

Las micorrizas y las poblaciones bacterianas en secuencias de cultivos. Efectos sobre los rendimientos

Mycorrhizal and bacterial populations in yield and diversification in food production. Effects in production.

NELSON, Manuel Riera¹; BASSO, Nicolás Medina²

¹Centro Universitario de Guantánamo.(CUG),mriera@fam.cug.co.cu ; ²Instituto Nacional de Ciencias agrícolas (INCA)

RESUMEN

Se desarrolló un grupo de estudios sobre un suelo Ferralsol ródico (FAO UNESCO, 1990) con el objetivo de evaluar la influencia de la frecuencia de inoculación con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) sobre las poblaciones de rizobacterias inoculadas y el efecto de estas combinaciones sobre los rendimientos en diferentes secuencias de cultivos. Para ello se llevaron a cabo 4 experimentos de campo, establecido con un diseño de bloques al azar, repetidos durante dos años, donde se alternaron tres cultivos diferentes, teniendo en cuenta las características del sistema radical, las 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 de las combinaciones de los microorganismos inoculados se logró cuando se inoculan, al menos, los dos primeros cultivos dentro de las secuencias, con lo cual aumenta el rendimiento de los cultivos.

PALABRAS CLAVES: Micorrizas, Colonización, Rizobacterias, Co-inoculación, Cultivos .

ABSTRACT

A group of studies on Ferralsol ródico (FAO UNESCO, 1990) soil were carried out with the aim of evaluating the influence of inoculation frequencies with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on rizobacteria population, in order to obtain increase of yield and diversification in food production. Four experiments on the field were developed and repeated during two years; three different crops were alternated taking into account the root system characteristics, nutrients extractions and soil elements transportation. The results showed that highest efficiency of the inoculate microorganisms is obtained when, at least, the two first crops within the sequences were inoculated, increasing crop yield and simultaneously stimulating the population of co-inoculated rizobacteria.

KEY WORDS: Mycorrhizal, Colonization, Rizodacteria, Co-inoculation, Crops .

Correspondências para: Manuel Nelson, mriera@fam.cug.co.cu
Aceito para publicação em 16/10/2007

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 de 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 (NOVO, 2002).

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 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 (BAREA *et al.*, 2002). Por lo tanto, la aplicación eficiente de

hongos MA y rizobacterias 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 (RUÍZ, 2001), 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, hongos micorrízicos y rizobacterias puede facilitar el manejo de la biota edáfica y aumentar la estabilidad del sistema suelo – planta (ANDRADE *et al.*, 2001). La pérdida de la capacidad de colonización micorrízica por las plantas también puede resultar en pérdida de los importantes beneficios que proporcionan estos hongos y reduce la capacidad de las poblaciones para colonizar otros cultivos en las secuencias (PARKE, *et al.*, 2000). Los trabajos desarrollados por diferentes autores (FERNÁNDEZ, 1999; JOAO, 2002) han demostrado la especificidad suelo – HMA, 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 (POULTON *et al.*, 2002).

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 en el rendimiento de los cultivos

Materiales y métodos

Los experimentos se desarrollaron en el periodo comprendido entre los años 1999 y 2003, sobre un suelo Ferralsol ródico (FAO UNESCO, 1990) de fertilidad media de en la zona de San José Provincia La Habana.

Los tratamientos en cada experimento se conformaron a partir del uso de 4 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. (FERNÁNDEZ, 1999), coinoculando cada cultivo, además, con una rizobacteria promotora del crecimiento vegetal, según se muestra en la Tabla 1. Los datos relacionados con los cultivos, variedades, fecha de siembra, cepas de HMA y rizobacterias y distancias de siembra que se emplearon en los experimentos se muestran en la Tabla 2.

Inoculación de los microorganismos.

La cepa de HMA utilizada (*Glomus clarum*), se obtuvo a partir de inóculo micorrízico certificado (FERNÁNDEZ *et al.*, 2001), producido en

Tabla 1: 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

el Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas del INCA, que contenía 250 esporas. g⁻¹. Las poblaciones por g de soporte sólido en los inóculos de rizobacterias, también provenientes del cepario del INCA, fueron: *Rhizobium*: 1 x 10⁸ ufc, *Azospirillum brasiliense* Sp 7: 3,55 x 10⁹ ufc y *Burkholderia cepacia* 0057: 3,24 x 10⁹ ufc. Utilizando como soporte sólido utilizado fue turba molinada, tamizada y estéril.

Para los cultivos propagados por semillas, la inoculación se realizó por el método de recubrimiento de las mismas (FERNÁNDEZ, 1997), inoculando en primer lugar las bacterias e inmediatamente después el hongo. Para las primeras se empleó una cantidad correspondiente

Tabla 2: Descripción de los experimentos

Experimentos, Cultivo (variedad)	Cepa de HMA	Cepa de Rizobacteria ¹	Fecha de siembra marco de plantaci
Soya (Incasoy 27) E 1 Maíz (VST 6) Boniato (C-78-354)	<i>Glomus clarum</i> <i>Glomus clarum</i> <i>Glomus clarum</i>	<i>B. japonicum</i> (ICA 8001) <i>B. cepacia</i> (057) <i>B. cepacia</i> (057)	Mayo 0,70x 0,05 r Sept 0,90x 0,20 n Enero 0,90x0,30 r
Soya (Incasoy 27) E2 Girasol Caburet-15) Sorgo (ICIAP -D.)	<i>Glomus clarum</i> <i>Glomus clarum</i> <i>Glomus clarum</i>	<i>B. japonicum</i> (ICA 8001) <i>B. cepacia</i> (057) <i>B. cepacia</i> (057)	Mayo 0,70x 0,05 r Sept 0,70x 0,25 r Enero 0,70x 0,05n
Maíz (Francisco M) E3 Tomate (Amalia) Sesbania	<i>Glomus clarum</i> <i>Glomus clarum</i> <i>Glomus clarum</i>	<i>A. brasiliense</i> (Sp7) <i>A. brasiliense</i> (Sp7) <i>R. meliloti</i>	Julio 0,90x 0,20 n Dic. 1,40x 0,30 n Abril 0,45x 0,05 r
Arroz (LP-7) E4 Frijol (Bolita 42) Boniato (C-78 354)	<i>Glomus clarum</i> <i>Glomus clarum</i> <i>Glomus clarum</i>	<i>A. brasiliense</i> (Sp7) <i>R. phaseolus</i> <i>A. brasiliense</i> (Sp7)	Julio 0,45x 0,05 n Dic. 0,70 x 0,05 r Abril 0,90x 0,30r

¹*B. japonicum* = *Bradyrhizobium japonicum*; *B. cepacia* = *Burkholderia cepacia*; *A. brasiliense* = *Azospirillum brasiliense*; *R. phaseolus* = *Rhizobium phaseolus*

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

Para 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 (PHILLIPS *et al.*, 1970). La evaluación se realizó por el método de los interceptos (GIOVANETTI *et al.*, 1980), mediante el cual se determinó el porcentaje de colonización micorrízica de colonización.

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 los 72 y 96 horas respectivamente a 37 °C (BASHAN *et al.*, 1996). 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 tabla 3.

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 y se expresó 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 4 se observa que, en el experimento 1, las poblaciones de esta rizobacteria en el maíz alcanzaron valores del orden de 10⁶ ufc.g⁻¹ de suelo rizosférico, pero las mismas fueron superiores en los tratamientos donde la rizobacteria se inoculó conjuntamente con el hongo MA, con diferencias significativas en relación con los tratamientos donde sólo se aplican dichos hongos al primer cultivo (F1) y al no inoculado (F0), donde sólo 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 sólo hubo la colonización micorrízica 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 (HERNÁNDEZ *et al.*, 1995). No obstante, en el boniato, los tratamientos con mayor nivel de colonización micorrízica también alcanzaron las mayores poblaciones de esta

Tabla 3: Dosis de N (kg.ha⁻¹) aplicadas a los cultivos en los diferentes experimentos.

Tratam.	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 4: Poblaciones rizosféricas de *B. cepacia* en los experimentos 1 y 2.

Experimento 1								
Frecuencia	Maíz				Boniato			
	Año I		Año II		Año I		Año II	
	ufc	log x	ufc	log x	ufc	log x	ufc	log x
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 ⁵	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								
Frecuencia	Girasol				Sorgo			
	Año I		Año II		Año I		Año II	
	ufc	log x	ufc	log x	ufc	log x	ufc	log x
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

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. Al respecto, algunos autores (MARSCHNER *et al.*, s/d), señalaron que *B. cepacia* es una bacteria que coloniza diferentes cultivos, pero su acción puede estar influenciada 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 (SODERBERG *et al.*, 2002), se encontró mayor efecto sobre la comunidad bacteriana en general debidos a la especie de planta que los provocados por los hongos MA.

Para el sorgo, durante el primer año se alcanzaron poblaciones superiores cuando se aplicó hongo MA sólo al primer cultivo, mientras que en el segundo año sólo 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 raíces de este cultivo.

En el experimento 2, el girasol y el sorgo alcanzaron poblaciones de *B. cepacia* del orden de 10⁶ 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, y 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 (ANDRADE *et al.*, 2001). En un estudio de plantas en asociación con hongos micorrízicos del género *Glomus* se encontró que el género bacteriano *Burkholderia* fue uno de lo más frecuentes, indicando que esas bacterias viven en estrecha relación con los micelios del hongo (MANSFELD-GIESE *et al.*, 2002).

***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

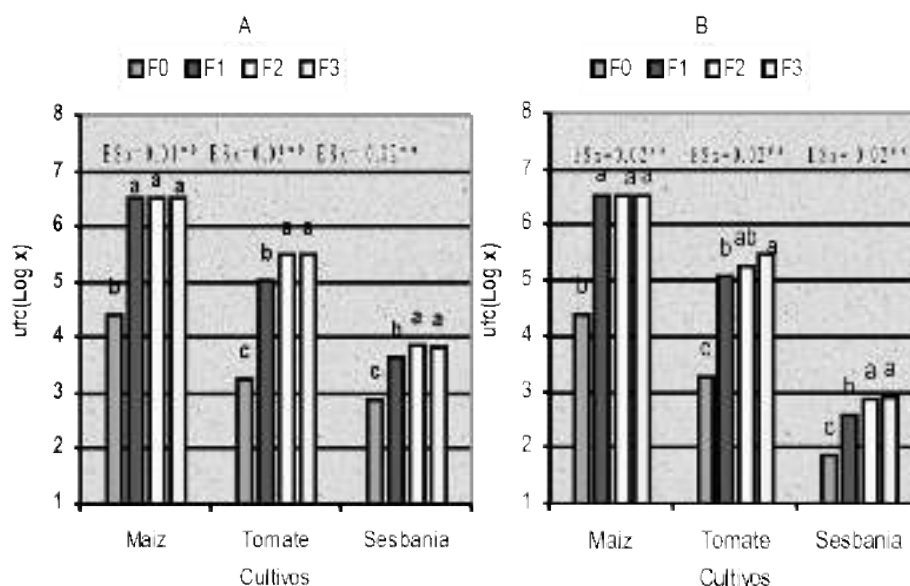


Fig. 1 Variación de las poblaciones de *A. brasilense* en el experimento 3.
A - año I; B - Año II

hongo MA, fue similar para todos los cultivos donde se aplicó esta rizobacteria. Las poblaciones de *A. brasilense* encontrada en el tomate fueron superiores en los tratamientos con más alta micorización, 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 (VELASCO *et al.*, 2002), 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 rizoplaneo, afectando positivamente la infección en la endorizosfera.

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 la 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 (CALDERÓN, *et al.*, 2000).

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.

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 activo 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

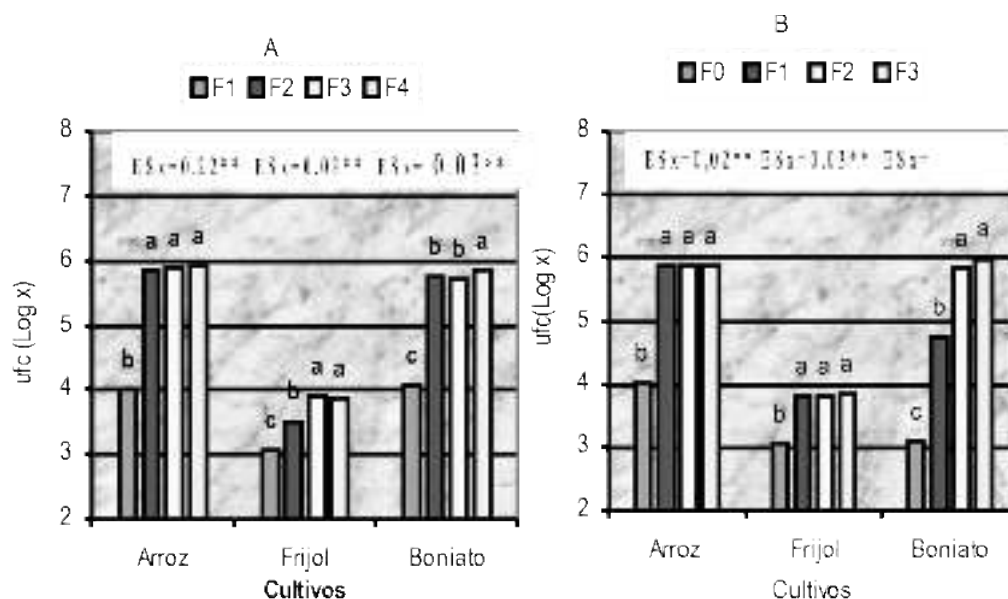


Fig.2 Variación de las poblaciones de *A. brasilense* en el experimento 4.
A = Año I, B = Año II

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 por algunos autores (BASHAN, 1999) 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; esto es debido a que el movimiento de este microorganismo depende de los exudados de las raíces en crecimiento, por lo que sus poblaciones alcanzan niveles poblacionales 300 veces más elevadas 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 (JEFFRIES e BAREA, 2003).

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 que esta simbiosis interactúa estrechamente diferentes grupos bacterianos: las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, asociadas con la superficie del hongo en la micorizosfera y un grupo de endobacterias que viven en diferentes fases del ciclo biológico de las Micorrizas (GRYNDLER, 2000). 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 funcionamiento de los hongos, a través de la producción de compuestos que incrementan la permeabilidad de las membranas

Tabla 5: Comportamiento de la colonización micorrízica en los experimentos

Colonización ($\arccos \sqrt{\%}$)						
Exp.1	Soya		Maíz		Boniato	
Frec	Año I	Año II	Año I	Año II	Año I	Año II
F0	0,96b	0,99c	0,97c	1,07c	1,14c	1,13b
F1	1,33a	1,32b	1,23b	1,36b	1,24b	1,26b
F2	1,34a	1,48a	1,45a	1,61a	1,70a	1,78a
F3	1,33a	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*

Letras comunes no difieren según el test de Tukey para $p < 0,05$

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 (GRYNDLER, 2000). Por otra parte, los microorganismos afectan el estado de pre-simbiosis, tal como la germinación de las esporas y el crecimiento del tubo germinativo (GIOVANETTI, 2000).

Rendimientos agrícolas.

La tabla 6 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 sólo 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 (POULTON *et al.*, 2002).

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 (RUÍZ, 2001).

En general los rendimientos manifestaron las mismas tendencias de las poblaciones de los diferentes microorganismos inoculados, es decir, los tratamientos con mayores colonización superior 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

Tabla 6: Efecto de la frecuencia de inoculación con HMA y rizobacterias en los rendimientos (t.ha-l)

Exp 1		Soya		Maíz		Boniato	
Frec.	Año I	Año II	Año I	Año II	Año I	Año II	
F0	1,82	1,95 b	5,04 b	5,57 b	18,5 b	22,10 b	
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	
Frec.	Año I	Año II	Año I	Año II	Año I	Año II	
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 b c	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	
Frec.	Año I	Año II	Año I	Año II	Año I	Año II	
F0	5,10 b	5,23 b	21,80 b	20,02 b	26,90 c	27,40 b	
F1	5,56 a	5,45 b	23,00 b	20,70 b	28,30bc	25,60 b	
F2	5,88 a	6,03 a	26,40 a	25,10 a	31,40ab	30,20 a	
F3	5,83 a	6,10 a	26,70 a	26,20 a	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	
Frec.	Año I	Año II	Año I	Año II	Año I	Año II	
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 comun es no difieren según d o c i m a de Tuke y para p< 0,05

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 (ANDRADE *et al.*, 2001).

Conclusiones

Las poblaciones de rizobacterias inoculadas aumentaron con el incremento de la frecuencia de aplicación de micorrizas y el porcentaje de colonización.

El post efecto de la aplicación de bacterias es

bajo, disminuyendo intensamente sus poblaciones con la muerte de los cultivos y la preparación de suelos.

La eficiencia de la co-inoculación sobre el rendimiento se alcanzó cuando, al menos, se inocularon los dos primeros cultivos de las secuencias.

Referencias bibliograficas

Andrade, G., Linderman, R. and Bethlenfalvay, G.. Bacterial associations with the mycorrhizosphere and hyphosphere of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. 2001. Disponible en <http://www.icom2.slu.se/ABSTRACTS/htm>. Rev: 14/04/02

- Barea, J.M., Azcon, R. and Azcon-Aguilar, C. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. 2002. **Int. J. Gen. Molec. Microbiol.**, 81(1-4):343-351.
- Bashan Y., Holguin, G. and Ferrera-Cerrato, R. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. I. *Azospirillum*. 1996. **Terra**, 14(2):159-195.
- Bashan, Y.. Interaccion of *Azospirillum* spp in soil. A review. 1999 **Biol. Fert. Soils**, 29: 246-256.
- Calderón, F.J., Jackson, L.E., Scow, K. and Rolston, D.E.. Microbial responses to simulated tillage in cultivated and uncultivated soils. 2000. **Soil Biol. Biochem.**, 32 (11-12): 1547-1559.
- Fernández, F. 1997. Uso, manejo y comercialización de los hongos micorrízicos VA. **Conferencias en Curso de Maestría de Nutrición de las Plantas y Biofertilizantes**. INCA, La Habana.
- Fernández, F. **Manejo de las asociaciones micorrízicas arbusculares sobre la producción de posturas de cafeto (C. Arábica L. var. Catuaí) en algunos tipos de suelos**. 1999 Tesis de grado (Dr. en Ciencias Agrícolas), INCA 102p.,
- Fernández, F., Gómez, R., Martínez, M.A. y de la Noval, B.M. Producto inoculante micorrizógeno. 2001 **Patente No. 22 641**. Cuba.
- Giovanetti, M. and Mosse, B. . An Evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. 1980. **New phytol.**, 84:489-500.
- Giovanetti, M.. Spore germination and pre-symbiotic mycelial growth. En: Kapulnik, Y. and Douds, D.D. (eds.). **Arbuscular mycorrhizas: physiology and function** 2000. Kluwer Academic Press, Dordrecht
- Giovanetti, M. and Mosse, B.. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. 1980 **New Phytol.**, 84: 489-500.
- Gryndler, M.. Interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with other soil organisms. En: Kapulnik, Y. and Douds, D.D. (eds.). **Arbuscular mycorrhizas: physiology and function**. 2000 Kluwer Academic Press, Dordrecht.
- Hernández, A.N., Hernández, A. y Heydrich, M.. Selección de rizobacterias asociadas al cultivo del maíz. 1995 **Cult. Trop.** (Cuba), 16 (3): 5-8.
- Jeffries, P. and Barea, J.M.. Arbuscular mycorrhiza. A key component of sustainable plant-soil ecosystems. En: Hock, B. (ed.). **The mycota. Vol IX: Fungal Associations**, 2003, Springer-Verlag, Berlín-Heidelberg-New York.
- Joao, J. P. 2002 **Efectividad de la inoculación de cepas de HMA en la producción de posturas de cafeto sobre suelos Ferralítico Rojo compactado y Ferralítico Rojo Lixiviado de montaña**. Tesis de Maestría "Nutrición de las plantas y Biofertilizantes" INCA, Cuba. 85p.
- Mansfeld-Giese, K., Larsen, J. and Bødker, L.. Bacterial populations associated with mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. 2002. **Microb. Ecol.**, 41 (2): 133-140.
- Marschner, H., Crowley, D. and Sattelmacher, B.. Root colonization and iron nutritional status of *Pseudomonas fluorescens* in different plant species. **Plant and Soil.**, 196: 311-316.
- Novo, R. 2002. Los biofertilizantes y la biofertilización. 1997, **Conferencias Curso internacional de microbiología del suelo**, Quito. Ecuador.
- Parke, J.L. and Kaeppeler, S.W.. Effects of genetic differences among crop species and cultivars upon the arbuscular mycorrhizal symbiosis 2000. En: Kapulnick, Y. and Douds, D.D. (eds.). *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Kluwer, Dordrecht.
- 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. 1970 **Trans. Br. Mycol. Soc.**, 55: 158-161.
- Poulton J.L., Bryla, D., Koide, R.T. and Stephenson, G.. Mycorrhizal infection and high soil phosphorus improve vegetative growth and the female and male functions in tomato. 2002 **New Phytol.**, 154 (1): 255-267.
- Rivera, R. y Fernández, K.. Bases científico-técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente. 2003. En: Rivera, R. y Fernández, K. (eds.). **El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe**. Ed. INCA, La Habana.
- Ruíz, L. 2001. **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 en Ciencias Agrícolas. Universidad Agraria de La Habana. Cuba

- Shreiner, P. and Jastrow, J.D. 1995. The role of mycorrhizal fungi in soil conservation. En: **Mycorrhizal in sustainable agriculture**. ASA. Spec. Pub. 54, Madison
- Soderberg, K., Olsson, P.A and Baath, E.. Structure and activity of bacterial community in the rhizosphere of different plant species and the effect of arbuscular mycorrhizal colonization. 2002. **Microb. Ecol.**, 40: 223-231.
- Terry, E. y Pino, M.A.. Biofertilizantes. Una alternativa promisorio para incrementar la productividad y calidad del cultivo del tomate. 2002. **Prog. Res. XIII Cong. Científ.**, p. 112. INCA, La Habana.. Cuba
- Velasco, J., Ferrera-Cerrato, R. y Almaraz J.J.. Vermicomposta, micorriza arbuscular y *Azospirillum brasilense* en tomate. 2002. **Terra**, 19: 241-248.