

INFLUENCIA DE LA INOCULACIÓN DE MICORRIZAS ARBUSCULARES EN EL RENDIMIENTO Y LA CALIDAD DEL TABACO NEGRO CULTIVADO BAJO TELA.

Autores: Yoanna Cruz Hernández, Milagros García Rubido, Yarilis León González, Juan Miguel Hernández Martínez.

Estación Experimental del Tabaco. Finca Vivero, San Juan y Martínez, Pinar del Río. C.P. 23200

INTRODUCCIÓN

Los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) interactúan simbióticamente con cerca del 90% de las plantas terrestres formando diferentes tipos de asociaciones micorrízicas y, aunque el número total de hongos del suelo involucrados en esta simbiosis es desconocido, han beneficiado muchas especies importantes en la agricultura, como el tomate, trigo y maíz al incrementar su adaptación a diferentes ambientes y con efectos positivos sobre la productividad del sistema (Lanfranco *et al.*, 1995).

La relación simbiótica originada por la colonización de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y las raíces de la mayoría de las plantas es benéfica ya que promueve el crecimiento y mayor nutrición mineral de la planta (allen *et al.*, 2001; Khalil *et al.*, 1994;), así como la tolerancia a patógenos del suelo (Khalil *et al.*, 1994; Graham, 2001) y a condiciones abióticas adversas, como sequía (Augé *et al.*, 2001; Kaya *et al.*, 2003) y salinidad, (Alkaki, 2000). Por el interés en alcanzar el equilibrio ecológico, la micorrización representa una práctica que debe ser incorporada dentro de los sistemas de agricultura sostenible (Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2004; Silvia, 1999).

La práctica de aplicar micorrizas es factible en cultivos en los que es habitual una fase de trasplante, dado los efectos de estos hongos como biofertilizantes y bioprotectores de los cultivos, además pueden lograr una reducción significativa en el uso de los fertilizantes minerales, (Barea, 2001).

La aplicación de biofertilizantes es una alternativa económica y ecológica que puede ser utilizada para complementar una baja fertilización mineral, con la utilización de las micorrizas se logra que la fertilización sea más eficiente, esto no significa que se elimine la fertilización mineral pero se puede reducir hasta un 50 % (Ferrer y Herrera, 1991). Son pocas las investigaciones realizadas sobre la micorrización en el cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum* Lin) por ello, el objetivo de este experimento fue determinar la influencia de la inoculación de Micorrizas Arbusculares y la reducción del fertilizante mineral en el rendimiento y la calidad de la variedad de tabaco 'Corojo 99' cultivado bajo tela.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en la Estación Experimental del Tabaco del municipio San Juan y Martínez, Pinar del Río, durante las campañas tabacaleras 2007/ 2008 y 2008/ 2009 en un suelo ferralítico amarillento lixiviado típico eútrico (Hernández *et al* 1999) y la variedad 'Corojo 99' cultivada bajo tela. Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar y un modelo bifactorial con 4 repeticiones y 12 tratamientos que se describen a continuación:

Tratamientos

1. 0 % fertilizante mineral sin inocular
2. 0 % fertilizante mineral inoculado
3. 0 % fertilizante mineral reinoculado
4. 50 % fertilizante mineral sin inocular

5. 50 % fertilizante mineral inoculado
6. 50 % fertilizante mineral reinoculado
7. 75 % fertilizante mineral sin inocular
8. 75 % fertilizante mineral inoculado
9. 75 % fertilizante mineral reinoculado
10. 100 % fertilizante mineral sin inocular
11. 100 % fertilizante mineral inoculado
12. 100 % fertilizante mineral reinoculado

En los tratamientos 1, 4, 7, 10 no se aplicó biofertilizante, en los tratamientos 2, 5, 8, 11 se tomaron plántulas inoculadas en el semillero (1 kg de EcoMic®/m² de suelo) y en los tratamientos 3, 6, 9, 12 se tomaron plántulas inoculadas del semillero (1 kg de EcoMic®/m² de suelo) y se reinocularon en el momento del trasplante introduciéndolas en una pasta con EcoMic® a razón de 1 kg/600 ml de H₂O, para aplicación del fertilizante mineral se utilizó la fórmula completa 5-12-16- 3.

El resto de las actividades se realizaron de acuerdo con lo establecido en el manual técnico para el cultivo del Tabaco Negro Tapado (MINAG, 2001).

Durante el desarrollo del experimento Se seleccionaron diez plantas por cada tratamiento para realizar siguientes mediciones y observaciones: longitud y anchura de la hoja central (cm), según metodología descrita por Torrecilla (1980), colonización micorrizógena según metodología descrita por Giovannetti y Mosse (1980).

Además se determinó

Combustibilidad. Según lo establece el Instructivo Técnico para el procedimiento y evaluación de la combustibilidad del tabaco cubano MINAG, (2004).

Elasticidad. Según Metodología establecida por MINAG, (1992).

Una vez concluida la fase de curado se seleccionaron las hojas para determinar el rendimiento total y en capas para el torcido de exportación según metodología descrita por Valladares, (2003).

Los resultados se sometieron a un análisis de varianza de clasificación y la diferencia entre las medias se comparó por la prueba de rangos múltiples de Duncan con una probabilidad del error de 0.05. Lerch (1977).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En la tabla 1 se puede observar la influencia de la reducción del fertilizante mineral combinado con el biofertilizante en las características morfológicas de las plantas. El mejor resultado en cuanto a longitud y anchura de la hoja central se obtuvo al inocular las plántulas en el semillero y aplicar del 75 % del fertilizante mineral (tratamiento 8) sin diferencias estadísticas con aplicar el 100 % del fertilizante mineral sin inocular y sí con el resto de los tratamientos. Estos resultados están dados por un mayor aprovechamiento de los nutrientes, ya que la aplicación de HMA promueve un mayor crecimiento y nutrición mineral de la planta según plantean (allen et al., 2001; Khalil et al., 1994;), una mayor resistencia a sequía según (Augé et al., 2001; Kaya et al., 2003) lo cual influye de manera positiva en el desarrollo del cultivo. Estos resultados están relacionados con los obtenidos por Ferrer y Herrera (1991) y Rivera (1998) quienes plantean que mientras que un pelo radical puede poner a disposición de una raicilla los nutrientes y el agua que se encuentran hasta a 3 mm de la epidermis, las hifas del micelio

extramátrico de las MVA pueden hacerlo hasta 60 mm, lo que representa para la misma raicilla la posibilidad de explorar un volumen de suelo hasta 40 veces mayor.

En la variable colonización micorrízica, los mejores resultados se alcanzaron al utilizar plántulas inoculadas en el semillero y aplicar el 75 % del fertilizante mineral (tratamiento 8) y al reinocular en el momento del trasplante las plántulas inoculadas en el semillero y aplicar el 75 % del fertilizante mineral (tratamiento 9) con diferencias estadísticas con el resto de los tratamientos, esto da la posibilidad de que las plántulas lleguen al campo con el endófito de HMA en sus endorizósferas influyendo de manera directa en la fertilidad de los suelos donde serán plantadas. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Páez (1999).

Los valores del parámetro fúngico observados indican que cuando se aplican dosis de fertilizantes minerales mínimas o máximas la colonización resultó menos eficiente, pues la acción de las micorrizas se ve disminuida con esta disponibilidad de nutrientes.

Tabla 1 Efecto de los tratamientos en algunos índices morfológicos de las plántulas.

Tratamientos	Longitud de la hoja central(cm)	Anchura de la hoja central cm)	Colonización micorrízica (%)
1- 0 % fertilizante mineral sin inocular	30 e	19 e	16,6 f
2- 0 % fertilizante mineral inoculado	34 d	21 d	21,3 e
3- 0 % fertilizante mineral reinoculado	36 d	21 d	23,2 d
4- 50 % fertilizante mineral sin inocular	40 c	25 c	25,1c
5- 50 % fertilizante mineral inoculado	41c	24 c	28,3 b
6- 50 % fertilizante mineral reinoculado	41 c	24 c	28,2 b
7- 75 % fertilizante mineral sin inocular	48 b	28 b	28,0 b
8- 75 % fertilizante mineral inoculado	54 a	32 a	38,9 a
9- 75 % fertilizante mineral reinoculado	49 b	28 b	38,8 a
10- 100 % fertilizante mineral sin inocular	54 a	32 a	21,1e
11- 100 % fertilizante mineral inoculado	49 b	29 b	27,6 b
12- 100 % fertilizante mineral reinoculado	49 b	29 b	27,9 b
ES x (+)	2,86	2,45	2,21
C V %	3,13	4,46	4,01

En la tabla 2 se observa que los mejores resultados en cuanto a rendimiento total y capas para el torcido de exportación se alcanzaron con el empleo de plántulas inoculadas en el semillero y aplicar el 75 % del fertilizante mineral (tratamiento 8), sin diferencias significativas con aplicar el 100 % de fertilizante mineral y si con el resto de los tratamientos.

Este resultado está avalado por Bonfante 2001, Bonfante y Perotto, 1995, quienes plantean que el desarrollo del micelio extramátrico ocurre desde la raíz hacia el suelo, extendiéndose una serie de hifas que pueden llegar a alcanzar alrededor de 8 cm de longitud las cuales realizan funciones similares a la de los pelos absorbentes logrando disminuir la aplicación de fertilizantes minerales pues el cultivo pues este realiza un mayor aprovechamiento de los nutrientes que existen en el suelo.

En aras de mejorar la calidad biológica del cultivo, se adoptan alternativas que hagan más eficientes el empleo de fertilizantes minerales tales como el uso de biofertilizantes lográndose además un mejor manejo para el cultivo, aumentar el desarrollo y la productividad, estimular las hormonas de crecimiento para que las raíces absorban más nutrientes y por tanto lograr disminuir la aplicación de fertilizante mineral.

En los tratamientos donde no se aplicó fertilizante mineral (1,2,3) la combustibilidad disminuyó respecto a los demás tratamientos, con valores entre 6 y 10 segundos la cual se considera como

aceptable, en el resto de los tratamientos siempre alcanzó valores por encima de 20 segundos lo que se considera como excelente según MINAG, (2004). Este comportamiento puede estar dado por un menor contenido celular en relación con las sustancias que constituyen la membrana, de forma tal que permita un buen acceso del oxígeno del aire a toda la masa. Las hojas al ser más finas (tejidos mas delgados ricos en aire), arden mejor que las más gruesas, Márquez (1977), citado por Guerra, (2004).

La elasticidad de la hoja tuvo un comportamiento similar a la combustibilidad, los tratamientos donde no se aplicó fertilizante mineral alcanzaron valores de 10 mm la cual se considera como aceptable mientras que en el resto de los tratamientos siempre alcanzó valores por encima de 15 mm la que se evalúa de buena según MINAG, (1992) influyendo de forma positiva en la calidad de las hojas.

Tabla 2 Efecto de los tratamientos en la masa fresca, seca y colonización micorrizógena.

Tratamientos	Capas de Exportación Kg/ha)	Rendimiento Total (kg/ha)	Combustibilidad (s)	Elasticidad (mm)
1- 0 % fertilizante mineral sin inocular	111,2 e	509,3 e	A	A
2- 0 % fertilizante mineral inoculado	104,0 e	557,5 e	A	A
3- 0 % fertilizante mineral reinoculado	108,0 e	506,0 e	A	A
4- 50 % fertilizante mineral sin inocular	344,7d	632,0 d	E	B
5- 50 % fertilizante mineral inoculado	346,5d	635,6 d	E	B
6- 50 % fertilizante mineral reinoculado	342,7 d	634,4 d	E	B
7- 75 % fertilizante mineral sin inocular	707,2 c	739,6 c	E	B
8- 75 % fertilizante mineral inoculado	792,8 a	2152,6 a	E	B
9- 75 % fertilizante mineral reinoculado	757,2 b	2129,9 b	E	B
10- 100 % fertilizante mineral sin inocular	793,9 a	2154,6 a	E	B
11- 100 % fertilizante mineral inoculado	754,9 b	2122,4 b	E	B
12- 100 % fertilizante mineral reinoculado	757,9 b	2129,6 b	E	B
ES x (±)	22,45	33,22		
C V %	5,22	5,19		

Leyenda: E – Excelente B -- Buena A- Aceptable

CONCLUSIONES

-Con la inoculación de hongos micorrízicos se puede disminuir hasta un 25 % la dosis de fertilizante mineral en el tabaco negro cultivado bajo tela.

- La combinación del fertilizante mineral al 75 % y la inoculación de micorrizas mejoran significativamente la longitud y anchura de la hoja central, la colonización micorrizógena así como el rendimiento y la calidad del tabaco negro cultivado bajo tela.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alkaki, G. N.: Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. Mycorrhiza 10:51-54. 2000.

2. Allen, B. L; V. D. Jolley; C. W. Robbins; L. Freeborne.: Fallow versus wheat cropping of unamended and manure-amended soils related to mycorrhizal colonization, yield and plant nutrition of dry bean and sweet corn. *J. Plant Nutr.* 24:921-943. 2001.
3. Augé, R. M.; A. J. Stodola, J. E. Tims, and M. Saxton.: Moisture relation properties of a mycorrhizal soil. *Plant and Soil*, 230:87-97.2001.
4. Barea. J. M.: Las micorrizas arbusculares componente clave en la productividad y estabilidad de agroecosistemas, 339 pp., Madrid, 2001.
5. Bonfante, P.: At the interface between mycorrhizal fungi and plants: the structural organization of cell wall, plasma membrane and cytoskeleton. Pp. 45–91 in *Mycota, IX: Fungal Associations*, B. Hock, ed. Springer Verlag, Berlin. 2001.
6. Bonfante-Fassolo, P .Perotto, S.: Strategy of arbuscular mycorrhizal fungy when infecting host plant. *New Phytol.* 130, 13-21. 1995.
7. Borroto, C.: Palabras de inauguración del Congreso Biotecnología Habana. <http://w.w.w.wprensalatina.com.mx/print.asp ID. 2005>.
8. Ferrer, L. y R. A. Herrera. : Breve reseña sobre los biofertilizantes., 34 pp. , Ed Pueblo y Educación, La Habana, 1991.
9. Ferrera-Cerrato, R. A. Alarcón.: Biotecnología de los hongos micorrízicos arbusculares. In: Memoria Simposio de Biofertilización. (eds). Río Bravo, Tampa, México. pp: 1-9.2004.
10. Giovannetti M. y Mosse B.: An evaluation of technique for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New. Phytol* 84: 489-500, 1980.
11. Graham, J. H.: What do root pathogens see in mycorrhizas? *New Phytol.* 149:357-359. 2001.
12. Guerra, J. G.: Influencia del cultivo en hileras dobles en algunos indicadores biológicos y en el rendimiento y la calidad del tabaco negro bajo tela CUBA TABACO 5 (2): 19 – 23, 2004.
13. Hernández, A., Pérez, J.M., Bosch, D., Rivero, L.: Nueva Versión de la Clasificación Genética de los Suelos de Cuba. Inst. Suelos, AGRINFOR, Ciudad Habana, 64p. 1999.
14. Kaya, C. D;Higes, H; Kirnak, I. Tas.: Mycorrhizal colonization improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus*) grown under well-watered and water-stressed conditions. *Plant and Soil* 253:287-292. 2003.
15. Khalil, S. T. Loynachan and M. Tabatabai.: Mycorrhizal dependency and nutrient-uptake by improved and unimproved corn and soy bean cultivars. *Agron. J.* 86:949-958. 1994.
16. Lanfranco, L; Wyss, P; Marzachi, C. and Bonfante, P.: Generation of RAPD-PCR primers for the identification of isolates of *Glomus mosseae*, an arbuscular mycorrhizal fungus. *Mol. Ecol.* 4: 61-68. 1995.
17. Lerch, G.: La experimentación en las ciencias biológicas y agrícolas. 452pp. Ed Científico Técnica, La Habana, 1977.
18. MINAG, Ministerio de la Agricultura, Cuba.: Instructivo Técnico para determinar la elasticidad y fragilidad de la hoja de tabaco, 6 pp., CIDA, La Habana, 1992.
19. MINAG, Ministerio de la Agricultura, Cuba.: Manual Técnico para el Cultivo del Tabaco negro Tapado, 36 pp., Ed. SEDAGRI/AGRINFOR, La Habana, 2001.
20. MINAG, Ministerio de la Agricultura, Cuba.: Instructivo Técnico para el procedimiento y evaluación de la combustibilidad del tabaco cubano 16 pp., Ed. SEDAGRI/AGRINFOR, La Habana, 2004.
21. Páez, G. A. C.: Efecto de la inoculación de hongos micorrizógenos vesículo-arbusculares en la adaptación de *Psidium salutare* (H.B.K.) Berg. Tesis en opción al

- Grado de Master en Ciencias de Ecología y Sistemática Aplicada con Mención en Ecología. ISP “Rafael María de Mendive”. Pinar del Río, 1999.
- 22. Rivera. R.: Uso y manejo de biofertilizantes. En: Conferencia impartida en el curso de la maestría de biofertilizantes de plantas. , Ed INCA.
 - 23. Sylvia, D. M.: Fundamentals and applications of arbuscular mycorrhizae: A “biofertilizer” perspective. In: Soil Fertility, Soil Biology, and Plant Nutrition Interrelationships. (eds). Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo. Brazil. 1999.
 - 24. Torrecilla, G.; A. Pino. ; P. Alfonso. ; A. Barroso.: Metodología para las mediciones de los caracteres cualitativos de la planta de tabaco. Cienc. Téc. Agric. Tabaco. 3(1): 21 - 61, 1980.
 - 25. Valladares, R.D.: Instructivo para el acopio y beneficio del tabaco negro tapado. 59 pp. La Habana. Ed AGRINFOR. 2003.