovechamiento entre las fuentes nitrogenadas en estudio pero ya después de los 30 ddg, el tratamiento que combinó ambas fuentes fue superior al fertilizante mineral y sin diferencias con el que recibió todo el N en forma de canavalia.

El favorable comportamiento del tratamiento que recibió el N en forma combinada, orgánica y mineral, pudo deberse porque al parecer la interacción entre las dos fuentes provocó una disponibilidad del N superior, durante un intervalo de tiempo más largo y aumentó la capacidad de absorción del elemento por las plantas.

Diversos autores han estudiado el efecto de los abonos verdes en la nutrición del maíz mediante coeficientes de aprovechamiento, determinados por el método isotópico, que variaron entre 30 % y 72 %, (Rivera y Urquiaga, 1995; Crozier y col., 1998; Álvarez, 2000; Urquiaga y Zapata, 2000; Coulet y col., 2001; Muraoka y col., 2002). Según Pozzi (2005) este valor dependió de las relaciones tallo:hoja y C:N de las plantas empleadas y de las condiciones de manejo, los que determinaron la velocidad de mineralización del N de los abonos verdes y que su absorción tuviera lugar en el momento de mayor demanda del cultivo.

En coincidencia con esto, Treto y col. (2001); Mandal y col. (2003); Milkha y col. (2004); Balkcom y Reeves (2005) y Muraoka y col. (2006) han estudiado la interacción entre la fertilización mineral y los abonos verdes e informaron que se obtuvieron ahorros entre 25 – 75 % del fertilizante nitrogenado e incluso una sustitución total del mismo, en dependencia del tipo de cultivo, rendimientos, el suelo y su fertilidad (Reinbott y col., 2004).

Los coeficientes de aprovechamiento del N obtenidos por el método de las diferencias fueron superiores a los alcanzados por el método isotópico, con mejores resultados en el tratamiento que combinó las dos fuentes nitrogenadas durante el primer año de estudios,

aunque a partir de los 45 ddg, durante el segundo año, no se encontraron diferencias entre los tratamientos. La variable analizada alcanzó valores que oscilaron entre un 55 % y un 68 % (Tabla 13).

Varios autores han encontrado coeficientes de aprovechamiento del N proveniente de los abonos verdes por el maíz, determinados por el método de las diferencias que oscilaron entre 17 % – 73 % (Ehalotis y col., 1998; Vanlauwe y col., 2000; da Silva, 2005; Candle, 2006; Bajjukya y col., 2006) y plantearon que dependieron de la relación C:N del vegetal incorporado, volumen del mismo, textura, biomasa microbiana del suelo y de las condiciones de temperatura y humedad existentes.

**Tabla 13. Efecto de las fuentes nitrogenadas en estudio sobre el coeficiente de aprovechamiento del N realizado por el cultivo del maíz, calculado por el método de las diferencias (%).**

Tratamientos	1999			
	15 ddg	30 ddg	45 ddg	60 ddg
Fertilizante mineral – N	30.21 a	36.03 b	27.18 b	26.06 b
Canavalia	19.50 b	36.24 b	27.65 b	32.23 b
Canavalia + Fertilizante mineral – N	22.61 b	64.05 a	57.81 a	55.40 a
Es $\chi$	1.36 *	1.38 *	1.71 *	2.99 *
	2000			
Fertilizante mineral – N	46.94 a	43.56 b	47.99	45.76
Canavalia	16.41 b	42.35 b	47.73	55.15
Canavalia + Fertilizante mineral – N	33.05 ab	68.52 a	68.21	67.86
Es $\chi$	6.17 *	5.41 *	8.38 n.s.	7.26 n.s.

\*Medias con letras distintas en la misma columna dentro de cada año difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). ddg: días después de la germinación. Fertilizante mineral  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Por su parte, Rivera (1994) encontró coeficientes de aprovechamiento que oscilaron entre 42 y 72 % para las especies de abonos verdes *Canavalia ensiformis*, *Mucuna aterrimum* y *Crotalaria juncea*. Los mayores valores de coeficiente de aprovechamiento se obtuvieron por el método de las diferencias, en comparación a los obtenidos por el método isotópico. En este experimento se alcanzó un aprovechamiento del 68 % por el método de las diferencias y un recobrado del 52 % por el método isotópico, lo que indicó que pudo haber existido efecto *primming*.

Por otra parte, Rivera (1999) planteó que la fertilización nitrogenada influye positivamente sobre la movilización del N del suelo, además Muraoka y col. (2002) informaron de forma similar que encontraron efecto *primming* con el uso de los abonos verdes *Crotalaria juncea* y *Mucuna aterrimum*.

El hecho de que el tratamiento combinado presentó mayor aprovechamiento del N que el tratamiento que solo recibió canavalia fue un indicativo de que pequeñas dosis de fertilizantes minerales intensifican la mineralización y posterior utilización del N de los abonos verdes por los cultivos.

En este experimento se obtuvo una alta eficiencia en la utilización del N si se compara con los valores usuales reportados, que oscilan entre un 30 – 50 % (Urquiaga y Zapata, 2000), aunque pueden llegar a ser superiores en condiciones muy favorables para el cultivo (Stewart, 2007).

Este resultado no fue ajeno a las condiciones experimentales, ya que las plantas que crecen en macetas, tienen a su disposición un pequeño volumen de suelo y realizan una mayor extracción por volumen de suelo que las plantas crecidas en campo abierto (Battle y col., 1994), por lo que deben hacer una extracción mayor del N aplicado.

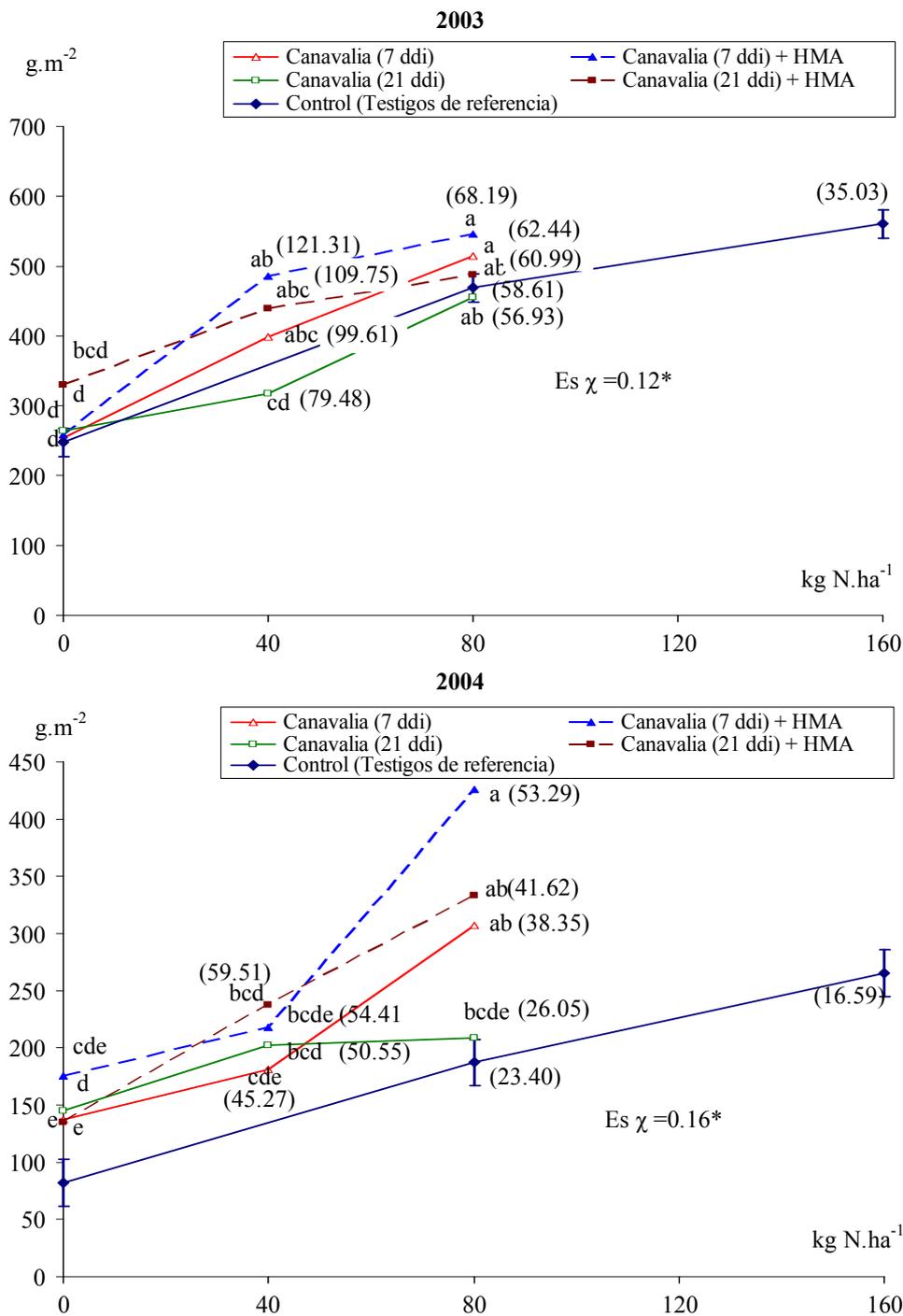
La alta eficiencia en la absorción del N de la canavalia se debió a la baja relación C:N de esta especie (de Resende y col., 2001), que al ser incorporada en condiciones de altas temperaturas y humedad adecuada, favoreció la rápida mineralización del N y garantizó una disponibilidad apropiada del nutriente para las plantas de maíz.

El análisis integral de los resultados de este experimento indicó que la combinación de abonos verdes (canavalia) y fertilizante mineral nitrogenado garantizó un suministro de N más efectivo para el maíz que al aportar el N sólo en forma de fertilizante mineral.

El N proveniente de los abonos verdes representó un porcentaje importante del suministro de N para el maíz, al sustituir no sólo parte del fertilizante mineral nitrogenado dentro del esquema estudiado, sino que incrementó la masa seca y absorción de N por el cultivo.

#### **4.2. Experimento 2: Efectos del abono verde, la inoculación micorrízica y dosis de fertilizante – N sobre la nutrición nitrogenada del maíz.**

Al analizar el resultado de los tratamientos sobre el rendimiento en masa seca de las plantas de maíz (Figura 3), primeramente se puede observar una respuesta del cultivo a la fertilización nitrogenada, que se manifestó por el incremento del valor de la variable analizada a medida que se aumentó la dosis de fertilizante mineral en los tratamientos de referencia. Los mayores resultados se alcanzaron en el tratamiento de 160 kg N.ha<sup>-1</sup>, durante los dos años de efectuado el experimento.



**Figura 3: Influencia de la fertilización nitrogenada, la inoculación micorrízica y el período de sincronía entre la incorporación de canavalia y la siembra del cultivo principal sobre la masa seca total del maíz (60 ddd).** \*Medias con letras distintas difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). ddi: días después de la incorporación de la canavalia. HMA: a base de *Glomus hoi* – like. Fertilizante mineral  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Número entre paréntesis: Factor Parcial de Productividad para las dosis de fertilizante mineral aplicadas (kg de masa seca por kg N aplicado). Barras verticales: Intervalo de confianza de los testigos de referencia.

Los tratamientos con abono verde reflejaron la interacción entre los factores en estudio, dosis de fertilizante, período de sincronía e inoculación micorrízica. En ellos se observó un aporte importante de la canavalia y de la inoculación micorrízica sobre la producción de masa seca del maíz, al disminuir los requerimientos de fertilizante nitrogenado del maíz inoculado con una cepa eficiente de HMA para obtener los mayores índices de la variable analizada, con un período de sincronía de 7 días.

Los rendimientos en masa seca obtenidos con la aplicación de canavalia, inoculación micorrízica del maíz y bajas dosis complementarias de fertilizante mineral fueron incluso superiores al tratamiento que recibió  $160 \text{ kg N.ha}^{-1}$  sin canavalia y sin HMA, lo cual indicó, no sólo un efecto de sustitución del fertilizante mineral con el suministro de N por parte de la canavalia y mejora de la eficiencia de la absorción del nutriente en presencia de la inoculación micorrízica, sino posiblemente una mejora cualitativamente superior en la nutrición del maíz.

En cualquiera de los dos años se encontró este efecto positivo de la aplicación conjunta de canavalia e inoculación micorrízica del maíz sobre la disminución de los requerimientos de fertilizante N del maíz, en el año 2003 este efecto se encontró con  $40 \text{ kg N.ha}^{-1}$  y en el 2004 fue a  $80 \text{ kg N.ha}^{-1}$ , aunque es importante destacar que en este último los rendimientos obtenidos fueron muy superiores.

El factor parcial de productividad ( $\text{kg de masa seca kg}^{-1} \text{ N aplicado}$ ) reflejó asimismo incrementos por la acción combinada del abono verde y de la inoculación micorrízica, pasando de 16 a 35 para las dosis de  $160 \text{ kg N.ha}^{-1}$ , a valores de 50 – 68 para el tratamiento combinado de canavalia y HMA con  $80 \text{ kg N.ha}^{-1}$  y de 60 – 120 para el tratamiento combinado de canavalia y HMA con  $40 \text{ kg N.ha}^{-1}$ .

Es de destacar como el empleo combinado de la canavalia y siembra del maíz a los siete días después de la incorporación del abono verde, de conjunto con la inoculación micorrízica de este cultivo con una cepa eficiente, elevó los rendimientos en masa seca y disminuyó las dosis de fertilización mineral nitrogenada con respecto a la dosis de  $160 \text{ kg N.ha}^{-1}$ , en consonancia no sólo con los resultados del experimento 1, sino indicando el efecto de la simbiosis micorrízica sobre la absorción de nutrientes.

Las diferencias encontradas entre las dosis complementarias y en el factor parcial de productividad en los dos años pudieron deberse a la incidencia de las lluvias (Figura 2,

acápite 3.1), que fueron diferentes y al ser menores, afectaron el crecimiento y desarrollo del maíz durante el 2004.

En relación con esto, Stewart (2007) planteó que el rendimiento en la mayoría de los cultivos es específico del sitio y época del año y dependen del cultivar, prácticas de manejo y clima. Además, Yadav y col. (2000) expresaron que el factor parcial de productividad provee información útil acerca de la eficiencia de las fuentes de nutrientes empleadas y encontraron que los abonos verdes aumentaron significativamente este indicador en comparación con los fertilizantes minerales.

Según estos autores, los cambios en ese indicador están en correspondencia con los rendimientos y dependen, entre otros factores, de las variaciones del N asimilable en el suelo y por deficiencias en microelementos que afectan esta disponibilidad.

En este experimento, los altos valores del factor parcial de productividad en presencia del abono verde, HMA y dosis inferiores de fertilizante mineral indicó un aumento en la eficiencia en el uso de los nutrientes, lo que puede resultar en un menor potencial de pérdidas de estos al ambiente.

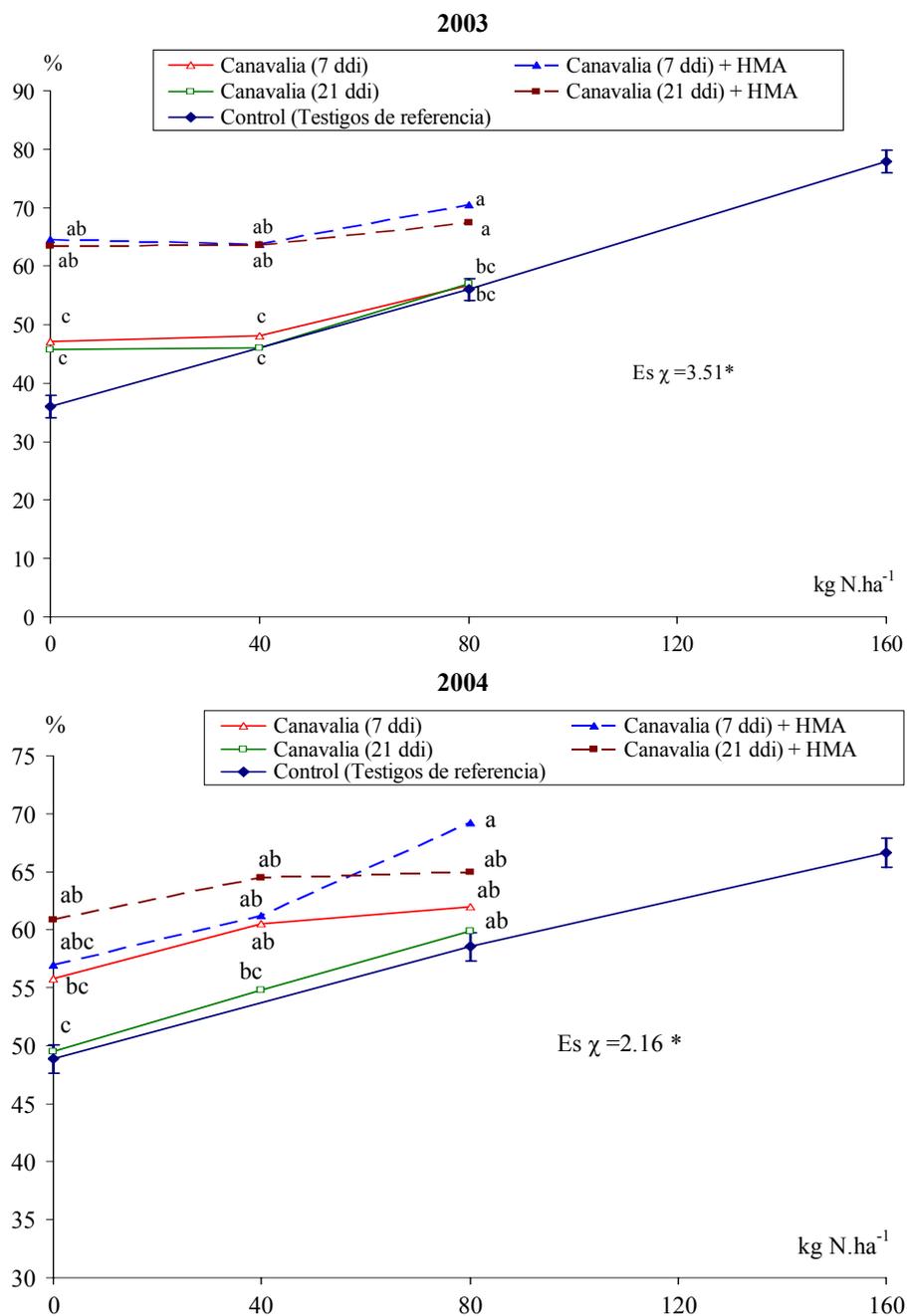
En correspondencia con esto Gordon y col. (1993) plantearon que al utilizar canavalia en sucesión con el maíz encontraron una respuesta positiva por el efecto residual de las leguminosas, al obtener incrementos en el crecimiento del maíz en comparación al testigo. Por su parte, Dravka y col. (1999) plantearon que el efecto de la canavalia sobre el maíz se reflejó en el aumento de la masa seca del cultivo económico.

Al analizar la colonización micorrízica del maíz en los tratamientos con canavalia (Figura 4), se encontró interacción entre los factores en estudio, con respuesta del maíz a la inoculación y mejor comportamiento a los 7 días, con dosis de 40 y 80 kg N.ha<sup>-1</sup>.

En relación con esto, Bajwa y col. (2002) han reportado un incremento del funcionamiento de los HMA por la incorporación de los abonos verdes *Trifolium alexandrianum* y *Melilotus parviflora* pues el aporte de materia orgánica que estos producen, favoreció el desarrollo de los HMA nativos presentes en el suelo.

En otros estudios, Sánchez (2001) encontró que el empleo de abonos verdes provocó una multiplicación de propágulos de HMA nativos en el suelo, sin embargo, al inocular con cepas eficientes al cultivo posterior, verificó una respuesta de las plantas a la

inoculación, reflejada en un mayor crecimiento, colonización micorrízica y contenido de nutrientes.



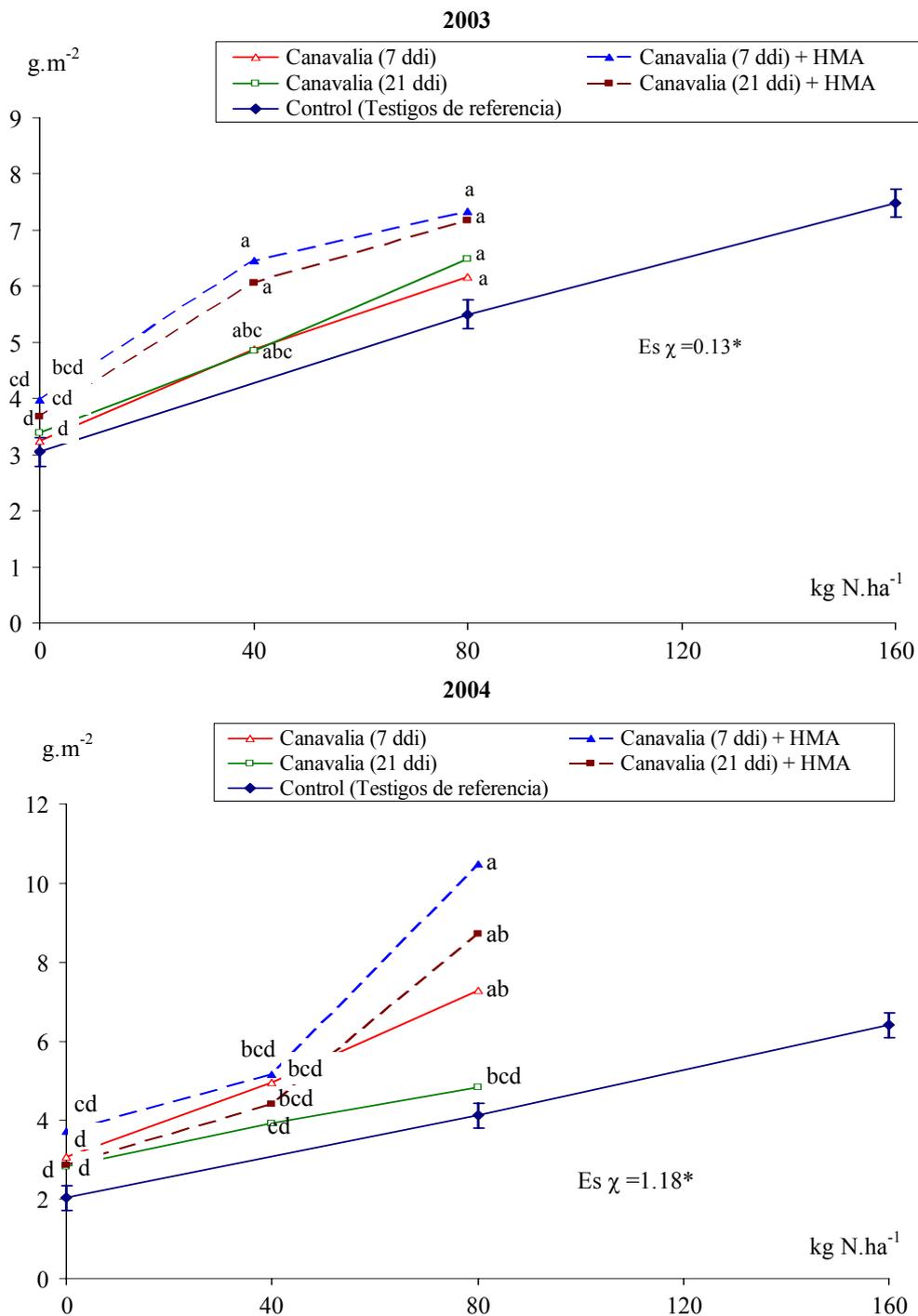
**Figura 4: Influencia de la fertilización nitrogenada, la inoculación micorrízica y el período de sincronía entre la incorporación de canavalia y la siembra del cultivo principal sobre la colonización micorrízica del maíz (60 ddg).** \*Medias con letras distintas difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). ddi: días después de la incorporación de la canavalia. HMA: a base de *Glomus hoi* – like. Fertilizante mineral  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Barras verticales: Intervalo de confianza de los testigos de referencia.

Por otra parte, la colonización micorrízica en los tratamientos sin abono verde, sin inoculación con HMA y con fertilizante mineral fue alta, esto pudo estar dado por el elevado número inicial de esporas de HMA encontrado en el suelo de las microparcels (Tabla 1, acápite 3.1) y debió ser resultante de inoculaciones micorrízicas realizadas anteriormente en ese suelo y que provocaron la colonización del maíz, aunque, en este caso, la canavalia no creció previamente en ese suelo y por tanto no influyó su efecto reproductor de propágulos nativos, encontrado en otros estudios (Espíndola y col., 1998; de Souza y col., 1999).

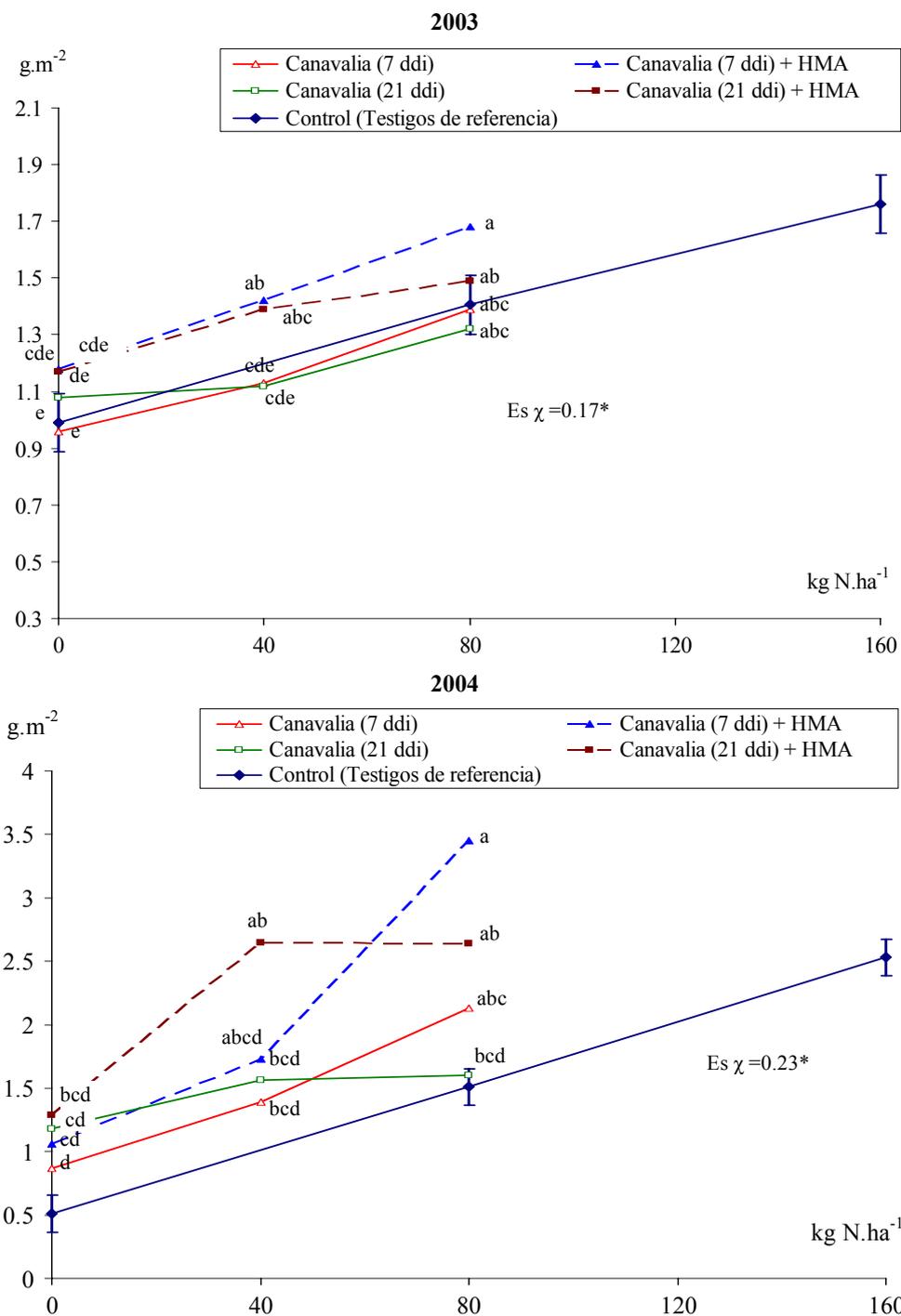
En las figuras 5, 6 y 7 se presentan la extracción total de nutrientes realizada por las plantas de maíz, con estas variables se encontró interacción entre los factores en estudio. Las plantas de maíz aprovecharon mejor el suministro de nutrientes del abono verde si los períodos de sincronía incorporación – siembra fueron sólo de 7 días, lo que indicó que con el mayor intervalo (21 días) ocurrió un menor aprovechamiento debido posiblemente a una rápida mineralización del N y una posible pérdida de nutrientes del sistema por lavado u otras causas.

El comportamiento de la extracción de N fue similar al observado para la masa seca, al evaluar la respuesta de las plantas a la influencia del abono verde, la inoculación micorrízica y el efecto del menor período de sincronía incorporación – siembra sobre la absorción de N, con incrementos en la absorción de N por la utilización del abono verde y la inoculación micorrízica, obteniéndose los mayores valores absolutos con los menores intervalos entre la incorporación del abono verde y la siembra del maíz. En el año 2003 las mayores extracciones se obtuvieron con  $40 \text{ kg N.ha}^{-1}$  y que se elevaron a  $80 \text{ kg N.ha}^{-1}$  durante el 2004, en consonancia no sólo con los resultados de masa seca (Figura 4) sino con el importante incremento en la extracción de N que ocurrió en el segundo año.

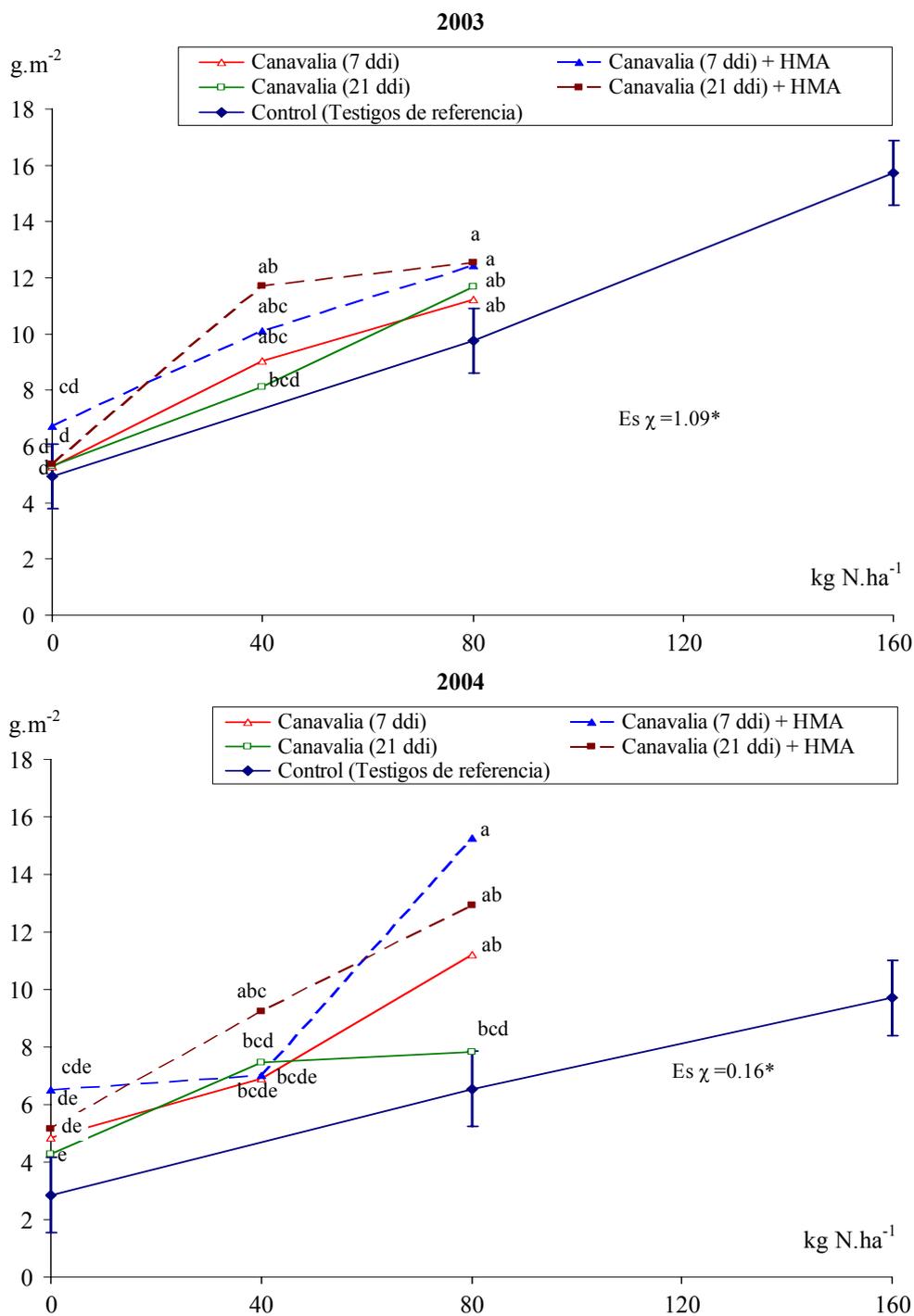
Las plantas que crecieron en presencia de canavalia tuvieron las mayores extracciones de P y K, asociadas con la aplicación de abono verde a los 7 días, con el maíz inoculado y dosis de N entre  $40$  y  $80 \text{ kg N.ha}^{-1}$ , durante los años estudiados. Sin embargo, los tratamientos que no recibieron canavalia tuvieron un comportamiento inferior, excepto la absorción de P durante el 2003, que fue semejante a los tratamientos con aplicación de canavalia.



**Figura 5: Influencia de la fertilización nitrogenada, la inoculación micorrízica y el período de sincronía entre la incorporación de canavalia y la siembra del cultivo principal sobre la extracción de nitrógeno por el maíz. Edad de las plantas: 60 días. \*Medias con letras distintas difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). ddi: días después de la incorporación de la canavalia. HMA: a base de *Glomus hoi* – like. Fertilizante mineral  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Barras verticales: Intervalo de confianza de los testigos de referencia.**



**Figura 6: Influencia de la fertilización nitrogenada, la inoculación micorrízica y el período de sincronía entre la incorporación de canavalia y la siembra del cultivo principal sobre la extracción de fósforo por el maíz. Edad de las plantas: 60 días. \*Medias con letras distintas difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). ddi: días después de la incorporación de la canavalia. HMA: a base de *Glomus hoi* – like. Fertilizante mineral  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Barras verticales: Intervalo de confianza de los testigos de referencia.**



**Figura 7: Influencia de la fertilización nitrogenada, la inoculación micorrízica y el período de sincronía entre la incorporación de canavalia y la siembra del cultivo principal sobre la extracción de potasio por el maíz. Edad de las plantas: 60 días. \*Medias con letras distintas difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). ddi: días después de la incorporación de la canavalia. HMA: a base de *Glomus hoi* – like. Fertilizante mineral  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Barras verticales: Intervalo de confianza de los testigos de referencia.**

Estos resultados coincidieron con los encontrados por Sangakkara y col. (2004), quienes plantearon que el uso combinado de *Crotalaria juncea* y *Tithonia diversifolia* como abonos verdes y dosis bajas de fertilizantes minerales provocaron que las plantas de maíz realizaran las mayores extracciones de NPK y alcanzaran los mejores rendimientos.

Okito y col. (2004) han encontrado que con el empleo de *Mucuna pruriens* como abono verde, la absorción del N por el cultivo del maíz fue alta debido principalmente a que los nutrientes provenientes de las leguminosas estuvieron disponibles durante la mayor parte del desarrollo fenológico del cultivo.

En coincidencia, Gamper y col. (2005) y Bucher (2007) plantearon que una alta colonización con HMA favoreció la nutrición mineral de las plantas hospederas pues aumentó la superficie de absorción radical y la exploración del suelo.

Por su parte, Sangakkara y Nissanka (2003) demostraron la importancia del período de sincronía incorporación – siembra del cultivo posterior, al obtener los mayores coeficientes de aprovechamiento del N por el maíz mientras más rápida fue su siembra, resultado que coincidió con el obtenido en este experimento.

La especie empleada en este experimento, canavalia, tiene una relación C:N entre 20 – 25 y esto, unido a que las plantas al ser incorporadas estaban molinadas, provocó que su velocidad de mineralización fuera alta, tal y como ha sido informada por Vigil (2001).

En este experimento, con un período de sincronía entre la incorporación de canavalia y la siembra de maíz de 7 días se presentaron efectos superiores que a los 21 días, debido a que el maíz debió realizar un mayor aprovechamiento del N, aunque hay que tener en cuenta que el estado físico del abono verde (seco y molinado) debe cambiar la dinámica de descomposición del material vegetal y mineralización del N con respecto a esa misma especie al ser incorporada en condiciones de producción.

Varios autores han demostrado la influencia de la relación tallos:hojas en el comportamiento de la velocidad de mineralización de los abonos verdes. Con relaciones menores de uno hay un predominio de las hojas, por lo que ocurre una rápida mineralización, como consecuencia de su baja relación C:N (Fox y col., 1990; Palm y Sánchez, 1991; de Resende y col., 2001).

Por su parte, García (1997) al trabajar con períodos de sincronía superiores a los 45 días, encontró que la utilización de especies con relación tallo:hojas mayores que la canavalia resultaron más adecuadas como abono verde precedente de los cultivos en el verano, mientras que en condiciones invernales, con una velocidad de mineralización menor, resultó más apropiada la canavalia, aún cuando se mantuvo en 45 días el período entre la incorporación y la siembra.

Este fenómeno fue explicable porque en condiciones de verano, con altas temperaturas y humedad, la utilización de largos períodos entre la incorporación de la canavalia y la siembra del cultivo, conllevaron a una falta de concordancia o sincronía entre la disponibilidad del N mineralizado y el ritmo de absorción del maíz.

El análisis de los anteriores resultados estableció que hubo una influencia positiva del abono verde sobre el maíz, al sustituirse parte del N mineral, por no existir diferencias entre los tratamientos con fertilización química y los tratamientos que combinaron abonos verdes y dosis menores del fertilizante.

Además, se evidenció la necesidad de la inoculación micorrízica en estas condiciones, pues en todos los tratamientos hubo un mejor comportamiento de las variables analizadas al inocular las plantas de maíz con una cepa eficiente para este tipo de suelo.

Por otra parte, hay que tener en cuenta el período de sincronía incorporación del abono verde – siembra del cultivo principal, para lograr un mejor aprovechamiento del N suministrado por la canavalia, que, con una baja relación C:N en su composición química y en presencia de altas temperaturas y humedad del suelo, mineralizó rápidamente sus nutrientes.

### **4.3. Experimento 3: Manejo de *Canavalia ensiformis*, la inoculación micorrízica y la fertilización mineral nitrogenada en el maíz.**

#### **4.3.1 Evaluación del crecimiento de la canavalia y de las arvenses del barbecho**

Los resultados del análisis del material vegetal incorporado: canavalia y la vegetación natural del barbecho en las secuencias estudiadas, se observan en la Tabla 14.

**Tabla 14. Crecimiento en masa seca y contenido de nutrientes presentado por la canavalia y las plantas crecidas en las parcelas dejadas en barbecho. Plantas con 60 días de edad.**

Años	Tratamientos	Masa seca (t.ha <sup>-1</sup> )	Contenido de nutrientes					
			N		P		K	
			(kg . ha <sup>-1</sup> )	log (x)	(kg . ha <sup>-1</sup> )	log (x)	(kg . ha <sup>-1</sup> )	log (x)
2003	Barbecho	3.67 b	89.59	4.48 b	12.57 b		98.50	1.99 b
	<i>Canavalia ensiformis</i>	9.76 a	291.25	5.61 a	31.53 a		241.67	2.36 a
	Esx	1.67*		0.18 *	4.06*	**		0.07 *
2006	Barbecho	3.62 b	32.44	3.42 b	6.22	1.76 b	81.56	4.34
	<i>Canavalia ensiformis</i>	8.52 a	130.13	4.78 a	17.52	2.79 a	124.94	4.74
	Esx	1.03 *		0.14 *		0.14 *	.	0.15 n.s.

\*Medias con letras distintas en la misma columna dentro de cada año, difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). Barbecho: suelo en descanso por dos meses. \*\* Las variables cumplieron los supuestos del análisis de varianza y no se transformaron.

La cantidad de masa seca y los contenidos de nutrientes de los tratamientos con incorporación de barbecho y canavalia mostraron que el abono verde fue superior a la vegetación natural en los dos años estudiados.

En relación con este resultado, Espíndola y col. (1997) plantearon que la temperatura y la distribución de lluvias ejercieron una influencia directa en los procesos metabólicos de los abonos verdes y en el crecimiento y desarrollo de los mismos.

La canavalia es una especie tropical, que produce abundante fitomasa seca y realiza una alta FBN, fundamentalmente en la época de lluvias y altas temperaturas. En las condiciones de Cuba, de manera general se destaca por hacer un aporte de N al sistema superior a los 100 kg. N.ha<sup>-1</sup> (Álvarez, 2000; Treto y col., 2001).

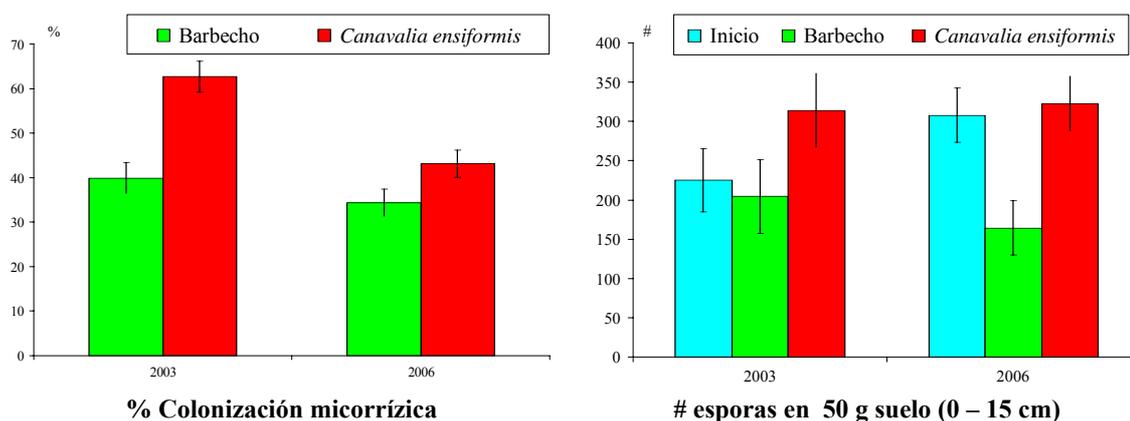
En ese sentido, al evaluar los nutrientes contenidos en los abonos verdes y en la vegetación natural, Espíndola y col. (1998) informaron que especies como canavalia, acumularon mucho más N que otras especies de plantas no leguminosas del barbecho y sugirieron que se debió a la mayor fitomasa aérea producida por las leguminosas y a la FBN. Este proceso, en presencia de condiciones propicias para el crecimiento, conlleva a un mayor desarrollo aéreo y radical, lo que implica una mayor exploración del suelo y si la disponibilidad de elementos lo permite, aumenta la absorción de estos, en dependencia de la capacidad de extracción de las raíces.

Por otro lado, Urquiaga y Zapata (2000) consideraron que algunas especies de leguminosas tropicales utilizadas como abono verde, como *Crotalaria juncea*,

*Canavalia ensiformis* y *Mucuna deeringiana* pueden hacer una acumulación de hasta 1 kg N.ha<sup>-1</sup>. día<sup>-1</sup> hasta los 60 – 70 días de crecimiento. En el caso de la canavalia, hasta el 96 % de este N proviene de la FBN, cuantificado por el método de la abundancia natural de <sup>15</sup>N.

En este experimento se presentó una acumulación entre 2.17 – 4.85 kg N.ha<sup>-1</sup>. día<sup>-1</sup> lo cual demuestra las potencialidades de este abono verde en el reciclaje, fijación de N y por lo tanto, sustitución de fertilizantes minerales en los sistemas agrícolas en cortos períodos de tiempo.

Sin embargo, se observaron diferentes contenidos de N, P y K en los tejidos foliares de la canavalia durante los dos años estudiados. Este resultado puede tener relación con la colonización micorrízica de la canavalia (Figura 8).



**Figura 8. Comportamiento de algunos indicadores de la simbiosis micorrízica en la canavalia y las plantas crecidas en las parcelas dejadas en barbecho. Plantas con 60 días de edad.**

Las barras verticales indican los intervalos de confianza para cada media ( $p \leq 0.05$ ). Barbecho: suelo en descanso por dos meses.

En esta figura se pueden observar diferencias muy importantes en este indicador entre los años 2003 y 2006. Durante el segundo año se obtuvieron valores del 43 % de colonización micorrízica, bajos en comparación con el 62 % encontrado durante el primer año y siempre fueron significativamente superiores en la canavalia que en las especies que componían el barbecho. Esto indicó un funcionamiento fúngico superior del abono verde en el 2003, lo cual debió provocar una mejor absorción de nutrientes.

El tratamiento con incorporación de canavalia, aumentó el número de esporas de HMA en el suelo con respecto al inicial en el primer año evaluado (de 225.5 a 314) y sin

diferencias en el 2006 (de 307.75 a 322), mientras que el barbecho disminuyó los valores de este indicador en el segundo año.

La disminución del número de esporas con respecto al valor inicial en el suelo bajo barbecho pudo deberse a que las plantas presentes en estas parcelas no fueron lo suficientemente eficientes y dependientes, como para mantener y multiplicar el número de propágulos micorrízicos en el suelo.

Otra posible explicación es que en las plantas crecidas en las parcelas dejadas en barbecho se observó menos masa seca que con la canavalia. En relación con esto, Sánchez y col. (2009) encontraron que los efectos de reproducción de las esporas nativas del suelo y de su capacidad de colonización sobre el cultivo posterior, fueron directamente proporcionales con el incremento de la masa seca de los abonos verdes empleados en su estudio.

Resultados similares fueron planteados por Duponnois y col. (2001), al estudiar la reproducción de propágulos nativos de HMA e indicaron que en barbecho, la micorrización se deprime y la especie de abono verde *Cassia obtusifolia* incrementó los propágulos de HMA en el suelo, en relación directa con su producción de masa seca.

Algunos autores informaron que prácticas agrícolas como el abonado verde aumentaron la presencia de los propágulos infectivos de HMA en el suelo (Espíndola y col., 1998; Rivera y Fernández., 2003). Por otra parte, la canavalia es una especie de elevada respuesta micorrízica y el cultivo de este tipo de plantas aumenta el potencial de inóculo de HMA en el suelo (Sánchez, 2001).

#### **4.3.2 Respuesta del maíz a la fertilización – N en las secuencias estudiadas.**

En la tabla 15 se observa la interacción existente entre las parcelas principales (tipo de sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizante) sobre los rendimientos de maíz en los dos años de realizado el estudio. El comportamiento de la sucesión barbecho – maíz indicó que para las condiciones experimentales se presentó respuesta a la fertilización nitrogenada.

En el 2003 los mejores rendimientos se obtuvieron en las sucesiones con incorporación de canavalia, en las cuales no se observó diferencias en los rendimientos obtenidos con las dosis de N estudiadas. En la sucesión barbecho – maíz fue necesario aplicar una dosis de 150 kg N.ha<sup>-1</sup>, para obtener rendimientos semejantes a los obtenidos en las parcelas con incorporación del abono verde.

En el año 2006 los mayores rendimientos se obtuvieron en las sucesiones con incorporación de canavalia aunque en este año fueron necesarias las aplicaciones de dosis complementarias de 50 kg N.ha<sup>-1</sup> en función de los mayores rendimientos de esta campaña y de los menores contenidos de N presentes en la canavalia incorporada.

La sucesión barbecho – maíz necesitó de dosis aun mayores de fertilización química (100 kg N.ha<sup>-1</sup>) para obtener rendimientos similares. En la sucesión barbecho – maíz con inoculación micorrízica, se encontró un aumento significativo de los rendimientos con dosis menores de fertilizantes.

Este resultado demuestra que los rendimientos del maíz estuvieron en función del tipo de sucesión y de las dosis de fertilización empleadas en cada una de ellas. Además, se confirma la sustitución del N – fertilizante con el empleo de abonos verdes con altos contenidos de este elemento.

**Tabla 15. Efecto de las dosis en estudio del fertilizante mineral nitrogenado y de la inoculación micorrízica sobre los rendimientos de maíz, sembrado en sucesión con canavalia o barbecho.**

Dosis N	Rendimientos 2003 (t.ha <sup>-1</sup> )			
	B – M	C – M	C – M + HMA	
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	3.20 d	4.39 ab	4.36 ab	
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	3.69 c	4.44 ab	4.61 ab	
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	4.18 b	4.74 a	4.64 ab	
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	4.43 ab	4.82 a	4.60 ab	
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	4.50 ab	4.56 ab	4.43 ab	
Es $\chi$	0.16 *			
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).				
Dosis N	Rendimientos 2006 (t.ha <sup>-1</sup> )			
	B – M	B – M + HMA	C – M	C – M + HMA
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	4.30 e	5.01 cde	4.78 de	6.45 bcd
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	5.55 bcde	6.43 abcd	6.90 ab	7.36 ab
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	5.98 abcde	7.23 ab	6.80 ab	7.53 a
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	6.20 abcd	7.09 ab	7.06 ab	7.54 a
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	5.90 abcde	6.68 abc	6.88 ab	6.64 abc
Es $\chi$	0.53*			
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).				

B – M: sucesión barbecho – maíz; B – M + HMA: sucesión barbecho – maíz con inoculación de HMA; C – M: sucesión canavalia – maíz; C – M + HMA: sucesión canavalia – maíz con inoculación de HMA. Barbecho: suelo en descanso por dos meses. HMA: a base de *Glomus hoi* – like. Fertilizante mineral NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>

A partir de este resultado y para establecer las dosis óptimas de fertilización en los diferentes tipos de sucesiones en estudio, en las figuras 9 y 10 se observa el ajuste de respuesta de los rendimientos de maíz al fertilizante nitrogenado.

De forma general, se obtuvo una marcada respuesta a la fertilización al trabajar en los tratamientos que sólo recibieron fertilizante mineral N (secuencia barbecho – maíz). La dosis óptima de fertilizante durante el primer año de estudios fue de 129.08 kg N.ha<sup>-1</sup> para obtener un rendimiento máximo estable de 4.47 t.ha<sup>-1</sup>, con un factor parcial de productividad de 34.63 kg de maíz por kg de N aplicado con el fertilizante mineral y durante el segundo año fue de 69.08 kg N.ha<sup>-1</sup> para un rendimiento máximo estable de 4.02 t.ha<sup>-1</sup>.

Al analizar el ajuste de respuesta a la fertilización nitrogenada del maíz en presencia de la inoculación con HMA, durante el 2006 se encontró una respuesta positiva del cultivo. La cantidad del nutriente requerida fue 69.82 kg N.ha<sup>-1</sup> para obtener 4.67 t.ha<sup>-1</sup>, semejante a la dosis recomendada en este año sin la presencia de la inoculación micorrízica.

En este caso, la inoculación de una cepa efectiva de HMA elevó el rendimiento máximo estable del maíz en 0.65 t.ha<sup>-1</sup>. El factor parcial de productividad se elevó de 58.19 kg maíz. kg<sup>-1</sup> N aplicado, en la sucesión sin inoculación, a 66.89 kg maíz. kg<sup>-1</sup> N aplicado en la sucesión con inoculación del maíz.

Se obtuvo una respuesta positiva de los rendimientos del maíz a la incorporación de canavalia. En el ajuste de respuesta al fertilizante en la sucesión con el abono verde durante el primer año se encontró que no hubo respuesta al fertilizante, con 4.59 t.ha<sup>-1</sup> de rendimiento máximo estable.

Sin embargo, en el segundo año si existió respuesta, con una recomendación de 50.35 kg N.ha<sup>-1</sup> para obtener 4.61 t.ha<sup>-1</sup> de rendimiento máximo estable. En ambos casos existió una disminución de los requerimientos del fertilizante nitrogenado del maíz en comparación con las necesidades de fertilizantes de los tratamientos que no recibieron la incorporación del abono verde.

En el segundo año el tratamiento que sólo recibió abono verde sin aplicación de fertilizante mineral produjo un 69 % del rendimiento máximo, inferior al 96 % del rendimiento máximo obtenido en el primer año, lo que pudo estar relacionado con los

contenidos de nutrientes incorporados con la canavalia en el segundo año, que fueron menores a los incorporados en el primer año (Tabla 14, acápite 4.3.1). El factor parcial de productividad se estimó en este caso de 91.56 kg de maíz  $\text{kg}^{-1}$  N aplicado en la sucesión con canavalia y sin inoculación

Al analizar la respuesta al fertilizante en la sucesión abono verde y maíz inoculado, se encontró que en el primer año no existió respuesta al fertilizante, con un rendimiento máximo estable de 4.53  $\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Durante el segundo año se encontró respuesta al fertilizante N con una recomendación de 50  $\text{kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$  para 4.85  $\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$ , el factor parcial de productividad alcanzó valores de 97 kg de maíz  $\text{kg}^{-1}$  N aplicado, resultados superiores a los encontrados en las condiciones de no aplicación del abono verde.

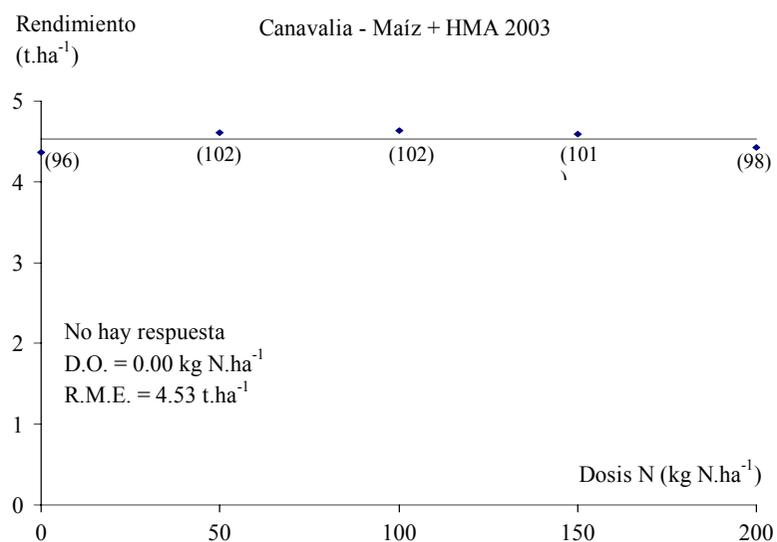
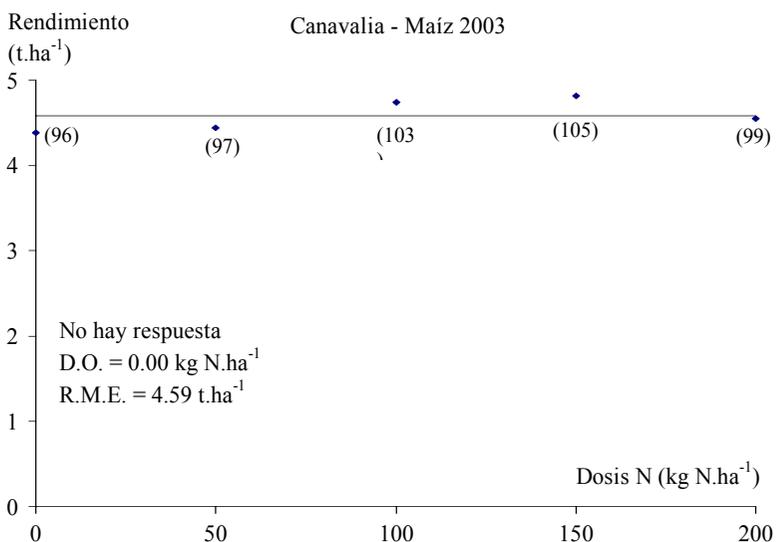
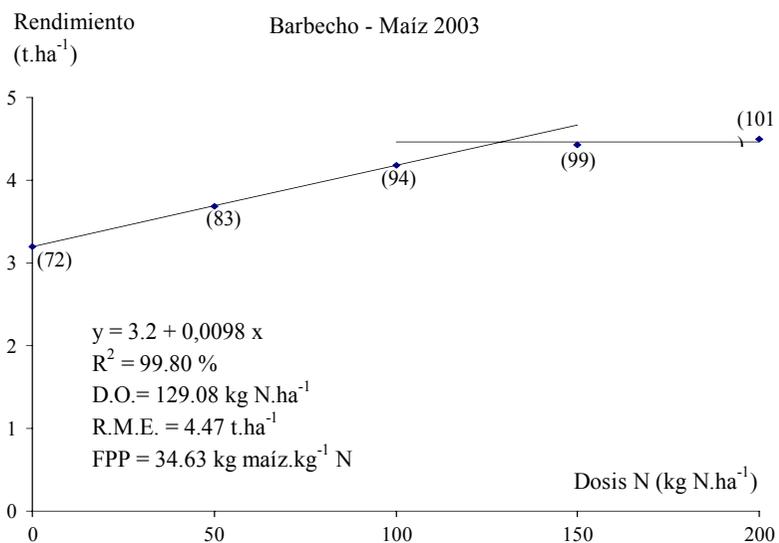
En las secuencias con incorporación de canavalia, se pudo disminuir las dosis de fertilizante mineral necesarias para obtener altas producciones y la inoculación micorrízica elevó el rendimiento máximo estable hasta los más altos valores obtenidos. Durante el segundo año los efectos de la aplicación de los abonos verdes, fertilizante mineral e inoculación micorrízica fueron aún más marcados, pues los rendimientos de los testigos absolutos fueron inferiores a los obtenidos en el primer año.

La influencia de los abonos verdes sobre los rendimientos de los cultivos se atribuye a la incorporación de N derivado de la FBN, al aumentar la disponibilidad de N para los cultivos en sucesión y al reciclaje y movilización de otros nutrientes como P y K, que quedan a disposición del cultivo posterior, como ha sido planteado por Pozzi (2005).

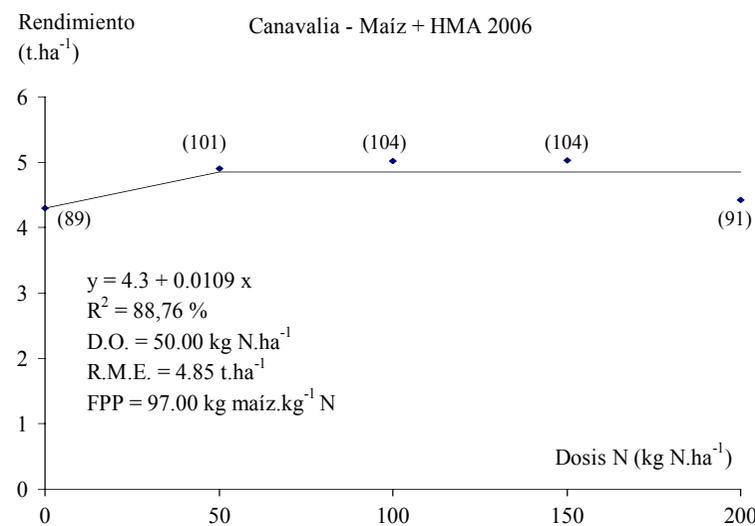
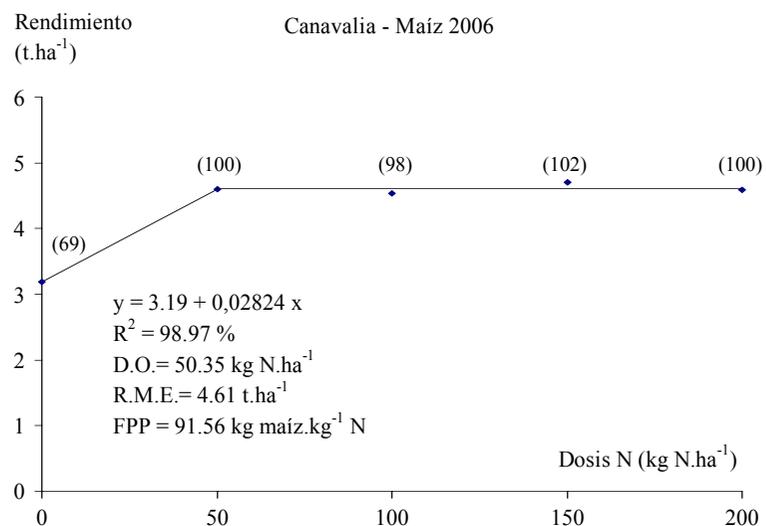
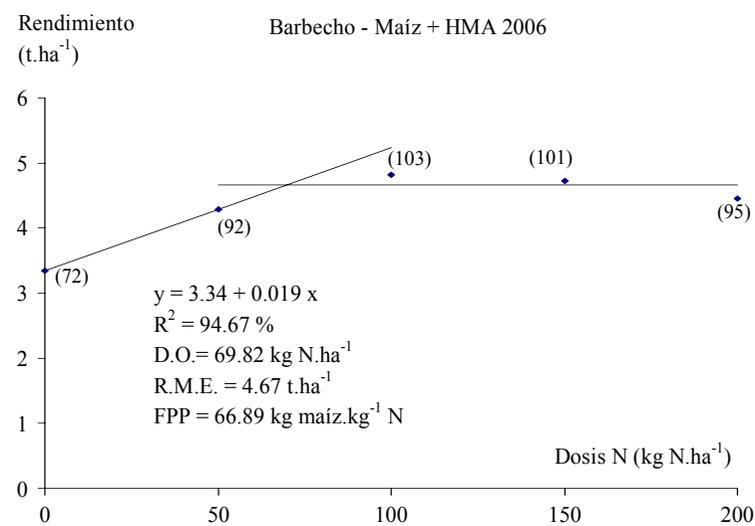
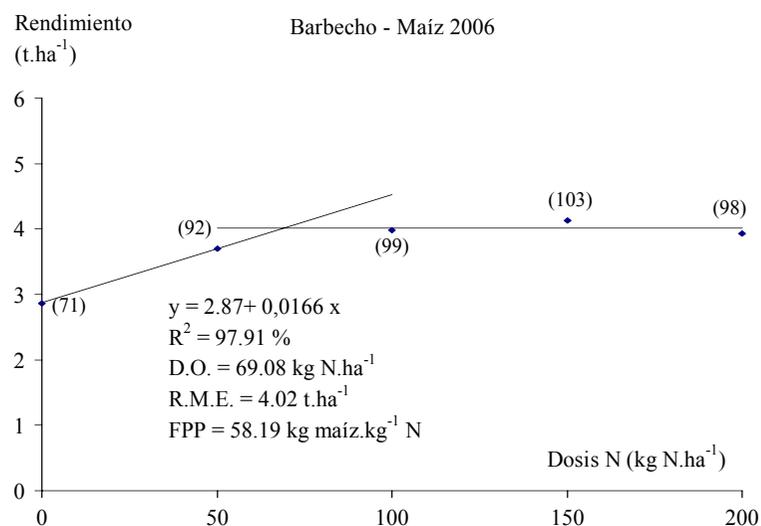
En relación con esto, Robertson y col. (2005) plantearon que si las condiciones son favorables para el crecimiento del maíz, al aplicar abonos verdes, debido a su alta incorporación de N al sistema, los rendimientos que se obtienen son superiores.

La disminución de las dosis de fertilizantes en las sucesiones que emplearon canavalia como abono verde ha sido encontrada en otros estudios y estuvo asociada al aporte considerable de N realizado por esta leguminosa y su mineralización paulatina (García y col., 2000b; Alves y col., 2006).

Por su parte, Jackson y col. (2004) y Guerra y col. (2007) plantearon que el empleo de leguminosas como abonos verdes en las rotaciones de cultivos fueron de gran impacto pues este tipo de plantas promovieron el aporte de N al suelo gracias a la FBN, lo cual redujo e incluso eliminó la necesidad de la aplicación de fertilizantes nitrogenados.



**Figura 9: Efecto de la fertilización nitrogenada sobre los rendimientos de maíz en las diferentes secuencias estudiadas. Año 2003.** HMA: a base de *Glomus hoi* – like. Fertilizante mineral NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>. Barbecho: suelo en descanso por dos meses. Número entre paréntesis: porcentaje del rendimiento obtenido respecto al rendimiento máximo estable calculado. D.O. Dosis óptima recomendada. R.M.E. Rendimiento máximo estable calculado. FPP: factor parcial de productividad para la dosis óptima recomendada (kg de rendimiento obtenido por kg de N aplicado en forma de fertilizante mineral)



**Figura 10: Efecto de la fertilización nitrogenada sobre los rendimientos de maíz en las diferentes secuencias estudiadas. Año 2006.** HMA a base de *Glomus hoi* – like. Fertilizante mineral NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>. Barbecho: suelo en descanso por dos meses. Número entre paréntesis: porcentaje del rendimiento obtenido respecto al rendimiento máximo estable calculado. D.O. Dosis óptima recomendada. R.M.E. Rendimiento máximo estable calculado. FPP: factor parcial de productividad para la dosis óptima recomendada (kg de rendimiento obtenido por kg de N aplicado en forma de fertilizante mineral)

En relación con esto, Álvarez (2000) al cuantificar la FBN de la canavalia, por el método de dilución isotópica, encontró que esta planta fue capaz de fijar entre 40 – 50 kg N.ha<sup>-1</sup>, en dependencia de la planta de referencia empleada; no obstante, otros autores (Urquiaga y Zapata, 2000) consideraron que puede fijar hasta un 96 % de N total acumulado y este puede oscilar entre 100 – 300 kg N.ha<sup>-1</sup> (Alemán y Flores, 1993).

El efecto de los tratamientos sobre el porcentaje de mazorcas de los diferentes calibres (Tabla 16) reflejó conductas similares a las obtenidas con el rendimiento. En este caso se presentó interacción entre los factores en estudio durante los dos años.

En el 2003, los mayores porcentajes de mazorcas de maíz de las clases A y B (superiores a 50 g) se obtuvieron en las secuencias con la incorporación de canavalia y de la inoculación micorrízica del maíz sin necesidad de aplicar fertilizante mineral nitrogenado y en la secuencia barbecho – maíz pero con dosis entre 50 – 100 kg.ha<sup>-1</sup> de fertilizante mineral N, con un predominio de las mazorcas de la clase A. En esta secuencia se observó como el tamaño de las mazorcas aumentó a medida que se elevaron las dosis de fertilizante mineral

En el segundo año se observó una menor cantidad de mazorcas de la clase A en todas las secuencias, pero aumentó la proporción de las mazorcas clase B. En las secuencias con abono verde se necesitaron bajas dosis complementarias de fertilizante mineral nitrogenado (50 – 100 kg N.ha<sup>-1</sup>) para garantizar una adecuada producción de mazorcas clases A y B en correspondencia con los resultados obtenidos al analizar los rendimientos de estas.

La anterior conducta estuvo muy relacionada con los rendimientos máximos estables alcanzados en las diferentes secuencias, así como con los requerimientos de fertilizante mineral nitrogenado en cada una de ellas, en los dos años bajo estudio (figuras 7 y 8).

En general los resultados obtenidos reflejaron una relación directa entre los rendimientos del maíz y la calidad de las mazorcas con el suministro de nutrientes asociados con la canavalia, los incrementos en aprovechamiento por las plantas micorrizadas con cepas eficientes y la complementación con dosis entre 0 – 100 kg N.ha<sup>-1</sup> de fertilizante mineral, que garantizaron rendimientos superiores a los obtenidos con los tratamientos que no recibieron abono verde ni la inoculación micorrízica.

**Tabla 16. Efecto de las dosis en estudio del fertilizante mineral nitrogenado y de la inoculación micorrízica sobre la clasificación de las mazorcas de maíz, sembrado en sucesión con canavalia o barbecho.**

Dosis N	% mazorcas Clase A 2003							
	B – M	C – M	C – M + HMA					
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	5.40 d	50.65 ab	45.45 b					
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	28.62 c	55.52 ab	53.52 ab					
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	46.48 b	61.48 a	59.06 ab					
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	49.67 ab	64.43 a	59.14 ab					
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	50.40 ab	62.69 a	59.44 ab					
Es $\chi$	4.95*							
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).								
Dosis N	% mazorcas Clase A 2006							
	B – M		B – M + HMA		C – M		C – M + HMA	
	%	arcsen√x	%	arcsen√x	%	arcsen√x	%	arcsen√x
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	10.00	0.32 e	10.46	0.33 e	22.07	0.49 abcde	33.65	0.62 ab
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	11.01	0.34 de	23.14	0.50 abcde	21.32	0.48 bcde	34.40	0.63 ab
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	12.10	0.36 cde	27.53	0.55 abc	26.22	0.54 abcd	35.92	0.64 ab
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	13.60	0.38 cde	25.01	0.52 abcde	24.60	0.52 abcde	38.99	0.67 ab
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	14.47	0.39 cde	24.73	0.52 abcde	27.04	0.55 abc	40.81	0.69 a
Es $\chi$	0.068 *							
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05)								

Dosis N	% mazorcas Clase B 2003			
	B – M	C – M	C – M + HMA	
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	9.20 c	23.92 b	33.93 ab	
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	30.76 ab	25.83 b	32.97 ab	
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	35.96 ab	26.45 b	30.94 ab	
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	39.97 a	29.15 ab	29.16 ab	
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	40.41 a	32.67 ab	32.68 ab	
Es $\chi$	4.03*			
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).				
Dosis N	% mazorcas Clase B 2006			
	B – M	B – M + HMA	C – M	C – M + HMA
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	21.11 g	28.84 fg	34.51 ef	36.37 def
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	37.29 def	33.22 ef	47.82 abc	43.45 abcde
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	41.89 cde	43.29 bcde	45.41 abcd	48.94 abc
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	49.02 abc	49.91 abc	52.14 abc	45.04 abcd
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	54.17 a	46.23 abcd	52.2 ab	45.94 abcd
Es $\chi$	3.42 *			
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).				

Dosis N	% mazorcas Clase C 2003							
	B – M		C – M		C – M + HMA			
	%	arcsen√x	%	arcsen√x	%	arcsen√x		
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	85.41	1.18 a	25.42	0.53 bc	20.62	0.47 cd		
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	40.62	0.69 b	18.65	0.45 cde	13.51	0.38 cdef		
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	17.55	0.43 cde	12.07	0.35 cdef	10	0.32 def		
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	10.36	0.33 def	6.42	0.26 f	11.71	0.35 cdef		
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	9.2	0.31 def	4.64	0.22 f	7.88	0.28 ef		
Es $\chi$	0.062 *							
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05)								
Dosis N	% mazorcas Clase C 2006							
	B – M		B – M + HMA		C – M		C – M + HMA	
	%	arcsen√x	%	arcsen√x	%	arcsen√x	%	arcsen√x
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	68.89	0.98 a	60.70	0.89 ab	43.42	0.72 bcde	29.98	0.58 cdefg
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	51.70	0.80 abc	43.64	0.72 bcde	30.86	0.59 cdefg	22.15	0.49 fg
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	46.01	0.75 bcd	29.18	0.57 defg	28.37	0.56 defg	15.14	0.40 g
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	37.38	0.66 cdef	25.08	0.52 efg	23.26	0.50 efg	15.97	0.41 g
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	31.36	0.59 cdefg	29.04	0.57 defg	20.76	0.47 fg	13.25	0.37 g
Es $\chi$	0.074*							
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).								

B – M: sucesión barbecho – maíz; B – M + HMA: sucesión barbecho – maíz con inoculación de HMA; C – M: sucesión canavalia – maíz; C – M + HMA: sucesión canavalia – maíz con inoculación de HMA. Barbecho: suelo en descanso por dos meses. HMA: a base de *Glomus hoi* – like. Fertilizante mineral NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>

Al analizar el funcionamiento fúngico (Tabla 17), se observó interacción entre las sucesiones y las dosis de N estudiadas sobre la colonización micorrízica del cultivo principal, durante los dos años de investigación.

Los mayores porcentajes de colonización se obtuvieron en las sucesiones con incorporación de la canavalia e inoculación micorrízica. Para obtener un funcionamiento semejante, en la secuencia barbecho – maíz fue necesaria la aplicación de 100 kg N.ha<sup>-1</sup> como mínimo.

La micorrización del maíz en sucesión con canavalia o en la secuencia de barbecho con fertilización mineral, indicó un funcionamiento efectivo de la simbiosis incluso en los tratamientos no inoculados, lo que al parecer estuvo muy relacionado con los altos valores de esporas de HMA del suelo en las condiciones experimentales (Tabla 1, acápite 3.1).

Estos niveles de esporas se debieron a inoculaciones micorrízicas previas y continuadas durante al menos cinco años, así como de la capacidad de reproducción de los

propágulos micorrízicos por los cultivos, en este caso, canavalia (Figura 8), como consecuencia de la propia dependencia micorrízica de esta especie vegetal y el funcionamiento micorrízico alcanzado en estas condiciones.

No obstante, los resultados encontrados por Sánchez (2001) al trabajar en tres tipos de suelos con bajos contenidos iniciales de esporas de HMA y cuatro especies de abonos verdes en la producción de posturas de café establecieron que para esas condiciones, los abonos verdes, si bien incrementaron las poblaciones nativas y la micorrización del cultivo posterior, no impidieron que se produjera una respuesta a la inoculación micorrízica de este último y por tanto, no se logró una micorrización plenamente efectiva sólo por la reproducción de los propágulos nativos a través de la siembra de los abonos verdes.

**Tabla 17. Efecto de las dosis en estudio de fertilización mineral y de la inoculación con HMA sobre la colonización micorrízica del maíz sembrado en sucesión con canavalia o barbecho.**

Dosis N	% Colonización por HMA 2003							
	B – M		C – M		C – M + HMA			
	%	arcsen√x	%	arcsen√x	%	arcsen√x		
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	35.50	0.64 c	54.25	0.83 a	39.50	0.68 bc		
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	36.50	0.65 c	52.75	0.81 ab	46.00	0.74 abc		
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	43.50	0.72 abc	49.00	0.76 abc	46.33	0.75 abc		
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	47.33	0.76 abc	44.00	0.73 abc	55.67	0.84 a		
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	40.50	0.69 bc	42.67	0.71 abc	50.00	0.79 ab		
Es $\chi$	0.044 *							
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).								
Dosis N	% Colonización por HMA 2006							
	B – M		B – M + HMA		C – M		C – M + HMA	
	%	arcsen√x	%	arcsen√x	%	arcsen√x	%	arcsen√x
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	36.25	0.65 d	49.75	0.78 abcd	41.50	0.70 bcd	46.50	0.75 abcd
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	37.50	0.66 d	60.25	0.89 a	51.00	0.80 abcd	55.50	0.84 abcd
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	39.25	0.68 cd	60.00	0.89 a	52.00	0.81 abcd	59.25	0.88 a
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	45.50	0.74 abcd	58.25	0.87 a	45.00	0.74 abcd	46.75	0.75 abcd
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	38.50	0.67 d	56.25	0.85 ab	44.50	0.73 abcd	48.50	0.77 abcd
Es $\chi$	0.055**							
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).								

B – M: sucesión barbecho – maíz; B – M + HMA: sucesión barbecho – maíz con inoculación de HMA; C – M: sucesión canavalia – maíz; C – M + HMA: sucesión canavalia – maíz con inoculación de HMA. Barbecho: suelo en descanso por dos meses. HMA: a base de *Glomus hoi* – like. Fertilizante mineral NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>

En relación con este resultado, Rivera y Fernández (2003) plantearon que un factor fundamental para el manejo efectivo de las asociaciones micorrízicas es la disponibilidad de nutrientes en el agroecosistema, derivado del tipo de suelo y de las fertilizaciones, en forma orgánica o mineral, que sean necesarias para complementar los requerimientos de las plantas micorrizadas. Estos autores establecieron que existen recomendaciones óptimas para las plantas micorrizadas efectivamente, que serán inferiores a las necesarias para esos mismos cultivos no inoculados.

En Cuba se han obtenido resultados en posturas de cafeto, hortalizas, pastos, raíces y tubérculos que ratificaron la existencia de un suministro óptimo de nutrientes para las plantas inoculadas con cepas eficientes de HMA, menores a los requeridos por sistemas no inoculados. Aplicaciones inferiores a ese nivel, limitaron el funcionamiento micorrízico y superiores disminuyeron asimismo la efectividad de la simbiosis.

De manera general, el mejor efecto de la inoculación se observó con dosis intermedias, que fueron más bajas que las comúnmente empleadas en plantas no micorrizadas (Ruiz, 2001; Pulido, 2002; González y col., 2008a).

En los últimos años se han reportado resultados sobre la favorable micorrización de los cultivos sucesores a los abonos verdes (Espíndola y col., 1998; de Souza y col., 1999; Kabir y Koide, 2000) asociados con la dependencia micorrízica de los abonos verdes, su alta densidad de siembra y la baja especificidad cepa eficiente – cultivo (Rivera y Fernández, 2003), lo que potencia el funcionamiento micorrízico del cultivo posterior.

El resultado obtenido en este experimento, en el cual la canavalia se desarrolló en un suelo que había recibido aplicaciones continuas de cepas eficientes de HMA, le añade a los abonos verdes un valor agregado relacionado no sólo con la micorrización efectiva de la canavalia en estas condiciones, sino con la reproducción de estos propágulos micorrízicos y alcanzar mediante esta vía una micorrización efectiva del cultivo posterior.

Las diferencias en los porcentajes de colonización del maíz entre los tratamientos con canavalia y con barbecho, dejaron claro la ventaja del abono verde, no sólo por los aportes y/o reciclaje de nutrientes que incorporaron estos al maíz, sino por una mayor reproducción de los propágulos micorrízicos (Figura 8) y funcionamiento micorrízico efectivo del maíz.

En correspondencia con esto, Kabir y Koide (2000) plantearon que las especies de abonos verdes con alta dependencia micorrízica, pueden aumentar el potencial de inóculo nativo de HMA del suelo y al mismo tiempo hacer un mayor aporte y reciclaje de nutrientes, lo que trajo por consecuencia una mayor absorción de nutrientes y elevación de los rendimientos del cultivo sucesor, en comparación con sistemas en barbecho, que hicieron bajos aportes de nutrientes y no favorecieron la multiplicación de inóculos de HMA en el suelo.

En la Tabla 18 se observa la extracción total de nutrientes realizada por el maíz a los 60 días después de la germinación. Los resultados obtenidos reflejaron la interacción entre las sucesiones y la respuesta del maíz a las aplicaciones de fertilizante nitrogenado en los dos años.

Las mayores extracciones de N estuvieron asociadas con los tratamientos en los que se incorporó la canavalia y/o se inoculó el maíz con las mayores dosis de fertilizante nitrogenado, que garantizaron mayores suministros de nutrientes para el cultivo, aunque no se correspondieron con los tratamientos de mayores rendimientos.

Un comportamiento similar presentó la extracción de P y K. de manera general, las mayores extracciones de los elementos se presentaron en los tratamientos de mayor aplicación de dosis de N, lo cual indica que al favorecerse la extracción de N, aumenta también la extracción de P y K.

Estos resultados pueden servir de referencia para establecer los contenidos óptimos de nutrientes necesarios para obtener los mayores rendimientos del maíz, que no necesariamente se corresponden con las mayores aplicaciones del elemento.

Además, al realizar un balance preliminar del N en el sistema se encontró que el maíz extrajo mucha menor cantidad del elemento que el aplicado en forma conjunta con el abono verde y el fertilizante mineral, quedando este N no aprovechado en el suelo, lo que favorece un balance positivo del elemento al finalizar el cultivo.

En ese sentido, fue de vital importancia el aporte de N que realizó la canavalia porque ayudó al balance positivo del N en el sistema planta – suelo y evitó altas pérdidas del elemento por concepto de cosecha (y por lo tanto, que el suelo quedara esquilado después de la siembra y cosecha del maíz).

**Tabla 18. Efecto de las dosis de fertilizante mineral nitrogenado y de la inoculación micorrízica sobre la extracción total de nutrientes (NPK) del maíz en sucesión con canavalia o barbecho.**

Dosis N	Extracción total de nitrógeno 2003 (kg. ha <sup>-1</sup> )			
	B – M	C – M	C – M + HMA	
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	20.34 e	61.04 bcd	56.37 bcd	
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	35.45 de	61.87 bc	73.72 ab	
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	44.04 cde	70.79 ab	76.65 ab	
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	52.86 bcd	76.70 ab	79.11 ab	
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	70.39 abc	89.75 a	90.06 a	
Es $\chi$	8.79*			
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).				
Dosis N	Extracción total de nitrógeno 2006 (kg. ha <sup>-1</sup> )			
	B – M	B – M + HMA	C – M	C – M + HMA
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	38.45 e	72.74 de	93.60 cd	78.66 cde
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	72.78 de	85.06 cde	96.66 cd	120.91 abc
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	72.22 de	107.80 abcd	99.62 bcd	124.83 abc
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	73.03 de	113.52 abcd	106.20 abcd	145.01 ab
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	87.08 cd	117.61 abcd	114.84 abcd	163.83 a
Es $\chi$	15.67 *			
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).				

Dosis N	Extracción total de fósforo 2003					
	B – M		C – M		C – M + HMA	
	(kg. ha <sup>-1</sup> )	log (x)	(kg. ha <sup>-1</sup> )	log (x)	(kg. ha <sup>-1</sup> )	log (x)
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	6.75	1.91 e	12.43	2.52 cd	14.13	2.65 abcd
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	9.32	2.23 de	15.81	2.76 abc	15.13	2.72 abc
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	13.07	2.57 bcd	18.71	2.93 abc	16.23	2.79 abc
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	15.05	2.71 abc	19.29	2.96 abc	18.49	2.92 abc
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	16.99	2.83 abc	22.14	3.10 a	20.06	3.00 ab
Es $\chi$	0.15 *					
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).						
Dosis N	Extracción total de fósforo 2006 (kg. ha <sup>-1</sup> )					
	B – M	B – M + HMA	C – M	C – M + HMA		
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	7.35 f	10.37 def	11.85 bcdef	15.03 abcd		
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	7.90 ef	18.87 a	13.98 abcd	15.66 abcd		
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	10.39 def	14.93 abcd	14.28 abcd	16.37 abc		
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	10.96 cdef	13.56 abcd	13.22 bcde	16.57 ab		
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	11.52 bcdef	15.96 abc	13.27 bcde	16.37 abc		
Es $\chi$	1.85 *					
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).						

B – M: sucesión barbecho – maíz; B – M + HMA: sucesión barbecho – maíz con inoculación de HMA; C – M: sucesión canavalia – maíz; C – M + HMA: sucesión canavalia – maíz con inoculación de HMA. Barbecho: suelo en descanso por dos meses. HMA: a base de *Glomus hoi* – like. Fertilizante mineral NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>

Dosis N	Extracción total de potasio 2003							
	B – M		C – M		C – M + HMA			
	(kg. ha <sup>-1</sup> )	log (x)	(kg. ha <sup>-1</sup> )	log (x)	(kg. ha <sup>-1</sup> )	log (x)		
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	30.47	3.42 e	77.33	4.35 cd	93.38	4.54 bc		
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	61.3	4.12 d	96.17	4.57 bc	100.73	4.61 abc		
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	78.31	4.36 cd	119.89	4.79 ab	102.71	4.63 abc		
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	106.5	4.67 abc	120.02	4.79 ab	144.02	4.97 a		
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	101.29	4.62 abc	132.38	4.89 ab	149.56	5.01 a		
Es $\chi$	0.13 *							
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).								
Dosis N	Extracción total de potasio 2006							
	B – M		B – M + HMA		C – M		C – M + HMA	
	(kg. ha <sup>-1</sup> )	log (x)	(kg. ha <sup>-1</sup> )	log (x)	(kg. ha <sup>-1</sup> )	log (x)	(kg. ha <sup>-1</sup> )	log (x)
0 kg N. ha <sup>-1</sup>	52.14	3.95 f	61.82	4.12 ef	75.61	4.33 cde	103.22	4.64 abc
50 kg N. ha <sup>-1</sup>	69.82	4.25 def	108.01	4.68 ab	93.46	4.54 abcd	102.5	4.63 abc
100 kg N. ha <sup>-1</sup>	68.71	4.23 def	111.97	4.72 ab	95.07	4.55 abcd	108.86	4.69 ab
150 kg N. ha <sup>-1</sup>	90.01	4.50 bcd	105.57	4.66 abc	123.08	4.81 ab	126.86	4.84 a
200 kg N. ha <sup>-1</sup>	99.69	4.60 abc	120.32	4.79 ab	123.26	4.81 ab	123.32	4.81 ab
Es $\chi$	0.11 *							
* Error estándar de la interacción entre las parcelas principales (sucesión) y las subparcelas (dosis de fertilizantes) Medias con letras iguales no difieren entre sí según prueba de Duncan (p<0.05).								

B – M: sucesión barbecho – maíz; B – M + HMA: sucesión barbecho – maíz con inoculación de HMA; C – M: sucesión canavalia – maíz; C – M + HMA: sucesión canavalia – maíz con inoculación de HMA. Barbecho: suelo en descanso por dos meses. HMA: a base de *Glomus hoi* – *like*. Fertilizante mineral NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>

En relación con esto, Cherr y col. (2006) plantearon que el aporte y reciclaje de nutrientes (NPK) que realizó la canavalia en el sistema, promovió la absorción de estos elementos por el cultivo del maíz y su uso combinado con dosis bajas de fertilizantes minerales tuvo un impacto benéfico sobre el crecimiento y desarrollo del cultivo económico, lo que coincidió con lo encontrado por Araujo y de Almeida (1993).

Por otra parte, se observó un efecto de la inoculación micorrízica del maíz sobre el incremento en la absorción del N, lo cual induce a pensar que pudieron haber existido aumentos en el coeficiente de aprovechamiento de este nutriente, así como a una disminución en los índices críticos del elemento en el suelo, lo que redundó en un aumento de los rendimientos máximos estables del cultivo en este experimento.

En relación con esto, Montaña y col. (2001) comunicaron que los HMA mejoran el crecimiento, rendimiento y la acumulación de nutrientes, lo que implicó una eficiencia fisiológica beneficiada por los HMA.

Algunos autores han planteado que los HMA provocan un incremento en los procesos de absorción de nutrientes, debido a que sus hifas puede explorar una mayor superficie y llegar hasta sitios inasequibles para las raíces, con la consecuente disminución de los índices críticos de los nutrientes (Sánchez, 2001; Azcón y col., 2003). Esta disminución dependerá de la efectividad de la cepa de HMA aplicada, de los tipos de suelos, la disponibilidad de los nutrientes, de los cultivos en cuestión y de su nivel productivo, según plantearon Rivera y Fernández (2003).

Al analizar el efecto integral de los abonos verdes y los HMA sobre el cultivo del maíz se encontró un resultado positivo en cuanto al incremento de los rendimientos, absorción de nutrientes y comportamiento de la colonización micorrízica en las plantas de maíz en sucesión con canavalia e inoculación micorrízica.

La canavalia fue capaz de multiplicar los propágulos (esporas) de HMA en estos suelos y este efecto se extendió hasta el cultivo sucesor (maíz). Estos resultados sugirieron que la cepa *Glomus hoi* – like, tendió a permanecer en el suelo después de varias inoculaciones sucesivas a los cultivos, al observarse una alta y efectiva colonización radical de las plantas, aún sin la presencia de nuevas inoculaciones.

Con el manejo de la micorrización se planteó el modelo biológico planta micorrizada con cepas efectivas, las cuales permiten la absorción de forma más eficiente de los nutrientes y con el empleo de la incorporación de los abonos verdes (leguminosas con altos contenidos de N) disminuyeron las necesidades de fertilizantes para este tipo de plantas, todo lo cual permitió sustituir total o parcialmente los requerimientos del fertilizante mineral nitrogenado para el cultivo y constituyeron un modelo factible dentro del manejo integrado de la nutrición mineral.

#### **4.4. Experimento 4: Selección de las cepas de HMA más efectivas para *Canavalia ensiformis* cultivada en suelo Ferralítico Rojo.**

La efectividad de una cepa de HMA se manifiesta por su capacidad de colonizar a la planta huésped, influir de forma positiva en su crecimiento y desarrollo, contenido de nutrientes y rendimiento y que la planta hospedante favorezca la multiplicación de los propágulos de dicha cepa en el suelo. A medida que una cepa tenga mayor magnitud en estos tres aspectos, mayor será su efectividad (Janos, 2007)

En la Tabla 19 se observa el comportamiento de la masa seca y contenido de nutrientes de la canavalia en presencia de diferentes cepas de HMA. La canavalia si bien presentó una respuesta positiva a la inoculación con diferentes especies de HMA, este efecto fue diferenciado entre las cepas, al obtenerse los mayores incrementos de la masa seca con la inoculación de *Glomus hoi – like*, respecto al testigo sin inoculación y con diferencias significativas a las encontradas con las otras dos cepas, durante los dos años estudiados. Una conducta similar se observó sobre la extracción de nutrientes (Tabla 18), *Glomus hoi – like* presentó los mayores valores con diferencias significativas frente al testigo no inoculado y mostrándose asimismo una conducta diferenciada entre las cepas y dependiente del elemento en cuestión.

**Tabla 19. Efecto de la inoculación con tres cepas de HMA sobre el rendimiento en masa seca y absorción de nutrientes por la canavalia (g por maceta). Edad de las plantas: 60 ddg.**

Tratamientos	2007				2008			
	Masa seca total	Absorción total de nutrientes			Masa seca total	Absorción total de nutrientes		
		N	P	K		N	P	K
<i>Glomus hoi – like</i>	23.83 a	0.58 a	0.024 a	0.33 a	24.71 a	1.10 a	0.088 a	0.42 a
<i>Glomus mosseae</i>	21.17 b	0.51 b	0.021 a	0.25 bc	20.87 b	0.87 b	0.068 b	0.26 c
<i>Glomus claroideum</i>	21.00 b	0.56 ab	0.023 a	0.28 b	21.94 b	0.98 ab	0.076 ab	0.34 b
Sin inoculación	18.00 c	0.50 b	0.018 b	0.24 c	16.60 c	0.53 c	0.049 c	0.13 d
Es $\chi$	0.44 *	0.021 *	0.0008 *	0.012*	0.63 *	0.06 *	0.0057 *	0.013 *

\*Medias con letras distintas en la misma columna difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). % inc.: porcentaje de incremento respecto al testigo. ddg: días después de la germinación.

El contenido de nutrientes en el testigo sin inocular siempre fue significativamente inferior de forma general, al encontrado con la presencia de las cepas de HMA *Glomus hoi – like* y *G. claroideum*, lo cual fue consecuencia del efecto que tienen los HMA sobre la mejora en la absorción y contenido de nutrientes por parte de la planta hospedera.

Los efectos encontrados por la inoculación micorrízica sobre los nutrientes indicaron la importancia y beneficios de la simbiosis efectiva sobre la nutrición de las plantas más que sobre un elemento en particular, como ya fue señalado por George (2000); Sánchez (2001) y Rivera y Fernández (2003).

La cepa de *Glomus hoi – like* estudiada ha funcionado adecuadamente en los suelos Ferralíticos Rojos, para una diversidad de cultivos, lo que ha indicado una baja especificidad cepa eficiente de HMA – cultivo (Rivera y Fernández, 2003).

La baja especificidad cepa eficiente de HMA – cultivo significa que la cepa eficiente para

una condición edáfica dada, establece una simbiosis efectiva con cualquier cultivo dependiente de la micorrización que se establezca en ese suelo. Las diferentes plantas muestran distintos efectos cuantitativos por la inoculación, pero las cepas eficientes establecerán una simbiosis efectiva con cualquiera de los cultivos, dependientes de la micorrización, o al menos para la mayoría (Rivera y col., 2006).

En relación con esto, Sánchez (2001) y Ruiz (2001) demostraron que el tipo de suelo fue el criterio fundamental para definir cuál o cuáles fueron las especies y cepas eficientes para una condición edafoclimática dada, con independencia del tipo de cultivo existente.

En relación a la micorrización de las leguminosas, Siqueira y Franco (1988) reportaron que las especies tropicales responden más vigorosamente a la inoculación con HMA, además se ha evidenciado un marcado sinergismo en la interacción tripartita *Rhizobium* – leguminosas – HMA. Trannin y col. (2000) han observado que las hifas interceptan las raíces de las leguminosas y se asocian para un incremento de la transferencia de nutrientes entre el simbionte y su hospedero.

Además, Monzón y Azcón (1996) observaron una alta compatibilidad entre cuatro especies de *Medicago* y HMA nativo del suelo y tres especies de *Glomus* inoculadas. La masa seca y absorción de nutrientes fueron indicadores del grado de respuesta de cada especie de acuerdo a la intensidad de la simbiosis entre el hongo y su hospedante.

Al analizar los indicadores del funcionamiento de la simbiosis micorrízica de la canavalia se observó un efecto diferenciado de la inoculación con cepas de HMA sobre los porcentajes de colonización micorrízica y de la densidad visual en las raíces de canavalia. Los mayores valores se obtuvieron con la cepa *Glomus hoi* – like, con diferencias respecto a las otras dos cepas inoculadas y al testigo sin inoculación en los dos años estudiados (Tabla 20).

Este resultado estuvo en correspondencia con los obtenidos en la producción de masa seca y absorción de nutrientes presentados en la Tabla 19. Al existir un mejor comportamiento de la simbiosis micorrízica, se estimuló el desarrollo vegetativo de la canavalia. Esto constituyó un indicador válido que demostró las ventajas de la inoculación de las especies de abonos verdes con una cepa eficiente de HMA pues estimuló su crecimiento y contenido de nutrimentos, lo que redundará en mayores beneficios provocados por esta alternativa nutricional.

**Tabla 20. Efecto de la inoculación con tres cepas de HMA sobre la colonización micorrízica y la densidad visual de la canavalia a los 60 ddg.**

Tratamientos	2007				2008			
	Colonización		Densidad Visual		Colonización		Densidad Visual	
	%	arcsen√x	%	arcsen√x	%	arcsen√x	%	arcsen√x
<i>Glomus hoi – like</i>	43.67	0.72 a	1.83	0.13 a	75.75	1.06 a	4.92	0.22 a
<i>Glomus mosseae</i>	30.67	0.59 b	1.11	0.11 b	65.25	0.94 b	2.99	0.17 bc
<i>Glomus claroideum</i>	32.83	0.61 b	0.99	0.10 b	68.75	0.98 b	3.63	0.19 b
Sin inoculación	17.50	0.43 c	0.48	0.07 c	56.10	0.85 c	2.23	0.15 c
Es $\chi$		0.023 *		0.0084 *		0.02 *		0.009 *

\*Medias con letras distintas en la misma columna difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ).

% inc.: porcentaje de incremento respecto al testigo. ddg: días después de la germinación.

La dependencia micorrízica de la canavalia ha sido demostrada en algunos trabajos previos. De Souza y col. (1999) determinaron en canavalia un 52.8 % de colonización por HMA nativo del suelo y un incremento de la masa seca hasta alcanzar valores de 7.32 Mg. ha<sup>-1</sup>. Este resultado demostró que fue un cultivo de alto potencial de colonización por HMA, aumentó el número de propágulos infectivos en el suelo y fue capaz de propiciar la colonización del cultivo siguiente en la sucesión.

En la Tabla 21 se muestra el número de esporas de HMA en el suelo, después del corte de las plantas de canavalia a los 60 días de edad. La inoculación de la canavalia en este suelo fue efectiva no sólo sobre el crecimiento y nutrición de la canavalia, sino en la reproducción de los propágulos micorrízicos de las cepas inoculadas, lo cual constituyó otro beneficio obtenido con empleo de los abonos verdes.

**Tabla 21. Efecto de la inoculación de la canavalia con tres cepas de HMA sobre el número de esporas de micorrizas en el suelo después del corte de las plantas.**

Tratamientos	2007			2008		
	Número	log (x)	% inc.	Número	log (x)	% inc.
<i>Glomus hoi – like</i>	232.00	5.36 a	357.86	258.50	5.53 a	194.59
<i>Glomus mosseae</i>	219.50	5.30 a	332.21	176.00	5.17 b	100.57
<i>Glomus claroideum</i>	202.17	5.27 a	298.99	225.25	5.41 ab	156.70
Sin inoculación	50.67	3.80 b		87.75	4.47 c	
Es $\chi$		0.18 *			0.079 *	

\*Medias con letras distintas en la misma columna difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). % inc.: porcentaje de incremento respecto al testigo.

En el tratamiento con canavalia sin inocular casi no se multiplicó el número de esporas en el suelo, posiblemente asociado con la baja colonización obtenida en este testigo, lo cual indicó que la micorrización nativa fue poco eficiente y constituyó un reflejo del funcionamiento micorrízico existente.

No obstante, Kabir y Koide (2000) plantearon que los abonos verdes con una alta dependencia micorrízica pueden aumentar el contenido potencial de inóculos micorrízicos en el suelo. Por otra parte, Filho (2004) encontró que la especie canavalia si bien puede reproducir las esporas de HMA nativas, no fue capaz de multiplicar los propágulos de HMA si estos están en muy baja cantidad en el suelo o no son activos.

Según Bonilla (1999), canavalia alcanzó un porcentaje de colonización micorrízica del 55 % al crecer en suelos de áreas de bosque nativo y al cuantificar el número de esporas nativas por gramo de suelo, este fue mayor si se cultivó el abono verde. Este autor encontró una relación entre el número de esporas de HMA y el porcentaje de colonización, en dependencia de la época de muestreo y la fase fenológica de la planta.

Según Rivera y Fernández (2003), el tipo de suelo fue el criterio fundamental para definir cual o cuáles son las especies y cepas eficientes para una condición edafoclimática dada. La efectividad alcanzada por la inoculación de las mejores cepas para cada suelo depende del manejo que se le aplique al cultivo, a la cepa de HMA empleada y al suelo.

Al respecto, Blanco y Salas (1997) observaron que la respuesta positiva a la inoculación con HMA dependió de tres factores: la especie o cepa inoculada, el contenido de propágulos existentes y la riqueza en nutrientes del sustrato.

En coincidencia con los resultados alcanzados en esta investigación, otros autores han informado que con la cepa *Glomus hoi* – *like*, se obtienen las mayores respuestas en diversas especies de pastos y en la aclimatización de vitroplántulas de *Coffea canephora* sobre suelos Ferralíticos Rojos (González y Rodríguez, 2004; Calderón y González, 2007; González y col., 2008b).

Los resultados indicaron que canavalia fue también una planta con la que *Glomus hoi* – *like* resultó ser una cepa efectiva para su cultivo en suelo Ferralítico Rojo, lo que ratificó los criterios de baja especificidad cepa eficiente – cultivo, obtenidos en otras investigaciones que evaluaron la efectividad de varias cepas de HMA en diversos cultivos sobre este tipo de suelo (Rivera y Fernández, 2003; González y col., 2008a).

La inoculación de la canavalia fue un método adecuado para reproducir los propágulos de la cepa eficiente de HMA, aunque resultará necesario evaluar la efectividad de esta elevación de propágulos para micorrizar los cultivos siguientes.

#### **4.5. Experimento 5: Influencia de diferentes antecedentes de manejo de inoculantes micorrízicos sobre la respuesta a la inoculación con HMA en la secuencia canavalia – maíz.**

Este experimento se realizó en cuatro fincas muy cercanas entre sí, todas con un tipo de suelo similar, pero con diferentes condiciones de manejo de inoculantes micorrízicos y de suministro de nutrientes, que provocaron distintos contenidos iniciales de número de esporas de HMA en el suelo y de disponibilidad de nutrientes (Tabla 1, acápite 3.1). Para el análisis del experimento, se presentarán los resultados obtenidos en todas las fincas en estudio de manera conjunta.

##### **4.5.1. Respuesta de la canavalia a la inoculación micorrízica en suelos con diferente manejo de la inoculación micorrízica. Etapa 1.**

El aporte de masa seca y el contenido de nutrientes de la canavalia y el barbecho en las diferentes fincas, durante las campañas estudiadas se observa en las figuras 11 y 12. Los indicadores del funcionamiento micorrízico se presentan en la figura 13.

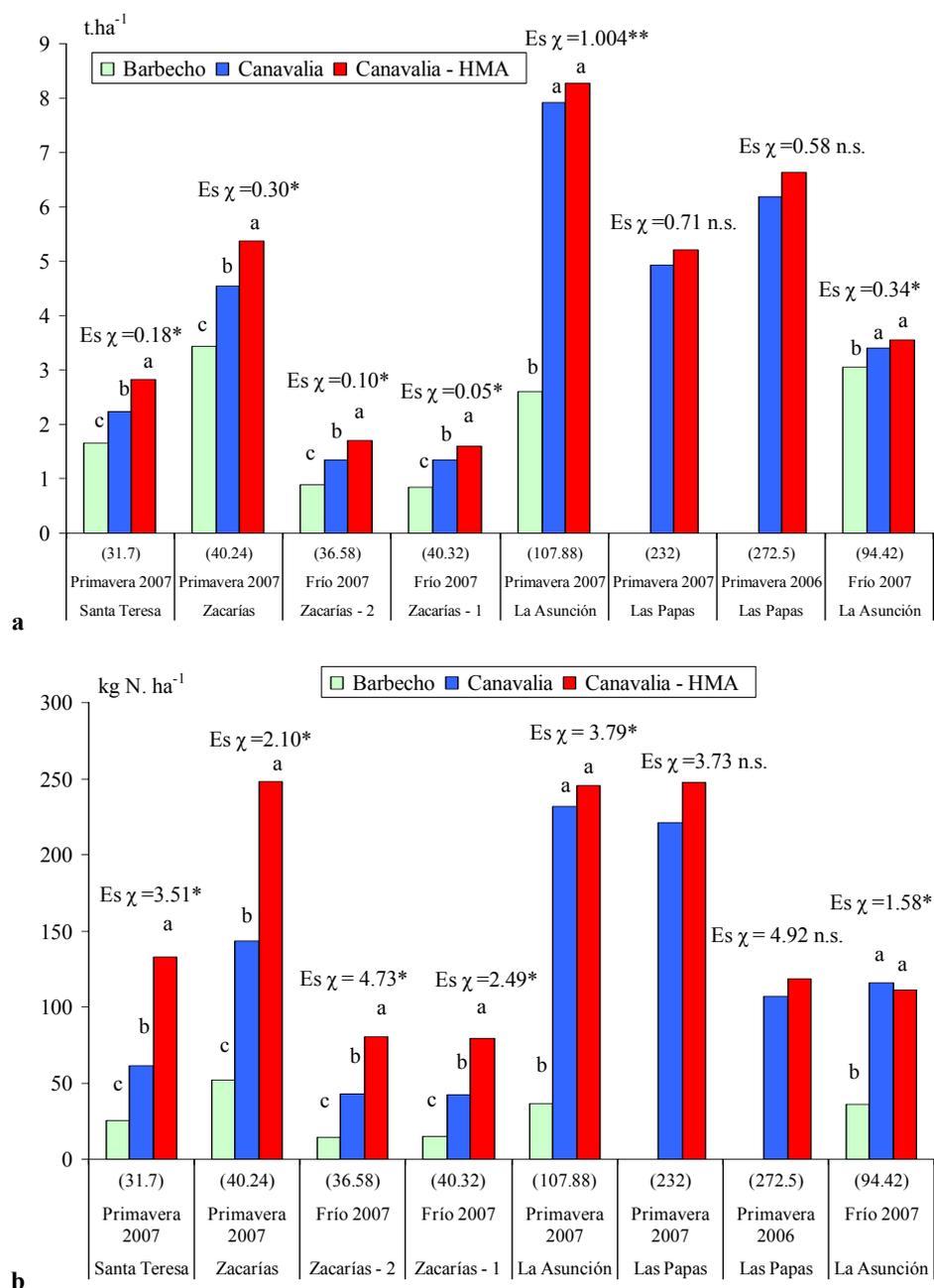
En condiciones de número inicial de esporas entre 31 y 40 esporas en 50 g de suelo, que corresponden con las fincas donde no se habían realizado aplicaciones previas de inoculantes micorrízicos, se encontró una respuesta significativa a la inoculación micorrízica de la canavalia, para las diferentes variables evaluadas en las dos campañas.

Los porcentajes de incremento de la canavalia inoculada respecto a la vegetación del barbecho oscilaron entre 30 – 90 % para la masa seca, extracción de nutrientes y funcionamiento fúngico. Los porcentajes de incremento de las variables analizadas de la canavalia inoculada con respecto a la no inoculada oscilaron alrededor de un 30 %.

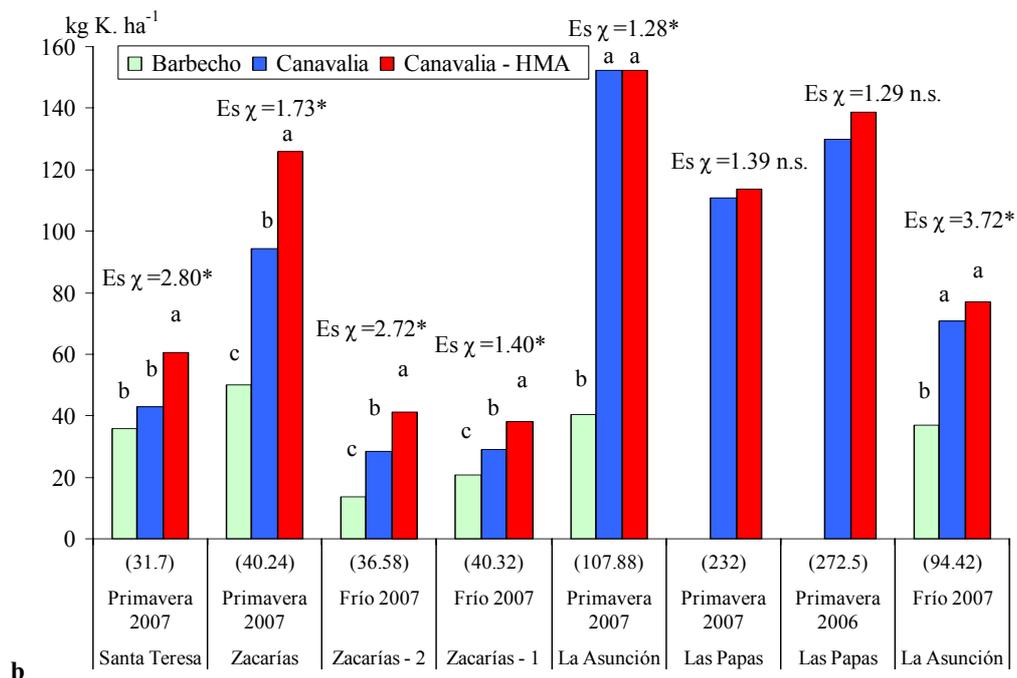
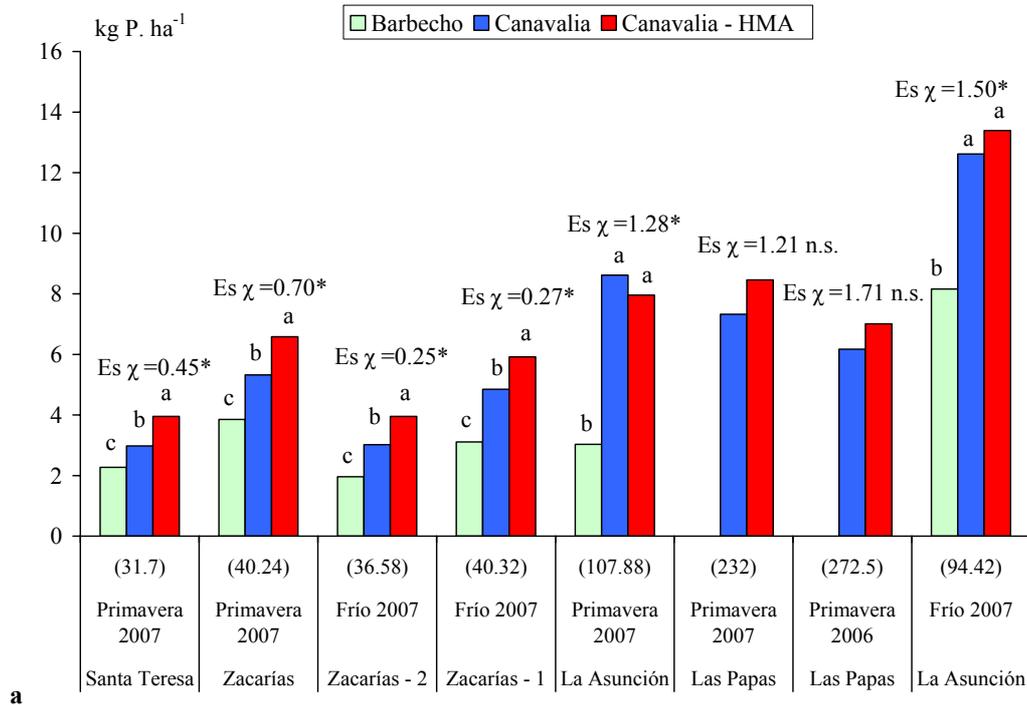
Un comportamiento muy diferente se encontró en los suelos con un número inicial de esporas de HMA superior a 100 esporas en 50 g de suelo, en los cuales no se observó respuesta a la inoculación, al no existir diferencias en la masa seca, contenido de nutrientes y el funcionamiento fúngico entre los tratamientos de inoculación o no de la canavalia. Sin embargo, sí se presentaron porcentajes de incremento del crecimiento y desarrollo de la canavalia con respecto a la vegetación del barbecho, que oscilaron alrededor de un 60 %.

Las plantas crecidas en el tratamiento que se dejó en barbecho resultaron inferiores en cuanto al aporte de masa seca, movilización de nutrientes y funcionamiento fúngico en

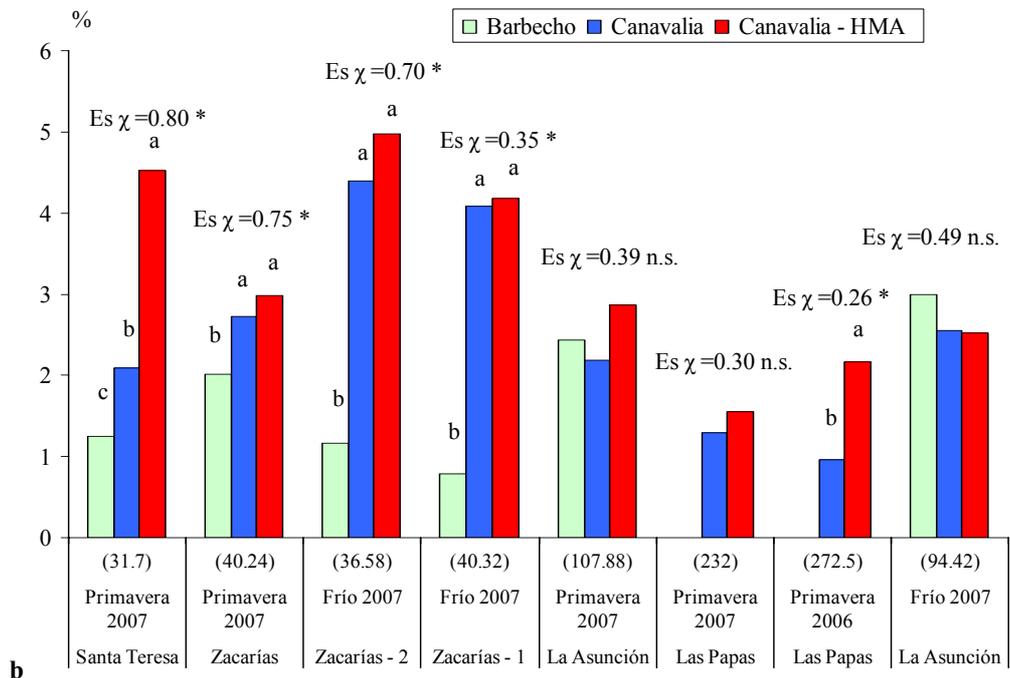
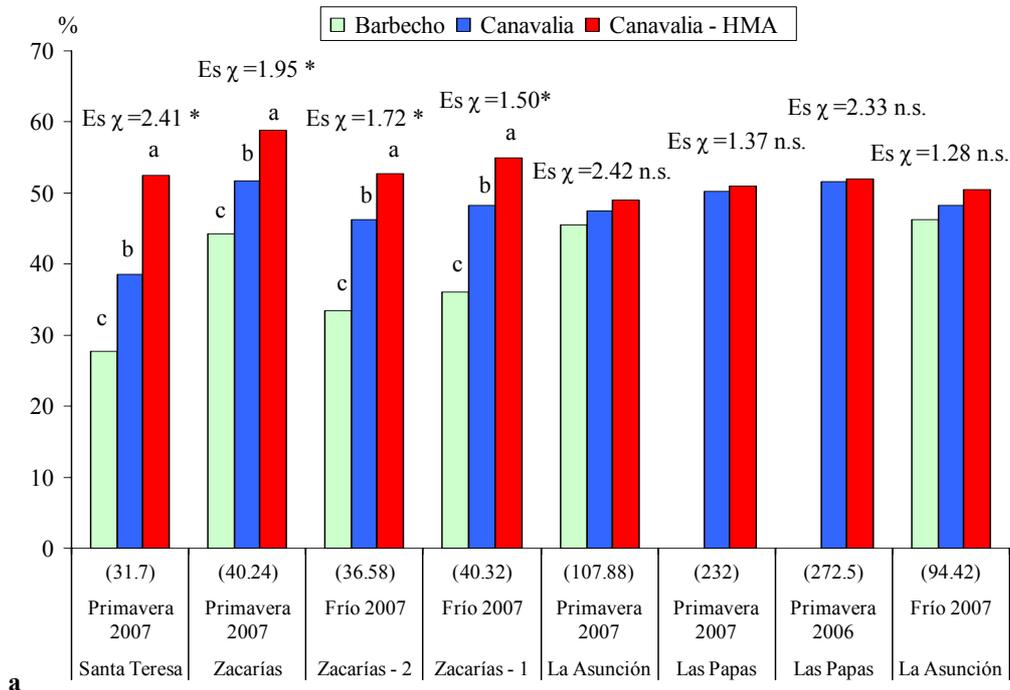
comparación con la canavalia, lo cual se debió al mayor crecimiento y reciclaje de nutrientes que realizó este abono verde en comparación con las especies presentes en el barbecho.



**Figura 11: Respuesta de la canavalia a la inoculación con *Glomus hoi* – like en dependencia del número inicial de esporas de HMA en el suelo y la fecha de siembra. (a) masa seca y (b) contenido de nitrógeno. \*Medias con letras distintas difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). Número entre paréntesis: conteo inicial de esporas. Barbecho: suelo en descanso por dos meses. Campañas: Primavera (mayo – septiembre, estación de lluvias); Frío (octubre – febrero, estación seca).**



**Figura 12: Respuesta de la canavalia a la inoculación con *Glomus hoi* – like en dependencia del número inicial de esporas de HMA en el suelo y la fecha de siembra. (a) contenido de fósforo y (b) potasio. \*Medias con letras distintas difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). Número entre paréntesis: conteo inicial de esporas. Barbecho: suelo en descanso por dos meses. Campañas: Primavera (mayo – septiembre, estación de lluvias); Frío (octubre – febrero, estación seca).**



**Figura 13: Respuesta de la canavalia a la inoculación con *Glomus hoi* – like en dependencia del número inicial de esporas de HMA en el suelo y la fecha de siembra. (a) % colonización micorrízica y (b) % de densidad visual. \*Medias con letras distintas difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p<0.05$ ). Número entre paréntesis: conteo inicial de esporas. Barbecho: suelo en descanso por dos meses. Campañas: Primavera (mayo – septiembre, estación de lluvias); Frío (octubre – febrero, estación seca).**

La respuesta de la canavalia a la inoculación dependió del contenido de esporas presentes en los suelos en los cuales se desarrolló el experimento y no 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 incremento fue superior en primavera con respecto al frío. O sea, tanto en primavera como en frío 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.

El clima tuvo una influencia directa sobre el crecimiento de los abonos verdes, con independencia de los tratamientos estudiados. Al analizar las dos campañas (primavera y frío), estas influyeron en las cantidades de masa seca y nutrientes extraídos, que fueron superiores en las plantas sembradas en primavera respecto a las de frío, aunque no afectaron la colonización micorrízica de la canavalia, e incluso el porcentaje de densidad visual aumentó, aún con la menor producción de masa seca asociada a esta época.

En este experimento, durante la campaña de frío predominaron temperaturas bajas, pocas precipitaciones y días cortos (Figura 2, acápite 3.1), condiciones que hicieron que las plantas florecieran rápidamente sin haber alcanzado un mayor crecimiento vegetativo, por lo que los aportes en materia seca y nutrientes en esta época fueron menores en comparación con los obtenidos en las condiciones de primavera, resultados que coinciden con los planteados por Álvarez y col. (1995); Espíndola y col. (1998); Filho y col. (2004) y Perín y col. (2004).

De manera general los resultados del aporte de masa seca y contenido de nutrientes de la canavalia coincidieron con los reportados por Treto y col. (2001), los que plantearon que esta planta es una especie de abono verde promisoría para las condiciones de suelos Ferralíticos Rojos debido a su crecimiento, aporte y reciclaje de nutrientes, que son muy notables en época lluviosa aunque se puede sembrar durante todo el año (García, 2002a). También Fernández (2003a) planteó que la formación de micorrizas desempeña un papel importante en el crecimiento de las plantas y su adaptación a condiciones de estrés. Estas plantas logran desarrollar una capacidad de asimilación, que les permite absorber mayor contenido de nutrientes y agua. Es posible que la alta dependencia micorrízica de esta especie, haya contribuido a su crecimiento, en ambas campañas.

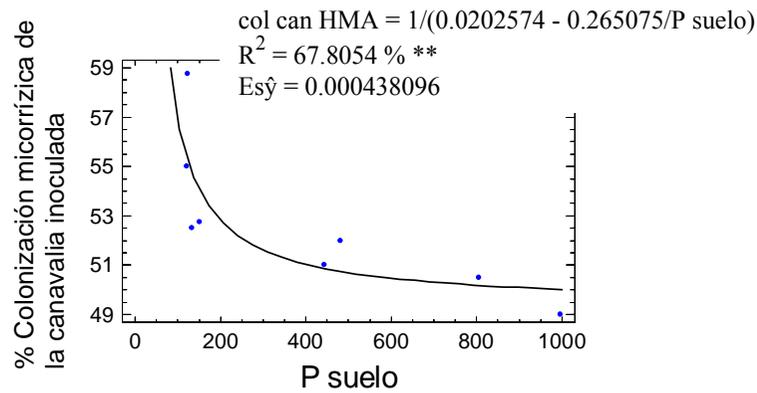
Las fincas se encuentran localizadas en una misma zona, con suelo y condiciones climáticas similares (Anexo 1), por lo que se esperaba que los indicadores de una micorrización efectiva fueran semejantes en todas. Sin embargo, se encontraron los mayores porcentajes de colonización micorrízica (entre 55 y 57 %) en las fincas que menores aplicaciones de fertilizantes e inoculaciones micorrízicas recibieron y estos porcentajes disminuyeron hasta 49 – 52 % en las fincas con fertilizaciones sistemáticas. Estos valores, si bien son altos e indicativos de una actividad micorrízica, sugieren cierta limitación del funcionamiento por acción de las altas fertilizaciones.

En la figura 14 se observa una relación negativa entre los porcentajes de colonización micorrízica de la canavalia inoculada con los contenidos de fósforo disponible en cada finca, con un significativo  $R^2 = 67 \%$  lo que sugiere una disminución del funcionamiento debido a los altos valores de fósforo encontrados.

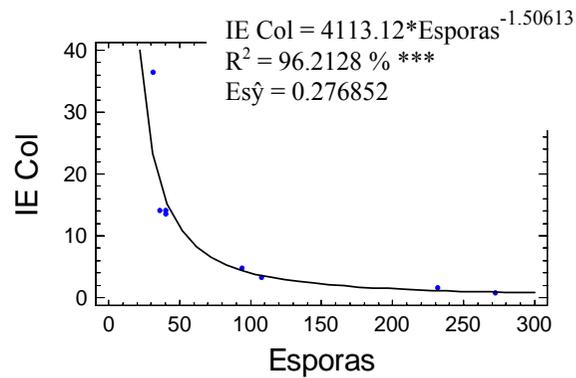
En este experimento se detectó que los suelos con contenidos de P por encima de los 200 mg P. kg<sup>-1</sup> fueron los que presentaron menores porcentajes de colonización micorrízica y densidad visual de la canavalia, lo que indicó que estos valores de P disponible limitaron en alguna medida la efectividad de la micorrización. Por otra parte, la cepa *Glomus hoi* – like mostró efectividad y funcionó aún en estas condiciones de muy elevada disponibilidad de fósforo, lo que indicó que se puede emplear en condiciones de alta fertilidad, con un funcionamiento adecuado de la simbiosis.

Este resultado está en correspondencia con los obtenidos por Rivera y Fernández (2003) quienes plantearon que a niveles altos de disponibilidad de nutrientes en el suelo, la efectividad de los HMA debe disminuir, aunque depende además de la cepa en cuestión.

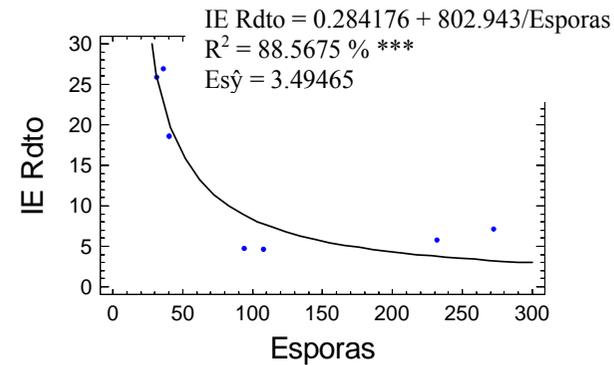
En relación con esto, se ha encontrado que diferentes especies de plantas cultivadas en suelos deficientes de P, a niveles crecientes del nutriente, aumenta la colonización por HMA, sin embargo, la colonización disminuye en presencia de altas dosis de P, tanto en plantas inoculadas o no (Montaño y col., 2001; Azcón y col., 2003; Mohammad y col., 2004; Gamper y col., 2005).



**Figura 14: Relación entre la colonización micorrízica (%) de la canavalia inoculada con el fósforo inicial disponible en el suelo.** Resultados de las dos campañas evaluadas. \*\*Existe relación estadísticamente significativa, con un nivel de confianza del 95 %



**A**



**B**

**Figura 15: Relación entre el índice de eficiencia de la colonización radical (A) y el índice de eficiencia de los rendimientos en masa seca de la canavalia (B) con el número inicial de esporas de HMA en el suelo.** Resultados de las dos campañas evaluadas. \*\*\*Existe relación estadísticamente significativa, con un nivel de confianza del 99 %. IE Col: Índice de eficiencia de la colonización micorrízica. IE Rdto: Índice de eficiencia del rendimiento en masa seca

En relación a este resultado, se observó la influencia que tuvo el número de esporas de HMA en el suelo sobre la intensidad de la respuesta de la canavalia a la inoculación, expresada como índice de eficiencia del porcentaje de la colonización micorrízica e índice de eficiencia de la masa seca de canavalia. Ambos indicadores disminuyeron con el aumento del número de esporas (figura 15).

En los suelos con alto número de esporas, en los que la canavalia no tuvo respuesta a la inoculación micorrízica, se observó un efecto similar al encontrado en el experimento 3 (acápite 4.3.2), en el cual si bien no existió respuesta a la inoculación del maíz, sin embargo, se encontraron valores apreciables de porcentajes de colonización en los tratamientos con y sin inoculación micorrízica, lo que indicó la existencia de una micorrización efectiva y asociada a las cantidades apreciables de propágulos micorrízicos derivados de inoculaciones anteriores.

La falta de respuesta de la canavalia a la inoculación no se debió por tanto a que la cepa inoculada fuera inadecuada, pues en el experimento 4 (acápite 4.4) quedó demostrado que la cepa *Glomus hoi* – like es una especie eficiente para el cultivo de la canavalia sembrada en este tipo de suelo.

La información obtenida en los diferentes suelos permitió establecer que la respuesta a la inoculación de la canavalia no dependió de la época del año en la cual fueron sembradas y sí de la cantidad de esporas de HMA y de las aplicaciones previas y continuadas de inoculantes micorrízicos.

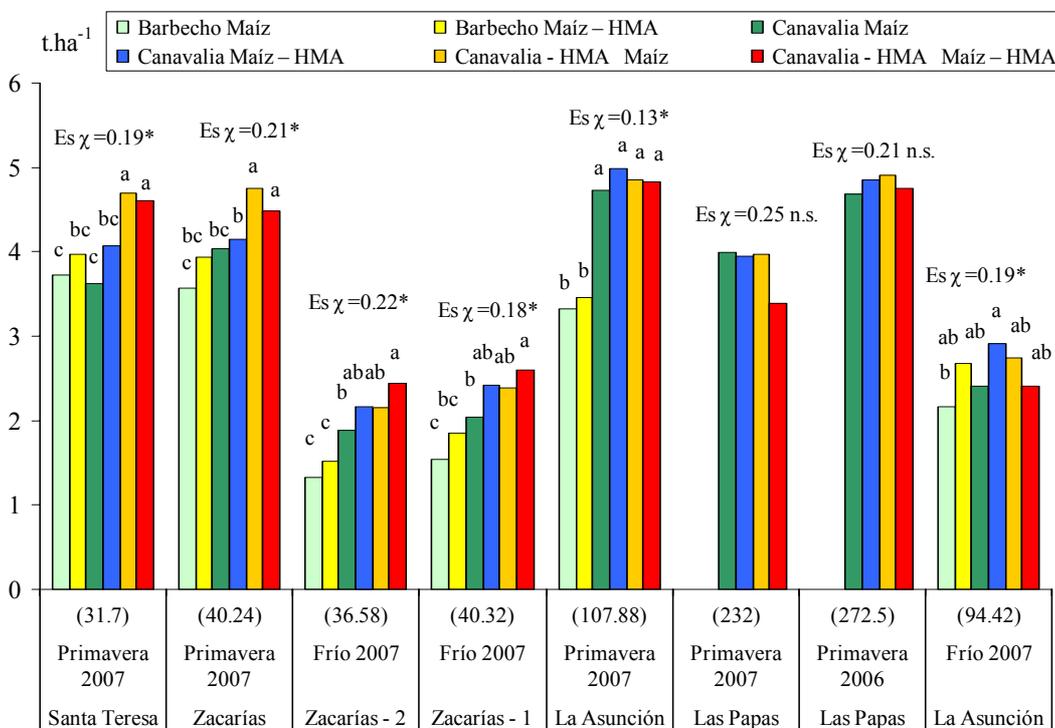
El poco o ningún efecto de la inoculación sobre el funcionamiento micorrízico de la canavalia en suelos con altos contenidos de esporas de HMA y derivados de aplicaciones continuas de cepas de HMA eficientes, resultó una consecuencia de la alta dependencia micorrízica de la canavalia, que se coloniza con los propágulos de HMA presentes en el suelo, resultados que coinciden con los informados por Bonilla (1999) y Filho (2004).

#### **4.5.2. Respuesta del maíz a la sucesión con canavalia e inoculación micorrízica. Etapa 2.**

En la figura 16 se puede observar el efecto de los tratamientos en estudio sobre los rendimientos del maíz en todas las fincas estudiadas.

En los suelos con menor número inicial de esporas nativas de HMA, se encontró que los tratamientos de maíz en sucesión con canavalia inoculada con micorrizas o donde se

inoculó el maíz fueron los de mayores rendimientos en comparación con el cultivo en sucesión con el abono verde sin inocular o con barbecho.



**Figura 16: Influencia del número inicial de esporas de HMA en el suelo sobre el rendimiento del maíz en rotación con canavalia y barbecho en cada sitio experimental durante las diferentes campañas estudiadas. \*Medias con letras distintas difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). Número entre paréntesis: conteo inicial de esporas. HMA: a base de *Glomus hoi* - like. Barbecho: suelo en descanso por dos meses. Campañas: Primavera (mayo – septiembre, estación de lluvias); Frío (octubre – febrero, estación seca).**

Este comportamiento indicó que para estas condiciones, fue necesario inocular al menos uno de los dos cultivos y rotar al maíz con un abono verde que le suministrase nutrientes, fundamentalmente nitrógeno.

En ambas épocas se detectó un efecto de permanencia pues el tratamiento canavalia + HMA – maíz mostró un comportamiento similar al de canavalia + HMA – maíz + HMA. Posiblemente esta conducta esté relacionada no sólo 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 sólo se inocularó la canavalia.

En los suelos con mayor número inicial de esporas de HMA se observó que no hubo diferencias significativas en los tratamientos de maíz en sucesión con canavalia, con

independencia de cual de los cultivos fue inoculado. Además, se observó la dependencia de los rendimientos con la época del año, pues el maíz sembrado en la temporada de frío, produjo menos rendimiento que el de primavera.

Esta falta de respuesta del maíz ante la inoculación micorrízica en los suelos con mayor número de esporas de HMA conlleva a una discusión similar a la realizada en el acápite 4.3.2 y debe ser consecuencia de las aplicaciones previas y continuadas de esta cepa. Si en los cultivos se establece una micorrización efectiva, se reproducen altas cantidades de propágulos de HMA que estarán presentes en el suelo para el cultivo sucesor.

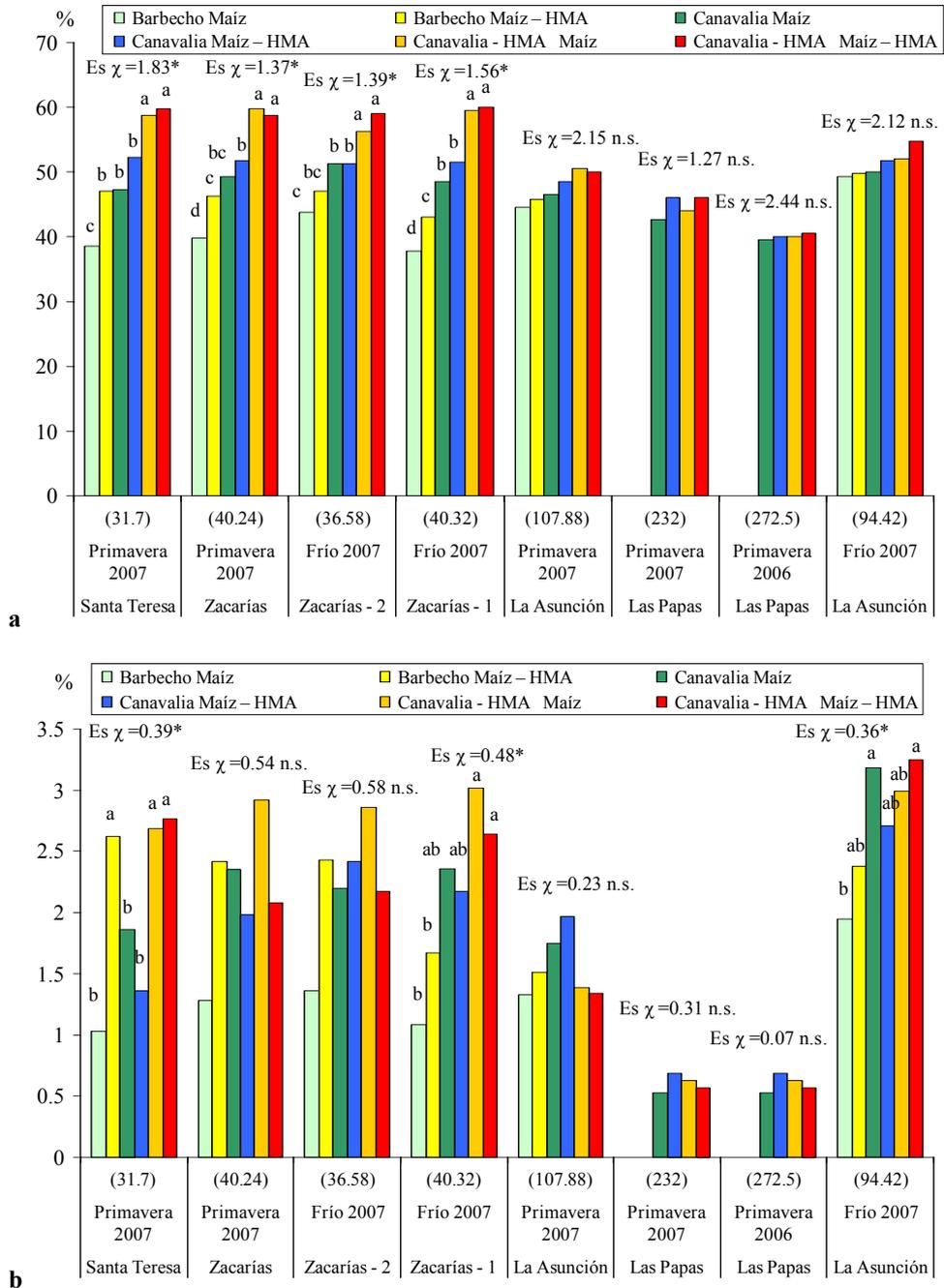
La abundante presencia de propágulos, aunque limitó la respuesta de la canavalia y del maíz a la inoculación, no impidió una micorrización efectiva de las plantas.

En la figura 17 se muestra el comportamiento de las variables del funcionamiento micorrízico en el maíz. En los suelos con menor número inicial de esporas de HMA, el porcentaje de la colonización y la densidad visual del maíz fueron mayores en los tratamientos en sucesión con el abono verde inoculado o con inoculación del maíz en comparación con los obtenidos en los tratamientos de barbecho y maíz sin inocular.

En los suelos con un número inicial de esporas alto, no se encontraron diferencias en los porcentajes de colonización micorrízica del maíz entre los tratamientos con abono verde, con independencia de si se inocularon o no los cultivos.

La conducta anterior indicó que la canavalia de por sí 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 productos micorrízicos 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 aún sin inoculación incrementó el nivel de estos propágulos y permitió una colonización efectiva en el cultivo posterior.

En relación con esto, Siquiera y Franco (1988) y Salas y Blanco (1997) plantearon 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.



**Figura 17: Influencia del número inicial de esporas de HMA en el suelo sobre los indicadores del funcionamiento de la simbiosis micorrízica: % colonización radical (a) y % de densidad visual (b) del maíz en rotación con canavalia y barbecho en cada sitio experimental durante las diferentes campañas estudiadas. \*Medias con letras distintas difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). Número entre paréntesis: conteo inicial de esporas. HMA: a base de *Glomus hoi* - like. Barbecho: suelo en descanso por dos meses. Campañas: Primavera (mayo - septiembre, estación de lluvias); Frío (octubre - febrero, estación seca).**

El empleo de abonos verdes con elevada dependencia micorrízica, aumenta los propágulos micorrízicos en el suelo y favorece la simbiosis en el cultivo posterior, según

plantearon Colozzi y Cardoso (2000); 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, de acuerdo a lo informado por Sánchez (2001) y Rivera y col. (2006).

El efecto de permanencia del inoculante aplicado sobre el primer cultivo ha sido encontrado en diferentes suelos y secuencias, según lo planteado por Ruiz (2001) y Riera (2003) 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 asimismo depende de la baja especificidad cepa de HMA – cultivo, según lo reportado por Rivera y Fernández (2003) pues ambos cultivos se micorrizan efectivamente con la misma cepa en cuestión.

Al respecto, Karasawa y col. (2002) plantearon que cultivar plantas hospedantes de HMA incrementa la colonización micorrízica del cultivo sucesor.

Los resultados demostraron la factibilidad de inocular los abonos verdes con cepas eficientes de HMA. De esta manera no sólo 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.

Los resultados dejaron establecidas las posibilidades del empleo de la canavalia dentro del manejo de los sistemas micorrizados eficientemente. En condiciones de suelos con poblaciones de HMA altamente competitivas, superiores a 100 esporas en 50 g de suelo y asociadas con aplicaciones previas y sucesivas de inoculantes micorrizógenos, la canavalia fue capaz de multiplicar los propágulos y garantizar una micorrización efectiva del cultivo posterior, por lo que no se hizo necesario realizar inoculaciones micorrízicas en ninguno de los dos cultivos.

En condiciones de población inicial de esporas inferiores a 40 esporas en 50 g de suelo, la inoculación micorrízica de los abonos verdes fue satisfactoria, con una respuesta positiva de estas plantas sobre la producción de fitomasa, extracción y reciclaje de nutrientes y garantizó la micorrización efectiva del cultivo posterior.

La inoculación micorrízica de la canavalia y su utilización como una vía para introducir una cepa eficiente en un agroecosistema incrementó el valor y beneficios 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.

#### 4.6. Experimento 6: Influencia de los contenidos de esporas nativas del suelo en la respuesta de *Canavalia ensiformis* a la inoculación micorrízica con cepas eficientes y su influencia sobre el maíz en sucesión.

##### 4.6.1. Respuesta de la canavalia a la inoculación micorrízica en presencia de alto número de esporas nativas de HMA. Etapa 1.

El suelo empleado al iniciar el experimento tenía valores de número de esporas nativas de HMA de 83 esporas en 50 g de suelo y en él no se realizaron aplicaciones previas de inoculantes micorrízicos.

En la Tabla 22 se observa el efecto del barbecho y de la *Brachiaria* sobre el número de esporas de HMA en dos profundidades del suelo, 0 – 15 y 15 – 30 cm, previo a la siembra de la canavalia.

**Tabla 22. Efecto de los tratamientos sobre el número de esporas de HMA a los 90 días de la siembra de la *Brachiaria*. (Esporas en 50 g de suelo)**

Tratamientos	0 – 15 cm	log (x)	% inc.	15 – 30 cm.	log (x)	% inc.
Barbecho	454.75	6.08 b		336.50	5.76	
<i>Brachiaria</i>	832.50	6.70 a	83 %	473.25	6.13	40 %
Es $\chi$		0.14 *			0.17 n.s.	

\*Medias con letras distintas en la misma columna difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). Barbecho: suelo en descanso por tres meses. % inc.: porcentaje de incremento respecto al número inicial de esporas.

Los dos precedentes culturales, barbecho y *Brachiaria*, multiplicaron las esporas nativas del suelo de 5 a 10 veces el número inicial. El tratamiento que mayor número de esporas en el suelo reprodujo fue el de *Brachiaria*, en la profundidad de 0 – 15 cm, con incrementos de 10 veces en relación a los contenidos iniciales y prácticamente duplicado los efectos ocasionados por el barbecho.

En la profundidad de 15 – 30 cm, se observó una tendencia de la *Brachiaria* a elevar la cantidad de esporas, en este caso en casi seis veces con relación a los contenidos

iniciales y un 40 % de incremento con relación al barbecho, aunque sin diferencias significativas con este tratamiento.

Las condiciones de crecimiento de las plantas de *Brachiaria* y barbecho, en época lluviosa y con altas temperaturas, aseguraron un crecimiento exuberante de estas especies vegetales y facilitaron, en presencia de contenidos medios de esporas nativas en el suelo, una significativa micorrización de estas plantas y la multiplicación de los propágulos micorrízicos en el suelo.

En relación con estos resultados, Duponnois y col. (2001) plantearon que en barbecho, la micorrización natural de las plantas puede estar pobremente desarrollada. De acuerdo a Chen y col. (2004), el número esporas de HMA se incrementa significativamente con el aumento del número de especies de arvenses (mayor diversidad) presentes en el barbecho.

En otros estudios, Fernández (2003b) planteó que *Brachiaria* es hospedante de micorrizas, con amplia utilización para la reproducción de inoculante micorrízico, alta dependencia micorrízica y un sistema radical que garantiza una adecuada producción de propágulos. Arzola y col. (2008) coincidieron al encontrar mayor colonización radical, densidad visual y número de esporas en la rizosfera de *Brachiaria* híbrido, cv Mulato inoculada con *Glomus hoi* – like.

Según Espíndola y col. (1998), como los HMA son simbiontes obligatorios, por medio de la rotación de cultivos, las plantas con alta dependencia micorrízica y eficientes en la multiplicación de los HMA, pueden aumentar la cantidad de propágulos, lo que favorece la colonización de los cultivos siguientes y mejora su nutrición y producción.

En esta etapa del experimento se logró incrementar las poblaciones de esporas nativas y se obtuvieron dos cantidades bien diferentes en el suelo, incluso superiores a los mayores contenidos de esporas estudiadas en los experimentos anteriores.

En la Tabla 23 se presenta el comportamiento de la canavalia frente a la inoculación con la cepa *Glomus hoi* – like en el suelo con las esporas multiplicadas por la *Brachiaria* o las plantas del barbecho y expresado en la masa seca, el contenido de nutrientes y el funcionamiento fúngico. Se observó una interacción entre los factores en estudio: precedente cultural e inoculación de la canavalia.

**Tabla 23. Respuesta a la inoculación micorrízica de la canavalia en rotación con *Brachiaria* o barbecho en un suelo con alto número de esporas nativas de HMA.**

Tratamientos		Masa seca Total			Contenido de nutrientes				Colonización		Densidad Visual	
					N		P	K				
		(g. m <sup>-2</sup> )	% Inc.	log (x)	(g. m <sup>-2</sup> )	log (x)	(g. m <sup>-2</sup> )	(g. m <sup>-2</sup> )	%	arcsen√x	%	arcsen√x
Barbecho	Canavalia	282.54		5.50 c	8.94	2.09 b	0.65 b	7.00 b	40.74	0.69 c	1.52	0.12 b
Barbecho	Canavalia – HMA	552.33	95	6.29 ab	16.89	2.82 a	1.44 a	13.09 a	57.72	0.86 b	1.67	0.13 b
<i>Brachiaria</i>	Canavalia	419.52	48	5.69 bc	11.11	2.06 b	1.19 a	7.91 b	58.65	0.87 b	1.56	0.13 b
<i>Brachiaria</i>	Canavalia – HMA	586.24	107	6.36 a	15.13	2.68 a	1.20 a	10.69 a	71.30	1.01 a	2.78	0.17 a
Es $\chi$				0.20 *		0.20 *	0.26 *	1.31 *		0.036 *		0.0094 *

\*Medias con letras distintas en la misma columna difieren entre sí, según prueba de Duncan (p<0.05). Barbecho: suelo en descanso por tres meses. HMA: a base de *Glomus hoi* – like. % Inc.: porcentaje de incremento de la masa seca respecto al tratamiento sin inoculación y barbecho como precedente de la canavalia.

En la tabla se puede observar la significativa respuesta de la canavalia a la inoculación micorrizica en cada una de las dos condiciones de número de esporas nativas, con independencia de su alta cantidad.

La comparación de las variables masa seca y contenido de nutrientes entre los tratamientos no inoculados expresó un ligero incremento de los efectos de la micorrización de la canavalia en función de las cantidades crecientes de esporas nativas, aunque estas diferencias sólo fueron significativas en la absorción de P y de forma general tuvieron un comportamiento inferior que la de los tratamientos inoculados, lo que sugiere la menor efectividad de las cepas nativas.

Es de destacar la significativa respuesta de la canavalia a la inoculación en presencia de elevadas cantidades de esporas nativas (450 y 830 esporas en 50 g de suelo), incluso, los valores de masa seca y contenido de nutrientes en ambos tratamientos inoculados fueron similares, aun cuando los efectos de la inoculación en los tratamientos con igual cultivo precedente fueron menores en la medida que se incrementaron las esporas nativas.

Al analizar el porcentaje de colonización radical se observó que el mayor valor se encontró en el tratamiento de inoculación de canavalia en sucesión con *Brachiaria*, en comparación con aquellos en los que no se inoculó la canavalia o esta planta inoculada en sucesión con el barbecho.

El análisis del porcentaje de densidad visual mostró que el tratamiento de *Brachiaria* – canavalia + HMA presentó el valor más alto con respecto a los demás tratamientos. Este resultado indicó que se logró la mayor ocupación o concentración del hongo en las raíces de canavalia inoculada en sucesión con *Brachiaria*, que fue la especie que mayor número de esporas nativas multiplicó.

En estudios realizados por Fernández (2003a) encontró una respuesta superior en el crecimiento de posturas de café con la aplicación de cepas eficientes en comparación a inóculos concentrados de cepas nativas, lo que sugirió que la adaptabilidad a una condición edáfica dada no es sinónimo de eficiencia.

De igual forma los resultados informados por Sánchez (2001) mostraron una respuesta positiva a la inoculación de cepas eficientes de HMA en la producción de posturas de café en tres tipos de suelo 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 apoya la

importancia de aplicar cepas eficientes de HMA, las cuales pueden ser efectivas, aún 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 micorrízica efectiva y se demostró la importancia de la inoculación de cepas eficientes para alcanzar una simbiosis micorrízica efectiva 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 hoi – like* a estas condiciones edáficas.

Por otro lado, los altos valores del funcionamiento fúngico de la canavalia inoculada en sucesión con *Brachiaria*, los cuales fueron significativamente superiores al del otro tratamiento inoculado, sugieren que el abono verde en este tratamiento, no sólo fue colonizado por la cepa inoculada, *Glomus hoi – like*, 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, Van Tuinen y col. (1998) al estudiar los patrones de colonización radical de diferentes especies de HMA, encontraron que la mayoría de las raíces de puerro y cebolla estaban colonizadas por más de una especie de HMA, incluso se detectaron hasta cuatro especies fúngicas al mismo tiempo en el 27 % de las muestras.

Es de destacar que los dos tratamientos inoculados presentaron un comportamiento agrobiológico similar, con valores semejantes de masa seca y contenido de nutrientes, aun cuando presentaron diferencias significativas entre los porcentajes de colonización, explicable por la alta efectividad de la cepa *Glomus hoi – like*, lo que sugiere que estas diferencias en colonización no influyeron sobre el crecimiento de la canavalia.

En la Tabla 24 se observa el número de esporas de HMA presentes en el suelo después de la incorporación de la canavalia.

**Tabla 24. Efecto del crecimiento e incorporación de canavalia al suelo sobre el número de esporas de HMA (Esporas en 50 g de suelo).**

Profundidad		0 – 15 cm			15 – 30 cm.		
Tratamientos		Número	log (x)	% Inc.	Número	log (x)	% Inc.
Barbecho	Canavalia	731.00	6.58 c		461.00	6.09	
Barbecho	Canavalia – HMA	1077.50	6.98 b	(47 %)	462.00	6.14	(0.2 %)
<i>Brachiaria</i>	Canavalia	854.00	6.75 bc	(16 %)	513.00	6.24	(11 %)
<i>Brachiaria</i>	Canavalia – HMA	1594.50	7.37 a	(118%)	826.00	6.71	(78 %)
Es $\chi$			0.08 *			0.18 n.s.	

\*Medias con letras distintas en la misma columna difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). Barbecho: suelo en descanso por tres meses. HMA: a base de *Glomus hoi* – like. % inc.: porcentaje de incremento respecto al tratamiento sin inoculación y barbecho como precedente de la canavalia.

Se encontró que la siembra y posterior corte e incorporación de la canavalia multiplicó el número total de esporas de HMA en el suelo, en la profundidad de 0 – 15 cm. Los mayores valores de esporas se encontraron en la canavalia inoculada sobre el precedente de *Brachiaria*, superiores incluso al tratamiento *Brachiaria* – canavalia, lo que dejó claro la competitividad y efectividad de la cepa *Glomus hoi* – like en estas condiciones.

En la profundidad de 15 – 30 cm los contenidos de esporas resultaron inferiores en comparación a la primera profundidad, las diferencias entre los tratamientos con el mismo cultivo precedente disminuyeron y aunque los mayores contenidos se encontraron en el tratamiento *Brachiaria* – canavalia + HMA con incrementos de 78 % con respecto al tratamiento en sucesión con barbecho y sin inoculación, aun en este caso no se encontraron diferencias entre los tratamientos, lo cual puede estar asociado con una mayor variabilidad de la información en esta profundidad.

En relación con este resultado, Peña y col. (2006) plantearon que la mayor cantidad de propágulos en el suelo se encuentra en los primeros 20 cm de profundidad, en correspondencia directa con la aireación y contenido de materia orgánica del suelo.

Es necesario señalar que aunque la canavalia inoculada en sucesión con el barbecho, multiplicó el número de esporas de HMA en el suelo, este no alcanzó tan altos valores como los obtenidos con la inoculación de canavalia en sucesión con *Brachiaria*.

La influencia determinante de las combinaciones cultivo precedente – inoculación con cepas eficientes de la canavalia, no sólo se expresó sobre la producción de masa seca y contenido de nutrientes de la canavalia sino además sobre la capacidad de multiplicación de esporas por parte de esta, aunque trabajos previos sólo habían evaluado las

posibilidades de incremento de los propágulos nativos a través del manejo de los abonos verdes (de Souza y col., 1999; Colozzi y Cardoso, 2000), al no estudiar la inoculación de la canavalia con cepas de HMA eficientes.

#### **4.6.2 Respuesta del maíz a la inoculación en la sucesión con canavalia. Etapa 2.**

En la Tabla 25 se observa el comportamiento del maíz después de las sucesiones *Brachiaria* o barbecho con la canavalia. Se encontró una interacción entre el cultivo precedente, la inoculación del abono verde e inoculación del maíz, reflejado en los resultados obtenidos en la masa seca, contenido de nutrientes y funcionamiento micorrízico del cultivo.

Aunque la población nativa de HMA se encontraba con un alto número de propágulos presentes en el suelo, con contenidos superiores incluso a los encontrados en los experimentos 3 y 5, estas cantidades de esporas no impidieron la respuesta del maíz a la inoculación en las diferentes variables estudiadas. Este comportamiento supone la factibilidad de las aplicaciones de cepas eficientes de HMA aun cuando los propágulos nativos se encuentren en altas cantidades.

La inoculación de la canavalia como cultivo precedente conllevó a una micorrización eficiente del maíz (cultivo posterior), sin diferencias con los tratamientos en que el maíz fue inoculado, lo que sugiere que se estableció un efecto de permanencia del inoculante aplicado en el primer cultivo sobre el segundo.

Los menores valores de las variables analizadas se encontraron en el tratamiento de sucesión barbecho – canavalia – maíz, que no recibió ninguna aplicación de HMA en los tres cultivos, lo cual indicó que, aunque el contenido de esporas nativas de HMA fue elevado en estas microparcels, no garantizaron una micorrización eficiente.

En correspondencia con este resultado, las variables de funcionamiento fúngico indicaron un menor funcionamiento micorrízico en los tratamientos de barbecho – canavalia – maíz y *Brachiaria* – canavalia – maíz ambos sin inoculación micorrízica.

Asimismo, los datos de rendimiento en masa seca del maíz y de las otras variables indicaron la importancia de inocular a este cultivo cuando la canavalia precedente no fuera inoculada, aún en presencia de valores altos de esporas nativas, para garantizar los máximos beneficios de la simbiosis micorrízica eficiente.

**Tabla 25. Efecto del precedente cultural y de la inoculación micorrízica del abono verde y/o del cultivo principal sobre la masa seca, contenido de nutrientes e indicadores de la simbiosis micorrízica (% colonización radical y % de densidad visual) del maíz.**

Tratamientos			Masa seca total maíz		Contenido de nutrientes					Colonización		% Densidad Visual
Precedente	Abono verde	Cultivo principal	(g. m <sup>-2</sup> )	log (x)	N		P (g. m <sup>-2</sup> )	K		%	arsen <sup>√</sup> x	
					(g. m <sup>-2</sup> )	log (x)		(g. m <sup>-2</sup> )	log (x)			
Barbecho	Canavalia	Maíz	198.48	5.29 c	4.31	1.45 c	1.00 c	4.13	1.42 c	58.67	0.87 c	3.02 c
Barbecho	Canavalia	Maíz – HMA	1196.29	7.05 a	15.29	2.71 ab	4.5 ab	24.87	3.17 a	75.67	1.06 ab	5.53 b
Barbecho	Canavalia – HMA	Maíz	860.95	6.74 ab	16.66	2.76 a	4.23 ab	16.35	2.79 b	77.00	1.08 ab	5.81 b
Barbecho	Canavalia – HMA	Maíz – HMA	989.70	6.85 ab	16.48	2.74 a	4.03 ab	18.95	2.90 ab	87.67	1.21 a	8.85 a
<i>Brachiaria</i>	Canavalia	Maíz	676.75	6.52 b	10.13	2.31 b	2.84 bc	14.63	2.68 b	61.67	0.90 bc	3.82 bc
<i>Brachiaria</i>	Canavalia	Maíz – HMA	1119.82	7.01 a	16.03	2.74 ab	5.89 a	22.63	3.02 ab	70.33	1.02 ab	5.25 b
<i>Brachiaria</i>	Canavalia – HMA	Maíz	948.30	6.81 ab	14.34	2.53 ab	4.77 ab	20.87	2.93 ab	67.67	0.97 b	5.39 b
<i>Brachiaria</i>	Canavalia – HMA	Maíz – HMA	1017.56	6.80 ab	14.64	2.59 ab	4.71 ab	27.77	3.32 a	81.67	1.14 ab	6.08 ab
Es $\chi$				0.15 *		0.22 *	0.88 *		0.19 *		0.07 *	0.96 *

\*Medias con letras distintas en la misma columna difieren entre sí, según prueba de Duncan ( $p < 0.05$ ). HMA: Barbecho: suelo en descanso por tres meses. HMA: a base de *Glomus hoi* – like.

El efecto de los cultivos precedentes sobre el crecimiento del maíz fue provocado, en parte, por la elevación del número de propágulos de HMA. En relación con esto, Karasawa y col. (2002) encontraron que el maíz en sucesión con girasol aumentó el 49 % de su masa seca y colonización radical, en comparación a los tratamientos con cultivos precedentes que no reprodujeron las micorrizas en el suelo, lo que explica la simbiosis, aún en la sucesión sin inoculación micorrízica.

En Cuba se ha demostrado el efecto de la permanencia de la cepa aplicada sobre el primer cultivo posterior al inicialmente inoculado, al menos durante dos campañas, en diferentes rotaciones de cultivos establecidas sobre suelos Pardos con Carbonatos y Ferralíticos Rojos con contenidos bajos de esporas nativas, lo cual fue una consecuencia de la baja especificidad cepa eficiente de HMA – cultivo, de forma tal que al introducir una cepa eficiente para un tipo de suelo, la misma tuvo posibilidades de asociarse con el cultivo inoculado, reproducirse, alcanzar una concentración adecuada de propágulos en el sistema y micorrizar al cultivo siguiente (Rivera y Fernández, 2003).

En estudios realizados por Riera (2003), al trabajar en una secuencia de tres cultivos, planteó que al inocular sólo los dos primeros se logran alcanzar rendimientos y funcionamiento micorrízico similares a los obtenidos al inocular los tres tipos de plantas, comportamiento que se manifestó independientemente de las especies que se utilizaron en la secuencia, siempre que todas establecieran simbiosis con los HMA, efecto relativamente similar al encontrado por Ruiz (2001).

En el presente experimento se comprobó como las plantas de canavalia respondieron a la inoculación con la cepa *Glomus hoi* – *like*, aún en presencia de un elevado número de propágulos nativos de HMA el suelo, aunque esta especie vegetal reprodujo también las cepas nativas que colonizaron al cultivo posterior.

Este resultado demostró la alta competitividad y eficiencia de la cepa *Glomus hoi* – *like* 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 (Rivera y Fernández, 2003; González y col., 2008b). 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.

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 hoi* – *like* 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.

En presencia de elevados contenidos esporas nativas entre 400 y 800 esporas en 50 g de suelo se obtuvo asimismo 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.

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

#### **4.7 Análisis de la factibilidad económica del uso combinado de abonos verdes y HMA en el cultivo del maíz.**

En la Tabla 26 se presenta el análisis económico realizado a los tratamientos con las dosis óptimas de fertilizante mineral recomendadas en cada una de las sucesiones estudiadas en el experimento 3, al compararlas con el tratamiento de maíz sin inoculación micorrízica y sin fuentes nitrogenadas.

En los dos años estudiados se observó una relación beneficio/costo superior a 1, lo que implicó retornos económicos de las cosechas obtenidas. En el 2003, el tratamiento donde

sólo se aplicó la dosis recomendada de fertilizante mineral, aunque presentó un beneficio, este fue inferior al obtenido con el empleo de la canavalia e inoculación micorrízica del maíz, que fue muy notable en las sucesiones.

Esto se debió a que se obtuvieron altos rendimientos en presencia de la utilización de la canavalia y sin la aplicación de dosis de fertilizante mineral, pues este abono verde incorporó un alto contenido de N al sistema ( $290 \text{ kg N.ha}^{-1}$ ) y garantizó un funcionamiento micorrízico adecuado y sustituyó todo el fertilizante necesario para garantizar altos rendimientos. Por otra parte, el valor del fertilizante químico fue muy alto, con importes en las dos monedas vigentes en Cuba, lo que provocó un aumento en los costos totales del cultivo.

Durante el 2006 se observó en el tratamiento que sólo recibió la dosis óptima de fertilización mineral, una elevación de la relación beneficio/costo en comparación al primer año, lo cual estuvo en correspondencia con la disminución de las dosis óptimas de fertilización mineral obtenidas durante el segundo año, sin embargo estos indicadores fueron inferiores a los obtenidos en los tratamientos que recibieron abonos verdes y la inoculación con HMA en presencia de las dosis complementarias de fertilizante.

Al analizar las otras sucesiones, aunque la relación beneficio/costo del abono verde no fue tan alta como en el 2003, debido a la aplicación de dosis complementarias de fertilizante mineral y los indicadores económicos fueron muy provechosos. Durante este año se presentaron altos retornos económicos también en el tratamiento inoculado y con dosis óptimas de fertilizante, sin el empleo de canavalia.

No obstante, las mejores relaciones B/C se obtuvieron con los tratamientos con abonos verdes e inoculación micorrízica según fuera el caso. Estos tratamientos además conllevaron, en los dos años, a ahorros en divisas producto de las disminuciones de las dosis de aplicación del fertilizante mineral nitrogenado pues los estimados de costos de fertilización oscilaron entre  $50$  y  $90 \text{ CUC.ha}^{-1}$  por campaña de maíz y disminuyeron hasta  $35 \text{ CUC.ha}^{-1}$  con el empleo de la canavalia lo cual es un importante indicador adicional a tener en cuenta en la valoración económica de estos tratamientos.

**Tabla 26. Análisis económico de los tratamientos recomendados en las secuencias estudiadas en el experimento 3.**

Rotación	Año	Dosis óptima recomendada (kg N.ha <sup>-1</sup> )	Rendimiento máximo estable (t.ha <sup>-1</sup> )	Valor de la producción (\$·ha <sup>-1</sup> )*	Costos de producción (\$·ha <sup>-1</sup> )*	Ganancia (\$·ha <sup>-1</sup> )*	Beneficio (\$·ha <sup>-1</sup> )*	Costo Relativo (\$·ha <sup>-1</sup> )*	B/C	Costo fertilizante CUC.ha <sup>-1</sup>
B - M	2003	0,00	3,20	11968,00	2746,15	9221,85				
B - M		129,03	4,47	16717,80	5124,23	11593,57	2371,72	2378,08	1,00	\$ 91.22
C - M			4,59	17166,60	3490,45	13676,15	4454,30	744,30	5,98	
B - M + HMA			4,53	16942,20	3493,20	13449,00	4227,15	747,05	5,66	
B - M	2006	0,00	2,87	10733,80	2746,15	7987,65				
B - M		69,07	4,02	15034,80	4019,14	11015,66	3028,01	1272,99	2,38	\$ 48.83
B - M + HMA		70,07	4,67	17465,80	4040,32	13425,48	5437,83	1294,17	4,20	\$ 49.54
C - M		50,31	4,61	17241,40	4417,69	12823,71	4836,06	1671,54	2,89	\$ 35.57
C - M + HMA		50,00	4,85	18139,00	4414,72	13724,28	5736,63	1668,57	3,44	\$ 35.35

Rel B/C: Relación Beneficio/Costo. HMA: a base de *Glomus hoi* – like. B – M: barbecho – maíz; C – M: canavalia – maíz; C – M + HMA: canavalia – maíz inoculado. Barbecho: suelo en descanso por tres meses. Fertilizante mineral NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>. \* CUP

**Tabla 27. Análisis económico de las secuencias recomendadas en las fincas campesinas. Experimento 5.**

Finca	Campaña	Tratamiento	Rendimientos (t.ha <sup>-1</sup> )	Valor de la producción (\$.ha <sup>-1</sup> )*	Costos de producción (\$.ha <sup>-1</sup> )*	Ganancia (\$.ha <sup>-1</sup> )*	Beneficio (\$.ha <sup>-1</sup> )*	Costo Relativo (\$.ha <sup>-1</sup> )*	B/C
La Asunción	Primavera 07	B - M	3,33	12441,73	2746,15	9695,58			
		C - M	4,73	17702,67	3490,45	14212,22	4516,63	744,30	6,07
La Asunción	Frío 07	B - M	2,16	8078,40	2746,15	5332,25			
		C - M	2,68	10023,20	3490,45	6532,75	1200,50	744,30	1,61
Santa Teresa	Primavera 07	B - M	3,72	13912,80	2746,15	11166,65			
		C + HMA - M	4,70	17578,00	3520,70	14057,30	2890,65	774,55	3,73
Zacarías	Primavera 07	B - M	3,57	13364,27	2746,15	10618,12			
		C + HMA - M	4,75	17752,53	3520,70	14231,83	3613,72	774,55	4,67
Zacarías - 1	Frío 07	B - M	1,54	5759,60	2746,15	3013,45			
		C + HMA - M	2,60	9724,00	3520,70	6203,30	3189,85	774,55	4,12
Zacarías - 2	Frío 07	B - M	1,33	4961,73	2746,15	2215,58			
		C + HMA - M	2,44	9125,60	3520,70	5604,90	3389,32	774,55	4,38

Rel B/C: Relación Beneficio/Costo. HMA: a base de *Glomus hoi* – like. B – M: barbecho – maíz; C – M: canavalia – maíz; C + HMA – M + HMA: canavalia inoculada – maíz inoculado. Barbecho: suelo en descanso por tres meses. \* CUP

En la Tabla 27 se muestra el análisis económico realizado a los resultados obtenidos en el experimento 5, al comparar las sucesiones canavalia – maíz y su inoculación, recomendadas para cada finca y campaña con las sucesiones barbecho – maíz sin inocular.

En la finca La Asunción, donde se encontró un funcionamiento micorrízico satisfactorio de la canavalia y del maíz sin necesidad de inoculación (figuras 11 a, acápite 4.5.1 y figura 16, acápite 4.5.2), las relaciones beneficio/costo dependieron de la época. Los retornos económicos fueron muy notables en la campaña de primavera, lo que dejó muy clara la importancia de la canavalia y fueron aceptables en la campaña de frío, debido a la disminución de los rendimientos agrícolas en esta época, no obstante, se alcanzaron rendimientos superiores del maíz en el tratamiento que recibió abono verde.

Sin embargo, en las dos fincas con bajo número inicial de esporas de HMA, en las que sí se observó una respuesta a la inoculación micorrízica, el empleo de la canavalia proporcionó retornos económicos a los agricultores. Se presentó un mayor impacto económico al inocular la canavalia y promover una simbiosis micorrízica eficiente en ambos cultivos, con independencia de la campaña y época en la que se sembraron las plantas, debido a las mejoras productivas que proporcionó el uso combinado de abonos verdes y HMA.

Los resultados indicaron que el empleo combinado de los abonos verdes y biofertilizantes micorrízicos ofrecieron beneficios económicos superiores a los obtenidos por la fertilización mineral, pues conllevaron a una disminución de los insumos de fertilizantes, elevaron los rendimientos, mejoraron la eficiencia de uso de los fertilizantes minerales y disminuyeron la inversión monetaria en CUC (divisas) en el cultivo del maíz.

De igual forma, en áreas donde no se aplicaron fertilizantes, los abonos verdes aportaron y/o reciclaron una considerable cantidad de N, que al considerar el aporte de la fijación biológica, disminuye el balance negativo del nutriente en el sistema suelo – planta.

En el caso de las inoculaciones micorrízicas el incremento de la absorción de nutrientes, hizo que se elevara la eficiencia en el uso del fertilizante mineral y en el caso de que estos no se aplicaran, elevó la eficiencia en el uso del abono verde.

En relación con lo anterior, García y col. (2002b) plantearon que el uso de especies de abonos verdes puede ser muy eficiente económicamente en los sistemas de producción sostenible de maíz con bajos insumos, no obstante, aquellos trabajos no integraron el manejo de la inoculación micorrízica.

Si bien los abonos verdes aumentaron los gastos por concepto de semillas, a su vez disminuyeron los costos de los fertilizantes y elevaron los rendimientos, lo cual los convierte en una alternativa que permite el ahorro de insumos y la sustitución de importaciones, beneficios que se potencian al emplearlos de forma conjunta con biofertilizantes micorrizógenos de producción nacional.

Además aportaron beneficios directos a la fertilidad del suelo por el aporte y reciclaje de nutrientes y promovieron la biología del suelo, tanto la natural, como las especies introducidas a través de la biofertilización.

Por otra parte, el incremento obtenido en los rendimientos fue capaz de cubrir ampliamente los costos de producción al emplear biofertilizantes y abonos verdes. Por el contrario, la siembra de maíz sin suministro de nutrientes esquilma al suelo y disminuye los rendimientos y las potencialidades productivas del mismo.

Otra ventaja económica de los abonos verdes, según Guerra y col. (2007) es que una vez introducidos los abonos verdes en las fincas, se pueden destinar pequeñas áreas a la producción de semillas, lo cual hace que disminuyan los costos por concepto de su adquisición e incluso, se pueden vender las semillas sobrantes y constituir una nueva fuente de ingresos para los campesinos.

#### **4.8 Consideraciones generales sobre el manejo integrado de la inoculación micorrízica, los abonos verdes y la fertilización nitrogenada en el cultivo del maíz.**

Los abonos verdes constituyen una vía efectiva para participar dentro de los esquemas de suministro de N para las plantas de interés agrícola. Para su manejo efectivo y mejor aprovechamiento del N por parte de los cultivos, se deben tener en cuenta diversos aspectos como: tipo de planta a emplear, cultivo principal, lugar de inserción dentro de la rotación y su velocidad de mineralización (CIDICCO, 2003).

A lo largo de la investigación se estudió como la especie *Canavalia ensiformis* fue capaz de sustituir parcialmente el nitrógeno de los fertilizantes minerales en la nutrición del cultivo del maíz y su uso combinado con dosis inferiores y equivalentes de fertilizantes

minerales igualó o superó los rendimientos del maíz crecido en condiciones de aplicación de la totalidad del N en forma de fertilización mineral.

Se han llevado a cabo numerosos trabajos que corroboran lo anteriormente planteado. En este sentido, Samasundaran y col. (1996) en la India indicaron que con la incorporación de *Sesbania rostrata* se puede suplir el 50 % del fertilizante nitrogenado, es decir, que el abono verde combinado con 50 kg N.ha<sup>-1</sup> fue mejor que utilizar 100 kg N.ha<sup>-1</sup> como fertilizante mineral.

Al comparar la eficiencia de la utilización del N evaluado con el isótopo <sup>15</sup>N se pudo constatar el aumento de la misma en la aplicación conjunta de fertilizantes minerales y los abonos verdes en comparación con la aplicación de fertilizantes minerales solamente. Este efecto positivo probablemente se debió al efecto *primming*, al mejoramiento de las condiciones físicas del suelo por el aumento de la materia orgánica y al aumento de las actividades microbiológicas, lo cual debió contribuir a la reducción de pérdidas del N por lixiviación o volatilización (Urquiaga y Zapata, 2000).

Por otro lado, se ratificó la importancia que tiene la inoculación micorrízica en la eficiencia de la absorción de nutrimentos, al evaluarse en este trabajo su estimulación sobre la absorción de nitrógeno y otros nutrientes, lo que favoreció el crecimiento de los cultivos inoculados en comparación a los que no lo fueron y coadyuvar así a la disminución de las dosis de fertilizantes minerales.

La respuesta del maíz a la fertilización mineral nitrogenada y la dosis recomendada de la misma, en las condiciones estudiadas, dependieron del funcionamiento micorrízico del maíz y de la cantidad de N incorporado con la canavalia.

Esto es explicable porque los HMA aumentan la adquisición de nutrientes por las plantas mediante el incremento de la superficie y el área de absorción. Las raíces micorrizadas son capaces de obtener más nutrientes del suelo que las raíces no micorrizadas debido a que las hifas exploran un mayor volumen (Entry y col., 2002).

Además, el valor de las leguminosas empleadas como abono verde viene dado, entre otras características, por la cuantía de N que aportan al sistema. Mientras mayor sea la cantidad del elemento, menor será el total de fertilizante mineral necesario para complementar los requerimientos de los cultivos, siempre que se les brinde un adecuado manejo que maximice el aprovechamiento del N por las plantas (Pozzi, 2005).

Asimismo, se comprobó la efectividad de la inoculación de la cepa *Glomus hoi* – like para asociarse con la canavalia en suelos Ferralíticos Rojos, con un comportamiento superior a otras cepas de HMA, lo que corroboró los criterios de recomendación de la esta cepa para los cultivos dependientes de la micorrización y crecidos sobre estos suelos (Rivera y Fernández, 2003; González y col., 2008a), e incorporando la canavalia al grupo de plantas con una respuesta positiva a la inoculación de esa cepa en estas condiciones edáficas, lo que ratifica el enfoque de baja especificidad cepa eficiente de HMA – cultivo.

La inoculación de *Glomus hoi* – like garantizó un mayor funcionamiento micorrízico así como originó una mayor producción de masa seca y contenido de nutrientes de la canavalia y al mismo tiempo, se lograron altos índices de multiplicación de sus propágulos en el suelo, lo que indicó la importancia de este cultivo, no sólo como abono verde, sino además como vía de introducción y aumento de propágulos micorrízicos.

Los trabajos encaminados a evaluar la inoculación de la canavalia con HMA demostraron su ventaja para aumentar los beneficios de los abonos verdes, al incrementar su masa seca y contenido de nutrientes y al mismo tiempo introducir una especie de HMA efectiva, que fomentase la micorrización de los cultivos posteriores y optimizar el manejo de la inoculación, lo que dejó claro los beneficios de esta práctica en comparación con la simple elevación de los propágulos nativos, reportados con anterioridad por diversos autores (Espíndola y col., 1998; de Souza y col., 1999).

En relación con esto se trabajó en suelos con diferentes contenidos de esporas de HMA y manejo de la inoculación con productos micorrízicos. Siempre se encontró una respuesta positiva de la canavalia a la inoculación donde había un contenido de esporas nativas entre 30 – 40 esporas en 50 g de suelo y que nunca habían recibido aplicaciones de inoculantes micorrizógenos.

De la misma forma, en suelos con un número de esporas nativas superior a 800 y que tampoco se habían inoculado con cepas eficientes de HMA, se observó también respuesta de las plantas a la inoculación, lo que indicó la importancia y factibilidad de la inoculación de cepas eficientes, basado en la competitividad y efectividad de estas para establecer una simbiosis efectiva con las plantas.

En los suelos con un contenido de esporas entre 100 – 200 esporas en 50 g de suelo y con aplicaciones anteriores de biofertilizantes a base de cepas eficientes de HMA, aunque no se observó respuesta a la inoculación, las plantas cultivadas si alcanzaron un funcionamiento micorrízico eficiente a costa del adecuado potencial de inoculante del suelo en estas condiciones y presumiblemente asociado con la permanencia de las cepas eficientes aplicadas.

Se encontraron pocos reportes de respuesta de la canavalia a la inoculación micorrízica en dependencia del número de esporas presentes en el suelo en condiciones de campo. Filho (2004) en condiciones de macetas, encontró que canavalia multiplica los propágulos micorrízicos en el suelo, aunque estos sean muy bajos y que con la inoculación de esta planta se puede promover la presencia de estos hongos en suelos degradados.

Por otra parte, el fenómeno de la permanencia y la efectividad del inóculo en el suelo en función del tiempo está vinculado a un complejo de factores inherentes al manejo del suelo y los cultivos, que influyen en el desarrollo y los mecanismos de acción del hongo, tales como las características y fenología del cultivo inoculado, el grado de dependencia micorrízica de ambos cultivos, la preparación del suelo, sistemas de siembra, densidad de plantación y la pérdida gradual de la fertilidad del suelo, entre otros.

Aunque no abundan los resultados experimentales sobre permanencia de la efectividad de una cepa eficiente inoculada en una secuencia o rotación de cultivos en condiciones de experimentos de microparcels o campo, no deja de ser un tema muy importante y promisorio, sobre todo a partir de la baja especificidad cepa – cultivo y a la propia característica de precedencia del abono verde.

En este trabajo se encontró efecto positivo de permanencia de la cepa de HMA inoculada en el abono verde sobre el maíz sembrado en sucesión, lo cual se reflejó en los mayores rendimientos y elevado funcionamiento fúngico del cultivo en comparación a las plantas sembradas en sucesión con el abono verde sin inoculación o en rotación con barbecho, lo que amplía los beneficios y el valor de la práctica del abonado verde, al integrarla dentro del manejo de la inoculación micorrízica en los agroecosistemas.

En Cuba se ha demostrado la permanencia del inóculo aplicado sobre el primer cultivo, lo cual es una consecuencia de la baja especificidad cepa – cultivo, de forma tal que cuando se

introduce una cepa eficiente para un tipo de suelo, la misma está en posibilidades de asociarse con los diferentes cultivos, reproducirse, alcanzar una concentración adecuada de propágulos en el sistema y micorrizar efectivamente al menos al cultivo siguiente, lo cual fortalece el uso de los abonos verdes, no sólo como fuente de nutrientes, sino como una vía para potenciar los propágulos de cepas eficientes en el suelo (Rivera y Fernández, 2003).

No obstante, esta es la primera investigación en que se evalúa los beneficios de la inoculación micorrízica sobre un abono verde como precedente a un cultivo y deja claro los beneficios obtenidos y la integración del abono verde con el manejo de la simbiosis micorrízica en el agroecosistema.

Este trabajo corroboró la necesidad de conocer los tipos de cepas y la cantidad de propágulos de éstas en el suelo y del manejo agrícola que se aplique, para el manejo exitoso de la inoculación con HMA, lo cual es una tarea a resolver posiblemente con el auxilio de las técnicas moleculares (Hamel y Strullu, 2006).

Para lograr los mayores beneficios en el empleo combinado de leguminosas como abonos verdes, en este caso canavalia y una eficiente simbiosis micorrízica en los sistemas agrícolas, se precisa la aplicación de estrategias de trabajo que conduzcan a resultados exitosos. La inoculación de las plantas con cepas de HMA eficientes por tipos de suelo se hace necesaria, para garantizar una simbiosis micorrízica que aseguren las máximas ventajas para el hongo y su hospedante.

Es necesario realizar estudios o tener en cuenta los posibles factores limitantes del suelo, que pudieran afectar la simbiosis micorrízica y la productividad de los sistemas agrícolas y emplear especies de plantas y microorganismos adaptados a las esas condiciones. Al mismo tiempo sería interesante desarrollar e introducir nuevos métodos de trabajo que permitan realizar una valoración objetiva y rápida del potencial de micorrización y el seguimiento y permanencia de las cepas inoculadas.

Para una efectiva estrategia de obtención de altos rendimientos agrícolas con una disminución de insumos externos, el uso de los abonos verdes inoculados es una necesidad, al hacer un aporte y reciclaje de nutrientes y mantener un balance adecuado de estos y como una vía efectiva en la introducción de cepas eficientes en el agroecosistema.

Se recomienda la siembra de una especie de abono verde que sirva al suelo de cobertura, específicamente una leguminosa inoculada tanto con *Rhizobium* específico como con una cepa de HMA, lo que garantizaría la fijación biológica del N, el propio efecto de la micorrización efectiva sobre el crecimiento y desarrollo de las leguminosas y la reproducción de los propágulos micorrízicos en el suelo. Todas estas ventajas redundarían en potenciales beneficios a los cultivos sucesores.

No queda dudas del efecto beneficioso del uso de la canavalia y los HMA sobre la producción de maíz, que influyeron sobre la disminución total o parcial de las cantidades de abono mineral y por tanto, se establecieron las dosis óptimas de nutrientes necesarias para obtener rendimientos máximos estables en presencia de los abonos verdes y las inoculaciones micorrízicas en este cultivo, las cuales fueron menores que las recomendadas en ausencia de estas prácticas.

Los resultados obtenidos en estos experimentos amplían la información y las bases para el manejo de las asociaciones micorrízicas y los abonos verdes en la producción de maíz, al comprobar que existen opciones prácticas para el manejo de la inoculación de cepas eficientes a través del manejo de especies de abono verde que aseguren la multiplicación de la población de HMA en el suelo e incrementen el aporte y reciclaje de nutrientes en los sistemas agrícolas, lo que permite disminuir considerablemente las dosis de fertilizantes a aplicar para garantizar una adecuada nutrición de los cultivos.

Estos resultados asimismo, se ampliarán con el uso combinado de cepas eficientes de rizobios y HMA, para alcanzar además un óptimo de fijación biológica de nitrógeno y garantizar en este caso aportes agroproductivos de este importante nutriente al sistema.

## 5. CONCLUSIONES

- La combinación de cantidades equivalentes de N en forma de abonos verdes (canavalia) y de fertilizante mineral nitrogenado garantizaron un suministro de N más efectivo para el maíz que la aplicación de todo el N en forma de fertilizante mineral, con incrementos en el coeficientes de aprovechamiento del nitrógeno de un 20 %
- El uso combinado de los abonos verdes y la inoculación de cepas eficientes de HMA sobre el cultivo del maíz en condiciones de respuesta a la fertilización nitrogenada, presentó incrementos de los rendimientos de 1 t.ha<sup>-1</sup> y disminución entre 30 – 50 % de las dosis de fertilización mineral necesarias para alcanzar un rendimiento máximo estable, lo que conllevó a beneficios económicos de 4000 a 5000 \$.ha<sup>-1</sup> (CUP).
- *Glomus hoi* – like se comportó también como una cepa eficiente de HMA para la inoculación de *Canavalia ensiformis* cultivada en suelo Ferralítico Rojo, al garantizar los mayores acumulados de masa seca, contenido de nutrientes y porcentajes de colonización micorrízica, lo que corroboró los criterios de baja especificidad cepa eficiente – cultivo.
- La inoculación con *Glomus hoi* – like de la canavalia en suelos con un número inicial de esporas de HMA entre 30 – 40 en 50 g de suelo y en las dos campañas evaluadas, no sólo presentó un incremento en la masa seca de la canavalia (25 % en el período lluvioso y 18 % en el poco lluvioso) y contenido de nutrientes, sino que además presentó un efecto de permanencia de la inoculación sobre el cultivo posterior de maíz, al alcanzar este último porcentajes de colonización propios de un funcionamiento micorrízico eficiente e incrementos de los rendimientos de 30 % en la campaña de lluvias y 15 % en la seca con relación al tratamiento control sin abono verde ni inoculación.
- Se presentó respuesta de la canavalia y el maíz a la inoculación micorrízica en suelos con un número de esporas nativas que oscilaron entre 800 – 1500 esporas en 50 g de suelo pero sin haber recibido aplicaciones anteriores de biofertilizantes micorrízicos. Se presentó además un efecto de permanencia del inoculante micorrízico aplicado a

la canavalia sobre el maíz en sucesión, lo que dejó establecida la alta competitividad y efectividad de la cepa inoculada aún en estas condiciones.

- La canavalia crecida en suelo Ferralítico Rojo con un número de esporas superior a 100 esporas en 50 g de suelo, resultante de aplicaciones continuadas de biofertilizantes micorrízicos a base de *Glomus hoi* – *like*, si bien no mostró respuesta a la aplicación de esta cepa, sí presentó un funcionamiento fúngico propio de una simbiosis efectiva incluso en los tratamientos no inoculados. La multiplicación de los propágulos de HMA por el abono verde en estas condiciones favoreció al maíz como cultivo sucesor, el cual también alcanzó niveles adecuados de colonización y densidad visual, aún en los tratamientos sin inoculación.
- Se encontró que la *Canavalia ensiformis* se integró satisfactoriamente dentro del esquema de manejo de la inoculación micorrízica en la sucesión canavalia – maíz, aportando no sólo los beneficios de los abonos verdes sino resultando una vía efectiva para alcanzar la micorrización eficiente del cultivo posterior.

## **RECOMENDACIONES**

A partir de los resultados obtenidos en la investigación, se recomienda lo siguiente:

- Emplear la canavalia inoculada con la cepa *Glomus hoi* – *like* en sucesión con el cultivo del maíz sobre suelo Ferralítico Rojo para disminuir en un 30 – 50 % los requerimientos de fertilizantes nitrogenados, lograr rendimientos superiores de los dos cultivos y como una vía efectiva de introducción de la cepa en el agroecosistema para aprovechar el efecto de permanencia de la inoculación de la canavalia sobre el maíz.
- Introducir en las unidades y fincas productivas la siembra de abonos verdes inoculados con cepas eficientes de HMA, como parte de la rotación de cultivos o como cultivos de cobertura para suelos en reposo.
- Comenzar los estudios relacionados con el seguimiento y la dinámica poblacional de las cepas de micorrizas inoculadas y nativas en los sistemas agrícolas.
- Utilizar los resultados obtenidos con fines docentes por los estudiantes de pre y postgrado de las ciencias agrícolas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Adriano, M.L.; Solís, F.; Gavito, M.E.; Salvador, M. 2006. Agronomical and environmental factors influence root colonization, sporulation and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi at a specific phenological stage of banana trees. *Journal of Agronomy*. 5 (1): 11 – 15.
2. Aguiar. A.C.F. 2001. Efecto de especies usadas como abonos verdes en el enriquecimiento de la fertilidad del suelo y en el manejo de plagas. Tesis (Mag. Sc.). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Biblioteca Conmemorativa Orton. Turrialba, Costa Rica. 93 p.
3. Ajwa, H. A.; Tabatabai M. A. 1994. Descomposition of different organic materials in soil. *Biol. Fertil Soils*, 18: 175 – 182.
4. Alemán, R.; Flores, M. 1993. Algunos datos sobre *Canavalia ensiformis*. Informe Técnico (10). CIDICCO. Honduras. 4 p.
5. Alí, M.; Mridha, M.A.V.; Hossain, A. 2001. Vesicular arbuscular mycorrhizae in some coastal sand dune plants of Bangladesh. *Bangladesh J. Agril. Res.* 26 (3): 335 – 342.
6. Alvarado, A. 1985. Guía para el productor de maíz. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá. 2da ed. 13p.
7. Alvarado, A.; Cavaría, M.; Guerrero, R.; Boniche, J.; Navarro, J.R. 2004. Características edáficas y presencia de micorrizas en plantaciones de teca (*Tectona grandis* L.f.) en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 28 (1): 89 – 100.
8. Álvarez, J.D.; Anzuetto, M. de J. 2004. Actividad microbiana del suelo bajo diferentes sistemas de producción de maíz en los altos de Chiapas, México. *Agrociencia*. 38: 13 – 22.
9. Álvarez, M. 2000. Los abonos verdes: una alternativa para la producción sostenible de maíz en las condiciones de los suelos Ferralíticos Rojos de la Habana. Tesis de Maestría en Nutrición de las Plantas y Biofertilizantes. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. UNAH. La Habana. 69 p.
10. Álvarez, M.; García, M. y Treto, E. 1995. Revisión bibliográfica: Los abonos verdes: una alternativa natural y económica para la agricultura. *Cultivos Tropicales* 16 (3): 9-24.

11. Álvarez, M.; García, M.; Treto, E. 1999. Eficiencia del N incorporado con los abonos verdes en el cultivo del maíz. *Cultivos tropicales*. 20 (3): 49 – 53.
12. Alves, B.J.R.; Zotarelli, L.; Fernandes, F.M.; Heckler, J.C.; de Macedo, R.A.T.; Boddey, R.M.; Jantalia, C.P. y Urquiaga, S. 2006. Fixação biológica de nitrogênio e fertilizantes nitrogenados no balanço de nitrogênio em soja, milho e algodão. *Pesq. Agropec. Bras.* 41 (3): 449 – 456.
13. Ambrosano, E.J.; Ochenze, P.C.; Muraoka, T. 1997. Estabelecimento de tecnica para marcação dos adubos verdes *Crotalaria juncea* e *Mucuna* – preta com <sup>15</sup>N para estudos de dinamica do nitrogenio. *Bragantia*. Instituto Agronomico Campinas. (IAC). 56 (1): 219 – 224.
14. Ambrosano, E.J.; Trivelin, P.C.O.; Cantarella, H.; Ambrosano, G.M.B.; Schammass, E.A.; Guirado, N.; Rossi, F.; Méndez, P.C.D.; Muraoka, T. 2005. Utilization of nitrogen from green manure and mineral fertilizer by sugar cane. *Scientia Agrícola*. 62 (6).
15. Apple, M.E.; Thee, C.I.; Smith, V.L.; Cogar, C.R.; Wells, C.E.; Nowak, R.S. 2005. Arbuscular mycorrhizal colonization of *Larrea tridentate* and *Ambrosia dumosa* roots varies with precipitation and season in the Mojave Desert. *Symbiosis*. 39: 1 – 5.
16. Araujo, A.P.; de Almeida, D.L. 1993. Adubação verde associada a fosfato de rocha na cultura do milho. *Pesq. Agropec. Bras.* 28 (2): 245 – 251.
17. Arf, O.; da Silva, L.S.; Bozette, S.; Alves, M.C.; de Sá, M.E.; Ferreira, R.A.; Braz, F. 1999. Efeitos na cultura do trigo da rotação com milho e adubos verdes, na presença e na ausência de adubação nitrogenada. *Bragantia* 58 (2):323 – 324.
18. Arzola, J.; Morgan, O.; González, P.J.; Rivera, R.; Plana, R. 2008. Resultados de la inclusión de hongos micorrízicos arbusculares en los sistemas de fertilización para gramíneas forrajeras en la Empresa Pecuaria Genética Niña Bonita. En Congreso Científico del INCA (16:2008, nov 24 – 28, La Habana). Memorias. CD – ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 978-959-16-0953-3.
19. Astier, M. 2002. Manejo eficiente de nutrientes en sistemas agrícolas. Experiencias en el altiplano de México. *Leisa, Revista de Agroecología*. 18 (3): 15 – 16.

20. Astier, M.; Maass, J.M.; Etchevers, J.D.; Peña, J.J.; González, F. 2006. Short – term green manure and tillage management effects on maize yield and soil quality in an Andisol. *Soil & Tillage Research*. 88 (1/2): 153 – 159.
21. Azcón, R.; Ambrosano, E.; Charest, C. 2003. Nutrient acquisition in mycorrhizal lettuce plants under different phosphorus and nitrogen concentration. *Plant Science*. 165: 1137 – 1145.
22. Bajjukya, F.P.; de Ridder, N.; Giller, K.E. 2006. Nitrogen release from decomposing residues of leguminous cover crops and their effect on maize yield on depleted soils of Bukoba District, Tanzania. *Plant and Soil*. 279: 77 – 93.
23. Bajwa, R.; Aslam, N.; Javaid, A. 2002. Comparison of three green manures for growth and V.A. mycorrhizal colonization in maize (*Zea mays* L.). *On Line Journal of Biological Sciences*. 2 (8): 512 – 517.
24. Balkom, K.S.; Reeves, D.W. 2005. Sunn – hemp utilized as a legume cover crop for corn production. *Agron. J*. 97: 26 – 31.
25. Barrientos, L.; Pino I.; Méndez E. 1995. Efectividad y competitividad de cepas nativas de *Rhizobium* evaluadas en suelos de la IX Región. *Agricultura Técnica*. 55 (3 – 4): 226 – 232.
26. Barrios, E.; Mahuku, G.; Navia, J.; Cortés, L.; Asakawa, N.; Jara, C.; Quintero, J. 2006. Green manure impact on nematodes, arbuscular mycorrhizal and pathogenic fungi in Tropical Soils planted to common beans. 167 – 19. En: 18th World Congress of Soil Science. July 9 – 15, 2006, Philadelphia, Pennsylvania, USA.
27. Battle, J.; González, W.; Dueñas, G.; López, T. 1994. Dinámica del N mineral un suelo Pardo Grisáceo típico bajo pasto en condiciones de macetas. Sección Agroquímica. IX Seminario Científico INCA. Programa y Resúmenes. 116 p.
28. BCC. 2009. Tipo de cambio oficial de monedas extranjeras y peso convertible (CUC) con relacion al peso cubano (CUP). Banco Central de Cuba. [www.bc.gov.cu/Espanol/tipo\\_cambio.asp](http://www.bc.gov.cu/Espanol/tipo_cambio.asp). <18 de junio de 2009>
29. Becerra, A.G.; Arrigo, N.M.; Bartoloni, N.; Domínguez, L.S.; Cofré, M.N. 2007. Arbuscular mycorrhizal colonization of *Alnus acuminata* Kunth in northwestern

- Argentina in relation to season and soil parameters. C.I. Suelos (Argentina). 25 (1): 7 – 13.
30. Beltrán, A.; Fenech, L.; Ruiz, F.; Zamora, S.; Murillo, B.; García, J.L.; Troyo, E. 2004. Tópicos selectos de agronomía. Edit. CIBNOR – UABCS. La Paz, B.C.S. México. 260p.
  31. Bernal, H.Y.; Jiménez, L.C. 1990. Haba criolla. *Canavalia ensiformis* (L.) D.C. (*Fabaceae* – *Faboideae*). Secretaría Ejecutiva del Convenio Andrés Bello (SECAB). Bogotá, Colombia. 531p.
  32. Bertolí, M.P. 2006. Comunicación Personal. Departamento de Servicios Agrícolas. Finca Las Papas. INCA.
  33. Biederbeck, V.O.; Zentne, R.P.; Campbell, C.A. 2005. Soil microbial populations and activities as influenced by legume green fallow in a semiarid climate. *Soil Biol. Biochem.* 37: 1775 – 1784.
  34. Bittman, S.; Kowalenko, C.G.; Hunt, D.E.; Forge, T.A.; Wu, X. 2006. Starter phosphorus and broadcast nutrients on corn with contrasting colonization by mycorrhizae. *Agron. J.* 98: 394 – 401.
  35. Blanco, F.A.; Salas, E.A. 1997. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agronomía Costarricense.* 21 (1): 55 – 67.
  36. Boddey, R.M.; Sá, J.C.d.M.; Alves, B.J.R.; Urquiaga, S. 1997. The contribution of biological nitrogen fixation for sustainable agricultural systems in the tropics. *Soil Biology and Biochemistry.* 29 (5 – 6): 787 – 799.
  37. Bolleta, A.; Venanzi, S.; Krügerl, H. 2002. Respuestas del cultivo de trigo a la inoculación con biofertilizantes en el sur de la provincia de Buenos Aires. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Bordenane. Argentina. 6p.
  38. Bonilla, R. 1999. Influencia de las micorrizas sobre suelos algodoneros deteriorados en Codazzi y San Juan del Cisa. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. <http://200.13.202.26:90/pronatta/proyectos/pdf/951200235res.pdf> <23 – 12 – 05>.
  39. Bordón, D.A. 1995. Efecto del abono verde sobre el cultivo del maíz. En *Diálogo XLIII Maíz: Sistemas de producción. Programa cooperativo para el desarrollo*

- tecnológico agropecuario del Cono Sur. PROCISUR. IICA. Montevideo, Uruguay. 188p.
40. Boswell, E.P.; Koide, R.T.; Shumway, D.L.; Addy, H.D. 1998. Winter wheat cover cropping, V.A. mycorrhizal fungi and maize growth and yield. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 67 (1): 55 – 65.
  41. Bowen, W.T.; Jones, J.W.; Carsky, R.J.; Quintana, J.O. 1993. Evaluation of the nitrogen submodel of CERES – maize following legume green manures incorporation. *Agron – J. Madison, Wis.: American Society of Agronomy*. 85 (1): 153 – 159.
  42. Broeshart, H. 1974. Quantitative measurement of fertilizer uptake by crops. *Neth. J. Agric. Sci.* 22: 245 – 254.
  43. Bucher, M. 2007. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytologist*. 173 (1): 11 – 26.
  44. Bunch, R. 1994. El uso de abonos verdes por agricultores campesinos: lo que hemos aprendido hasta la fecha. Informe Técnico (3). Segunda Edición. CIDICCO. 8p.
  45. Burkles, D. 1994. El frijol terciopelo: una planta "nueva" con historia. CIMMYT. Documento interno. México, D.F. CIMMYT. 26 p.
  46. Calderón, M. y González, P.J. 2007. Respuesta del pasto guinea (*Panicum maximum*, cv Likoni) cultivado en suelo Ferralítico Rojo Lixiviado a la inoculación de hongos micorrizógenos arbusculares. *Cultivos Tropicales*. 28 (3): 33 – 37.
  47. Candle, N. 2006. Legume green manures: a potential substitute for fertilizers in maize. <http://fadr.msu.ru/rodale/agsieve/txt/vol3/3/a6.html>. <13 - 10 - 2006>
  48. Chen, X.; Tang, J.; Fang, Z.; Shimizu, K. 2004. Effects of weeds communities with various species numbers on soil features in a subtropical orchard ecosystem. *Agriculture, Ecosystem and Environment*. 102 (3): 377 – 388.
  49. Cherr, C.M.; Scholberg, J.M.S.; Sorley, M. 2006. Green manures as nitrogen source for sweet corn in a warm – temperate environment. *Agron. J.* 98: 1173 – 1180.
  50. CIAT. 1994. Recomendaciones técnicas para el cultivo del maíz. Centro de Investigación Agrícola Tropical (CIAT). Santa Cruz. 49p.

51. CIAT. 2001. Improve soil productivity with canavalia. CIAT – Uganda. [http://ppathw3.cals.cornell.edu/mba\\_project/CIEPCA/exmats/canavalia.html](http://ppathw3.cals.cornell.edu/mba_project/CIEPCA/exmats/canavalia.html) <23 - 12 - 05>
52. CIDICCO. 2001. Marigold para el control de nemátodos. Resúmenes de las discusiones por tema. COBERAGRI – L. [http://www.cidicco.hn/cober2001.htm#marigold\\_para\\_control\\_de\\_nematodos](http://www.cidicco.hn/cober2001.htm#marigold_para_control_de_nematodos).
53. CIDICCO. 2003. Catálogo de abonos verdes/cultivos de cobertura (AVCC) empleados por pequeños productores de los trópicos. CIDICCO. Honduras. 17 p.
54. CIDICCO. 2004a. ¿Qué son los abonos verdes y cultivos de cobertura? [http://www.cidicco.hn/especies\\_av\\_cc.htm](http://www.cidicco.hn/especies_av_cc.htm).
55. CIDICCO. 2004b. Coberturas para perennes. Resúmenes de las discusiones por tema. COBERAGRI – L. [http://www.cidicco.hn/cober2004.htm#coberturas\\_para\\_perennes](http://www.cidicco.hn/cober2004.htm#coberturas_para_perennes).
56. CIDICCO. 2004c. Canavalia (*Canavalia ensiformis*). [http://www.cidicco.hn/especies\\_av\\_cc.htm](http://www.cidicco.hn/especies_av_cc.htm)
57. Código Internacional de Nomenclatura Botánica, Wikipedia, 2009. [http://es.wikipedia.org/wiki/C%C3%B3digo\\_Internacional\\_de\\_Nomenclatura\\_Bot%C3%A1nica](http://es.wikipedia.org/wiki/C%C3%B3digo_Internacional_de_Nomenclatura_Bot%C3%A1nica). <23 – 1 – 09>
58. Collier, L.S.; Castro, D.V.; Neto, J.J.D.; Ribeiro, P.A. de A. 2006. Manejo de adubação nitrogenada para o milho sob palhada de leguminosas em plantio direto em Gurupi, T.O. Cienc. Rural. 36 (4). <http://www.scielo.php/ing-e>.
59. Colozzi, A.; Cardoso, E.J.B.N. 2000. Detecção de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de cafeeiros e de crotalaria cultivada na entrelinha. Pesq. Agropec. Bras. 35 (2): 2033 – 2042.
60. Couillet, F.; Benintende, M.; Saluzzio, M.; Benintende, S. 2001. Estimación del aporte de N del suelo en un cultivo de maíz (*Zea mays*). Comisión V. Fertilidad y Nutrición. XV Congreso Latinoamericano y V Cubano de la Ciencia del Suelo. Programa y Resúmenes. Boletín de la Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo (4).

61. Creamer, N.G.; Baldwin, K.R. 2004. Summer cover crops. 2/99 – HIL – 37. North Carolina Cooperative Extension Service. North Carolina A&T State University. <http://www.ces.ncsu.edu/depts/hort/hil/hil-37.html>.
62. Crozier, C.R.; King, L.D.; Volk, R.J. 1998. Tracing nitrogen movement in corn production systems in the North Carolina Piedmont: a nitrogen – 15 study. *Agron J.* 90: 171 – 177.
63. Cruz, A.F.; Ishii, T.; Matsumoto, I.; Kadoya, K. 2002. Network establishment of vesicular – arbuscular mycorrhizal hyphae in the rhizospheres between trifoliolate orange and some plants. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 71 (1): 19 – 25.
64. da Costa, M.B.B. 1991. Adubação verde no sul do Brasil. Rio de Janeiro. 350p.
65. da Silva, E.C. 2005. Manejo de adubação nitrogenada e utilização do nitrogênio (<sup>15</sup>N) da uréia, do milheto e da crotalaria pelo milho sob semeadura direta em solo de cerrado. Tesis Doutorado. Univ. de São Paulo. Banco de Teses. CAPES.
66. de Alcántara, F.A.; Neto, A.E.F.; de Paula, M.B.; de Mesquita, H.A.; Muniz, J.A. 2000. Adubação verde na recuperação da fertilidade de um latossolo – escuro degradado. *Pesq. Agropec. Bras.* 35 (2): 277 – 288.
67. de Oliveira, A.N.; de Oliveira, L.A. 2005. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in plants of *Theobroma grandiflorum* Schum and *Paullina cupana* Mart. of an agroforestry system in Central Amazonia, Amazonas State, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology.* 36: 262 – 270.
68. de Resende, A.S.; Quesada, D.M.; Xavier, R.P.; Guerra, J.G.M.; Boddey, R.M.; Alves, B.J.R.; Urquiza, S. 2001. Uso de leguminosas para adubação verde: importância da relação talo/folha. *Agronomía.* 35 (1 – 2): 77 – 82.
69. de Souza, F.A.; Trufin, S.F.B.; de Almeida, D.L.; da Silva, E.M.R.; Guerra, J.G.M. 1999. Efeitos de pré – cultivos sobre o potencial de inóculo de fungos micorrízicos arbusculares e produção da mandioca. *Pesq. Agropec. Bras.* 34 (10): 1913 – 1923.
70. Delphin, J.E. 2000. Estimation of nitrogen mineralization in the field from an incubation test and from soil analysis. *Agronomie.* 20:349-361.
71. Dravka, Z.; Petrova, B.L.; Rossitsa, M.; Mitovska, N. 1999. Manure nitrogen utilization by maize under pot experiment conditions with a Cambic Luvisol (A

- <sup>15</sup>N study). Section IV Soil fertility and plant nutrition. Extendent Abstracts. 6th International Meeting on Soil with Mediterranean Type of Climate: 320 – 322.
72. Duponnois, R.; Plenchette, C.; Thioulouse, J.; Cadet, P. 2001. The mycorrhizal soil infectivity and arbuscular mycorrhizal fungal spore communities in soils of different aged fallows in Senegal. *Applied Soil Ecology*. 17 (3): 239 – 251.
  73. Ehaliotis, C. Cadisch, G. Giller, K.E. 1998. Substrate amendments can alter microbial dynamics and N availability from maize residues to subsequent crops. *Soil Biol Biochem*. 30 (10-11): 1281 – 1292.
  74. Embrapa, Agrobiología. 2007. Base de dados. Leguminosas. [http://intranet2.cnpab.embrapa.br/leguminosas/detalhes\\_busca.asp?cod\\_id=12&tema=resumo](http://intranet2.cnpab.embrapa.br/leguminosas/detalhes_busca.asp?cod_id=12&tema=resumo).
  75. Entry, I.A.; Rygiewicz, P.T.; Watrud, L.S.; Donnelly, P.K. 2002. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of Arbuscular mycorrhizas. *Advances in Environmental Research*. 7: 123 – 138.
  76. Escobar, C.J.; Zuluaga, J.J.; Colorado, G.; Páez, D. 1998. Micorriza vesícula arbuscular (MVA). Recurso microbiológico para desarrollar una agricultura sostenible. Documento. Corpoica Regional 10, PRONATTA. Bogotá. 6p.
  77. Espíndola, J.A.A.; de Almeida, D.L.; Guerra, J.G.M. 2004. Estratégias para utilização de leguminosas para adubação verde em unidades de produção agroecológica. Documentos (174). Embrapa, Agrobiología. 24 p.
  78. Espíndola, J.A.A.; de Almeida, D.L.; Guerra, J.G.M.; da Silva, E.M.R.; de Souza, F.A. 1998. Influência da adubação verde na colonização micorrízica e na produção da batata – doce. *Pesq. Agropec. Bras*. 33 (3): 339 – 347.
  79. Espíndola, J.A.A.; Guerra, J.G.M.; de Almeida, D.L. 1997. Adubação verde: estratégia para uma agricultura sustentável. Seropédica. Embrapa, Agrobiología. Documentos 42. 20 p.
  80. FAO. 2002. Los fertilizantes y su uso. Guía de bolsillo para los oficiales de extensión. Cuarta edición. FAO – IFA. 77 p.
  81. FAO. 2007. La producción mundial de cereales. FAO. Sala de prensa. Últimas noticias. [www.fao.org/newsroom/eS/news/2007/index.html](http://www.fao.org/newsroom/eS/news/2007/index.html) <22 julio 2008>

82. Faust, H.; Sebastianelli, J.A.; Axmann, H. 1987. Manual de laboratorio. Métodos para el análisis de  $^{15}\text{N}$ . Curso interregional de entrenamiento sobre el uso de  $^{15}\text{N}$  en ciencias de suelo, nutrición vegetal y biotecnología agrícola. Academia de Ciencias de la RDA. FAO/OIEA. 122p.
83. Fernández, F. 2003a. La simbiosis micorrízica arbuscular. En: Rivera, R. y Fernández, K. Eds. Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: el Caribe. INCA. La Habana., 166p.
84. Fernández, F. 2003b. Avances en la producción de inoculantes micorrízicos arbusculares. En: Rivera, R. y Fernández, K. Eds. Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: el Caribe. INCA. La Habana., 166p.
85. Fernández, F.; Gómez, R.; Vanegas, L.F.; Noval, B.M. de la; Martínez, M.A. 2000. Producto inoculante micorrizógeno. Oficina Nacional de Propiedad Industrial. Cuba, Patente No. 22641.
86. Filho, J.S.; Cardoso, A.N.; Carmona, R.; de Carvalho, A.M. 2004. Fitomassa e cobertura do solo de culturas de sucessão ao milho na Região do Cerrado. *Pesq. Agropec. Bras.* 39 (4): 327 – 334.
87. Filho, P.F.M. 2004. Potencial de reabilitação do solo de uma área degradada , através da revegetação e do manejo microbiano. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura Liuz de Queiroz. Piracicaba, São Paulo. 89 p.
88. Florentín, M.A.; Peñalva, M.; Calegari, A.; Derpsch, R. 2001. Abonos verdes y rotación de cultivos en siembra directa. Pequeñas propiedades. Proyecto “Conservación de suelos” MAG – GTZ San Lorenzo. Paraguay. 84 p.
89. Fox, R. H. Myers, R.J.K.; Vallis, Y. 1990. The nitrogen mineralization rate of legume residues in soil as influenced by their polyphenol, lignin and nitrogen content. *Plant and Soil.* 129: 251 – 259.
90. Franke – Snyder, M.; Douds Jr, D.D.; Gálvez, L.; Phillips, G.J.; Wagoner, P.; Drinkwater, L.; Morton, J.B. 2001. Diversity of communities of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi present in conventional versus low – input agricultural sites in eastern Pennsylvania, USA. *Applied Soil Ecology.* 16 (1): 35 – 48.

91. Gallardo, E. 2007. Comunicación Personal. Finca Santa Teresa, Carretera de Tapaste, Km 4 San José de las Lajas, La Habana, Cuba.
92. Gamper, H.; Hartwig, V.A.; Leuchtmann, A. 2005. Mycorrhizas improve nitrogen nutrition of *Trifolium repens* after 8 yr of selection under elevated atmospheric CO<sub>2</sub> partial pressure. *New Phytologist*. 167: 531 – 542.
93. García, M. 1997. Contribución al estudio y utilización de los abonos verdes en cultivos económicos desarrollados sobre un suelo Ferralítico Rojo de la Habana. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. INCA. La Habana. 100 p.
94. García, M.; Álvarez, M.; Treto E. 2002b. Estudio comparativo de diferentes especies de abonos verdes y su influencia en el cultivo del maíz. *Cultivos Tropicales*. 23 (3): 19 – 30.
95. García, M.; Treto E.; Alvarez, M. 1993. Abono verde: Una solución natural y económica para la agricultura, Normativas para su introducción. INCA, San José de las Lajas. 29p.
96. García, M.; Treto, E. y Álvarez, M. 2000a. Los abonos verdes: una alternativa para la economía de nitrógeno en el cultivo de la papa. I. Estudio comparativo de diferentes especies. *Cultivos tropicales*. 21 (1): 5 – 11.
97. García, M.; Treto, E. y Álvarez, M. 2000b. Los abonos verdes: una alternativa para la economía de nitrógeno en el cultivo de la papa. II. Efecto de la interacción abono verde-dosis de nitrógeno. *Cultivos tropicales*. 21 (1): 13 – 19.
98. García, M.; Treto, E. y Álvarez, M. 2002a. Época de siembra más adecuada para especies promisorias de abonos verdes en las condiciones de Cuba. *Cultivos tropicales*. 23 (1): 5 – 14.
99. García, M.; Villatoro, M.A.; Urquiaga, S.; Alves, B.J.R.; Boddey, R.M. 2001. Quantification of the contribution of biological nitrogen fixation to tropical green manure crops and the residual benefit to a subsequent maize crop using <sup>15</sup>N – isotope techniques. *Journal of Biotechnology*. 91: 105-115.
100. George, E. 2000. Nutrient uptake. En: *Arbuscular mycorrhizas: Physiology and Function*. Kapulnik, Y.; Douds, D.D. (Eds.) Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

101. Gerdemann, J.W.; Nicholson, T.H.. 1963. Spore of mycorrhizae endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 46: 235-244.
102. Giovannetti, M. ; Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84: 489 – 500.
103. González, M.E. y Rodríguez, Y. 2004. Respuesta de plantas de *Coffea canephora* a la inoculación con hongos micorrizógenos arbusculares durante la fase de aclimatización. *Cultivos Tropicales.* 25 (1): 13 – 16.
104. González, P.J.; Arzola, J.; Morgan, O.; Rivera, R.; Plana, R.; Fernández, F. 2008a. Manejo de las asociaciones micorrízicas en pastos del género *Brachiaria* cultivados en suelos Ferralítico Rojo y Pardo Mullido. En Congreso Científico del INCA (16:2008, nov 24 – 28, La Habana). Memorias. CD – ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 978-959-16-0953-3.
105. González, P.J.; Arzola, J.; Rivera, R. Ramírez, J.F.; Plana, R. Cruz, M. 2008b. 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.
106. González, W.; Battle, J.; Dueñas, G.; López, T. 1992. Aprovechamiento del <sup>15</sup>N – urea por el maíz (*Zea mays*) en un suelo Ferralítico Rojo compactado. *Agrotecnia de Cuba.* 24 (1).
107. Gordón, R.; Franco, J.; de Gracia, N.; Martínez, L.; González, A.; de Herrera A.; Bolaños, J. 1993. Respuesta del maíz a la aplicación de diferentes dosis de nitrógeno en rotación con canavalia y mucuna bajo dos tipos de labranza. Síntesis de resultados experimentales 1992. CIMMYT-PRM. Guatemala. 4: 106-110.
108. Goslin, P.; Hodge, A.; Goodlass, G.; Bending, G.D. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment.* 113 (1 – 4): 17 – 35.
109. Gruneberg, F.H. 1972. Nutrición y fertilización del maíz. Actualidades de la ingeniería agronómica. (26) Centro de Información Científica y Técnica. Universidad de la Habana. 44p.

110. Guerra, J.G.M.; Ndiaye, A.; de Assis, R.L.; Espíndola, J.A.A. 2007. Cultivos de cobertura como indicadores de procesos ecológicos. *LEISA Revista de Agroecología*. 22 (4): 20 – 22.
111. Guzmán, R.A.; Ferrera, R. 1990. La endomicorriza vesículo arbuscular en las leguminosas. Colegio de Postgraduados de Montecillos. Estado de México. 119 p.
112. Hagggar, J. P.; Tanner, E. V. J.; Beer, J. W.; Kass; D. C. L. 1993. Nitrogen dynamics of tropical agroforestry and annual cropping systems. *Soil Biol. Biochen* 25 (10): 1363 – 1378.
113. Hamel, C.; Strullu, D.-G. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi in field crop production: Potential and new direction. *Canadian Journal of Plant Science*. 86: 941 – 950.
114. Hasegawa, H.; Denison, R.F. 2005. Model predictions of winter rainfall effects on N dynamics of winter wheat rotation following legume cover crop or fallow. *Field Crop Research*. 91: 251 – 261.
115. Horst, W.J.; Kamh, M.; Jibain, J.M.; Chude, V.O. 2001. Agronomic measures for increasing P availability to crops. *Plant and Soil*. 237 (2): 211 – 223.
116. INCA. 2005. Ficha de costo EcoMic®. Departamento de Economía. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas.
117. infoAgro.com. Agroalimentación. El cultivo del maíz. 2004. Disponible en: <http://www.infoAgro.com/herbaceos/cereales/maíz.asp>. <23/12/2005>
118. INPOFOS. 1993. Diagnóstico del estado nutricional de los cultivos. Quito, Ecuador. 55p.
119. INSMET. 2008. Hojas de asentamiento de las variables meteorológicas diarias. Estación meteorológica de Tapaste. Instituto de Meteorología. CITMA. Cuba.
120. INSMET. 2009. Glosario de términos meteorológicos. Boletín de la vigilancia del clima. 21 (8) Agosto 2009. Centro del Clima. Instituto de Meteorología. Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente. República de Cuba. 17 p.
121. Instituto de Pastos y Forrajes. 2002. Precio oficial de las semillas de pastos y forrajes. MINAG. 1 p.
122. Jackson, L.E.; Ramírez, I.; Yokota, R.; Fennimore, S.A.; Koike, S.T.; Henderson, D.M.; Chaney, W.E.; Calderón, F.J.; Klonsky, K. 2004. On farm assesment of

- organic matter and tillage management on vegetable yield, soil, weeds, pests and economics in California. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 103 (3): 443 – 463.
123. Janos, D.P. 2007. Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. *Mycorrhiza*. 17: 75 – 91.
124. Jiménez, J. J.; Peña, J. J. 2000. Fijación biológica de N<sub>2</sub> (FBN) en leguminosas de América Latina. En: La fijación biológica de nitrógeno en América Latina: el aporte de las técnicas isotópicas. Ed. Peña, J. J. IMPROSA S.A de C.V. Guanajuato. México. 1 p.
125. Kabir, Z.; Koide, R.T. 2000. The effect of dandelion as a cover crop on mycorrhiza inoculum potential, soil aggregation and yield of maize. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 78: 167 – 174.
126. Kaizzi, C.K.; Ssali, H.; Vlek, P.L.G. 2006. Differential use and benefits of Velvet bean (*Mucuna pruriens*, var. utilis) and N fertilizers in maize production in contrasting agro – ecological zones of E. Uganda. *Agricultural Systems*. 88: 44 – 60.
127. Karasawa, T.; Kasaham, Y.; Takebe, M. 2002. Differences in growth responses of maize to preceding cropping caused by fluctuation in the population of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*. 34 (6): 851 – 857.
128. Kumar, U.; Singh, G.; Víctor, U.S.; Sharma, K.L. 2003. Green manuring: its effect on soil properties and crop growth under rice – wheat cropping system. *European Journal of Agronomy*. 19 (2): 225 – 237.
129. Kuzyakov, Y.; Friedel, J.K.; Stahr, K. 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry*. 32 (11 – 12): 1485 – 1498.
130. Lagos, C.; Velazco, R.H.; González, J.U. 1995. Maíz – base de sistemas intensivos de producción en riego en Chile. En *Diálogo XLIII Maíz: sistemas de producción*. Programa cooperativo para el desarrollo tecnológico agropecuario del Cono Sur. Procisur. IICA, Montevideo, Uruguay. 188p.

131. Laird, R.J.; Rodríguez, J.H. 1965. Fertilización de maíz de temporal en regiones de Guanajuato, Michoacán y Jalisco. Secretaría de Agricultura y Ganadería. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Folleto Técnico (50).
132. Lugo, M.A.; Cabelo, M.N. 2002. Native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from mountain grassland (Córdoba, Argentina). I. Seasonal variation of fungal spore diversity. *Mycología*. 94 (4): 579 – 586.
133. Macedo, R.A.T.; Zotarelli, L.; Urquiaga, S.; Boddey, R.M.; Alves, B.J.R. 2003. Efeito do manejo sobre a FBN na cultura da soja avaliada através da técnica de ureidos. *Seropédica: Embrapa, Agrobiología. Boletim de Pesquisa y Desenvolvimento* 031. 26 p.
134. MacRae, R.J.; Mehuys, G.R. 1985. The effect of green manuring on the physical properties of temperate – area soils. *Advances in Soil Science*. 3: 71 – 94.
135. Mandal, U.K.; Singh, G.; Victor, U.S.; Sharma, K.L. 2003. Green manuring: its effect on soil properties and crop growth under rice – wheat cropping system. *European Journal of Agronomy*. 19 (2): 225 – 237.
136. Mandimba, G. R. 1995. Contribution of nodulated legumes on the growth of *Zea mays* L. under various cropping systems. *Symbiosis* 19 (2 – 3): 213 – 222.
137. Martín, N.J. 2007. Comunicación Personal. Finca Zacarías, Carretera de Tapaste, Km 2 ½ San José de las Lajas, La Habana, Cuba.
138. Matos, R.M.B.; Silva, E.M.R.; da; Lima, E. 1999. Fungos micorrízicos e nutrição de plantas. *Seropédica: Embrapa Agrobiologia. EMBRAPA – CNPAB. Documentos*, 98. 36p.
139. MFP. 2008. Resolución 161 – 2008. Ministerio de Finanzas y Precios. Cuba. 4p.
140. Milkha, A.; Singh, D., Sadana, V. 2004. Direct and residual effects of green manures and fertilizer nitrogen in a rice – rapeseed production system in the semiarid subtropics. *Journal of Sustainable Agriculture*. 25 (1): 92 – 115.
141. MINAG. 1992. Instructivo Técnico del cultivo del maíz. Dirección Nacional de Cultivos Varios. MINAGRI.
142. MINAG. 1999a. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. La Habana. Agrinfor. 64 p.

143. MINAG. 1999b. Listado Oficial de Precios de Servicios Agropecuarios. Resolución No. 244-99, La Habana. Cuba.
144. MINAG. 2007. Precios de los fertilizantes y de la papa reconsumo. La Habana. Ministerio de la Agricultura. Cuba.
145. MINAG. 2008. Listado Oficial de Precios. Resolución No 80/08. Ministerio de la Agricultura. Cuba. 2p.
146. Mohammad, A.; Mitra, B.; Khan, A.G. 2004. Effects of sheared – root inoculum of *Glomus intraradices* on wheat grown at different phosphorus levels in the field. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 103 (1): 245 – 249.
147. Montaña, N.M.; Quiroz, V.; Cruz, G. 2001. Colonización micorrízica arbuscular y fertilización mineral de genotipos de maíz y trigo cultivados en un andisol. *Terra*. 19 (4): 337 – 344.
148. Monzón, A.; Azcón, R. 1996. Relevance of mycorrhizal fungal origin and host plant genotype to inducing growth and nutrient uptake in *Medicago* species. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 60 (1): 9 – 15.
149. MTSS. 2005. Resolución de salario de los Auxiliares de Investigaciones Agropecuarias. Resolución 3 – 2005. Ministerio del Trabajo y Seguridad Social. República de Cuba.
150. Muñoz G. B. 1995. Cultivo del maíz. Folleto Dirección de Agricultura, Sección de consultas y cultivos. 9p.
151. Muñoz, R. 2007. Comunicación Personal. Finca La Asunción, Carretera de Tapaste, Km 3 San José de las Lajas, La Habana, Cuba.
152. Muraoka, T.; Ambrosano, E.J.; Zapata, F.; Bortoletto, N.; Martins, A.L.M.; Trivelin, P.C.O.; Boaretto, A.E.; Scivittaro, W.B. 2002. Eficiencia de abonos verdes (crotalaria y mucuna) y urea, aplicados solos o conjuntamente, como fuentes de N para el cultivo de arroz. *Terra* 20: 17 – 23.
153. Muraoka, T.; Boaretto, A.E.; da Silva, E.C. 2006. Labeling plants with isotopes for studying green manure and crop residues as nutrient sources. 167 – 19. En: 18th World Congress of Soil Science. July 9 – 15, 2006, Philadelphia, Pennsylvania, USA.

154. Netto, D.V. 2008. Apuntes de clase - Facultad de Agronomía - U.B.A.. Biología - Las plantas y los minerales. [http://www.fisicanet.com.ar/biologia/fisiologia/ap01\\_absorcion\\_de\\_minerales.php](http://www.fisicanet.com.ar/biologia/fisiologia/ap01_absorcion_de_minerales.php)
155. NRAG. 837-87. 1987. Suelos. Análisis químico. Reglas generales. Ciudad de la Habana: MINAGRI, Cuba.
156. NRAG. 892-88. 1988. Suelos. Análisis químico. Reglas generales. Ciudad de la Habana: MINAGRI, Cuba.
157. Nunez, J. 2003. Use of mustards as green manures. University of California. Cooperative Extension. Kern County. [http://cekern.ucdavis.edu/custom\\_program573/3018.doc](http://cekern.ucdavis.edu/custom_program573/3018.doc) <24 de mayo del 2005>
158. Oberson, A.; Nanzer, S.; Bosshard, C.; Dubois, D.; Mäder, P.; Frossard, E. 2007. Symbiotic N<sub>2</sub> fixation by soybean in organic and conventional cropping systems estimated by <sup>15</sup>N dilution and <sup>15</sup>N natural abundance. *Plant Soil*. 290: 69 – 83.
159. OISAT. 2005. Corn. PanGermany OISAT. <http://oisat.org/cropss/staple-food/corn.html> < 23/12/2005>.
160. Okito, A.; Alves, B.J.R.; Urquiaga, S.; Boddey, R.M. 2004. Nitrogen fixation by groundnut and velvet bean and residual benefit to a subsequent maize crop. *Pesq. Agropec. Bras.* 39 (12): 1183 – 1190.
161. Palm, C.A. y Sánchez, P.A. 1991. Nitrogen release from the leaves of some tropical legumes as affected by their lignin and polyphenolic contents. *Soil Biology and Biochemistry*. 23 (1): 83 – 88.
162. Paneque, V.M. 2001. La fertilización de los cultivos. Aspectos teórico – prácticos para su recomendación. Folleto impreso. INCA. 25 p.
163. Paré, T.; Gregorich, E.G.; Nelson, S. 2000. Mineralization of nitrogen from crop residues and recovery by maize inoculated with vesicular – arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*. 218 (1 – 2): 11 – 20.
164. Pasdón, D. B.; Mondoñedo, J. R. 1982. El maíz. Manuales para edición Agropecuaria. Junio.
165. Peña, C. P.; Cardona G. I.; Mazorra A.; Arguellez J. H.; Arcos A. L. 2006. Micorrizas arbusculares de la amazonia colombiana. Catalogo Ilustrado. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI. 90 p.

166. Peña, C.P.; Cardona, G.I.; Arguelles, J.H.; Arcos, A.L. 2007. Micorrizas Arbusculares del Sur de la Amazonia Colombiana y su Relación con Algunos Factores Físicoquímicos y Biológicos del Suelo. *Acta Amazónica*. 37 (3): 327 – 326.
167. Perin, A.; Santos, R.H.S.; Urquiaga, S.; Guerra, J.G.M.; Cecon, P.R. 2004. Produção de fitomassa, acúmulo de nutrientes e fixação biológica de nitrogênio por adubos verdes em cultivo isolado e consorciado. *Pesq. Agropec. bras.* 39 (1): 35 – 40.
168. Phillips, D.M y Hayman, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55. 158-161. 1970.
169. Pino, I.; Buneder, M.; Peyre, A. 1995. Evaluación de fertilizantes nitrogenados en cultivos de cereales utilizando el método de dilución isotópica de <sup>15</sup>N. *Agricultura Técnica*. 55 (3 – 4).
170. Pozzi, C. 2005. Estudio de sistemas de uso do solo en rotações de culturas en sistemas agrícolas brasileiros: dinâmica de nitrogênio e carbono no sistema solo – planta – atmosfera. Tesis de Doctorado Fitotecnia. Seropédica. Universidad Federal Rural do Rio de Janeiro. 120p.
171. Pulido, L.E. 2002. Hongos micorrízicos arbusculares y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: alternativas para la producción de posturas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y cebolla (*Allium cepa* L.) Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. INCA – UNICA. 117p.
172. Reinbott, T.M.; Conley, S.P.; Blevins, D.G. 2004. No – tillage corn and grain sorghum response to cover crop and nitrogen fertilization. *Agron. J.* 96: 1158 – 1163.
173. Riera, M. 2003. Manejo de la biofertilización con hongos micorrízicos arbusculares y rizobacterias en secuencias de cultivos sobre suelo Ferralítico Rojo. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. INCA. Cuba 100p.
174. Rivera R.; Urquiaga, S. 1995. Mineralización y participación del nitrógeno de tres especies de abonos verdes en la nutrición nitrogenada del maíz. II Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. Programa y Resúmenes. La Habana, Cuba.

175. Rivera, R. 1994. Relatorio del trabajo desarrollado en el CNPAB / Embrapa durante el fellowship IAEA. / Ramón A. Rivera.- En: Informe de misiones en el extranjero, INCA.
176. Rivera, R. 1999. Uso del isótopo  $^{15}\text{N}$  en los estudios suelo – planta – suministro de nutrientes. En. Curso de Técnicas Isotópicas en la relación Suelo – Planta. Maestría en Nutrición de las Plantas y Biofertilizantes. INCA.
177. Rivera, R. 2003. Resultados de las campañas de validación. En: Rivera, R. y Fernández, K. Eds. Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: el Caribe. INCA. La Habana., 166p.
178. Rivera, R.; Fernández, F.; Fernández, K.; Ruiz, L.; Sánchez, C.; Riera, M. 2007. Advances in the management of effective arbuscular mycorrhizal symbiosis in tropical ecosystems. Pages 151-196 In: 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
179. Rivera, R.; Fernández, K. 2003. Bases científico – técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente. En: Rivera, R. y Fernández, K. Eds. Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: el Caribe. INCA. La Habana., 166p.
180. Rivera, R.; Martín G.M.; Pérez, D. 1999. Efecto de la temperatura sobre la mineralización del nitrógeno de dos especies de abonos verdes en suelo Ferralítico Rojo. Cultivos Tropicales. 20 (2): 15 – 19.
181. Rivera, R.; Ruiz, L.; Fernández, F.; Sánchez, C.; Riera, M.; Hernández, A.; Fernández, A.; Fernández, K.; Planas, R. 2006. 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.
182. Robertson, M.J.; Sakala, W.; Benson, T.; Shamudzarira, Z. 2005. Simulating response of maize to previous velvet bean (*Mucuna pruriens*) crop and nitrogen fertilizer in Malawi. Field Crop Research. 91: 91 – 105.
183. Rodas, A.; Nuñez, R.; Espinosa, V., Alcántar, G. 2001. Asociación lupino – maíz en la nutrición fosfatada en un andosol. Terra. 19 (2): 141 – 154.

184. Ruíz, L. 2001. Efectividad de las asociaciones micorrízicas en especies vegetales de raíces y tubérculos en suelos Pardos y Ferralíticos Rojos de la región central de Cuba. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. INCA, La Habana. 100 p.
185. Salamanca, W.F.; Bonilla, C.R.; Sánchez, M.S. 2004. Evaluación de seis abonos verdes en un vertisol ústico en condiciones del Valle del Cauca. Acta Agronómica (53) (3/4).
186. Salas, E.A; Blanco, F.A. 1999. Efecto de la inoculación con *Glomus manihotis* y de la fertilización con dos fuentes de P sobre el rendimiento y la nodulación radical de frijol en un Vertisol no esterilizado, bajo condiciones de campo. Agronomía Costarricense. 23 (2): 187 – 192.
187. Samasundaram, E.; Srinivasan, G.; Manoharan, M. L. 1996. Effect of green manuring *Sesbania rostrata* and fertilizers application on chemical properties of soil and grain yield in rice – rice crop sequences. Agricultural Journal. 83 (12): 758 – 760.
188. Sánchez, C. 2001. Manejo de las asociaciones micorrízicas arbusculares y abonos verdes en la producción de posturas de café en algunos tipos de suelo. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. INCA. Cuba. 105 p.
189. Sánchez, C.; Caballero, D.; Cupull, R.; González, C.; Urquiaga, S.; Rivera, R. 2009. Los abonos verdes y la inoculación micorrízica de plántulas de *Coffea arabica* sobre suelos Cambisoles Gléyicos. Cultivos Tropicales. vol. 30 (1): 25 – 30.
190. Sánchez, C.; Caballero, D.; Rivera, R.; Cupull, R. 2006. Respuesta de cepas de hongos micorrizógenos (HMA) sobre el desarrollo de posturas de café. I Parte. Suelo pardo gleyoso. Centro Agrícola, 33 (1): 33 – 38.
191. Sangakkara, U.R.; Liedgens, M.; Soldati, A.; Stamp, P. 2004. Root and shoot growth of maize (*Zea mays*) as affected by incorporation of *Crotalaria juncea* and *Tithonia diversifolia* as green manures. J. Agronomy & Crop Science. 190: 339 - 346.

192. Sangakkara, U.R.; Nissanka, S.P. 2003. Nitrogen uptake and yields of rainfed maize (*Zea mays* L.) as affected by time and method of crop stover application in the humid tropics. *Maydica*. 48 (3): 191 – 196.
193. Shibata, R.; Yano, K. 2003. Phosphorus acquisition from non – labile sources in peanut and pigeonpea with mycorrhizal interaction. *Applied Soil Ecology*. 24: 133 – 141.
194. Sieverding, E. 1991. Vesicular – arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Technical cooperation. Federal Republic of Germany. Eschborn, Friedland: Bremer; Russdorf: T2-Vert.-Ges. Germany. 371p.
195. Simó, J.; Ruiz, L.; Rivera, R.; Varela, M.; Fundora, O.; Oliva, M.; Carvajal, D.; Morales, O.; García, J.; Lago, Y.; García, O. 2008. Contribución micorrízica en los sistemas integrados de nutrición y fertilización de bananos en Cuba. En Congreso Científico del INCA (16:2008, nov 24 – 28, La Habana). Memorias. CD – ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 978-959-16-0953-3.
196. Siqueira, J.O.; Franco, A.A. 1988. Biotecnología do solo. Fundamento e perspectivas. Brasilia: MEC – Ministerio de Educação, ABEAS; Larras: ESAL, FAEPE. 236 p.
197. Skerman, P.J. y F. Riveros. 1992. Gramíneas tropicales. Colección FAO: producción y protección vegetal No. 23. Roma. 894p.
198. Stewart, W.M. 2007 Consideraciones en el uso eficiente de nutrientes. *Informaciones Agronómicas*. (67): 1 – 7.
199. Torres, D.; del Pino, A.; Casanova, O.; Arrondo, F. 1995. Abonos verdes para maíz. Diálogo XLIII Maíz: Sistemas de producción. Programa cooperativo para el desarrollo tecnológico agropecuario del Cono Sur. PROOCISUR. IICA. Montevideo, Uruguay. 188p.
200. Trannin, W.S.; Urquiaga, S.; Guerra, G.; Ibjibjen, J.; Cadisch, G. 2000. Interspecies competition and N transfer in a tropical grass – legume mixture. *Biol. Fertil. Soils*. 32: 441 – 448.
201. Treto, E.; García, M.; Martínez, R.; Febles, J.M. 2001. Avances en el manejo de los suelos y la nutrición orgánica: 167 – 190. En: *Transformando el campo*

- cubano. Avances de la agricultura sostenible. Eds: Funes, F.; García, L.; Bourque, M.; Pérez, N.; Rosset, P. ACTAF, La Habana, Cuba. 286 p.
202. Trouvelot, A.; Kough, J.; Gianinazzi-Pearson, V. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Proc. 1st Eur. Symp. on Mycorrhizae: Physiological and genetical aspects of mycorrhizae, Dijón. INRA, Paris.
  203. Trujillo, C.; Cuesta, E.; Díaz, I.; Pérez, R. 2007. Libro de texto Economía Agrícola para las carreras de Agronomía e Ingeniería Agropecuaria. Universidad Agraria de la Habana. 334 p.
  204. Umarán, I. 2006. Producción de maíz 2006. Dirección de Agricultura. SAGPyA. Argentina. 7 p.
  205. Urquiaga, S.; Cruz, K.; Boddey, R.M. 1992. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane. Nitrogen – 15 and Nitrogen – Balance Estimates. Soil Sci. Soc. Am. J. 56: 105 – 114.
  206. Urquiaga, S.; Zapata, F. 2000. Manejo eficiente de la fertilización nitrogenada de cultivos anuales en América Latina y el Caribe. Porto Alegre: Génesis: Río de Janeiro: Embrapa, Agrobiología. 110 p.
  207. Ustimenko, G.V. 1982. El cultivo de plantas tropicales y subtropicales. Moscú. Segunda ed. 429 p.
  208. Vacacela, V.M. 2001. Tipos de micorrizas. Monografía. Universidad de Pinar del Río “Hnos Saíz Montes de Oca” Facultad de Forestal y Agronomía 12p.
  209. Vallejos, F.; Kliever, I.; Florentín, M.A.; Casaccia, J.; Calegari, A.; Derpsch, R. 2001. Abonos verdes y rotación de cultivos en siembra directa. Sistemas de producción tractorizados. Proyecto “Conservación de suelos” MAG – GTZ San Lorenzo. Paraguay. 92 p.
  210. Van Der Mey, J. 1995. Evaluation of lupins as rotation crop for wheat and maize. Lupins. Oil and Protein Seed Centre. 21p.
  211. Van Tuinen, D.; Jacquot, E.; Zhao, B.; Gollotte, A.; Gianinazzi – Pearson, V. 1998. Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA – targeted nested PCR. Molecular Ecology. 7 : 879 – 887.

212. Vanlauwe, B.; Diels, J.; Saguina, N.; Carsky, R.J.; Deckers, J.; Merckx, R. 2000. Utilization of rock phosphate by crops on a representative toposequence in the Northern Guinea savanna zone of Nigeria: response by maize to previous herbaceous legume cropping and rock phosphate treatments. *Soil Biol, Biochem.* 32 (14): 2079 – 2090.
213. Vigil, M.F. 2001. Factors affecting the rate of crop residue decomposition under field conditions. *Conservation Tillage Fact Sheet # 3 – 95.*
214. Waugh, D.L.; Cate, Jr, R.B. y Nelson, L.A. 1972. Modelos discontinuos para una rápida correlación, interpretación y utilización de los datos de análisis de suelo y las respuestas a los fertilizantes. *Boletín Técnico (7).* Proyecto Internacional de Evaluación y Mejoramiento de la Fertilidad del Suelo. North Carolina State University. 106 p.
215. Wortmann, C.S.; McIntyre, B.D.; Kaizzi, C.K. 2000. Annual soil improving legumes: agronomic effectiveness, nutrient uptake, nitrogen fixation and water use. *Field Crops Research.* 68 (1) en: 75 – 83.
216. Xoconostle, B.; Ruiz, R. 2002. Impacto de la biotecnología agrícola en cultivos: el caso de las micorrizas. *Avance y Perspectiva.* 21: 263 – 266.
217. Yadav, R. L.; Dwivedi, B. S.; Pandey, P. S. 2000. Rice – wheat cropping system: assessment of sustainability under green manuring and chemical fertilizer inputs. *Field Crops Research.* 65 (1): 15 – 30.
218. Zapata, F.; Hera, C. 1995. Enhancing nutrient management through use of isotopes technique. Invited paper. IAEA – SM – 334/19: 83 – 105.