



EFECTO DE LA INOCULACIÓN MICORRÍZICA ARBUSCULAR EN LA REHABILITACIÓN DE UN PASTIZAL CULTIVADO DE GUINEA (*Megathyrsus maximus* cv. Likoni)

Effect of arbuscular mycorrhizal inoculation on the rehabilitation of guinea grassland (*Megathyrsus maximus* cv. Likoni)

Pedro R. Rosales Jenqui^{1✉}, Pedro J. González Cañizares¹,
Juan F. Ramírez Pedroso² y Joan Arzola Batista³

ABSTRACT. In order to evaluate the effect of arbuscular mycorrhizal inoculation on the rehabilitation of a guinea grassland (*Megathyrsus maximus* cv. Likoni), an experiment was carried out on Ferralitic Red Leachate soil. A completely randomized design was used with six treatments: control, mechanical rehabilitation with plow and harrow, alone and combined with the applications of 25 t ha⁻¹ of cattle manure and 100 kg ha⁻¹ of N; with the mycorrhizal inoculation of the *Glomus cubense* species plus the application of 50 and 70 % of the doses of cattle manure and N, respectively, and with mycorrhizal inoculation plus 100 % of the doses of both fertilizers. The dry mass yield, plant height and percentage of grass area, as well as variables related to mycorrhizal functioning (frequency and intensity of colonization and spore content in the rhizosphere) and the contents of Crude protein (PB), neutral detergent fiber (FND) and organic matter digestibility (BMD) were evaluated. Inoculation with *G. cubense* was successfully integrated into the rehabilitation work. The greatest benefits were obtained when combined with 50 and 70 % of the dose of cattle manure and nitrogen fertilizer that, in that order, produced the greatest benefits in the recovery of uninoculated pasture. The effect of *G. cubense* was maintained until at least 270 days after its application.

Key words: colonization, *Glomus*, crude protein, productivity, rhizosphere

RESUMEN. Con el objetivo de evaluar el efecto de la inoculación micorrízica arbuscular en la rehabilitación de un pastizal de guinea (*Megathyrsus maximus* cv. Likoni), se llevó a cabo un experimento sobre un suelo Ferralítico Rojo Lixiviado. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con seis tratamientos: control, la rehabilitación mecánica con arado y grada, sola y combinada con las aplicaciones de 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno y 100 kg ha⁻¹ de N; con la inoculación micorrízica de la especie *Glomus cubense* más la aplicación del 50 y el 70 % de las dosis de estiércol vacuno y N, respectivamente, y con la inoculación micorrízica más el 100 % de las dosis de ambos fertilizantes. Se evaluó el rendimiento de masa seca, altura de las plantas y el porcentaje de área cubierta por el pasto, así como las variables relacionadas con el funcionamiento micorrízico (frecuencia e intensidad de la colonización y contenido de esporas en la rizosfera) y los contenidos de proteína bruta (PB), fibra neutro detergente (FND) y digestibilidad de la materia orgánica (DMO). La inoculación con *G. cubense* se integró satisfactoriamente en las labores de rehabilitación. Los mayores beneficios se obtuvieron cuando se combinó con el 50 y el 70 % de la dosis del estiércol vacuno y fertilizante nitrogenado que, en ese orden, produjeron los mayores beneficios en la recuperación del pasto no inoculado. El efecto de *G. cubense* se mantuvo al menos hasta los 270 días después de su aplicación.

Palabras clave: colonización, *Glomus*, proteína bruta, rendimiento, rizosfera

INTRODUCCIÓN

La rehabilitación es una de las vías para devolver a los pastos degradados su capacidad productiva. Esta puede lograrse mediante labores mecánicas conjuntamente con la aplicación de fertilizantes minerales u orgánicos, cuyos efectos benéficos en la mejora de las condiciones del suelo,

¹Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, CP 32700

²Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes, Avenida Independencia, km 8 ½, Boyeros, La Habana, Cuba

³Empresa Pecuaria Genética Niña Bonita. Carretera 43 km 1½ Cangrejeras, Bauta, Artemisa, Cuba

✉ prafael@inca.edu.cu

así como en la nutrición del cultivo, promueven el crecimiento de las raíces y la capacidad de rebrote, contribuyen a incrementar la disponibilidad de biomasa y consecuentemente, a recuperar su capacidad productiva (1,2).

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) son componentes esenciales de la rizosfera de los pastizales, cuyas plantas permanecen asociadas mediante una red de hifas interconectadas que incrementan el volumen de suelo que exploran las raíces y facilitan la absorción de los nutrientes y el agua, entre otras funciones (3).

En este sentido, algunos autores plantean que la inoculación de cepas eficientes de HMA puede ser una opción de manejo deseable e incluso necesaria para mejorar la nutrición y la productividad de los pastos, en los casos en que los HMA residentes no sean lo suficientemente efectivos o no se encuentren en cantidades adecuadas para producir una respuesta agronómica importante en los cultivos (4,5).

A partir de las funciones de los HMA en los agroecosistemas de pastizales, el impacto negativo que los procesos de degradación pueden tener en las comunidades de estos microorganismos, y de las posibilidades de lograr su manejo efectivo mediante la inoculación de cepas eficientes, su inclusión en los programas de recuperación podría ser una opción económica y ecológicamente viable para mejorar la productividad de los pastos y a la vez, reducir los volúmenes de fertilizantes que se utilizan en esta labor (6).

Sobre la base de estas premisas se realizó este experimento con el objetivo de evaluar la contribución de la inoculación micorrízica arbuscular en la rehabilitación de un pastizal degradado de guinea (*Megathyrus maximus cv. Likoni*).

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en la microestación de Pastos y Forrajes de la Empresa Pecuaria Genética Niña Bonita, ubicada en el municipio Bauta, provincia Artemisa, sobre un suelo Ferralítico Rojo Lixiviado (7), cuyas principales características químicas se presentan en la Tabla I.

Tabla I. Características químicas de los suelos (profundidad: 0 - 20 cm)

pH	MO	P ₂ O ₅	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	CCB
H ₂ O	(%)	(mg 100 g ⁻¹)	(cmol _c kg ⁻¹)				
6,2	3,27	2,3	9,9	2,0	0,15	0,32	12,37

MO: materia orgánica, CCB: capacidad de intercambio de bases

El suelo poseía un pH ligeramente ácido, contenidos medios de materia orgánica y potasio intercambiable (K), contenidos muy bajos de calcio (Ca²⁺) y sodio (Na⁺) intercambiables, así como bajos contenidos de fósforo asimilable (P₂O₅) y magnesio intercambiable (Mg²⁺). La capacidad de intercambio de bases (CCB) también fue baja (8). Para los análisis del suelo se utilizaron los métodos establecidos en el laboratorio de suelos, abonos orgánicos y tejido vegetal del Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) (9).

Durante el período en que se condujo el experimento la temperatura media de la localidad fue 27,5 ° C y la precipitación total de 1160,7 mm, de la cual el 83,1 % se distribuyó entre mayo y octubre y el 16,9 %, entre noviembre y abril (10).

Este estudio se ejecutó desde junio de 2012 hasta febrero de 2013, en condiciones de secano, en un pastizal deteriorado con más de 20 años de explotación. Su composición botánica al iniciar el experimento fue de 40 % de guinea Likoni, 24 % de jiribilla (*Dichanthium caricosum*), 15 % de malva de cochino (*Sida rhombifolia* L.), 11 % de espartillo (*Sporobolus indicus*), 6 % de *Centrosema* sp. y 4 % de otras especies no identificadas.

En un diseño completamente aleatorizado con diez repeticiones, donde se tomaron seis cuartones de 1 ha cada uno y se incluyeron seis tratamientos, Tabla II.

Tabla II. Descripción de los tratamientos

No.	Descripción
1	Control
2	Rehabilitación mecánica
3	Rehabilitación mecánica + 25 t ha ⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha ⁻¹ año ⁻¹ de N
4	Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10 ⁵ esporas ha ⁻¹
5	Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10 ⁵ esporas ha ⁻¹ + 12,5 t ha ⁻¹ de estiércol vacuno + 70 kg ha ⁻¹ año de N
6	Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10 ⁵ esporas ha ⁻¹ + 25 t ha ⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha ⁻¹ año de N

Antes de aplicar los tratamientos, en cada cuartón se distribuyeron al azar 10 marcos de 1 m² cada uno, para evaluar la variabilidad del área experimental. En cada marco se determinó el rendimiento de masa seca (MS) del pasto y del número de macollas por m². El análisis de varianza indicó que no existieron diferencias significativas entre cuartones para ninguna de las variables evaluadas, lo que demostró la homogeneidad en los cuartones seleccionados (Tabla III).

Tabla III. Rendimiento del pasto y número de macollas m⁻² antes de aplicar los tratamientos

Tratamientos	MS (t ha ⁻¹)	No. macollas m ⁻²
1	1,76	3,4
2	1,82	3,2
3	1,77	3,5
4	1,81	3,3
5	1,78	3,1
6	1,80	3,0
ES	0,03	0,17

La rehabilitación mecánica se realizó mediante una labor de aradura a una profundidad de 20 cm, para lo cual se utilizó un arado ADI - 3 de tres discos, seguida del pase de una grada de 3500 kg (11). En los tratamientos con el 100 % de la fertilización orgánica y nitrogenada, se aplicó estiércol vacuno y urea, a razón de 25 t ha⁻¹ y 100 kg ha⁻¹ año de N, respectivamente. El N se distribuyó en dosis fraccionadas en un 50 %, al inicio del experimento (junio de 2012) y al final del período lluvioso (octubre de 2012). Las características químicas del estiércol se presentan en la Tabla IV.

El estiércol procedía de la propia vaquería donde se realizó el experimento y tenía tiempo de deposición en el estercolero de cuatro meses. Este, conjuntamente con la primera fracción de la dosis de N, se aplicó sobre la superficie del pasto después de la labor de aradura; mediante una esparcidora mecánica de materia orgánica y se incorporaron al suelo con el pase de grada. La segunda fracción de la dosis de N se aplicó también de forma manual y a voleo, después de un pastoreo.

Se evaluó el efecto de los tratamientos en las características químicas del suelo, a través del pH y los contenidos de materia orgánica (MO), fósforo asimilable y cationes intercambiables del suelo.

Para la aplicación del inoculante micorrízico se utilizó la cepa INCAM-4 de la especie *Glomus cubense* (12), seleccionada debido a su alto índice de eficiencia mostrada en ensayos anteriores realizados en condiciones similares a las que se condujo este experimento (5), con una concentración de 20 esporas g⁻¹ de sustrato. Este se aplicó a razón de 20 kg ha⁻¹. El inoculante se adicionó después de la labor de aradura, junto con el estiércol y el fertilizante nitrogenado, de modo que también quedó incorporado al suelo con la grada.

El rendimiento de masa seca se evaluó a los 70 y 270 días después de aplicados los tratamientos, coincidiendo con el período lluvioso y poco lluvioso, respectivamente, y previo a la entrada de los animales al pastoreo. En el área ocupada por cada tratamiento se distribuyeron al azar 10 marcos de 1 m² cada uno, los cuales constituyeron la unidad experimental y la MV fue cosechada. Se pesó la MV y se tomó una muestra de 200 g, la cual se llevó a una estufa de circulación de aire a 70 °C hasta alcanzar una masa constante, para determinar el porcentaje de masa seca (MS). El rendimiento de MS se calculó, a partir del rendimiento de masa verde (MV) y el porcentaje de MS (9). La altura de las plantas se midió en el momento de cada corte, para lo cual se tomaron 10 individuos dentro del área de cálculo de cada parcela. A las muestras secas en la estufa se le determinaron el contenido de proteína bruta (PB) = N x 6,25 (13), la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) (14), y el contenido de fibra neutra detergente (FND) (15).

Se determinó además la composición botánica al inicio del experimento y el porcentaje del área del pastizal cubierta por guinea a los 70 y 270 días después de aplicado los tratamientos (16).

Para la caracterización química del estiércol vacuno se tomaron cinco muestras aleatorias al momento de su aplicación al pasto, a las que se le determinó el pH, y los contenidos totales de MO, N, relación C:N, P, K, Ca y Mg (9).

En el corte, de cada parcela se tomaron cinco submuestras 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, las mismas fueron lavadas con abundante agua común, se colocaron en una estufa a 70 °C hasta alcanzar peso constante y posteriormente fueron teñidas (17). La lectura de las muestras se realizó en un estereoscopio (Carl Zeiss, Stemi 2000-C/50 x) y a continuación se estimaron los indicadores colonización micorrízica y densidad visual (18), las que se expresan como frecuencia e intensidad de la colonización respectivamente, así como el número de esporas en la rizosfera (19), con modificaciones (20).

Los datos se procesaron mediante el análisis de varianza, según el diseño experimental utilizado, y la dódima de Ducan (21), a p<0,05 o el intervalo de confianza a $\alpha = 0,05$ (22), para establecer las diferencias significativas entre las medias de los tratamientos. Se utilizó el programa estadístico SPSS 11.5 para Windows (23). Todas las variables cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, por lo que en todos los casos se analizaron los datos originales (24).

Tabla IV. Características químicas del estiércol vacuno (%MS)

MO	N	Relación C:N	P	K	Ca	Mg	Na	pH	Humedad (%)
78,3	2,25	20,1	0,86	1,83	4,72	0,54	0,12	7,1	59,6

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para una mayor comprensión del efecto de la inclusión de la cepa de HMA seleccionada en las labores de rehabilitación del pasto resulta conveniente evaluar, en primer término, las modificaciones que produjeron los tratamientos en las características químicas del suelo, por su posible influencia en el comportamiento del resto de los indicadores evaluados.

Como puede observarse en la Tabla V, el estiércol vacuno incrementó significativamente el pH, así como los contenidos de materia orgánica (MO), P_2O_5 asimilable, y Ca, Mg y K intercambiables, observándose los mayores efectos con la dosis más alta (25 t ha^{-1}). No obstante, con la aplicación de $12,5 \text{ t ha}^{-1}$, aunque no se observaron cambios en el pH ni en los contenidos de Ca y Mg intercambiables, se obtuvieron valores de MO, P_2O_5 asimilable y K intercambiable significativamente mayores que en los tratamientos donde no se aplicó el estiércol. El resto de los tratamientos no tuvo efectos en las características químicas del suelo.

El efecto del estiércol vacuno en las características químicas del suelo se correspondió con su aporte de MO y nutrientes. De acuerdo con su composición química, se puede inferir que este incorporó cantidades importantes de MO, P, Ca, Mg y K, que sin dudas contribuyeron a incrementar los contenidos de estos elementos en el suelo, sobre todo con la aplicación de la dosis más alta (Tabla IV). Varios autores coinciden al plantear que las buenas cualidades del estiércol vacuno como mejorador de las características químicas del suelo, radican fundamentalmente en que está constituido por sustancias orgánicas cuya rápida descomposición a través de los microorganismos, conjuntamente con su propio aporte de elementos minerales, pone a disposición de las plantas cantidades considerables de macro y micronutrientes, prácticamente desde el momento de su incorporación (25,26).

Tabla V. Efecto de la fertilización orgánica sobre las características químicas del suelo

Tratamientos	pH H ₂ O	MO (%)	P_2O_5 (mg 100g ⁻¹)	Ca	Mg (cmol _c kg ⁻¹)	K
1	6,4 b	3,25 c	2,1 c	9,3 b	2,0 b	0,32 c
2	6,3 b	3,19 c	2,2 c	9,1 b	1,9 b	0,33 c
3	6,9 a	3,82 a	3,4 a	10,5 a	2,9 a	0,55 a
4	6,3 b	3,21 c	2,0 c	9,4 b	2,1 b	0,35 c
5	6,7 ab	3,59 b	2,6 b	10,0 ab	2,5 ab	0,41 b
6	6,9 a	3,85 a	3,5 a	10,8 a	3,0 a	0,57 a
ES	0,1**	0,12**	0,2**	0,2**	0,1**	0,03**

Tratamientos: 1-Control, 2- Rehabilitación mecánica, 3- Rehabilitación mecánica + 25 t ha^{-1} de estiércol vacuno + 100 kg ha^{-1} año de N, 4- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4×10^5 esporas ha^{-1} , 5- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4×10^5 esporas ha^{-1} + $12,5 \text{ t ha}^{-1}$ de estiércol vacuno + 70 kg ha^{-1} año de N, 6- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4×10^5 esporas ha^{-1} + 25 t ha^{-1} de estiércol vacuno + 100 kg ha^{-1} año de N. **Medias con letras distintas en la misma columna difieren significativamente entre sí, según prueba de Duncan ($p < 0,05$). ES- error estándar

Tabla VI. Efecto de los tratamientos en los % de área cubierta, la altura de la planta y el rendimiento de la biomasa del pasto

Tratamientos	70 días			270 días		
	Área cubierta (%)	Altura (cm)	Rendimiento (t MS ha^{-1})	Área cubierta (%)	Altura (cm)	Rendimiento (t MS ha^{-1})
1	42,7 d	61,7 d	1,81 d	36,7 d	29,7 d	0,97 d
2	62,7 c	73,2 c	3,02 c	58,3 c	37,9 c	1,93 c
3	79,3 a	103,1 a	6,13 a	78,2 a	51,4 a	4,51 a
4	71,7 b	88,5 b	4,20 b	67,9 b	45,3 b	2,83 b
5	81,5 a	101,9 a	5,91 a	79,7 a	52,7 a	4,82 a
6	78,7 a	100,6 a	6,22 a	78,3 a	51,1 a	4,75 a
ES	1,57**	2,72**	0,38**	1,48**	1,58**	0,29**

Tratamientos: 1-Control, 2- Rehabilitación mecánica, 3- Rehabilitación mecánica + 25 t ha^{-1} de estiércol vacuno + 100 kg ha^{-1} año de N, 4- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4×10^5 esporas ha^{-1} , 5- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4×10^5 esporas ha^{-1} + $12,5 \text{ t ha}^{-1}$ de estiércol vacuno + 70 kg ha^{-1} año de N, 6- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4×10^5 esporas ha^{-1} + 25 t ha^{-1} de estiércol vacuno + 100 kg ha^{-1} año de N. **Medias con letras distintas en la misma columna difieren significativamente entre sí, según prueba de Duncan ($p < 0,05$). ES- error estándar

Estos autores también observaron que el uso de estiércol vacuno como fuente de abono orgánico para los pastos, incrementa los contenidos de materia orgánica, nitrógeno, fósforo y potasio asimilable; así como, los cationes intercambiables del suelo, al menos a los 90 días después de su aplicación (25,26).

En relación con el efecto de los tratamientos en la rehabilitación del pasto, se observó que las labores culturales favorecieron, tanto el porcentaje del área cubierta por la guinea como la altura de las plantas y el rendimiento de biomasa de la parte aérea (Tabla VI). El uso del arado y la grada solamente (tratamiento 2), incrementó significativamente estos tres indicadores en relación con el control que no fue rehabilitado (tratamiento 1), lo cual coincidió con el resultado de otros trabajos realizados al emplear ambas labores mecánicas para la rehabilitación de pastizales de guinea Likoni e indicó su contribución a la recuperación de pastizales degradados (27).

El efecto beneficioso del arado y la grada en la rehabilitación del pasto puede atribuirse a la mejora de las propiedades físicas del suelo, las cuales, debido al manejo inadecuado del pastoreo y a la no aplicación de labores culturales de mantenimiento durante todo su ciclo de vida, pudieron deteriorarse en el transcurso del tiempo, lo que condujo a la compactación por el pisoteo excesivo de los animales, y consecuentemente, la disminución del rendimiento y de la vida útil del pastizal (28).

No puede descartarse que la mejora del área cubierta por la guinea y el incremento del rendimiento del pasto haya sido también el resultado del efecto indirecto de las labores mecánicas sobre el aumento de la población de esta especie, ya que al removerse la capa superficial del suelo se crean las condiciones necesarias para la emergencia de las semillas de esta especie que con el tiempo se van incorporando al suelo con el propio pisoteo de los animales. También, las propias labores mecánicas pudieron haber contribuido a reducir la infestación de arvenses y de hecho, a aumentar la presencia de la guinea en el pastizal, tanto por la remoción física de las plantas invasoras como por la eliminación de sus propágulos o semillas (27).

Las labores de arado y grada contribuyen a seccionar las macollas de la guinea y esto hace que los puntos de crecimiento, tanto de las raíces como de los tallos se multipliquen, contribuyendo de manera significativa a la repoblación del pastizal con la especie mejorada (29,30). Esto es muy importante ya que después del pastoreo o del corte, al eliminarse gran parte de la biomasa aérea, el pasto debe emitir nuevas raíces en función de acceder a los nutrientes del suelo para recuperar nuevamente su biomasa aérea y con ella su actividad fotosintética. Entonces, cualquier labor como el arado y la grada que contribuya a aumentar los puntos de crecimiento del sistema radical pueden aumentar la superficie de contacto de las raíces con el suelo, favorecer la absorción de los

nutrientes, el agua y consecuentemente, estimular el crecimiento de la biomasa aérea (2).

Las labores mecánicas acompañadas de las aplicaciones de 25 t de estiércol ha⁻¹ y de 100 kg N ha⁻¹ incrementaron significativamente el porcentaje de guinea en la composición botánica del pastizal; así como, la altura de las plantas y el rendimiento de la biomasa en relación con las labores mecánicas solamente (tratamiento 3), lo que ratificó el efecto beneficioso del estiércol en las características del suelo, observado en la tabla anterior, y evidenció la necesidad de un suministro adecuado de nutrientes para la recuperación de los pastos degradados (26,31). O sea, la rehabilitación fue más efectiva cuando a los beneficios ya señalados de la remoción de la capa superficial del suelo mediante las labores mecánicas, se sumó el efecto de la adición de nutrientes, cuya influencia en el crecimiento de la guinea sin dudas contribuyó a su rápida recuperación.

El empleo del estiércol vacuno y de fertilizantes minerales solos o combinados, como parte de las labores culturales para la rehabilitación de pastizales ha sido estudiado por numerosos autores, y todos reconocen sus beneficios en la mejora del estado nutricional de las plantas y consecuentemente, en la mejora del porcentaje de área cubierta y de la productividad del pasto mejorado (32).

La inclusión del inoculante micorrízico formulado con una cepa eficiente de HMA en las labores para la rehabilitación del pasto, mejoró los indicadores evaluados (tratamiento 4), cuyos valores fueron significativamente mayores que los que se alcanzaron con las labores mecánicas solamente (tratamiento 2); sin embargo, los mayores efectos se obtuvieron cuando se combinó con la adición del 50 y el 70 % de las dosis de estiércol vacuno y fertilizante nitrogenado, respectivamente (tratamiento 5), los cuales no difirieron de los alcanzados con la aplicación del 100 % de ambos fertilizantes (tratamiento 3).

Con el inoculante micorrízico combinado con la adición del 100 % de las dosis de estiércol vacuno y el fertilizante nitrogenado (tratamiento 6), la altura del pasto mejorado; así como, su porcentaje de área cubierta dentro de la composición botánica del pastizal y su rendimiento de biomasa, tampoco difirieron de los que se obtuvieron con el tratamiento 3.

El efecto beneficioso de la inoculación micorrízica en el incremento de la altura de las plantas y en la mejora del porcentaje del área cubierta por el pasto mejorado; así como, en el aumento del rendimiento de la biomasa, a juzgar por los resultados del experimento anterior, pudo estar relacionado con la influencia de la cepa introducida en la mejora del estado nutricional de las plantas. La adición de cepas eficientes de HMA puede incrementar la efectividad de la absorción de los nutrientes del suelo y de los fertilizantes, y ello se traduce en un incremento de la producción de biomasa del pasto (26,33).

Tales beneficios también pudieran explicar el hecho de que con la inoculación micorrízica, conjuntamente con la adición de cantidades menores de fertilizantes minerales y orgánicos, se puedan obtener resultados similares a los alcanzados con la aplicación de dosis mayores de ambos abonos en ausencia de inoculación, lo cual concuerda con lo encontrado en otros estudios, al incluir la aplicación de inoculantes micorrízicos y fertilizantes minerales u orgánicos en las labores para el establecimiento y la rehabilitación de pastizales, respectivamente (34,35).

El efecto de las labores de rehabilitación en la altura de las plantas, el porcentaje del área cubierta por guinea y el rendimiento del pasto se observó tanto a los 70 como a los 270 días después de la aplicación de los tratamientos, y ello indicó no solo que los métodos culturales empleados para la recuperación del pastizal fueron efectivos en el tiempo, sino también que el manejo al que se sometió el pasto una vez recuperado (tiempos de reposo de 28 y 37 días en el período lluvioso y poco lluvioso, respectivamente, y carga global de 1,5 UGM ha⁻¹) fue adecuado para mantener su productividad, al menos durante el tiempo evaluado.

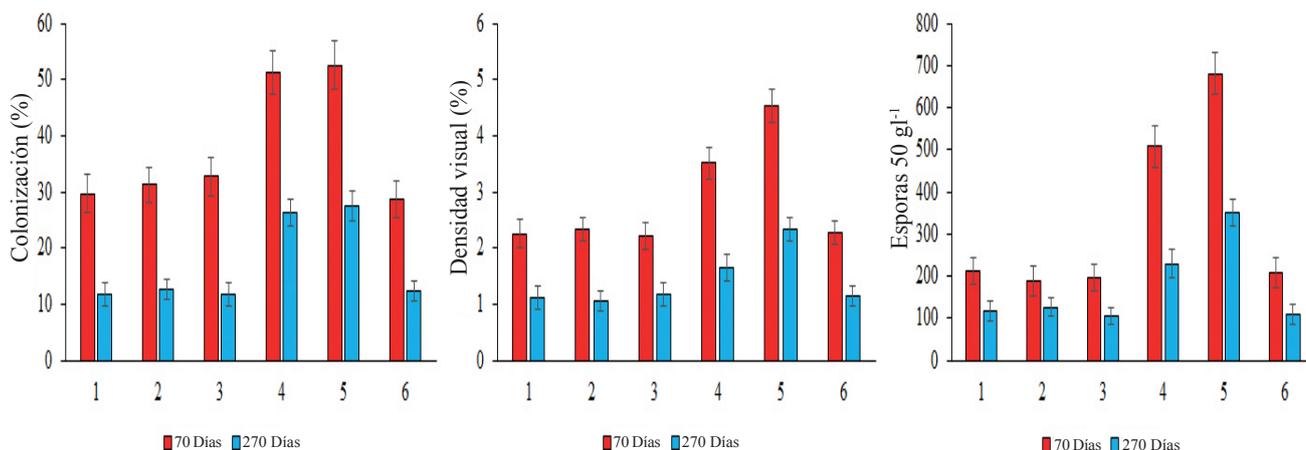
Los menores valores absolutos que alcanzaron la altura de las plantas, el porcentaje de la guinea dentro del pastizal y el rendimiento de la biomasa a los 270 días después de la rehabilitación, en relación con el primer muestreo (a los 70 días), pueden atribuirse a las diferentes condiciones meteorológicas que existieron en una y otra época, pues el primero se realizó en una y otra época, pues el primero se realizó en el período lluvioso y el segundo, en el poco lluvioso.

Se conoce que la producción de biomasa de la mayoría de las gramíneas forrajeras tropicales, entre las que se incluye la guinea, tiene un carácter estacional, ya que los mayores índices de crecimiento lo alcanzan durante la época donde concurren los mayores niveles de precipitaciones, temperaturas y luminosidad (35).

En relación con el comportamiento de las variables fúngicas (Figura 1), se observó que la aplicación del inoculante micorrízico incrementó los porcentajes de colonización, densidad visual y el número de esporas en la rizosfera con respecto a los tratamientos que no fueron inoculados; sin embargo, estas variables alcanzaron los mayores valores con la aplicación conjunta del inoculante micorrízico más 12,5 t ha⁻¹ de estiércol vacuno y 70 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N. Cuando se inoculó la cepa de HMA y se adicionó el 100 % de las dosis de ambos fertilizantes, tales indicadores disminuyeron hasta alcanzar valores similares a los observados en los tratamientos no inoculados, lo que evidenció el efecto depresivo de las dosis más altas de ambos abonos en las variables micorrízicas.

Los porcentajes de colonización, densidad visual y el No. de esporas fueron significativamente mayores a los 70 días después de aplicados los tratamientos que a los 270 días.

De acuerdo con el comportamiento de las variables fúngicas, la influencia de la inoculación micorrízica en la reducción de las dosis de fertilizantes necesarias para obtener los mayores efectos en la rehabilitación del pasto, confirma el efecto de la cepa de HMA introducida en la mejora del aprovechamiento de los nutrientes, en virtud del mayor volumen de suelo que pudieron explorar las raíces. Esto se infiere a partir de la influencia del inoculante micorrízico en el incremento de tales variables, sobre todo en el tratamiento donde se aplicó el 50 y el 70 % de la fertilización orgánica y nitrogenada, respectivamente, y con el cual la guinea alcanzó la mayor altura y presencia entre las especies vegetales que poblaron el pastizal; así como, el mayor rendimiento de la biomasa aérea.



Tratamientos: 1-Control, 2- Rehabilitación mecánica, 3- Rehabilitación mecánica + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año de N, 4- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹, 5- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 12,5 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 70 kg ha⁻¹ año de N, 6- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año de N. Las barras verticales muestran el intervalo de confianza de la media. Intervalos de confianza que se solapan entre sí no difieren significativamente ($\alpha = 0,05$)

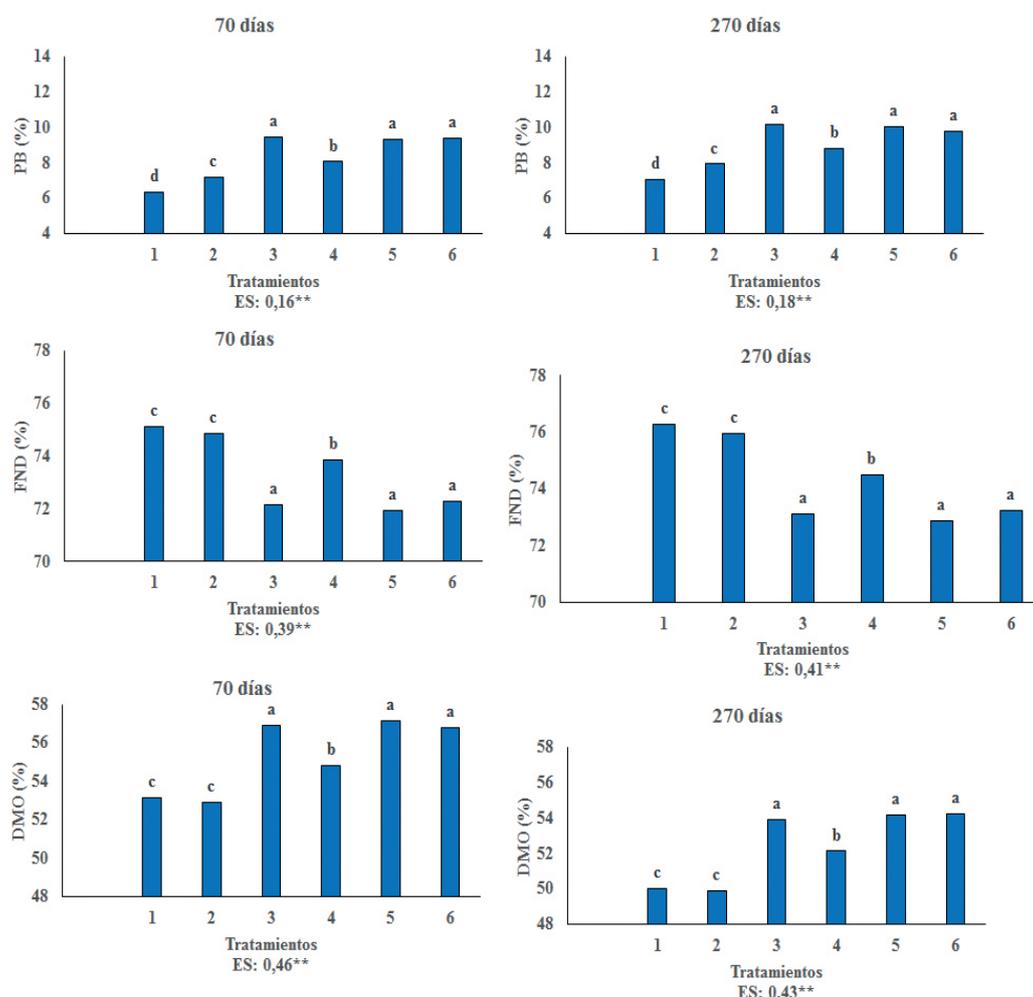
Figura 1. Efecto de la inoculación de la cepa *Glomus cubense* en las variables fúngicas del pasto

Además del efecto físico de los HMA en la extensión del sistema de absorción de las plantas, otros mecanismos relacionados con su capacidad para acceder, como en el caso del P, a formas menos disponibles de los nutrientes del suelo (36–38), también pudieran explicar la influencia de la cepa introducida en la reducción de las dosis de fertilizantes a aplicar a los pastos.

De igual modo, los porcentajes más bajos de colonización y densidad visual, y el menor número de esporas que se observaron en el tratamiento donde se aplicó el inoculante, conjuntamente con las mayores dosis de ambos fertilizantes, puede ser consecuencia de la disminución del papel de las micorrizas en la absorción de nutrientes ante una cantidad elevada de fertilizantes (39,40).

Las variables micorrízicas presentaron variaciones estacionales al igual que el rendimiento del pasto, (41) y puede explicarse por el hecho que durante la época de lluvias ocurre un rápido crecimiento del pasto, por las razones ya expuestas, lo que implica la absorción de una mayor cantidad de nutrientes para la formación de biomasa y consecuentemente, la formación de mayores cantidades de estructuras micorrízicas para garantizar el acceso de las plantas a tales recursos.

En cuanto al valor nutritivo del pasto (Figura 2), aunque no existieron diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento donde se aplicaron las labores mecánicas para los indicadores fibra neutro detergente (FND) y digestibilidad de la materia orgánica (DMO), se constató un efecto beneficioso de estas labores en el contenido de proteína bruta (PB), en correspondencia con el aumento de las concentraciones de N en la biomasa de la parte aérea que se observó en este tratamiento.



Tratamientos: 1-Control, 2- Rehabilitación mecánica, 3- Rehabilitación mecánica + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año de N, 4- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹, 5- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 12.5 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 70 kg ha⁻¹ año de N, 6- Rehabilitación mecánica + aplicación de inoculante micorrízico a razón de 4 x 10⁵ esporas ha⁻¹ + 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno + 100 kg ha⁻¹ año de N.

**Medias con letras distintas en la misma columna difieren significativamente entre sí, según prueba de Duncan (p<0.05). ES- error estándar

Figura 2. Efecto de los tratamientos en el valor nutritivo del pasto, PB (proteína bruta), FND (fibra neutro detergente), DMO (digestibilidad de la materia orgánica)

No obstante, los mejores resultados se obtuvieron cuando las labores mecánicas se combinaron con la aplicación de las mayores dosis de estiércol y fertilizante nitrogenado, con la adición del inoculante micorrízico más la aplicación del 50 y el 70 % de la dosis de estiércol vacuno y fertilizante nitrogenado, respectivamente, o con la adición del 100 % de ambos fertilizantes, ya que con estos tratamientos el pasto alcanzó los mayores tenores de PB y de DMO; así como los menores contenidos de FND. El efecto de los tratamientos en el valor nutritivo del pasto se observó en los dos momentos de muestreo.

La mejora del valor nutritivo del pasto, también estuvo en correspondencia con la mejora que en su estado nutricional provocaron las adiciones de las dosis más altas de estiércol y fertilizante nitrogenado, o del inoculante micorrízico con dosis menores de ambos abonos. La fertilización, fundamentalmente la nitrogenada, ya sea procedente de fuentes minerales u orgánicas, incrementa las concentraciones de N en la parte aérea y de hecho, sus contenidos de proteína bruta (42).

El N, al estimular el crecimiento, aumenta la utilización de los carbohidratos disponibles para la formación de células y de protoplasma, en vez de incrementar el grosor de la pared celular. De este modo, se reducen los tenores de fibra y lignina, aumentando la digestibilidad y el valor nutritivo del pasto (32).

Sin embargo, lo más interesante fue que con la adición del inoculante micorrízico más la adición de dosis más bajas del fertilizante mineral y abono orgánicos, los indicadores evaluados alcanzaron valores similares a los que se obtuvieron con las adiciones de dosis más altas de ambos abonos en ausencia de inoculación, de modo que la disminución de la fertilización que se obtuvo con el empleo del inoculante no implicó una reducción del valor nutritivo de la biomasa del pasto.

CONCLUSIONES

- ♦ La inoculación de *G. cubense* se integró satisfactoriamente en las labores para la rehabilitación del pastizal. El pasto mejoró el porcentaje de área cubierta cuando se combinó la cepa de HMA con el 50 y el 70 % de la dosis del abono orgánico y el fertilizante nitrogenado, alcanzando rendimientos de biomasa con un valor nutritivo similares a los que se obtienen con la aplicación del 100 % de las dosis de ambos fertilizantes en ausencia de inoculación micorrízica.
- ♦ El efecto de *G. cubense* se mantuvo al menos hasta los 270 días después de su aplicación.

RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar el efecto de la inclusión de la inoculación de HMA en las labores para la rehabilitación de pastizales cultivados en otros tipos de suelos, seleccionando previamente las cepas más eficientes para cada condición edáfica y especie de pasto.

BIBLIOGRAFÍAS

1. Padilla C, Sardiñas Y, Febles G, Curbelo F. Comportamiento del área forrajera de guinea (*Panicum maximum* Jacq vc. Likoni) según la población de espartillo (*Sporobolus indicus* L.). Cuban Journal of Agricultural Science. 2012;46(1):91–5.
2. Padilla C, Sardiñas Y, Febles G, Fraga N. Estrategias para el control de la degradación en pastizales invadidos por *Sporobolus indicus* (L) R. Br. Cuban Journal of Agricultural Science. 2013;47(2):113–7.
3. Yang C, Ellouze W, Navarro-Borrell A, Taheri AE, Klabi R, Dai M, et al. Management of the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis in Sustainable Crop Production. In: Mycorrhizal Fungi: Use in Sustainable Agriculture and Land Restoration [Internet]. Berlin - Heidelberg: Springer; 2014 [cited 2017 Sep 17]. p. 89–118. (Soil Biology). doi:10.1007/978-3-662-45370-4_7
4. Carneiro RFV, Martins MA, Araújo ASF, Nunes LAPL. Inoculação micorrízica arbuscular e adubação fosfatada no cultivo de forrageiras consorciadas. Archivos de Zootecnia. 2011;60(232):1191–202. doi:10.4321/S0004-05922011000400034
5. González PJ, Ramírez JF, Morgan O, Rivera R, Plana R. Contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la reducción de la fertilización fosfórica en *Brachiaria decumbens*. Cultivos Tropicales. 2015;36(1):135–42.
6. Verbruggen E, van der Heijden MGA, Rillig MC, Kiers ET. Mycorrhizal fungal establishment in agricultural soils: factors determining inoculation success. New Phytologist. 2013;197(4):1104–9. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04348.x
7. Hernández JA, Pérez JJM, Bosch ID, Castro SN. Clasificación de los suelos de Cuba 2015. Mayabeque, Cuba: Ediciones INCA; 2015. 93 p.
8. Paneque VM, Calaña JM. La fertilización de los cultivos. Aspectos teórico-prácticos para su recomendación. San José de las Lajas, La Habana, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas; 2001. 29 p.
9. Paneque PVM, Calaña NJM, Calderón VM, Borges BY, Hernández GTC, Caruncho CM. Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos [Internet]. 1st ed. La Habana, Cuba: Ediciones INCA; 2010 [cited 2016 Jan 27]. 157 p. Available from: <http://mst.ama.cu/578/>
10. Pérez VE, Planas LAH. Boletín Agrometeorológico Nacional [Internet]. La Habana, Cuba: Instituto de Meteorología (INSMET); 2012 [cited 2017 Sep 17]. Available from: <http://www.met.inf.cu/AgroBoletin/agro.htm>
11. Sardiñas Y. Recuperación de pastizales de *Panicum maximum* Jacq vc. Likoni, invadidos de *Sporobolus indicus* (L.) R. Br. (espartillo) [Tesis de Doctorado]. [La Habana, Cuba]: Instituto de Ciencia Animal; 2010. 100 p.
12. Rodríguez Y, Dalpé Y, Séguin S, Fernández K, Fernández F, Rivera RA. *Glomus cubense* sp. nov., an arbuscular mycorrhizal fungus from Cuba. Mycotaxon. 2011;118(1):337–47. doi:10.5248/118.337
13. Latimer GW. Official methods of analysis of AOAC International [Internet]. 20th ed. Rockville, MD: AOAC International; 2016 [cited 2016 Sep 22]. Available from: <http://www.directtextbook.com/isbn/9780935584875>
14. Kesting J. Uber nevaru engobnisson sur verdesseerung der *in vitro* methoden zurshiihungerder varelanrickeet vort ragstegen dar gasells chofft fur krnahrungder. Vol. 1. Leipzig: DDR Sektion Tratenharung; 1977. 306 p.

15. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*. 1991;74(10):3583–97. doi:10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2
16. Mannelje L, Haydock† KP. The Dry-Weight-Rank Method for the Botanical Analysis of Pasture. *Grass and Forage Science*. 1963;18(4):268–75. doi:10.1111/j.1365-2494.1963.tb00362.x
17. Rodríguez YY, Arias PL, Medina CA, Mujica PY, Medina GLR, Fernández SK, et al. Alternativa de la técnica de tinción para determinar la colonización micorrízica. *Cultivos Tropicales*. 2015;36(2):18–21.
18. Trouvelot A, Kough J, Gianinazzi-Pearson V. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: I European Symposium on Mycorrhizae: Physiological and genetical aspects of mycorrhizae [Internet]. Paris, France: Institut National de la Recherche Agronomique (INRA); 1986 [cited 2017 Jun 17]. p. 217–22. Available from: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301430989>
19. Gerdemann JW, Nicolson TH. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*. 1963;46(2):235–44. doi:10.1016/S0007-1536(63)80079-0
20. Herrera RA, Ferrer RL, Furrázola E, Orozco MO. Estrategia de funcionamiento de las micorrizas VA en un bosque tropical. Biodiversidad en Iberoamérica. Ecosistemas, Evolución y Procesos Sociales. Monasterio M, editor. Mérida, México: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Subprograma XII; 1995.
21. Duncan DB. Multiple Range and Multiple F Tests. *Biometrics*. 1955;11(1):1–42. doi:10.2307/3001478
22. Payton ME, Miller AE, Raun WR. Testing statistical hypotheses using standard error bars and confidence intervals. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 2000;31(5–6):547–51. doi:10.1080/00103620009370458
23. IBM Corporation. IBM SPSS Statistics [Internet]. Version 11.5. U.S: IBM Corporation; 2003. Available from: <http://www.ibm.com>
24. Vázquez ER. Contribución al tratamiento estadístico de datos con distribución binomial en el modelo de análisis de varianza [Tesis de Doctorado]. [Mayabeque, Cuba]: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA); 2011. 97 p.
25. González PJ, Rivera R, Arzola J, Morgan O, Ramirez JF. Efecto de la inoculación de la cepa de hongo micorrízico arbuscular *Glomus hoi*-like en la respuesta de *Brachiaria* híbrido cv. Mulato II (CIAT 36087) a la fertilización orgánica y nitrogenada. *Cultivos Tropicales*. 2011;32(4):05–12.
26. Trejo-Escareño HI, Salazar-Sosa E, López-Martínez JD, Vázquez-Vázquez C. Impacto del estiércol bovino en el suelo y producción de forraje de maíz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 2013;4(5):727–38.
27. de Souza RF, Faquin V, Sobrinho RRL, de Oliveira EAB. Influência de esterco bovino e calcário sobre o efeito residual da adubação fosfatada para a *Brachiaria brizantha* cultivada após o feijoeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2010;34(1):143–150.
28. Sardiñas Y, Varela M, Padilla C, Torres V, Noda A, Fraga N. Control del espartillo (*Sporobolus indicus*) mediante la renovación con siembra de variedades de *Panicum maximum*. *Cuban Journal of Agricultural Science*. 2011;45(1):83–8.
29. Giacomini AA, Mattos WT de, Mattos HB de, Werner JC, Cunha EA da, Carvalho DD de. Root mass and growth from aruanagrass and tanzaniagrass under nitrogen rates. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2005;34(4):1109–20. doi:10.1590/S1516-35982005000400004
30. Dias-Filho MB. Degradación de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação. 4th ed. SP, Brasil: do Autor; 2011. 215 p.
31. Costa KA de P, Faquin V, Oliveira IP de, Severiano E da C, Simon GA, Carrijo MS. Extração de nutrientes pela fitomassa do capim-marandu sob doses e fontes de nitrogênio. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. 2009;10(4):801–12.
32. Borges JA, Barrios M, Escalona O. Efecto de la fertilización orgánica e inorgánica sobre variables agroproductivas y composición química del pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*). *Zootecnia Tropical*. 2012;30(1):017–26.
33. González PJ. Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular vía inoculación y la fertilización mineral en pastos del género *Brachiaria* [Tesis de Doctorado]. [Mayabeque, Cuba]: Universidad Agraria de La Habana “Fructuoso Rodríguez Pérez”; 2014. 98 p.
34. Herrera-Peraza RA, Hamel C, Fernández F, Ferrer RL, Furrázola E. Soil–strain compatibility: the key to effective use of arbuscular mycorrhizal inoculants? *Mycorrhiza*. 2011;21(3):183–93. doi:10.1007/s00572-010-0322-6
35. Ramírez JF, Salazar X, González PJ, Rivera R. Validación del uso de hongos micorrízicos arbusculares en la rehabilitación de pastizales. In: Congreso Científico de INCA. Mayabeque, Cuba: Ediciones INCA; 2012.
36. Osorio NW. Uso de hongos formadores de micorriza como alternativa biotecnológica para promover la nutrición y el crecimiento de plántulas. *Manejo Integral del Suelo y Nutrición Vegetal*. 2012;1(2):1–4.
37. Smith SE, Smith FA. Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Nutrition and Growth: New Paradigms from Cellular to Ecosystem Scales. *Annual Review of Plant Biology*. 2011;62(1):227–50. doi:10.1146/annurev-arplant-042110-103846
38. Almagrabi OA, Abdelmoneim TS. Using of arbuscular mycorrhizal fungi to reduce the deficiency effect of phosphorous fertilization on maize plants (*Zea mays* L.). *Life Science Journal*. 2012;9(4):1648–1654.
39. Rai A, Rai S, Rakshit A. Mycorrhiza-mediated phosphorus use efficiency in plants. *Environmental and Experimental Biology*. 2013;11:107–117.
40. Neetu N, Aggarwal A, Tanwar A, Alpa A. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and *Pseudomonas fluorescens* at different superphosphate levels on linseed (*Linum usitatissimum* L.) Growth response. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 2012;72(2):237–43.
41. Parodi G, Pezzani F. Micorrizas arbusculares en dos gramíneas nativas de Uruguay en áreas con y sin pastoreo. *Agrociencia Uruguay*. 2011;15(2):1–10.
42. Moreira L de M, Martuscello JA, da Fonseca DM, Mistura C, de Moraes RV, Júnior JIR. Perfilhamento, acúmulo de forragem e composição bromatológica do capim-braquiará adubado com nitrogênio. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2009;38(9):1675–84.

Recebido: 25 de octubre de 2016

Acceptedo: 19 mayo de 2017