

INFLUENCIA DE LAS MICORRIZAS SOBRE LAS POBLACIONES BACTERIANAS Y SU EFECTO SOBRE LOS RENDIMIENTOS EN SECUENCIAS DE CULTIVOS

M. Riera[✉] y N. Medina

ABSTRACT. A group of studies was carried out on a compacted Red Ferralitic soil, with the aim of evaluating the influence of inoculation frequency with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on rizobacteria population and its effect on yield of diverse crop sequences. Therefore, four field experiments were developed in a randomized block design repeated during two years; three different crops were alternated, taking into account root system characteristics, crop extractions and soil dry matter as well as nutrient aportation. Results showed that rhizobacteria populations increased with a more frequent mycorrhizal application and decreased when different crops declined in sequences. The greatest efficient combinations of inoculated microorganisms was achieved when inoculating at least the two first crops within sequences, also increasing yield.

Key words: arbuscular mycorrhizae, colonizing ability, rhizobacteria, inoculation, crops, yield

RESUMEN. Se desarrolló un grupo de estudios sobre un suelo Ferralítico Rojo compactado, con el objetivo de evaluar la influencia de la frecuencia de inoculación con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) sobre las poblaciones de rizobacterias y el efecto de estas combinaciones sobre los rendimientos en diferentes secuencias de cultivos. Para ello, se llevaron a cabo cuatro experimentos de campo, en un diseño de bloques al azar, repetidos durante dos años, donde se alternaron tres cultivos diferentes, teniendo en cuenta las características del sistema radical, extracciones de cultivos y el aporte al suelo de masa seca y nutrientes, para establecer el orden dentro de cada secuencia. Los resultados mostraron que las poblaciones de rizobacterias aumentaron con el incremento de la frecuencia de aplicación de micorrizas y disminuyeron con el declive de los diferentes cultivos incluidos en las secuencias. La mayor eficiencia en las combinaciones de los microorganismos inoculados se logró cuando se inoculan, al menos, los dos primeros cultivos dentro de las secuencias, incrementando su rendimiento.

Palabras clave: micorrizas arbusculares, aptitud colonizadora, rizobacterias, inoculación, cultivos, rendimiento

INTRODUCCIÓN

Diversos ecólogos y agrónomos aseguran que las prácticas agrícolas, que toman ventaja de la actividad microbiana del suelo, son más eficientes que las prácticas convencionales, desde el punto de vista de la utilización de la energía y los nutrientes. En la rizosfera, los diferentes grupos de organismos del suelo no viven independientemente unos de otros, sino que forman un sistema interconectado, más o menos en equilibrio, según las condiciones del suelo. Muchas interacciones tienen lugar entre los hongos micorrízicos y los demás microorganismos en la rizosfera, y las respuestas de las plantas a las micorrización involucran no solamente al hongo, sino a todos los micro y macroorganismos presentes (1).

En Cuba, se han realizado diferentes estudios que han demostrado la posibilidad del uso de diferentes microorganismos, como alternativa biológica para la nutrición de las plantas, destacándose entre ellos las bacterias nitrificadoras, y otras bacterias promotoras del crecimiento vegetal así como los hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Estos microorganismos son considerados como insumos biológicos de enorme potencial en la agricultura, gracias a sus efectos positivos sobre la adaptación y el crecimiento de una gran variedad de cultivos. Además, los hongos micorrízicos son componentes clave para el desarrollo de la biota del suelo, por su gran capacidad de interacción con diferentes especies microbianas, a la vez que pueden modificar muchos aspectos de las propiedades físicas en la zona rizosférica.

Todos esos efectos modifican los patrones de colonización de la raíz micorrizada, donde se desarrollan procesos biológicos que mejoran las condiciones de los suelos para el desarrollo de las plantas, aspectos muy importantes para el establecimiento de una agricultura sostenible y el funcionamiento del ecosistema (2). Por lo tanto, la aplicación eficiente de hongos MA y rizobacterias

Dr.C. M. Riera, Profesor Auxiliar de la Facultad Agroforestal, Centro Universitario de Guantánamo (CUG), carretera Guantánamo-Santiago km 1½, Guantánamo; Dr.C. N. Medina, Investigador Titular del Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba, CP 32 700.

✉ mriera@fam.cug.co.cu, tuliove@yahoo.es

en el manejo futuro de la agricultura dependerá, en gran medida, de nuestra habilidad para identificar las funciones específicas que realizan esos microorganismos dentro de cada agroecosistema particular e integrar esos descubrimientos dentro de la estrategia de manejo, donde la inclusión de las respuestas del suelo a la evaluación de la eficiencia de los microorganismos es una necesidad.

La elucidación de las estructuras jerárquicas de preferencia mutuas que se establecen entre las raíces, los hongos micorrízicos y las rizobacterias puede facilitar el manejo de la biota edáfica y aumentar la estabilidad del sistema suelo-planta (3). La pérdida de la capacidad de colonización micorrízica por las plantas también puede resultar una pérdida de los importantes beneficios que proporcionan estos hongos y reduce la capacidad de las poblaciones para colonizar otros cultivos en las secuencias (4). Los trabajos desarrollados han demostrado la especificidad suelo-HMA (5), donde el tipo de suelo es el factor fundamental para definir la especie y/o cepa más eficiente para una determinada condición edafoclimática.

A partir de las consideraciones anteriores, resulta de gran interés dar un tratamiento holístico al estudio de los diferentes fenómenos relacionados con la aplicación de alternativas nutricionales biológicas en la agricultura, sobre todo cuando se inoculan hongos micorrízicos arbusculares que, por su papel destacado dentro de la interacción "suelo-planta-microorganismos", determina la necesidad de incluir la micorrización al proyectar el manejo sostenible de los agroecosistemas (6).

De tal forma, el trabajo estuvo dirigido a determinar los efectos de la frecuencia de aplicación de hongos micorrízicos sobre las poblaciones de bacterias inoculadas y la influencia de sus combinaciones sobre el rendimiento en secuencias de cultivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se desarrollaron en el período comprendido entre 1998 y 2001, sobre un suelo Ferralítico Rojo de fertilidad media en San José de las Lajas, La Habana.

Los tratamientos en cada experimento se conformaron a partir del uso de cuatro frecuencias de aplicación de *Glomus clarum*, que fue la especie de HMA predominante en esas condiciones y con mejor eficiencia en suelos de fertilidad media, coinoculando cada cultivo, además, con una rizobacteria promotora del crecimiento vegetal, según se muestra en la Tabla I. Los datos relacionados con los cultivos, las variedades, fecha de siembra, cepas de HMA, rizobacterias y distancias de siembra que se emplearon en los experimentos se muestran en la Tabla II.

Inoculación de los microorganismos. La cepa de HMA utilizada (*Glomus clarum*) se obtuvo a partir de inóculo micorrízico certificado (7), producido en el Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas del INCA, que contenía 250 esporas. g⁻¹. Las poblaciones por gramo de soporte sólido en los inóculos de rizobacterias, también provenientes del cepario del INCA, fueron: *Rhizobium* 1 x 10⁹ ufc, *Azospirillum brasilense* Sp 7: 3,55 x 10⁹ ufc y *Burkholderia cepacia* 0057: 3.24 x 10⁹ ufc, utilizando como soporte sólido la turba molida, tamizada y estéril.

Para los cultivos propagados por semilla, la inoculación se realizó por el método de recubrimiento de estas (8), inoculando en primer lugar las bacterias e inmediatamente después el hongo. Para las primeras se empleó una cantidad correspondiente al 2 % de la masa total de las semillas, mientras para la inoculación del hongo se tomó el 10 % de esa masa. En la inoculación del boniato se realizó mediante la mezcla de los biofertilizantes fúngico y bacteriano, en una relación 5:1, y se adicionó agua y sacarosa hasta conseguir una pasta con la densidad su-

Tabla I. Esquema de los tratamientos utilizados en los diferentes experimentos

Frecuencia de HMA	Cultivo 1	Cultivo 2	Cultivo 3
F0	No inoculado	No inoculado	No inoculado
F1	Inoculado con HMA y rizobacterias	Inoculado con rizobacterias	Inoculado con rizobacterias
F2	Inoculado con HMA y rizobacterias	Inoculado con HMA y rizobacterias	Inoculado con rizobacterias
F3	Inoculado con HMA y rizobacterias	Inoculado con HMA y rizobacterias	Inoculado con HMA y rizobacterias

Tabla 2. Descripción de los experimentos

Experimentos, cultivo (variedad)	Cepa de HMA	Cepa de rizobacteria	Fecha de siembra y marco de plantación
Soya (Incasoy 27)	<i>Glomus clarum</i>	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (ICA 8001)	Mayo 0.70 x 0.05 m
E 1 Maíz (VST 6)	<i>Glomus clarum</i>	<i>Burkholderia cepacia</i> (057)	Septiembre 0.90x 0.20 m
Boniato (C-78-354)	<i>Glomus clarum</i>	<i>Burkholderia cepacia</i> (057)	Enero 0.90 x 0.30 m
Soya (Incasoy 27)	<i>Glomus clarum</i>	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (ICA 8001)	Mayo 0.70 x 0.05 m
E2 Girasol Caburet-15)	<i>Glomus clarum</i>	<i>Burkholderia cepacia</i> (057)	Septiembre 0.70 x 0.25 m
Sorgo (ICIAP-D.)	<i>Glomus clarum</i>	<i>Burkholderia cepacia</i> (057)	Enero 0.70 x 0.05 m
Maíz (Francisco M.)	<i>Glomus clarum</i>	<i>Azospirillum brasilense</i> (Sp7)	Julio 0.90 x 0.20 m
E3 Tomate (Amalia)	<i>Glomus clarum</i>	<i>Azospirillum brasilense</i> (Sp7)	Diciembre 1.40 x 0.30 m
Sesbania	<i>Glomus clarum</i>	<i>Rhizobium meliloti</i>	Abril 0.45 x 0.05 m
Arroz (LP-7)	<i>Glomus clarum</i>	<i>Azospirillum brasilense</i> (Sp7)	Julio 0.45 x 0.05 m
E4 Frijol (Bolita 42)	<i>Glomus clarum</i>	<i>Rhizobium phaseolus</i>	Diciembre 0.70 x 0.05 m
Boniato (C-78 354)	<i>Glomus clarum</i>	<i>Azospirillum brasilense</i> (Sp7)	Abril 0.90 x 0.30m

ficiente para adherirse a los propágulos por el extremo inferior, hasta una longitud de 10 cm.

Para la colonización fúngica se tomaron muestras compuestas de raicillas de 15 plantas de cada parcela a los 60 días después de la germinación. Para las determinaciones se tomaron aproximadamente 200 mg de raicillas por tratamiento que fueron secadas a 70°C, para ser teñidas (9). La evaluación se realizó por el método de los interceptos, mediante el cual se determinó el porcentaje de colonización micorrizica.

Conteo de las poblaciones de rizobacterias. El conteo de rizobacterias (ufc.g⁻¹ suelo rizosférico) se realizó a los 60 días después de la germinación, tomando 100 gramos de suelo rizosférico. Se utilizaron para el conteo de *Azospirillum brasilense* los medios de cultivos NFB Rojo congo, con incubación a las 72 y 96 horas respectivamente a 37°C (10). Para la bacteria *Burkholderia cepacia* se empleó el medio de cultivo "King B" incubado 24 horas a 40°C. La fertilización nitrogenada a los cultivos se realizó según la Tabla III.

Para la evaluación del rendimiento, la producción agrícola de cada cultivo en cosecha se midió por pesada directa en el área de cálculo de cada parcela expresado en t.ha⁻¹. En sesbania, se tomó como rendimiento la producción de masa fresca.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Poblaciones de las rizobacterias coinoculadas

Burkholderia cepacia. En la Tabla IV se observa que, en el experimento 1, las poblaciones de *Burkholderia cepacia*

en el maíz alcanzaron valores del orden de 10⁶ ufc.g⁻¹ de suelo rizosférico, pero estas fueron superiores en los tratamientos donde la rizobacteria se inoculó conjuntamente con el hongo MA, con diferencias significativas en relación con los tratamientos donde solo se aplican dichos hongos al primer cultivo (F1) y al no inoculado (F0), el que solo alcanzó una población del orden de 10⁴ ufc.g⁻¹ de suelo rizosférico. En el boniato, que se plantó como cultivo sucesor, las poblaciones de *B. cepacia* en los tratamientos inoculados alcanzaron el orden de 10⁵ ufc.g⁻¹ de suelo rizosférico, mientras que donde solo hubo la colonización micorrizica nativa (F0), apenas alcanzaron 10³ ufc.g⁻¹ de suelo rizosférico, lo que indica, por un lado, la posible pérdida de las capacidades infectivas de sus células y, por otro, la existencia de una especificidad microorganismo-especies de planta.

La especie *B. cepacia* se encuentra muy fuertemente atraída por los exudados radicales del maíz; no obstante, en el boniato, los tratamientos con mayor nivel de colonización micorrizica también alcanzaron las mayores poblaciones de esta rizobacteria. Esta colonización provoca una positiva respuesta del crecimiento de las plantas e influye positivamente en la calidad y cantidad de exudados radicales que estimulan el incremento de la biota bacteriana del suelo. Aunque *B. cepacia* es una bacteria que coloniza diferentes cultivos, su acción puede estar influida por diferentes factores, tales como la especie de planta, la zona radical y el contacto de la célula con la superficie de la raíz. Por otra parte, en otro estudio (11) se encontró mayor efecto sobre la comunidad bacteriana, en general, debido a la especie de planta que el provocado por los hongos MA.

Tabla III. Dosis de N (kg.ha⁻¹) aplicadas a los cultivos en los diferentes experimentos

Tratamiento	Soya	Maíz	Boniato	Girasol	Sorgo	Tomate	Arroz	Sesbania	Frijol
Testigo	200	120	90	110	100	150	120	30	120
Inoculados	30	72	54	66	60	90	54	30	50

Tabla IV. Poblaciones rizosféricas de *B. cepacia* en los experimentos 1 y 2

Frecuencia	Año I		Año II		Año I		Año II		
	ufc	log x							
Experimento 1									
	Maíz				Boniato				
F0	1.1x10 ⁴	4.05 c	1.3x10 ⁴	4.05 d	9.3x10 ³	3.90 c	8.7x10 ³	3.90 c	
F1	3.6x10 ⁶	6.55 b	2.1x10 ⁶	5.50 c	3.6x10 ⁵	5.49 b	4.1x10 ⁵	5.48b	
F2	7.6x10 ⁶	6.88 a	2.0x10 ⁶	6.29 b	4.1x10 ⁵	5.62 a	4.7x10 ⁵	5.52a	
F3	7.5x10 ⁶	6.88 a	2.1x10 ⁶	6.86 a	4.3x10 ⁵	5.65 a	4.4x10 ⁵	5.68 a	
ES _x		0.01**		0.02**		0.03**		0.03**	
Experimento 2									
	Girasol				Sorgo				
F0	1.0x10 ⁴	3.99 c	1.2x10 ⁴	4.02 c	7.0x10 ⁴	4.84 c	6.7x10 ⁴	4.80 c	
F1	3.7x10 ⁵	5.56 b	1.8x10 ⁵	5.51 b	8.3x10 ⁵	5.81 b	1.5x10 ⁶	6.18 b	
F2	2.3x10 ⁶	6.36 a	2.1x10 ⁶	6.31 a	3.7x10 ⁶	6.54 a	2.2x10 ⁶	6.34 a	
F3	2.4x10 ⁶	6.37 a	2.0x10 ⁶	6.33 a	3.6x10 ⁶	6.55 a	2.3x10 ⁶	6.35 a	
ES _x		0.02**		0.02**		0.01**		0.03**	

Medias con letras comunes no difieren significativamente según Dócima de Tukey para p £ 0.01

En el experimento 2, el girasol y el sorgo alcanzaron poblaciones de *B. cepacia* del orden de 10^6 ufc.g⁻¹ de suelo rizosférico, con similar tendencia al aumento de dichas poblaciones con el incremento de la frecuencia de inoculación con hongos MA, que también se corresponde con los valores más altos encontrados para la colonización micorrízica. En este sentido, es bien conocido que los hongos MA pueden crear mejores condiciones en la rizosfera para el desarrollo de bacterias acompañantes, a través de un mayor intercambio de sustancias y aumento de sitios favorables para el desarrollo bacteriano. Así, el status de las micorrizas en el suelo puede influir selectivamente en las bacterias inoculadas, mejorando las condiciones del medio donde se desarrollan (3). En un estudio de plantas en asociación con hongos micorrízicos del género *Glomus*, se encontró que el género bacteriano *Burkholderia* fue uno de los más frecuentes, indicando que esas bacterias viven en estrecha relación con los micelios del hongo (12).

Para el sorgo, durante el primer año se alcanzaron poblaciones superiores cuando se aplicó hongo MA solo al primer cultivo, mientras que en el segundo año solamente se observaron diferencias con el tratamiento no inoculado (F0). La causa de este comportamiento pudiera ser la poca diferencia en los valores de colonización que alcanzó este cultivo y la gran proporción de sus raíces. *Azospirillum brasilense*. En la Figura 1 se muestran las poblaciones de *Azospirillum brasilense* alcanzadas por el maíz, el tomate y la sesbania (experimento 3), apreciándose que los mayores valores fueron alcanzados en el maíz, aunque la tendencia al incremento, a medida que se aumentó la frecuencia de inoculación del hongo MA, fue similar para todos los cultivos donde se aplicó esta rizobacteria. Las poblaciones de *A. brasilense* encontradas en el tomate fueron superiores en los tratamientos con más alta micorrización, pero más bajos que lo alcanzado por el cultivo del maíz, descartándose una posible influencia adicional por efecto del cultivo anterior. No obstante, al inocular *Azospirillum brasilense* en el cultivo del tomate unido a HMA (13), se encontró que los hongos estimularon las poblaciones de esa bacteria, alcanzando poblaciones del orden de 10^3 ufc.g⁻¹ de suelo rizosférico y de 10^5 ufc.g⁻¹ de raíces en el rizoplano, afectando positivamente la infección en la endorrizosfera.

La población de *A. brasilense* no alcanzó valores superiores a 10^3 ufc.g⁻¹ cuando se sembró sesbania después del tomate, lo que demuestra la reducción de sus poblaciones una vez eliminados los cultivos anteriormente inoculados, además de la afinidad específica con las especies de plantas cultivadas. En ese sentido, existe una disminución rápida de la actividad y dinámica poblacional de los microorganismos beneficiosos después de la realización de labores mecánicas al suelo que, a largo plazo, afectó el contenido de materia orgánica y el "pool" de nutrientes disponibles en el suelo (14).

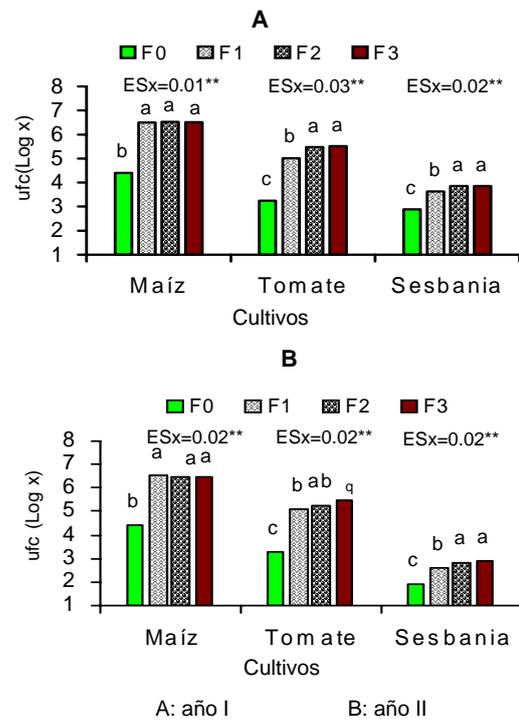


Figura 1. Variación de las poblaciones de *A. brasilense* en el experimento 3

En el experimento 4 (Figura 2), el arroz y el boniato alcanzaron poblaciones de *A. brasilense* del orden de 10^5 ufc.g⁻¹ de suelo rizosférico. En el boniato, los valores superiores se alcanzaron en los tratamientos con alta colonización por el hongo MA. El frijol mostró poblaciones bajas al no ser inoculado con *A. brasilense* en ambos años, aunque se encontraron diferencias significativas con las más bajas frecuencias de inoculación con HMA.

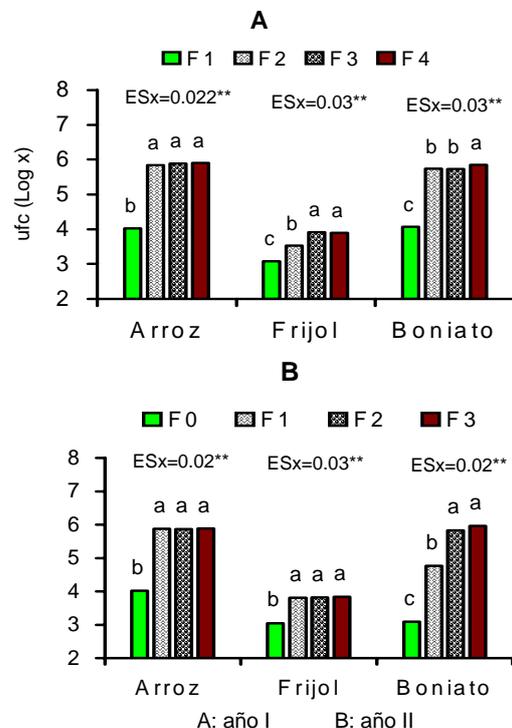


Figura 2. Variación de las poblaciones de *A. brasilense* en el experimento 4

En ambos experimentos, cuando se sembraron leguminosas sin la inoculación de *Azospirillum brasilense*, las poblaciones de esta bacteria fueron muy bajas, posiblemente por la falta de propágulos activos en el suelo, capaces de recolonizar a los cultivos posteriores a niveles significativamente altos, aunque en el caso de sesbania, las poblaciones alcanzadas fueron más bajas que en frijol.

En condiciones tropicales, tanto los factores ambientales como los bióticos intensifican sus efectos negativos sobre las poblaciones de rizobacterias, cuando se remueven los cultivos o se realizan labores mecánicas que alteran las condiciones del suelo, provocando una disminución de la capacidad de permanencia de estas, además de su dilución en toda la masa de suelo. Se ha demostrado que la remoción de los cultivos reduce intensamente la supervivencia de poblaciones de *A. brasilense* a partir de los 15 días, las que pueden llegar a niveles extremadamente bajos a partir de los 60 días (15); esto es debido a que el movimiento de este microorganismo depende de los exudados de las raíces en crecimiento, por lo que ellos alcanzan niveles poblacionales 300 veces más elevados en la rizosfera que en la masa del suelo, así como poblaciones superiores en los macroagregados que en las partículas más finas del suelo. Al respecto, se debe señalar que en los sistemas de secuencias de cultivos estudiados se realizaron diversas labores mecanizadas, que alteraron las condiciones de suelo. Así, los microorganismos edáficos pueden ser agotados como resultado de las diferentes prácticas agrícolas, las cuales reducen el potencial de los inóculos de los organismos beneficiosos (16).

En general, se ha evidenciado que los hongos MA al producir una amplia red de micelios en el suelo, crean un nicho o sitio especializado para el desarrollo de bacterias y esta simbiosis interactúa estrechamente con diferentes grupos bacterianos: las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, asociadas con la superficie del hongo en la micorrizosfera y un grupo de endobacterias que viven en diferentes fases del ciclo biológico de las micorrizas. Sin embargo, debemos plantear que las rizobacterias también tienen una marcada influencia sobre el desarrollo de los hongos micorrízicos, los que pueden estimular la formación y el funcionamiento de los hongos, a través de la producción de compuestos que incrementan la permeabilidad de las membranas de las células radicales, que facilitan la penetración del hongo e incrementan los exudados de las raíces, estimulando a su vez el rápido crecimiento de las hifas (17). Por otra parte, los microorganismos afectan el estado de pre-simbiosis, tal como la germinación de las esporas y el crecimiento del tubo germinativo (18).

En la Tabla V se muestra la colonización alcanzada en todos los cultivos, encontrándose mayores valores cuando se inoculan, al menos, dos cultivos en las secuencias; sin embargo, debemos señalar que esta tendencia se corresponde con el aumento de las poblaciones de rizobacterias inoculadas, como se explicó en el

análisis de las Figuras 1 y 2. Además, aunque la tendencia fue similar en todos los cultivos, la magnitud de la colonización varió con las características de cada especie de planta.

Tabla V. Comportamiento de la colonización micorrízica en los experimentos

Frec	Colonización ($\text{arcos}\sqrt{\%}$)					
	Año I	Año II	Año I	Año II	Año I	Año II
Exp.1	Soya		Maíz		Boniato	
F0	0.96b	0.99c	0.97c	1.07c	1.14c	1.13b
F1	1.33 ^a	1.32b	1.23b	1.36b	1.24b	1.26b
F2	1.34 ^a	1.48a	1.45a	1.61a	1.70a	1.78a
F3	1.33 ^a	1.50a	1.44a	1.69a	1.78a	1.90a
ES _x	0.05*	0.04*	0.05*	0.04*	0.04*	0.05**
Exp. 2	Soya		Girasol		Sorgo	
F0	0.91b	0.95b	1.04c	1.07c	1.01b	1.03c
F1	1.42a	1.54a	1.44b	1.43b	1.25b	1.38b
F2	1.35a	1.53a	1.79a	1.82a	1.60a	1.53a
F3	1.36a	1.57a	1.78a	1.84a	1.70a	1.74a
ES _x	0.06*	0.02*	0.04*	0.06*	0.06*	0.07*
Exp 3	Maíz		Tomate		Sesbania	
F0	1.03b	1.13b	0.94c	1.07c	0.78c	0.85c
F1	1.78a	1.71a	1.21b	1.19b	1.34b	1.25b
F2	1.93a	1.81a	1.98a	1.59a	1.71a	1.72a
F3	1.81a	1.80a	1.87a	1.62a	1.72a	1.80a
ES _x	0.08*	0.05*	0.06*	0.03*	0.06*	0.07*
Exp 4	Arroz		Frijol		Boniato	
F0	1.07b	1.20b	0.78c	0.86c	1.33b	1.33b
F1	1.53a	1.43a	1.17bc	1.17b	1.39b	1.47b
F2	1.50a	1.60a	1.45ab	1.56a	1.87a	1.90a
F3	1.56a	1.59a	1.55 a	1.63a	2.02a	1.89a
ES _x	0.06*	0.04*	0.06*	0.06*	0.07*	0.07*

Rendimientos agrícolas

La Tabla VI muestra que en los diferentes cultivos, los mayores rendimientos se alcanzaron cuando, al menos, fueron inoculados los dos primeros cultivos de cada secuencia, mostrando similar comportamiento en el segundo año, aunque ligeramente superiores al primero.

El tomate mantuvo tendencias similares en ambos años y se encontraron valores significativamente superiores en los tratamientos donde, al menos, se inocularon dos cultivos precedentes y que se corresponden con los tratamientos con mayores contenidos de nutrientes; además, se han encontrado valores más elevados del rendimiento cuando se inoculan con *Glomus clarum* y *Azospirillum brasilense*. En otro trabajo se encontró que la micorrización no solo aumentó el contenido foliar de fósforo, sino también algunos otros parámetros reproductivos como el número total de flores y la producción de frutos por plantas (19).

Los cultivos de frijol y boniato mantuvieron una tendencia al aumento de los rendimientos, en la misma medida del aumento de la frecuencia de inoculación, resultado similar al obtenido al inocular un solo cultivo en rotaciones de raíces y tubérculos (20).

Tabla VI. Efecto de la frecuencia de inoculación con HMA y rizobacterias en los rendimientos (t.ha⁻¹)

Frec.	Año I	Año II	Año I	Año II	Año I	Año II
Exp. 1	Soya		Maíz		Boniato	
F0	1.82	1.95 b	5.04 b	5.57 b	18.5 b	22.10b
F1	1.81	2.18 a	5.07 b	5.25 c	18.8 b	22.90 b
F2	1.87	2.17 a	5.49 a	5.75 a	21.30a	24.50 a
F3	1.86	2.37 a	5.46 a	5.87 a	22.70a	25.10 a
ES _x	0.05 ^{ns}	0.08**	0.10**	0.11**	0.62**	0.59**
Exp. 2	Soya		Girasol		Sorgo	
F0	1.92	1.91 b	1.60 b	1.82 c	1.90 b	2.32 b
F1	1.95	2.21 a	1.69 a	1.8 bc	1.80 b	2.34 b
F2	1.93	2.27 a	1.71 a	2.1 ab	2.19 a	2.73 a
F3	1.94	2.37 a	1.75 a	2.12 a	2.23 a	2.82 a
ES _x	0.02 ^{ns}	0.07*	0.03*	0.08*	0.09*	0.02*
Exp. 3	Maíz		Tomate		Sesbania	
F0	5.10 b	5.23 b	21.80	20.02	26.90 c	27.40 b
F1	5.56 a	5.45 b	23.00	20.70	28.30b	25.60 b
F2	5.88 a	6.03 a	26.40	25.10	31.40a	30.20 a
F3	5.83 a	6.10 a	26.70	26.20	32.20 a	31.05 a
ES _x	0.12**	0.11*	0.60*	0.54*	1.01*	0.62*
Exp. 4	Arroz		Frijol		Boniato	
F0	1.07 b	1.10 b	1.45 b	1.72 b	21.40 c	23.60 b
F1	1.30 a	1.22 a	1.48 b	1.70 b	22.30 c	24.30 b
F2	1.29 a	1.26 a	1.74 a	1.80 a	25.60 b	26.40 a
F3	1.28 a	1.24 a	1.71 a	1.85 a	27.00 a	27.30 a
ES _x	0.03*	0.02*	0.04*	0.02*	0.65*	0.40*

Letras comunes no difieren según dócima de Tukey para $p < 0.05$

En general, los rendimientos manifestaron las mismas tendencias de las poblaciones de los diferentes microorganismos inoculados, es decir, los tratamientos más colonizados por ambos tipos de microorganismos, también alcanzaron los mayores rendimientos, lo que demuestra la efectiva complementación de estos en la expresión de sus efectos sobre los rendimientos, aunque su magnitud depende del tipo de cultivo y la posición que ocupa dentro de la secuencia.

Estos resultados confirman que los hongos MA no se asocian con las bacterias de forma aleatoria, sino que, por el contrario, lo hacen según una estructura jerárquica de preferencia mutua (21, 22).

CONCLUSIONES

- * Las poblaciones de rizobacterias inoculadas aumentaron con el incremento de la frecuencia de aplicación de micorrizas y el porcentaje de colonización.
- * El posefecto de la aplicación de bacterias es bajo, disminuyendo intensamente sus poblaciones con la muerte de los cultivos.
- * La eficiencia de la coinoculación sobre el rendimiento se alcanzó cuando, al menos, se inocularon los dos primeros cultivos de las secuencias.

REFERENCIAS

1. Novo, R. Los biofertilizantes y la biofertilización, Conferencias curso internacional de microbiología del suelo, Quito. Ecuador. 2002.

2. Barea, J. M.; Azcon, R. y Azcon-Aguilar, C. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Int. J. Gen. Molec. Microbiol.*, 2002, vol. 81, no. 1-4, p. 343-351.
3. Andrade, G.; Linderman, R. y Bethlenfalvai, G. Bacterial associations with the mycorrhizosphere and hyphosphere of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. [Consultado: 14/4/2002]. Disponible en: <http://www.icom2.slu.se/ABSTRACTS/htm>. 2001.
4. Parke, J. L. y Kaeppler, S. W. Effects of genetic differences among crop species and cultivars upon the arbuscular mycorrhizal symbiosis. En: *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Dordrecht : Kluwer, 2000.
5. Joao, J. P. Efectividad de la inoculación de cepas de HMA en la producción de posturas de café sobre suelos Ferralítico Rojo compactado y Ferralítico Rojo Lixiviado de montaña. [Tesis de Maestría]; INCA, 2002. 85 p.
6. Rivera, R. y Fernández, K. Bases científico-técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente. En: *El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible*. Estudio de caso: El Caribe. La Habana : Ed. INCA, 2003.
7. Fernández, F.; Gómez, R.; Martínez, M. A. y Noval, B. M. de la. Producto inoculante micorrizógeno. Patente No. 22 641. Cuba, 2001.
8. Fernández, F. Uso, manejo y comercialización de los hongos micorrízicos VA. Conferencias en curso de maestría de nutrición de las plantas y biofertilizantes. INCA, 1997.
9. Phillips, D. M y Hayman, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 1970, vol. 55, p. 158-161.
10. Bashan, Y.; Holguin, G. y Ferrera-Cerrato, R. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. I. *Azospirillum*. *Terra*, 1996, vol. 14, no. 2, p. 159-195.
11. Soderberg, K.; Olsson, P. A. y Baath, E. Structure and activity of bacterial community in the rhizosphere of different plant species and the effect of arbuscular mycorrhizal colonization. *Microb. Ecol.*, 2002, vol. 40, p. 223-231.
12. Mansfeld-Giese, K.; Larsen, J. y Bødker, L. Bacterial populations associated with mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Microb. Ecol.*, 2002, vol. 41, no. 2, p. 133-140.
13. Velasco, J.; Ferrera-Cerrato, R. y Almaraz, J. J. Vermicomposta, micorriza arbuscular y *Azospirillum brasilense* en tomate. *Terra*, 2002, vol. 19, p. 241-248.
14. Calderón, F. J.; Jackson, L. E.; Scow, K. y Rolston, D. E. Microbial responses to simulated tillage in cultivated and uncultivated soils. *Soil Biol. Biochem.*, 2001, vol. 32, no. 11-12, p. 1547-1559.
15. Bashan, Y. Interacción de *Azospirillum* spp in soil. A review. *Biol. Fert. Soils*, 1999, vol. 29, p. 246-256.
16. Jeffries, P. y Barea, J. M. Arbuscular mycorrhiza. A key component of sustainable plant-soil ecosystems. En: *The mycota. Fungal Associations*, Berlín, Heidelberg, New York : Springer-Verlag, 2003, t. 9.
17. Gryndler, M. Interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with other soil organisms. En: *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Dordrecht : Kluwer Academic Press, 2000.

18. Giovannetti, M. Spore germination and pre-symbiotic mycelial growth. En: Arbuscular mycorrhizas: physiology and function. Dordrecht : Kluwer Academic Press, 2000.
19. Poulton J. L.; Bryla, D.; Koide, R. T. y Stephenson, G. Mycorrhizal infection and high soil phosphorus improve vegetative growth and the female and male functions in tomato. *New Phytol.*, 2002, vol. 154, no. 1, p. 255-267.
20. Ruíz, L. Efectividad de las asociaciones micorrízicas en especies vegetales de raíces y tubérculos en suelos Pardos y Ferralíticos Rojos de la región central de Cuba. [Tesis de Doctorado]; INCA. 2001.
21. Terry, E. y Pino, M. A. Biofertilizantes. Una alternativa promisoriosa para incrementar la productividad y calidad del cultivo del tomate. En: Prog. Res. Cong. Científ., INCA (13:2002:La Habana), 2002. p. 112.
22. Giovannetti, M. y Mosse, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 1980, vol. 84, p. 489-500.

Recibido: 25 de mayo de 2005

Aceptado: 24 de agosto de 2005

Cursos de Verano

Precio: 320 CUC

Producción y manejo de biofertilizantes en condiciones del trópico

Coordinador: Dr.C. Nicolás Medina Basso

Fecha: julio

Duración: 40 horas

SOLICITAR INFORMACIÓN

Dr.C. Walfredo Torres de la Noval
Dirección de Educación, Servicios Informativos
y Relaciones Públicas
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)
Gaveta Postal 1, San José de las Lajas,
La Habana, Cuba. CP 32700
Telef: (53) (64) 86-3773
Fax: (53) (64) 86-3867
E.mail: posgrado@inca.edu.cu