

**Research paper**

# **Efectividad de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en dos leguminosas forrajeras cultivadas en dos tipos de suelo**

*Effectiveness of inoculation of two forage legumes grown on two soil types with arbuscular mycorrhizal fungi*

PEDRO J. GONZÁLEZ CAÑIZARES<sup>1</sup>, JUAN F. RAMÍREZ PEDROSO<sup>2</sup>, RAMÓN RIVERA ESPINOSA<sup>1</sup>, ALBERTO HERNÁNDEZ JIMÉNEZ<sup>1</sup> Y GUSTAVO CRESPO FLORES<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. [www.inca.edu.cu](http://www.inca.edu.cu)

<sup>2</sup>Estación Experimental de Pastos y Forrajes de Villa Clara, cruceiro Digna, Cascajal, Santo Domingo, Villa Clara, Cuba.

## **Resumen**

En Bauta, provincia de Artemisa, Cuba, se realizaron sendos experimentos con el objetivo de evaluar la respuesta de las leguminosas forrajeras: stylo (*Stylosanthes guianensis*) y siratro (*Macroptilium atropurpureum*) a la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en suelos Vertisol y Nitisol. Los tratamientos consistieron en inóculos con las especies de HMA: *Funneliformis mosseae*, *Glomus cubense* y *Rhizogloium intraradices* más un testigo sin inocular, dispuestos en un diseño de bloques al azar con arreglo factorial 4 x 2 y 4 repeticiones. Los inóculos fueron aplicados al momento de la siembra mediante el recubrimiento de las semillas. Como variables de respuesta fueron evaluados el rendimiento de las leguminosas, la frecuencia e intensidad de la colonización micorrízica, el número de esporas de HMA en la rizosfera y las concentraciones de macronutrientes en la biomasa aérea. Se encontró una respuesta positiva de ambas leguminosas a la inoculación; no obstante la efectividad de las especies de HMA varió en función del tipo de suelo. *Rhizogloium intraradices* fue más efectiva respecto a la frecuencia e intensidad de la colonización micorrízica y para mejorar el estado nutricional y el rendimiento de las leguminosas en el Vertisol, mientras que *G. cubense* lo fue en el Nitisol. Se requiere de estudios para identificar cuáles factores de suelo determinan el comportamiento de los HMA.

**Palabras clave:** Fertilidad del suelo, *Macroptilium atropurpureum*, Nitisol, nutrición mineral, *Stylosanthes guianensis*, Vertisol.

## **Abstract**

In Bauta, Artemisa province, Cuba, 2 field experiments were conducted in Nitisol and Vertisol soils to evaluate the response of the pasture legumes, stylo (*Stylosanthes guianensis*) and siratro (*Macroptilium atropurpureum*), to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). In each experiment, inocula with the AMF species *Funneliformis mosseae*, *Glomus cubense* and *Rhizogloium intraradices* were applied, and there was a control without inoculation. A randomized block design with a 4 (inocula) x 2 (legume species) factorial arrangement was used giving 8 treatments and 4 replications. AMF inocula were applied at sowing by the seed-coating method, and legume yield, the frequency and intensity of mycorrhizal root colonization and macronutrient concentrations in aboveground biomass were evaluated. The legumes responded positively to AMF inoculation, but the effectiveness of the AMF species depended on the soil type. *Rhizogloium intraradices* was more effective with respect to the frequency and intensity of mycorrhizal root

Correspondence: P.J. González, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Gaveta Postal No. 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.  
E-mail: [pgonzalez@inca.edu.cu](mailto:pgonzalez@inca.edu.cu)

colonization and in improving the nutritional status and yield of legumes grown in the Vertisol, whereas *G. cubense* was more effective for those grown in the Nitisol. Studies are required to identify the soil factors that determine the effectiveness of AMF.

**Keywords:** *Macrotilium atropurpureum*, mineral nutrition, Nitisol, soil fertility, *Stylosanthes guianensis*, Vertisol.

## Introducción

Las leguminosas forrajeras son un recurso importante para la alimentación de los rumiantes por su alto contenido de proteína y minerales, y su alta digestibilidad. Sin embargo, la baja fertilidad de los suelos que se dedican a la ganadería en Cuba (Lok 2015), así como la escasa disponibilidad en cantidades suficientes de fertilizantes para satisfacer los requerimientos nutritivos de las leguminosas forrajeras debido a razones económicas, limitan sus rendimientos y valor nutritivo y reducen su presencia en las pasturas. La escasez de fertilizantes y la creciente necesidad de adoptar tecnologías amigables con el medio ambiente, son una oportunidad para la búsqueda de nuevos modelos agrícolas basados en el manejo eficiente del sistema suelo-pastura-animal, con el propósito de lograr la sostenibilidad de la producción ganadera.

Dentro de esos modelos se incluye el manejo de las asociaciones micorrízicas, por sus potencialidades para mejorar la productividad y a la vez, reducir las necesidades de fertilizantes de las especies forrajeras (Carneiro et al. 2011; Castillo et al. 2014). En los agroecosistemas de pasturas, los beneficios de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) están estrechamente ligados al aumento de la absorción de elementos minerales y agua presentes en el suelo, a través de una red de hifas interconectadas que incrementan el volumen de suelo que exploran las raíces, mejoran su estructura y facilitan el acceso de las plantas a los nutrientes que se encuentran en formas menos asimilables (Zhang et al. 2012; Klabi et al. 2014).

Cuando las pasturas poseen bajas cantidades de propágulos micorrízicos nativos o los HMA existentes en el suelo no son capaces de establecer una simbiosis efectiva, la inoculación de cepas adaptadas a las condiciones ambientales donde se desarrollan los pastos puede proporcionar considerables beneficios. No obstante, estos solo se conseguirán después de una selección controlada del hongo o del consorcio de hongos, que demuestre el más alto nivel de compatibilidad funcional y ecológica para el sistema suelo-planta (Pellegrino et al. 2011; Öpik y Moora 2012).

Verbruggen et al. (2013) consideran que el éxito de la inoculación micorrízica depende, no solo de los genotipos de plantas y hongos, sino también de las condiciones del

ambiente. Aunque la influencia del suelo en los genotipos de HMA es aún pobremente entendida, algunos autores reconocen que el suelo impone una fuerte presión de selección sobre estos microorganismos (Oehl et al. 2010; Pellegrino et al. 2012). Rivera et al. (2007), a partir de la recopilación de la información de numerosos estudios realizados en Cuba para evaluar el efecto de la aplicación de inóculos de HMA con diferentes especies fúngicas en cultivos agrícolas de interés económico, concluyeron que el tipo de suelo y posiblemente su fertilidad asociada son los factores que más influyen en la efectividad de las especies evaluadas. Sin embargo, en relación con las leguminosas forrajeras la información disponible es escasa.

Debido a la complejidad de los agroecosistemas de pasturas, el estudio de los factores ambientales que influyen en el funcionamiento de la simbiosis es una herramienta que contribuye al éxito de la inoculación con HMA. Teniendo en cuenta esta hipótesis el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la efectividad de la aplicación de inóculos con diferentes especies de HMA en leguminosas forrajeras cultivadas en 2 tipos de suelo.

## Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en áreas de producción de forrajes de la Empresa Pecuaria Genética (EPG) Niña Bonita, localizada en el municipio de Bauta, provincia de Artemisa, Cuba, donde fueron seleccionados 2 sitios con diferentes tipos de suelo, los cuales se clasificaron como Vertisol Stagnico Mólico y Nitisol Ferrálico Lítico, según la Base Referencial Mundial del Recurso Suelo (IUSS 2007).

En ambos sitios, antes de realizar los experimentos, los suelos fueron utilizados con pasturas de guinea (*Panicum maximum* cv. Likoni) durante 10 años, con un sistema de uso de 1 a 3 días de ocupación y 30 a 55 días de descanso, según la época de año, y una carga animal entre 1.5 y 2 unidades de ganado mayor por hectárea. Durante ese período, las pasturas se explotaron en condiciones de secano y no recibieron aplicaciones de fertilizantes.

Para la caracterización de los suelos, en cada sitio se tomaron 10 muestras compuestas por el método de zig-zag a la profundidad de 0–20 cm, para determinar

(Paneque et al. 2011): pH (H<sub>2</sub>O) por potenciometro (1:2.5, relación suelo:agua), materia orgánica por el método de Walkley y Black, fósforo (P) asimilable por el método de Oniani (extracción con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.05 mol/L), cationes intercambiables con NH<sub>4</sub>Ac 1 mol/L a pH 7, Ca y Mg por complejometría y Na y K por fotometría de llama.

Los experimentos se realizaron desde mayo de 2013 hasta abril de 2014. Durante ese período, según observaciones realizadas en la EPG Niña Bonita, las precipitaciones alcanzaron un total de 1,233 mm, del cual el 77.8% correspondió a la época lluviosa (mayo a octubre).

En cada sitio se realizó un ensayo de campo con 8 tratamientos, así: 3 inóculos de HMA (la cepa INCAM-2 de *Funneliformis mosseae* (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler; la cepa INCAM-4 de *Glomus cubense* Y. Rodr. & Dalpé; y la cepa INCAM-11 de *Rhizogloium intraradices* (N.C. Schenck & G.S. Sm.) Sieverd., G.A. Silva & Oehl) más un testigo sin inocular (factor A); y 2 leguminosas forrajeras: stylo (*Stylosanthes guianensis* cv. CIAT 184) y siratro (*Macroptilium atropurpureum* cv. Siratro) (factor B), en un diseño de bloques al azar con arreglo factorial 4 x 2 y 4 repeticiones. Las cepas de HMA procedían de la colección del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Las parcelas constituyeron la unidad experimental y tenían un área total de 28 m<sup>2</sup> y un área útil experimental de 21 m<sup>2</sup>.

El suelo se preparó con una secuencia de laboreo consistente en roturación (arado), grada, cruce (arado) y grada, a intervalos aproximados de 20 días entre cada una. La siembra de las leguminosas se hizo en surco continuo (chorrillo) en mayo de 2013, en surcos separados 70 cm a una dosis de 8 kg/ha de semilla total, equivalente a 2 kg/ha de semilla pura germinable, tanto para stylo como para siratro, a una profundidad de 1.5 cm.

En ambos experimentos, la inoculación se realizó recubriendo las semillas, para lo cual se sumergieron en una pasta fluida, elaborada mediante la mezcla de una cantidad de inóculo sólido equivalente a 10% del peso de las mismas (800 g) y 300 mL de agua (Fernández et al. 2001). Una vez recubiertas las semillas y solidificado el inóculo, se procedió a la siembra, sin aplicación de fertilizantes.

Los inóculos utilizados se multiplicaron en un sustrato arcilloso esterilizado en autoclave a 120 °C por 1 hora durante 3 días, con el uso de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk como planta hospedera. Cada inóculo utilizado contenía 35 esporas de la especie de HMA a evaluar por gramo de sustrato, así como cantidades abundantes de fragmentos de raicillas e hifas.

En total se realizaron 4 cortes de la biomasa aérea de las plantas a una altura de 10 cm de la superficie del

suelo: el primero 120 días después de la siembra y los demás a intervalos de 60 y 90 días, dependiendo de la producción de biomasa aérea, ya que los experimentos se realizaron en condiciones de secano. En cada corte se pesó la masa fresca (MF) de la parte aérea de las plantas que ocupaban el área de medición de cada parcela; para el efecto se tomaron muestras de 200 g y se secaron en una estufa con circulación forzada de aire a 70 °C durante 72 horas, para determinar el porcentaje de masa seca (MS), así como las concentraciones de N, P y K en el forraje (Paneque et al. 2011). El rendimiento de MS se estimó a partir del rendimiento de MF y el porcentaje de MS.

En cortes alternos, de cada parcela se tomaron 10 sub-muestras de raíces y de suelo de la rizosfera a una profundidad de 0–20 cm, mediante el empleo de un cilindro metálico de 5 cm de diámetro y 20 cm de altura. Los puntos de muestreo se distribuyeron equidistantes y separados a 10 cm de los surcos. Las muestras obtenidas fueron homogenizadas para formar una muestra compuesta por parcela, de la cual se extrajo 1 g de raicillas para tinción y clarificación (Rodríguez et al. 2015). Se evaluaron la frecuencia de colonización micorrízica, que expresa el grado de ocupación de las raicillas por los HMA, mediante el método de los interceptos (Giovannetti y Mosse 1980); la densidad visual o intensidad de la colonización, según Trouvelot et al. (1986); y el número de esporas en la rizosfera, mediante el tamizado y decantado por vía húmeda de dichas estructuras y su observación en microscopio (Herrera et al. 1995).

Para determinar en cada suelo la efectividad de la inoculación en el incremento del rendimiento de MS de las leguminosas, se utilizó el índice de eficiencia (IE, %). Este se calculó mediante la fórmula siguiente (Siqueira y Franco 1988):

$$IE (\%) = \left[ \frac{MS (t/ha) \text{ tratam. inocul.} - MS (t/ha) \text{ testigo}}{MS (t/ha) \text{ testigo}} \right] \times 100$$

El procesamiento estadístico de los datos se realizó mediante el análisis de varianza bifactorial y cuando existieron diferencias entre tratamientos, se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan (1955) a P<0.05. A los valores promedio de los análisis de los suelos y a la variable índice de eficiencia de las cepas de HMA se le estimó el intervalo de confianza de las medias a  $\alpha=0.05$  (Payton et al. 2000). Todas las variables cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, por lo que en todos los casos se analizaron los datos originales (Vásquez 2011). Para el análisis de datos se utilizó el programa SPSS Statistics 21 (IBM 2012).

## Resultados

### Suelos

En el Cuadro 1 se presentan las principales características químicas de los suelos. El Vertisol presentó pH neutro, contenidos medios de materia orgánica, altos tenores de P asimilable y K intercambiable, así como una alta capacidad de intercambio de bases. El Nitisol presentó un pH ligeramente ácido, contenidos medios de materia orgánica, bajos tenores de P asimilable y K intercambiable, y baja capacidad de intercambio de bases.

Ambos suelos son arcillosos; sin embargo, la diferencia en su capacidad de intercambio de bases está dada por el tipo de arcilla. En el Vertisol predominan las arcillas de retículo 2:1, mientras que en el Nitisol, las de retículo 1:1 (IUSS 2007).

**Cuadro 1.** Características químicas de los suelos (0–20 cm).

Suelo	pH	MO (%)	P (mg/100 g)	Ca <sup>2+</sup> Mg <sup>2+</sup> Na <sup>+</sup> K <sup>+</sup> CCB				
				(cmol <sub>c</sub> /kg)				
Vertisol	7.2	4.7	5.6	33.2	6.9	0.55	0.46	41.1
± IC	0.3	0.43	0.5	2.7	0.6	0.09	0.12	2.23
Nitisol	6.3	3.3	0.8	9.7	2.2	0.15	0.26	12.3
± IC	0.2	0.31	0.2	0.8	0.3	0.02	0.07	0.76

MO, materia orgánica; CCB, capacidad de intercambio de bases; IC, intervalo de confianza ( $\alpha=0.05$ ).

### Materia seca

En ambos suelos se encontró una respuesta positiva de las leguminosas a la inoculación, ya que todos los inóculos incrementaron el rendimiento en relación con el testigo sin inocular (Cuadro 2). No obstante, en cada condición edáfica se encontró un inóculo que produjo el mayor rendimiento. El mejor comportamiento para las leguminosas en el Vertisol correspondió a *R. intraradices*, mientras que en el Nitisol correspondió a *G. cubense*. No se observó interacción entre los tratamientos para el rendimiento de MS.

En la Figura 1 aparece el índice de eficiencia de los inóculos de HMA, el cual refleja el incremento porcentual del rendimiento de las leguminosas en relación con el testigo sin inocular. Esta variable mostró un comportamiento similar al rendimiento, es decir, aunque en ambos suelos los inóculos de HMA incrementaron la producción de biomasa por unidad de superficie, aquellos que produjeron

los mayores efectos no fueron los mismos en cada condición edáfica.

En el Vertisol, el inóculo con *R. intraradices* alcanzó los mayores índices de eficiencia, tanto para stylo como para siratro, mientras que en el Nitisol los mayores resultados se obtuvieron con *G. cubense*. No obstante los inóculos más efectivos no presentaron los mismos índices de eficiencia en ambas condiciones edáficas, ya que en el Vertisol, *R. intraradices* alcanzó cerca de 42%, mientras que en el Nitisol, el inóculo con *G. cubense* presentó valores cercanos a 55%.

**Cuadro 2.** Efecto de los inóculos de HMA y de las especies de leguminosas en el rendimiento de MS de las leguminosas (t/ha) en dos suelos diferentes.

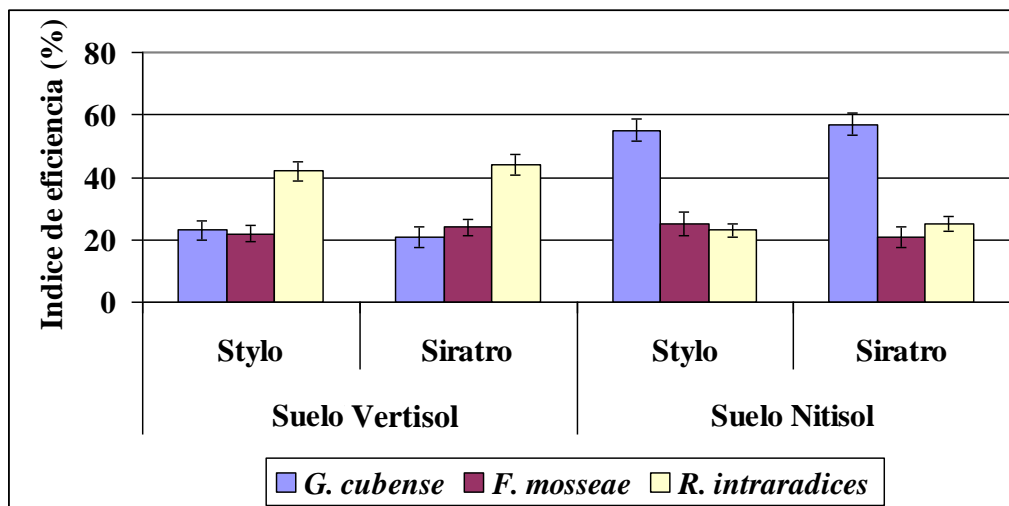
Inóculo/Leguminosa	Vertisol	Nitisol
Inóculo		
Testigo	5.80c	4.13c
<i>G. cubense</i>	7.10b	6.39a
<i>F. mosseae</i>	7.15b	5.15b
<i>R. intraradices</i>	8.25a	5.11b
EE	0.13**	0.11**
Leguminosa		
Stylo	7.19	5.08
Siratro	7.30	5.31
EE	0.10	0.08

Promedios con letras diferentes en cada columna difieren en forma significativa ( $P<0.05$ ), según la prueba de Duncan. EE: error estándar.

### Variables fúngicas

El efecto de los inóculos en las variables que caracterizan el funcionamiento micorrízico se evaluó a través de los indicadores: frecuencia de colonización, intensidad de la colonización o densidad visual, y contenido de esporas en la rizosfera. No se encontró interacción entre los tratamientos, aunque estos tuvieron un efecto significativo en el comportamiento de tales variables (Cuadro 3).

Los inóculos produjeron niveles de colonización micorrízica, densidad visual y contenidos de esporas en la rizosfera mayores que los alcanzados en el testigo sin inocular. Esto refleja el bajo nivel de ocupación radical de los HMA residentes, pero los mayores efectos en el Vertisol y Nitisol se obtuvieron, en ese orden, con los inóculos de *R. intraradices* y *G. cubense*.



**Figura 1.** Índice de eficiencia de los inóculos con diferentes especies de HMA en cada leguminosa y tipo de suelo. Las barras verticales representan el intervalo de confianza de las medias; la ausencia de sobreposición de los intervalos de confianza indica diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ).

**Cuadro 3.** Efecto de los inóculos de HMA y de las leguminosas en las variables fúngicas evaluadas en dos suelos diferentes.

Inóculo/Leguminosa	Vertisol			Nitisol		
	Colonización (%)	Densidad visual (%)	Esporas/50 g de suelo	Colonización (%)	Densidad visual (%)	Esporas/50 g de suelo
<b>Inóculo</b>						
Testigo	15.7c	1.15c	160c	12.5c	1.13d	175d
<i>G. cubense</i>	24.0b	1.33b	314b	43.2a	2.35a	385a
<i>F. mosseae</i>	23.5b	1.31b	304b	30.5b	1.40c	314b
<i>R. intraradices</i>	42.7a	2.47a	441a	29.8b	1.51b	253c
EE	2.0**	0.02**	16**	0.3**	0.02**	9**
<b>Leguminosa</b>						
Stylo	27.6	1.58	307	29.2	1.58	277
Siratro	26.9	1.54	303	28.7	1.60	287
EE	1.4	0.02	11	0.2	0.02	7

Promedios con letras diferentes en cada columna difieren en forma significativa ( $P<0.05$ ), según la prueba de Duncan. EE: error estándar.

#### Concentraciones de macroelementos

En el Vertisol, los inóculos incrementaron las concentraciones de N en la biomasa de la parte aérea de las leguminosas, y de N, P y K en el Nitisol, pero al igual que en las variables anteriores, su comportamiento fue diferente en

cada condición edáfica (Cuadro 4). Los mayores contenidos de estos nutrientes se encontraron con los tratamientos que contenían *R. intraradices* en Vertisol y *G. cubense* en Nitisol. No se encontró interacción entre los tratamientos para las concentraciones de N, P y K en la biomasa de la parte aérea.

**Cuadro 4.** Efecto de los inóculos de HMA y las especies de leguminosas en las concentraciones de N, P y K (g/kg) en la biomasa aérea de las leguminosas en dos suelos diferentes.

Inóculo/Leguminosa	Vertisol			Nitisol		
	N	P	K	N	P	K
Inóculo						
Testigo	16.9c	2.20	13.9	14.1c	1.16c	12.4c
<i>G. cubense</i>	23.2b	2.14	13.7	25.4a	2.05a	14.2a
<i>F. mosseae</i>	22.2b	2.19	14.0	16.1b	1.78b	13.3b
<i>R. intraradices</i>	26.3a	2.16	13.8	16.4b	1.73b	13.2b
EE	0.4**	0.06	0.3	0.2**	0.05**	0.1**
Leguminosa						
Stylo	21.1	2.12	13.9	17.9	1.66	13.2
Siratro	23.2	2.21	13.7	18.0	1.69	13.3
EE	0.3	0.04	0.2	0.1	0.04	0.1

Promedios con letras diferentes en cada columna difieren en forma significativa ( $P < 0.05$ ), según la prueba de Duncan. EE: error estándar.

## Discusión

La respuesta de las leguminosas a la inoculación mostró una alta dependencia micorrízica de ambas especies y también una mayor efectividad de los inóculos aplicados, en relación con los HMA residentes, para mejorar la nutrición e incrementar la producción de biomasa aérea de ambas especies. Estos resultados sugieren que en las condiciones del ensayo el manejo de la simbiosis micorrízica arbuscular vía inoculación debe ser tenida en cuenta como una práctica agronómica efectiva para mejorar la productividad de las especies forrajeras, tal como se recomienda para otros cultivos agrícolas (Rivera et al. 2007).

En este sentido, varios autores coinciden en que la introducción de especies de HMA seleccionadas puede ser una opción de manejo deseable e incluso necesaria, en los casos en que los HMA residentes no sean lo suficientemente efectivos para producir los beneficios deseados (Verbruggen et al. 2013; Cavagnaro et al. 2014; Oliveira et al. 2014).

Llama la atención el hecho de que en ambos suelos se haya logrado una inoculación efectiva con cantidades bajas de inóculos (600 g/ha), los cuales también aportaron cantidades bajas de esporas por hectárea. Sin embargo, la presencia en el inóculo de abundantes fragmentos de raicillas e hifas procedentes de la planta hospedera, conjuntamente con el método de inoculación empleado, pudo haber garantizado que además de las esporas, otros propágulos micorrízicos viables también quedarán en íntimo contacto con las semillas de las leguminosas, facilitando la colonización de sus raíces desde el momento de la germinación. Además, la escasa abundancia de HMA residentes, que se presume al observar la frecuencia e intensidad de la colonización y el número de esporas en la

rizosfera de las plantas que no fueron inoculadas, también pudo haber facilitado la acción de los inóculos.

La ausencia de interacción entre las leguminosas y los inóculos de HMA que se observó en todas las variables, tanto en el Vertisol como en el Nitisol, indica que estos tuvieron un comportamiento similar en un mismo tipo de suelo; es decir, el inóculo que resultó más efectivo en un suelo, lo fue para ambas especies de leguminosas. Este comportamiento parece confirmar la baja especificidad entre especie de HMA y planta hospedera de las asociaciones micorrízicas (Öpik y Moora 2012; Verbruggen et al. 2012).

Cuando se comparan los resultados obtenidos en ambos suelos se observa que los inóculos tuvieron un comportamiento diferente, ya que el que produjo los mayores efectos en las variables fúngicas y el rendimiento y estado nutricional de las plantas no fue el mismo en cada condición edáfica. El inóculo con *R. intraradices* resultó el más efectivo para las leguminosas en el Vertisol, mientras *G. cubense* lo fue para las leguminosas cultivadas en el Nitisol. Estos resultados indican la existencia de alguna relación entre la efectividad de la cepa y el tipo de suelo, en la respuesta de ambas leguminosas a la inoculación de HMA. Según Verbruggen et al. (2013) el éxito de la inoculación micorrízica arbuscular depende no solo de las particularidades genéticas de ambos simbioses, sino también de las condiciones del ambiente, en el cual el suelo juega un papel determinante para el establecimiento y la persistencia de los HMA introducidos. En este contexto, al evaluar los efectos de la inoculación micorrízica arbuscular en una amplia gama de suelos y cultivos con diferentes ciclos de crecimiento y requerimientos nutricionales, Rivera et al. (2015) concluyeron que en comparación con la especificidad del cultivo, el factor suelo determina

en mayor grado la efectividad de las especies de HMA introducidas.

Al evaluar los índices de eficiencia de los inoculantes, también se pudo comprobar que el inóculo que contenía *R. intraradices* fue más efectivo para incrementar el rendimiento de stylo y siratro en el suelo Vertisol, mientras que el formulado con *G. cubense* lo fue para ambas leguminosas en el suelo Nitisol. Sin embargo, el inóculo con *R. intraradices* en el Vertisol presentó un índice de eficiencia menor que el inóculo con *G. cubense* en el Nitisol, lo que pudo ser debido a una disminución de la efectividad de la inoculación en aquel suelo, en función de su mayor fertilidad.

Se conoce que la efectividad de la simbiosis micorrízica se reduce a medida que aumenta la disponibilidad de nutrientes, ya que la entrega de los recursos del suelo a la planta hospedera a través de los HMA va perdiendo importancia (Antunes et al. 2012; Grman y Robinson 2013). No obstante, estos resultados también indican que los beneficios de la inoculación de las leguminosas forrajeras con HMA pueden extenderse a los suelos de mayor fertilidad y no solo a aquellos de baja fertilidad.

El efecto positivo de la inoculación micorrízica arbuscular en las leguminosas estuvo relacionado con su contribución al mejoramiento del estado nutricional de las plantas. Este resultado confirma lo observado por González et al. (2012) y Crespo Flores et al. (2014) cuando introdujeron especies seleccionadas de HMA en esquemas de biofertilización para leguminosas forrajeras. El hecho de que con los inóculos que resultaron más efectivos en cada condición edáfica se hayan alcanzado los mayores valores de frecuencia e intensidad de la colonización, indica que las plantas tuvieron un mejor acceso a los recursos del suelo a partir de la formación de mayores cantidades de estructuras micorrízicas, lo cual evidentemente contribuyó al incremento de las concentraciones de los macronutrientes en la biomasa de la parte aérea y en el rendimiento.

No obstante, el hecho de que el inóculo con *R. intraradices* no incrementara las concentraciones de P y K en la biomasa de las leguminosas en el Vertisol, sugiere que los contenidos de ambos elementos en este suelo fueron suficientes para satisfacer los requerimientos de las plantas. Se debe tener en cuenta que, a diferencia del Nitisol, el Vertisol contenía altos tenores de P asimilable y K intercambiable (ver Cuadro 1). Además, las concentraciones de P y K en la biomasa observadas en este suelo fueron semejantes a las encontradas por Lopes et al. (2011) y Dong et al. (2013), respectivamente, en plantas de stylo y siratro bien abastecidas de K.

Rivera et al. (2007) al evaluar la contribución de inóculos de HMA a la nutrición de diferentes cultivos, observaron que la simbiosis, más que favorecer la absorción de uno u otro elemento, se comportó como un mecanismo que permitió a las plantas obtener sus requerimientos nutricionales, en dependencia de sus propias necesidades y de la disponibilidad de los mismos en el sistema. Otros autores también han arribado a conclusiones similares (Maiti et al. 2011; An Dong et al. 2013).

## Conclusión

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo, se concluye que: (1) mediante la inoculación con especies efectivas de HMA es posible mejorar el estado nutricional y el rendimiento de las leguminosas forrajeras stylo y siratro, y (2) que la efectividad de la inoculación parece estar más relacionada con el tipo de suelo que con la especie de planta. No obstante, otros estudios deberán conducirse para definir cuáles propiedades del suelo determinan el comportamiento de las especies de HMA.

## Referencias

- An-Dong S; Qian L; Jian-Guo H; Ling Y. 2013. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition and chlorogenic acid content of *Lonicera confusa* seedlings under field conditions. *Pedosphere* 23:333–339. DOI: [10.1016/S1002-0160\(13\)60024-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(13)60024-7)
- Antunes PM; Lehmann A; Hart MM; Baumecker M; Rilling MC. 2012. Long-term effects of soil nutrient deficiency on arbuscular mycorrhizal communities. *Functional Ecology* 26:532–540. DOI: [10.1111/j.1365-2435.2011.01953.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2011.01953.x)
- Carneiro RFV; Martins MA; Araújo ASF; Nunes LAPL. 2011. Inoculação micorrízica arbuscular e adubação fosfatada no cultivo de forrageiras consorciadas. *Archivos de Zootecnia* 60:1191–1202. DOI: [10.4321/S0004-05922011000400034](https://doi.org/10.4321/S0004-05922011000400034)
- Castillo CG; Fredericksen C; Koch R; Sieverding E. 2014. Effect of seed treatment with natural products on early arbuscular mycorrhizal colonization of wheat by *Claroideoglossum claroideum*. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 87:117–123. DOI: [10.5073/JABFQ.2014.087.018](https://doi.org/10.5073/JABFQ.2014.087.018)
- Cavagnaro RA; Oyarzabal M; Oosterheld M; Grimoldi A. 2014. Screening of biomass production of cultivated forage grasses in response to mycorrhizal symbiosis under nutritional deficit conditions. *Grassland Science* 60:178–184. DOI: [10.1111/grs.12057](https://doi.org/10.1111/grs.12057)
- Crespo Flores G; Ramírez JF; González PJ; Hernández I. 2014. Coinoculación de cepas de rizobios y del hongo micorrízico arbuscular en *Stylosanthes guianensis* vc. CIAT-184.

- Revista Cubana de Ciencia Agrícola 48:297–300. [www.redalyc.org/pdf/1930/193032133016.pdf](http://www.redalyc.org/pdf/1930/193032133016.pdf)
- Dong C; Liu Q; Wen S; Zeng X; Xu Z; Gao J. 2013. Effects of phosphate and lime application on growth of *Trifolium repens*, *Chamaecrista rotundifolia* and *Macroptilium atropurpureum* in red soils. *Agricultural Science and Technology* 14:640–644. <http://goo.gl/yxtLa0>
- Duncan DB. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 11:1–42. DOI: [10.2307/3001478](https://doi.org/10.2307/3001478)
- Fernández F; Gómez R; Vanegas LF; Martínez MA; de la Noval BM; Rivera R. 2001. Producto inoculante micorrizógeno. Patente No. 22641. Oficina Cubana de la Propiedad Industrial (OCPI), Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, La Habana, Cuba.
- Giovannetti M; Mosse B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84:489–500. DOI: [10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x)
- González PJ; Pérez G; Medina N; Crespo Flores G; Ramírez JF; Arzola J. 2012. Coinoculación de cepas de rizobios y una cepa de hongo micorrizico arbuscular (*Glomus cubense*) y su efecto en kudzú (*Pueraria phaseoloides*). Nota técnica. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 46:331–334. <https://goo.gl/ADXK6E>
- Grman E; Robinson TMP. 2013. Resource availability and imbalance affect plant-mycorrhizal interactions: A field test of three hypotheses. *Ecology* 94:62–71. DOI: [10.1890/12-0385.1](https://doi.org/10.1890/12-0385.1)
- Herrera RA; Ferrer RL; Furrázola E; Orozco MO. 1995. Estrategias de funcionamiento de las micorrizas VA en un bosque tropical. En: Monasterio M, ed. Biodiversidad en Iberoamérica. Ecosistemas, Evolución y Procesos Sociales. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, Subprograma XII, Diversidad Biológica. Mérida, Venezuela.
- IBM. 2012. Statistical software SPSS Statistics, version 21. SPSS Institute, Chicago, IL, USA.
- IUSS (International Union of Soil Science). 2007. Base referencial mundial del recurso suelo. Primera actualización 2007. Informes sobre Recursos Mundiales de Suelos No. 103. IUSS; International Soil Reference and Information Centre (ISRIC); Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Roma, Italia. [www.fao.org/3/a-a0510s.pdf](http://www.fao.org/3/a-a0510s.pdf)
- Klabi R; Hamel C; Schellenberg MP; Iwaasa A; Raies A. 2014. Interaction between legume and arbuscular mycorrhizal fungi identity alters the competitive ability of warm-season grass species in a grassland community. *Soil Biology & Biochemistry* 70:176–182. DOI: [10.1016/j.soilbio.2013.12.019](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.12.019)
- Lok S. 2015. Los suelos dedicados a la ganadería en Cuba: Características, manejo, oportunidades y retos. Memorias, V Congreso Producción Animal Tropical 2015. 16–20 de noviembre de 2015. Palacio de Convenciones de La Habana, La Habana, Cuba.
- Lopes J; Evangelista AR; Fortes CA; Pinto JC. 2011. Nodulação e produção de raízes do estilosantes Mineirão sob efeito de calagem, silicatagem e doses de fósforo. *Ciência e Agrotecnologia* 35:99–107. DOI: [10.1590/s1413-70542011000100012](https://doi.org/10.1590/s1413-70542011000100012)
- Maiti D; Toppo NN; Variar M. 2011. Integration of crop rotation and arbuscular mycorrhiza (AM) inoculum application for enhancing AM activity to improve phosphorus nutrition and yield of upland rice (*Oryza sativa* L.). *Mycorrhiza* 21:659–667. DOI: [10.1007/s00572-011-0376-0](https://doi.org/10.1007/s00572-011-0376-0)
- Oehl F; Laczko E; Bogenrieder A; Stahr K; Bösch R; van der Heijden RM; Sieverding E. 2010. Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Soil Biology & Biochemistry* 42:724–738. DOI: [10.1016/j.soilbio.2010.01.006](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.01.006)
- Oliveira TB de; Mello AH de; Ferreira LA. 2014. Influência da inoculação de fungos micorrizicos em amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*) em pastagens no projeto de assentamento Belo Horizonte I em São Domingos do Araguaia-PA. *Enciclopédia Biosfera* 10(18):1988–1999. <http://goo.gl/PQqkLR>
- Öpik M; Moora M. 2012. Missing nodes and links in mycorrhizal networks. *New Phytologist* 194:304–306. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2012.04121.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04121.x)
- Paneque VM; Calaña JM; Calderón M; Borges Y; Hernández T; Caruncho M. 2011. Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Ediciones INCA, Mayabeque, Cuba.
- Payton ME; Miller AE; Raun WR. 2000. Testing statistical hypotheses using standard error bars and confidence intervals. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 31:547–551. DOI: [10.1080/00103620009370458](https://doi.org/10.1080/00103620009370458)
- Pellegrino E; Bedini S; Avio L; Bonari E; Giovannetti M. 2011. Field inoculation effectiveness of native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi in a Mediterranean agricultural soil. *Soil Biology & Biochemistry* 43:367–376. DOI: [10.1016/j.soilbio.2010.11.002](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.11.002)
- Pellegrino E; Turrini A; Gamper HA; Cafa G; Bonari E; Young JPW; Giovannetti M. 2012. Establishment, persistence and effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungal inoculants in the field revealed using molecular genetic tracing and measurement of yield components. *New Phytologist* 194:810–822. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2012.04090.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04090.x)
- 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. In: Hamel C; Plenchette C, eds. *Mycorrhizae in crop production*. Haworth Press, Binghamton, NY, USA. p. 151–196.
- Rivera R; González PJ; Hernández A; Martín G; Ruiz L; Fernández K; Simó J; García M; Pérez A; Riera M; Bustamante C; Joao JP; Ruiz M. 2015. La importancia del ambiente edáfico y del pH sobre la efectividad y la recomendación de cepas eficientes de HMA para la inoculación de



- los cultivos. CONGRESO SUELOS 2015. 2–5 de junio de 2015. Comisión de Biología del Suelo y Biofertilizantes, La Habana, Cuba.
- Rodríguez Y; Arias L; Medina A; Mujica Y; Medina L; Fernández K; Mena A. 2015. Alternativa de la técnica de tinción para determinar la colonización micorrízica. *Cultivos Tropicales* 36:18–21. <http://goo.gl/9DDB1a>
- Siqueira JO; Franco AA. 1988. Biotecnología do solo. Fundamento e perspectivas. Ministerio de Educação (MEC), Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior (ABEAS); Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL); Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (FAEPE), Lavras, MG, Brazil.
- 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. In: Gianinazzi-Pearson V; Gianinazzi S, eds. Proceedings of the 1st European Symposium on Mycorrhizae: Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae, Dijon, 1–5 July 1985. INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) Press, Paris, France. p. 217–221.
- Vázquez ER. 2011. Contribución al tratamiento estadístico de datos con distribución binomial en el modelo de análisis de varianza. Tesis de Doctorado. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Mayabeque, Cuba.
- Verbruggen E; van der Heijden MGA; Weedon JT; Kowalchuk GA; Røling WFM. 2012. Community assembly, species richness and nestedness of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils. *Molecular Ecology* 21:2341–2353. DOI: [10.1111/j.1365-294X.2012.05534.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05534.x)
- Verbruggen E; van der Heijden M; Rilling MC; Kiers ET. 2013. Mycorrhizal fungal establishment in agricultural soils: Factors determining inoculation success. *New Phytologist* 197:1104–1109. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2012.04348.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04348.x)
- Zhang T; Sun Y; Shi Z; Feng G. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi can accelerate the restoration of degraded spring grassland in Central Asia. *Rangeland Ecology & Management* 65:426–432. DOI: [10.2111/REM-D-11-00016.1](https://doi.org/10.2111/REM-D-11-00016.1)

(Received for publication 24 August 2015; accepted 27 March 2016)

© 2016



*Tropical Grasslands-Forrajés Tropicales* is an open-access journal published by *Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)*. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 Unported License. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>