

Respuesta de *Brachiaria* híbrido cv. Mulato (CIAT 36061) a la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares

P. J. González*, R. Plana*, F. Fernández* y E. Igarza**

Introducción

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) son componentes integrales de la rizosfera de las pasturas, donde las plantas permanecen estrechamente asociadas mediante una red de hifas interconectadas que incrementan el volumen de suelo que exploran las raíces, mejoran su estructura y facilitan la absorción de los nutrimentos y el agua, entre otras funciones importantes (Johnson et al., 2003).

La mayoría de los pastos tropicales posee una alta dependencia micorrízica (Howeler et al., 1987). Pero muchos factores relacionados con la especie de planta y su régimen de explotación, la eficiencia de las cepas de HMA y las condiciones del suelo, pueden incidir en el funcionamiento de la simbiosis y de hecho, en la productividad del pasto (Ojeda, 1998; Grigera y Oesterheld, 2004). Cuando los pastos poseen baja micorrización natural, se puede mejorar el funcionamiento de la simbiosis mediante la inoculación de cepas de HMA (Singh et al., 2000; Calderón, 2006). En estos casos resulta necesario evaluar la respuesta de las especies a las cepas introducidas y seleccionar las más eficientes para las condiciones en que tiene lugar su cultivo, como requisito indispensable para lograr su manejo efectivo.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la respuesta del pasto *Brachiaria* híbrido cv. Mulato (CIAT 36061) a la inoculación de cepas de HMA.

Materiales y métodos

El ensayo se realizó en la Empresa Pecuaria Genética Niña Bonita, en la provincia de La Habana, Cuba, sobre un suelo Nitisol Ródico Eútrico (FAO, 1999). Para la caracterización química del suelo se emplearon los siguientes métodos analíticos, establecidos por NRAG (1987 y 1988): $\text{pH}_{(\text{H}_2\text{O})}$ y KCl por potenciometría, relación suelo-disolución 1:2.5; materia orgánica (MO) por Walkley y Black; P según Oniani; cationes intercambiables mediante extracción con NH_4AC 1 mol/l a pH 7 y determinación por complexometría (Ca y Mg) y fotometría de llama (Na y K); y porcentaje de arcilla por Boyoucos. Los resultados fueron los siguientes: $\text{pH}_{(\text{H}_2\text{O})} = 6.5$; $\text{pH}_{(\text{KCl})} = 5.9$; $\text{MO}(\%) = 3.25$; $\text{P}_2\text{O}_5(\text{mg}/\text{kg}) = 15$; los cationes (cmol/kg) Ca = 9.72, Mg = 2.24, Na = 0.15 y K = 0.21. El contenido de arcilla era de 60.4%. La temperatura, promedio anual, de la localidad es de 24 °C y la precipitación anual de 1300 mm, de la cual el 80 % se distribuye entre mayo y octubre y el resto, entre noviembre y abril.

Se evaluaron cuatro tratamientos (testigo sin inocular y la inoculación de las cepas de HMA: *Glomus hoyi*-like, *G. mosseae* y *G. intraradices* en un diseño cuadrado latino. En parcelas de 28 m² y con un área para medición de 21 m². Las cepas se aplicaron mediante inoculantes micorrízicos certificados que contenían 50 esporas/g de sustrato, producidos en el Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas del

* Investigadores del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera a Tapaste km 3.5 Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, la Habana, Cuba. E-mail: pgonzalez@inca.edu.cu

** Especialista. Microestación de Pastos y Forrajes Niña Bonita, carretera 43 km 1.5 Cangrejas, Bauta, la Habana, Cuba.

Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). El pasto se sembró en chorro continuo en junio de 2005, a una distancia de 70 cm entre surcos a razón de 8 kg/ha de semilla. El inoculante micorrizico se aplicó al momento de la siembra, por el método del recubrimiento de la semilla (Fernández et al., 2001). Los cortes se hicieron cada 6 en la época de lluvias y cada 8 ocho semanas en la época de menor precipitación. Durante el tiempo experimental no se aplicaron fertilizantes.

En ciclos alternos de corte, en cada parcela se tomaron tres muestras compuestas de raicillas de 20 plantas para su tinción y clarificación, según la metodología de Phillips y Hayman (1970). La evaluación de la colonización micorrizica se realizó por el método de los interceptos (Giovanetti y Mosse, 1980) y la densidad visual, según Trouvelot et al., (1986). En cada corte se pesó la masa verde (MV) de cada parcela y se tomaron muestras de 200 g para determinar el porcentaje de materia seca (MS) y los contenidos de N, P y K del pasto (AOAC, 1990). El rendimiento de MS se estimó a partir del rendimiento de MV y el % de MS. El índice de eficiencia (IE) de las cepas de HMA se calculó según Siquiera y Franco (1988), mediante la formula siguiente:

$$IE(\%) = [MS (t/ha) \text{ del tratamiento micorrizado} - MS (t/ha) \text{ del tratamiento testigo} / MS \text{ del tratamiento testigo} (t/ha)] \times 100$$

Igualmente se determinó el grado de participación de las cepas de HMA en la extracción de nutrimentos de la biomasa (Rivera et al., 2003), mediante la formula:

$$Participación (\%) = [Extracción \text{ de NPK} (t/ha) \text{ en el tratamiento micorrizado} - \text{extracción de NPK} (t/ha) \text{ en el tratamiento testigo} / \text{extracción de NPK} (t/ha) \text{ en el tratamiento micorrizado}] \times 100.$$

Los resultados fueron analizados mediante el programa estadístico SPSS 11.5 para Windows.

Resultados y discusión

En el Cuadro 1 se observa el efecto de la inoculación de las cepas de HMA en las estructuras micorrizicas de las plantas. Durante el primer año de establecimiento, las cepas incrementaron ($P < 0.05$) los porcentajes de colonización micorrizica y la densidad visual en el período lluvioso, aunque ambas variables alcanzaron los mayores valores ($P < 0.05$) con *Glomus hoy-like* y *G. intrarradices*. Sin embargo, la colonización de las raíces por *G. hoy-like* mostró una mayor permanencia, ya que a diferencia de las demás cepas, su efecto se prolongó hasta el período de menor precipitación. En el segundo año ninguna de las cepas inoculadas influyó en los porcentajes de colonización y densidad visual del pasto. El tratamiento testigo, el cual reflejó el nivel de ocupación de los HMA nativos presentes en el suelo donde se realizó el experimento, mostró muy bajos porcentajes de colonización y densidad visual, tanto en el primero como en el segundo años. Resultados similares encontró Calderón (2006) al estudiar el efecto de diferentes cepas de HMA en las estructuras micorrizicas de pasto guinea (*Panicum maximum*, cv. Likoni) cultivado en condiciones edafoclimáticas semejantes, reportando altos niveles de colonización y densidad visual y una mayor permanencia de la simbiosis con la inoculación de *G. hoy-like*.

Durante el primer año, los mayores contenidos de nutrimentos en la biomasa del pasto se obtuvieron con la inoculación de la cepa *G. hoy-like*, cuyos valores difirieron ($P < 0.05$) de los observados en los demás tratamientos (Cuadro 2). La cepa

Cuadro 1. Efectos de las cepas de HMA en las estructuras micorrizicas del cultivar Mulato (*Brachiaria* híbrido CIAT 36061).

Tratamientos	Primer año				Segundo año	
	Periodo lluvioso		Periodo menos lluvioso		Periodo lluvioso	
	Colonización (%)	DV (%)	Colonización (%)	DV (%)	Colonización (%)	DV (%)
Testigo	17.9 c*	1.73 c	9.9 b	0.79 b	18.5	1.78
<i>G. hoy-like</i>	63.2 a	4.61 a	24.5 a	1.82 a	19.1	1.82
<i>G. mosseae</i>	38.9 b	3.09 b	10.1 b	0.81 b	18.4	1.77
<i>G. intrarradices</i>	62.9 a	4.52 a	10.5 b	0.83 b	19.2	1.80
ES	3.3	0.25	1.9	0.13	2.2	0.2

* Promedios seguidos de letras similares no difieren significativamente ($P < 0.05$) según prueba de Tukey.

G. intrarradices también incrementó ($P < 0.05$) los contenidos de N, P y K, pero su efecto se observó sólo en el período lluvioso, en tanto que *G. mosseae* no afectó los contenidos de nutrientes de la biomasa en ninguna de las épocas evaluadas. En el segundo año las cepas de HMA no afectaron los contenidos de nutrientes de la biomasa del pasto.

Estos resultados coinciden con los encontrados por Saif (1987) quien al evaluar el efecto de la inoculación de HMA en numerosas gramíneas y leguminosas forrajeras tropicales, observó que las plantas con mayores porcentajes de colonización radical presentaron los contenidos más altos de P, N, K, Ca y Mg en la biomasa. Al respecto, varios autores han planteado que la inoculación de cepas efectivas de HMA incrementa la absorción y traslocación de los nutrientes esenciales a partir de las modificaciones morfológicas y fisiológicas que se producen en las raíces, las cuales incrementan la superficie de contacto con el suelo y su capacidad para acceder a elementos que se encuentran en formas menos disponibles para las plantas (Sieverding, 1991; Smith et al, 2003; Kavanova et al., 2006).

En la Figura 1 se incluye la participación de la micorrización, inducida por la inoculación de las cepas de HMA, en la extracción de nutrientes del pasto durante el primer año de establecimiento. Como puede observarse, la cepa *G. hoy-like* tuvo la mayor participación en la extracción de N, P y K, con índices que oscilaron entre 35% y 41% en el período lluvioso y entre 42% y 49% en el período menos lluvioso. *Glomus intrarradices* también incrementó estos índices entre 21% y 25% en la época de lluvia, pero fueron muy bajos en el período menos lluvioso. La cepa *G. mosseae* prácticamente no participó en la extracción de nutrientes por la gramínea.

En el tratamiento de inoculación con *G. hoy-like*, el cual reflejó de un modo más claro la participación de la micorrización en la extracción de nutrientes, los porcentajes de N, P y K absorbidos fueron altos y más o menos similares, aunque se observaron ligeras diferencias a favor del P. Además, resulta interesante destacar que los tenores de P y K en el suelo fueron bajos y a juzgar por el contenido de MO, la disponibilidad de N también fue baja. Lo anterior corrobora la teoría de Ruiz (2001) y Ryan et al. (2003) de que la micorrización, más que favorecer la absorción de determinado elemento, incrementa la absorción de nutrientes en función de su disponibilidad en el suelo y los requerimientos de las plantas. Rubio et al. (2002) y Tanaka y Yano (2005) observaron que la micorrización inducida a través de la inoculación de cepas efectivas de HMA incrementó el acceso de las plantas a los diferentes nutrientes, pero sobre todo a aquellos cuyos contenidos en el suelo resultaron bajos.

En el Cuadro 3 se muestra la influencia de los tratamientos en la productividad del pasto y los índices de eficiencia de las cepas de HMA evaluadas. Durante el primer año, *G. hoy-like* produjo rendimientos de MS significativa-mente superiores ($P < 0.05$) a los demás tratamientos y en consecuencia, los mayores índices de eficiencia, tanto en el período lluvioso como en el menos lluvioso. *Glomus intrarradices* tuvo una menor efectividad y permanencia, como lo muestran los menores rendimientos e índices de eficiencia obtenidos con la inoculación de esta cepa, en comparación con los alcanzados con *G. hoy-like*, siendo su efecto evidente solamente durante la época de lluvia. La cepa *G. mosseae* no influyó en los rendimientos de la gramínea.

Cuadro 2. Contenidos de nutrientes en la biomasa (% MS) del cultivar Mulato (*Brachiaria* híbrido CIAT 36061).

Tratamientos	Primer año						Segundo año		
	Período lluvioso			Período menos lluvioso			Período lluvioso		
	N	P	K	N	P	K	N	P	K
Testigo	1.19 c*	0.18 b	1.24 c	1.33 b	0.19 b	1.27 b	1.23	0.18	1.25
<i>G. hoy-like</i>	1.45 a	0.24 a	1.42 a	1.49 a	0.23 a	1.42 a	1.21	0.19	1.23
<i>G. mosseae</i>	1.21 c	0.19 b	1.22 c	1.29 b	0.20 b	1.28 b	1.22	0.19	1.24
<i>G. intrarradices</i>	1.33 b	0.23 a	1.35 b	1.30 b	0.20 b	1.27 b	1.23	0.20	1.22
ES	0.04	0.01	0.04	0.05	0.01	0.06	0.03	0.01	0.04

* Promedios seguidos de letras similares no difieren significativamente ($P < 0.05$) según prueba de Tukey.

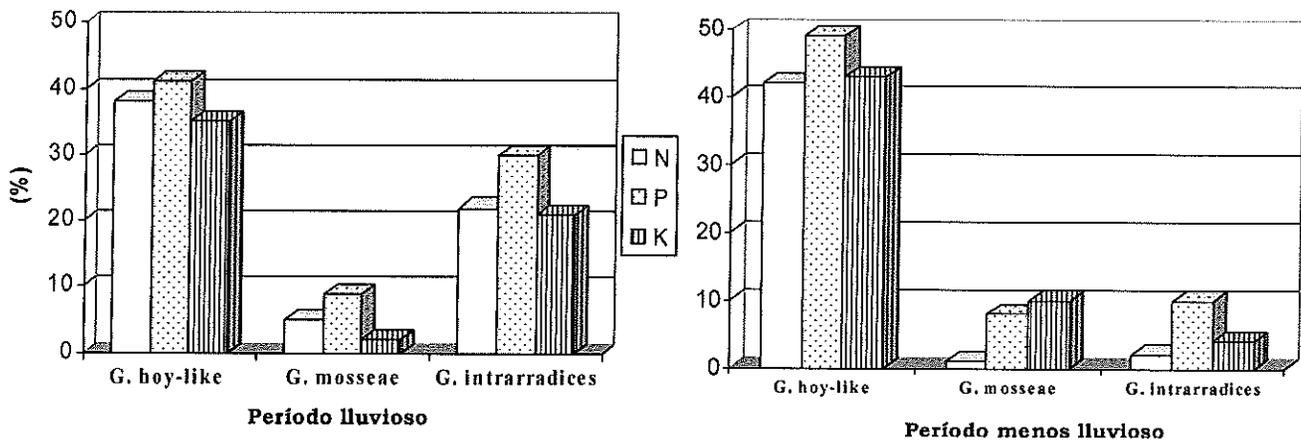


Figura 1. Participación (%) de la micorrización en la extracción de nutrientes del cultivar Mulato (*Brachiaria* híbrido CIAT 36061) en períodos lluvioso y menos lluvioso.

En el segundo año todas las cepas, incluyendo *G. hoy-like* cuyo efecto en el pasto mostró una mayor permanencia, produjeron rendimientos similares al testigo sin inocular. Al analizar de manera integral los resultados obtenidos en este experimento, se constata que la respuesta del pasto *Brachiaria* híbrido cv. Mulato a la inoculación de HMA dependió del tipo de cepa. *Glomus hoy-like* produjo los mayores porcentajes de colonización y densidad visual, los contenidos más altos de nutrientes en la biomasa y los mayores rendimientos e índices de eficiencia; además, a diferencia de las otras cepas, su efecto persistió hasta 1 año después de su inoculación. Esto indica que entre las cepas evaluadas fue la más efectiva.

La influencia de *G. hoy-like* en la productividad de la gramínea estuvo relacionada con la mejora de su capacidad de absorción de nutrientes, lo que fue evidente no solo por los altos niveles de colonización micorrízica que mostraron las plantas inoculadas con esta cepa, sino también por el

incremento de los contenidos de nutrientes en la biomasa y su mayor participación en la extracción de nutrientes del pasto. Estos resultados también demostraron la posibilidad de mejorar la simbiosis micorrízica y la productividad del pasto *Brachiaria* híbrido cv. Mulato (CIAT 36061) en suelos con una baja micorrización natural, mediante la inoculación de cepas efectivas de HMA.

Conclusiones

- La respuesta de *Brachiaria* híbrido cv. Mulato a la inoculación de HMA dependió del tipo de la cepa utilizada.
- *Glomus hoy-like* produjo los mayores porcentajes de colonización y densidad visual y los contenidos más altos de nutrientes en la biomasa, así como los mayores rendimientos de MS e índices de eficiencia. Esta cepa tuvo una alta participación en la extracción de nutrientes por la gramínea.

Cuadro 3. Rendimientos de MS del cultivar Mulato (*Brachiaria* híbrido CIAT 36061) e índices de eficiencia (IE) de las cepas de HMA.

Tratamientos	Primer año				Segundo año	
	Período lluvioso		Período menos lluvioso		Período lluvioso	
	MS (t/ha)	IE (%)	MS (t/ha)	IE (%)	MS (t/ha)	IE (%)
Testigo	11.11 c'	—	2.37 b	—	12.11	—
<i>G. hoy-like</i>	14.83 a	33	3.65 a	54	11.93	4
<i>G. mosseae</i>	11.57 a	4	2.45 b	3	11.71	2
<i>G. intrarradices</i>	12.90 b	13	2.48 b	5	12.02	2
ES	0.39	—	0.12	—	0.29	—

* Promedios seguidos de letras similares no difieren significativamente ($P < 0.05$) según prueba de Tukey.

- El efecto de la cepa *G. hoy-like* se observó hasta durante el primer año de inoculación.

Resumen

En un suelo Nitisol Ródico Eutríco de la Empresa Pecuaria Genética Niña Bonita, en la provincia de La Habana, se realizó un experimento para evaluar la respuesta del pasto *Brachiaria híbrido* cv. Mulato (CIAT 36061) a la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Se estudiaron cuatro tratamientos (las cepas de HMA *Glomus hoy-like*, *G. mosseae* y *G. intrarradices* más un testigo sin inocular), los cuales se distribuyeron en un diseño cuadrado latino. El pasto se sembró en junio de 2005, en surcos separados a 70 cm y a chorrillo, con una dosis de 8 kg/ha de semilla total. Las cepas de HMA se aplicaron al momento de la siembra, por el método del recubrimiento de la semilla, mediante inoculantes certificados que contenían 50 esporas por gramo de sustrato. La respuesta del pasto a los HMA dependió de la cepa inoculada. *Glomus hoy-like* resultó la cepa más efectiva, al producir los mayores porcentajes de colonización y densidad visual, los contenidos más altos de nutrimentos en la biomasa y los mayores rendimientos de MS e índices de eficiencia. Esta cepa tuvo también la mayor participación en la extracción de nutrimentos y su efecto en el pasto se observó hasta un año después de su inoculación. Se demostró la posibilidad de mejorar la simbiosis micorrízica, el estado nutricional y la productividad del pasto *Brachiaria híbrido* cv. Mulato cultivado en suelos con baja micorrización natural, mediante la inoculación de cepas efectivas de HMA.

Summary

In an Eutric Rhodic Nitisol soil of the Genetic Breeding Enterprise "Niña Bonita", in Havana Province, Cuba, an experiment was carried out to assess the response of the *Brachiaria hybrid* grass cv. Mulato (CIAT 36061) to the inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Four treatments were studied (the AMF strains *Glomus hoy-like*, *G. mosseae* and *G. intrarradices* plus a control without inoculation) distributed in a Latin square design. The pasture was sown in June, 2005, in rows 70 cm apart, at a

dosage of 8 kg ha⁻¹ of total seed. The AMF strains were applied at sowing through the method of covering the seed, with certified inoculants containing 50 spores per gram of substrate. Pasture response to the AMF depended of the inoculated strain. *G. hoy-like* was the most effective strain producing the highest micorrhyzal colonization and visual density percentages, the highest dry matter yields and efficiency indices. This strain had also the highest participation in nutrient extraction and its effect was observed up to one year after its inoculation. The possibility of improving mycorrhizal symbiosis, nutrient status and the productivity of *B. hybrid* cv. Mulato growing in soils with a low population of native AMF was demonstrated through the inoculation of effective AMF strains.

Referencias

- AOAC. 1990. Association of Official Agricultural Chemist. Official Methods of Analysis. 15 ed. vol. 1. Virginia. 648 p.
- Calderón, Maida. 2006. Efecto de la aplicación de estiércol vacuno y hongos micorrizógenos arbusculares en pasto guinea (*Panicum maximum*, cv Likoni) cultivado en suelo Ferralítico Rojo Lixiviado. Tesis en opción al título académico de Master en Ciencias. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Cuba.
- FAO. 1999. Base Referencial Mundial del Recurso Suelo. Informe sobre recursos mundiales de suelos. Sociedad Internacional de las Ciencias del Suelo (SICS), Centro Internacional de Referencia e Información en Suelos (ISRIC) y FAO. 90 p.
- Fernández, F.; Gómez, R.; Martínez, M. A. y de la Noval, Blanca M. 2001. Producto inoculante micorrizógeno. Patente no. 22 641. Cuba.
- Giovanetti, M. and Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular- arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84: 489-500.
- Grigera, G. y Oosterheld, M. 2004. Mycorrhizal colonization pattern under contrasting grazing and topographic

- condition in the flooding Pampa (Argentina). *J. Range Manag.* 57:601-605.
- Howeler, R. H., Sieverding, E. y Saif, S. R. 1987. Practical aspects of mycorrhizal technology in some tropical crops and pastures. *Plant Soil.* 10:77-81.
- Johnson, N. C., Rowland, D. L.; Corkidi, L.; Egerton, L. M. y Allen, E. B. 2003. Nitrogen enrichment alters mycorrhizal allocation at five mesic to semi-arid grassland. *Ecology* 84: 1895-1908.
- Kavanova, M.; Grimoldi, A. A.; Lattanzi, F. A. y Schnyder, H. 2006. Phosphorus nutrition and mycorrhiza effects on grass leaf growth. P status- and size-mediated effects on growth zone kinematics. *Plant Cell Environ.* 29:511-520.
- NRAG. 837-87. 1987. Suelos. Análisis químico. Reglas generales. Ciudad de la Habana: Minagri, Cuba.
- _____. 892-88. 1988. Suelos. Análisis químico. Reglas generales.—Ciudad de la Habana: Minagri, Cuba.
- Ojeda, L. J. 1998. Efecto de micorrizas vesículo arbusculares del género *Glomus* en la producción de leguminosas forrajeras promisorias de la cuenca pecuaria El Tablón. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Estación Experimental de Suelos y Fertilizantes Escambray. Instituto de Suelos. Ministerio de la Agricultura. Cuba.
- Phillips, D. M. y Hayman, D. S. 1970. 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.
- Rivera, R. y Fernández, K. 2003. Bases Científico- Técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados. En: Rivera, R. et al. El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe. La Habana: 49- 94.
- Rubio, Rosa, Borie, F.; Schalchli, C.; Castillo, C. y Azcón, Rosario. 2002. Plant growth responses in natural acidic soil as affected by arbuscular mycorrhizal inoculation and phosphorus sources. *J. Plant Nutr.* 25:1389-1405.
- Ruiz, L. 2001. Efectividad de las asociaciones micorrízicas en especie 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. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Cuba.
- Ryan, M. H.; Mc Cully, M.E. y Huang, C. X. 2003. Location and quantification of phosphorus and other elements in fully hydrated, soil-grown arbuscular mycorrhizas: a cryo-analytical scanning electron microscopy study. *New Phytol.* 160:429-441.
- Sieverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizal in tropical agrosystems. *GTZ, Munich.* 371 p.
- Singh R; Kumar N. y Rana N. S. 2000. Response of rainfed guinea grass (*Panicum maximum*) to bio-fertilizers inoculation and nitrogen. *Indian J. Agron.* 45:205-209.
- Siqueira, J.O y Franco, A. 1988. Biotecnología do solo. Fundamentos e perspectivas. *Ciencias nos Tropicos Brasileiros. Serie Agronomía.*
- Smith S. E.; F. A. Smith y Jacobsen, Iver. 2003. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiol.* 33: 16-20.
- Tanaka, Y. y Yano, K. 2005. Nitrogen delivery to maize via mycorrhizal hyphae depends on the form of N supplied. *Plant Cell Environ.* 28:1247-1254.
- Trouvelot, A.; Kough, J.: y 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, París.*