

INOCULACIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES Y DIFERENTES RELACIONES SUELO: HUMUS DE LOMBRIZ SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CAFETO (*Coffea arabica* L.) CV. CATUAÍ BAJO LA ETAPA DE VIVERO

F. Fernández-Martín¹; R. A. Rivera-Espinosa¹; A. Hernández-Jiménez¹; R. A. Herrera-Peraza²; K. Fernández-Suárez¹.

¹Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). (*Autor responsable)

²Instituto de Ecología y Sistemática (IES).

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y las relaciones suelo: humus de lombriz sobre posturas de cafeto en los suelos acrisol, cambisol dístrico y cambisol eútrico. Se ejecutaron tres experimentos en condiciones de vivero, bajo un diseño factorial completamente aleatorizado, evaluándose variables morfológicas, fúngicas y nutrimentales. Los resultados demostraron que la inoculación con HMA resultó provechosa, lográndose incrementos en el área foliar entre 6 y 140 % con relación a las plantas no inoculadas. La eficiencia micorrízica de las cepas inoculadas estuvo definida por la fertilidad del suelo y la relación suelo:humus de lombriz. La micomasa endófitica (ME) dependió inversamente de la fertilidad del suelo, de forma tal que en el acrisol de baja fertilidad los valores asociados con los mayores efectos agrobiológicos de los HMA (35 mg·g⁻¹ suelo) fueron superiores a los encontrados en los suelos cambisoles de media y alta fertilidad (20 a 22 mg·g⁻¹ suelo). La inoculación micorrízica en los sustratos más adecuados por tipo de suelo incrementó significativamente los contenidos nutrimentales, oscilando desde 10 hasta 150 %. Los HMA con mejor respuesta por tipo de suelo fueron: acrisol – cambisol dístrico, *Glomus clarum*, *Glomus spurcum*; cambisol eútrico, *Glomus fasciculatum*.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: micomasa endófitica, *Glomus clarum*, *Glomus fasciculatum*, *Glomus spurcum*, suelo acrisol, suelo cambisol.

INOCULATION OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND DIFFERENT SOIL: EARTHWORM HUMUS RATIOS ON COFFEE GROWTH (*Coffea arabica* L.) CV. CATUAÍ AT THE NURSERY STAGE

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of inoculating arbuscular mycorrhizal fungi (HMA) and soil:earthworm humus ratio on coffee postures in acrisol, dystric cambic and eutric cambisol soils. Three experiments were carried out under nursery conditions under a completely randomized factorial design, evaluating morphological, fungal, and nutritional variables. Results demonstrated that inoculation with HMA was effective, accomplishing increases in leaf area between 6 and 140 % compared to non-inoculated plants. Mycorrhizal efficiency of inoculated lines was defined by soil fertility and soil:earthworm humus ratio. Endophyte mycorrhizal mass (ME) was inversely dependent on soil fertility, in such a way that values associated with the highest agrobiological effects for the low-fertility acrisol (35 mg·g⁻¹ soil) were superior to values found in low and high fertility cambisol soils (20 a 22 mg·g⁻¹ soil). mycorrhizal inoculation in the most adequate substrate by soil type significantly increased nutrient content, from 10 to 150 %. arbuscular mycorrhizal fungi with better response per soil type were: acrisol – dystric cambisol, *Glomus clarum*, *Glomus spurcum*; *Glomus fasciculatum*.

ADDITIONAL KEY WORDS: endophyte mycorrhizal mass, *Glomus clarum*, *Glomus fasciculatum*, *Glomus spurcum*, acrisol soil, cambisol soil.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad es prioritaria la búsqueda de alternativas nutrimentales que disminuyan el impacto de los fertilizantes químicos en la agricultura, constituyendo la actividad biológica del suelo y los microorganismos un aspecto muy importante, debido a que incrementan la eficiencia en la absorción de nutrimentos, formando parte de los sistemas integrales de nutrición vegetal (Siqueira y Franco, 1988; Rivera y Fernández, 2003; Read y Pérez-Moreno, 2003).

Dentro de éstos se encuentran los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), los cuales establecen asociaciones mutualistas con el 85 % de las plantas con interés agronómico (Herrera *et al.* (1988), Smith y Read (1997), presentando una alta especificidad con el suelo en donde se desarrolla y a su vez le confiere a las plantas ventajas tales como: mayor capacidad de absorción radical, una mejor disponibilidad de agua y cierta protección contra nemátodos y enfermedades radicales (Marschner y Dell, 1994; Azcón-Aguilar y Barea, 1996)

La planta de café, según Lopes *et al.* (1983) es considerada endomicorrízica obligatoria, constituyendo la etapa de vivero, la fase inicial de su desarrollo y la más adecuada para la inoculación con hongos micorrízicos (Sieverding, 1991; Trejo *et al.*, 1998).

En Cuba se ha obtenido información acerca de los beneficios de la colonización micorrízica en posturas de café y la aplicación de enmiendas orgánicas y abonos verdes (Fernández, 1992, 1999; Rivera, 1997; Sánchez, 2000), pero sin duda, es Brasil el país que mayor información técnica ha generado (Antunes *et al.*, 1988; Saggin-Junior *et al.*, 1992, 1994); donde se han demostrado respuestas positivas a la inoculación, en la fase de establecimiento de la plantación e incluso un efecto positivo mantenido sobre el rendimiento de café en las primeras cosechas (Siqueira *et al.*, 1993).

Tomando en consideración que la efectividad de los HMA está determinada en función de la fertilidad de los suelos (Siqueira y Franco, 1988) y los antecedentes expuestos, el presente trabajo tuvo como objetivo conocer el efecto de la aplicación de hongos micorrízicos

arbusculares relacionados con diferentes mezclas de suelo: humus de lombriz, sobre la nutrición y desarrollo de posturas de café en tres tipos de suelos en Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se ejecutaron tres experimentos en viveros de producción de café en localidades de la región central de Cuba. Los suelos se caracterizaron según Hernández *et al.* (1999) y en el Cuadro 1, se presentan las características de clima, suelo y ubicación de las mismas.

Los trabajos se repitieron en dos campañas con un diseño estadístico completamente aleatorizado con arreglo bifactorial, donde se estudió el efecto de la inoculación de HMA y relaciones suelo:humus de lombriz (de acuerdo a los tipos de suelos) sobre el crecimiento de posturas de café. Se empleo como testigo, la norma de producción cubana suelo: humus de lombriz (HL) 3:1, incluido en el diseño factorial o como testigo de referencia en el tercer experimento (Rodríguez, 1992). Se sembró el cv. Catuaí en bolsas de polietileno con capacidad de 2.2 kg de sustrato por bolsa, a razón de 120 plantas por tratamiento.

A continuación se detallan los experimentos ejecutados.

Experimento 1: Se estudiaron tres HMA, *Glomus clarum* (Nicolson & Schenck), *Glomus spurgum* (Walker) y *Acaulospora scrobiculata* (Trappe), en un diseño completamente al azar con arreglo factorial del tipo 4x2, factor A HMA (tres cepas y sin inoculación) y factor B, suelo acrisol:HL (3:1 y 5:1), como control suelo: hl 3:1 sin inocular.

Experimento 2: Igual al anterior excepto el tipo de suelo empleado, cambisol dístico.

Experimento 3: Se estudiaron tres HMA, *Glomus clarum*, *Glomus fasciculatum* (Gerdenman y Trappe, enmendada por Koske y Walker) y *Glomus mosseae* (Gerdenman y Trappe), en un diseño completamente al azar con arreglo factorial del tipo 3x2 con testigo de referencia (TR), factor A, HMA (tres cepas y sin inoculación) y factor B, suelo cambisol eútrico:HL (5:1 y 7:1), como TR suelo:HL 3:1 sin inocular.

CUADRO 1. Características generales del clima (temperatura y precipitación anual media), ubicación, altitud y tipos de suelos de las distintas localidades estudiadas.

| Experimento | Localidades (Cuba) | Altitud (m) | Suelos (m) | Temperatura (°C) | Precipitación (mm) |
|-------------|--------------------|-------------|-----------------------------|------------------|--------------------|
| 1 | Tope de Collantes | 480-500 | Acrisol | 19 | 2,200 |
| 2 | Cancan | 350-400 | Cambisol | 23 | 1,700 |
| 3 | Santiago | 380 | Dístico Cambisol Eútrico | 22.6 | 1,750 |

Obtención e inoculación de los hongos micorrizógenos arbusculares

Los inoculantes de HMA se obtuvieron a partir de multiplicación de especies donadas por el Instituto de Ecología y Sistemática (IES) en *Sorghum vulgare*, según Sieverding, (1991) y tuvieron las siguientes características: Porcentaje de raicillas colonizadas (45 a 60 %) y Esporas totales (≥ 30 Esporas por g de sustrato).

Se aplicó colocando 10 g bajo la semilla de café en el momento de la siembra (Saggin-Junior *et al.*, 1992) y la selección del hongo se hizo según el tipo de suelo, de acuerdo con Fernández *et al.* (1992) y Rivera *et al.* (1997). Las actividades agrotécnicas del vivero se realizaron según el instructivo técnico del cultivo (MINAGRI, 1987).

Características y análisis químico de los suelos y sustratos utilizados

Previo al estudio se tomaron muestras de suelo (0 a 20 cm de profundidad) y se determinaron pH-H₂O, materia orgánica (%), P y K disponible y los cationes, así como el Al intercambiable en suelos con pH <5.0 (INCA, 1996). Los suelos presentaron valores de fertilidad diferentes, estando agrupados en acrisol de baja fertilidad, cambisol déstrico de fertilidad media y cambisol eútrico de alta fertilidad. Sólo en el acrisol, se presentaron condiciones de acidez elevadas con un valor de 2.32 cmol·kg⁻¹ de Al (Cuadro 2).

La selección de los sustratos estuvo relacionada con la fertilidad de sus suelos. A medida que ésta aumentaba, se emplearon relaciones suelo:HL con menor aporte de materia orgánica, de manera que no se obtuvieran mezclas

muy ricas en nutrimentos, lo cual podría interferir con el efecto micorrizico. A continuación se muestran los resultados de las características químicas de los sustratos estudiados, en el caso del humus de lombriz antes de mezclar en los sustratos, tenía las siguientes características: 25 % de M.O., P total de 2000 mg·100 g⁻¹ y una capacidad de intercambio catiónico >150 cmol·kg⁻¹ (Cuadro 3).

Evaluaciones

Los experimentos se analizaron a los siete meses después de la siembra determinándose las siguientes variables:

Morfológicas. Se evaluaron 20 plantas por tratamiento, determinándose el área foliar (AF) según Soto (1980), tomando las dimensiones lineales de las hojas (largo y ancho) y aplicando la expresión matemática $AF = \text{largo} \times \text{ancho} \times 0.67$.

Micorrizicas. Se tomaron muestras de raicillas y suelo rizosférico de 20 plantas por tratamiento y se les aplicó la siguiente metodología.

Estimación del porcentaje de colonización micorrizico y la micomasa endófito (ME)

Se obtuvieron 200 mg de raicillas y se tiñeron con azul Tripán, según Phillips y Hayman (1970), posteriormente se observaron en estereomicroscopio en una placa con retículo de 0.5" de acuerdo al método de Giovannetti y Mosse (1980), donde las intersecciones de raicillas (100 en cada medición) fueron calificadas en seis

CUADRO 2. Características químicas de los suelos estudiados de cada localidad.

| Suelo | pH | Materia orgánica (%) | P ₂ O ₅ | K ₂ O | Ca | Mg | Al |
|---------------------|-----|----------------------|-------------------------------|------------------|-----------------------|-----|------|
| | | | mg·100·g ⁻¹ | | cmol·kg ⁻¹ | | |
| 1 Acrisol | 4.9 | 1.2 | 2.70 | 8.7 | 1.4 | 1.4 | 2.32 |
| 2 Cambisol Déstrico | 7.1 | 3.8 | 16.10 | 28.1 | 7.8 | 1.4 | -- |
| 3 Cambisol Eútrico | 6.8 | 4.1 | 38.90 | 37.4 | 23.5 | 1.3 | -- |

CUADRO 3. Características químicas de los sustratos estudiados.

| Suelo | Suelo:humus de lombriz | pH | Materia orgánica % | P ₂ O ₅ | K ₂ O | CA | MG |
|-------------------|------------------------|-----|--------------------|-------------------------------|------------------|-----------------------|-----|
| | | | | mg·100 g ⁻¹ | | cmol·kg ⁻¹ | |
| Acrisol | 3:1 | 5.3 | 2.1 | 10.90 | 20.15 | 6.10 | 1.3 |
| | 5:1 | 5.0 | 1.6 | 6.42 | 19.18 | 4.56 | 1.4 |
| Cambisol Déstrico | 3:1 | 6.1 | 4.5 | 81.25 | 50.9 | 14.90 | 1.5 |
| | 5:1 | 6.6 | 4.0 | 63.12 | 37.6 | 14.12 | 1.2 |
| Cambisol Eútrico | 5:1 | 6.1 | 4.0 | 73.12 | 40.77 | 20.10 | 1.3 |
| | 7:1 | 6.6 | 4.0 | 49.17 | 38.25 | 18.12 | 1.3 |

categorías: M (sin HMA), y M1, M2, M3, M4, y M5 (con endófitos) que, multiplicadas respectivamente por 0.0, 1.0, 2.5, 15.5, 35.5, y 47.5 % para cada nivel, según los métodos propuestos por Trouvelot *et al.* (1986) y Herrera *et al.* (1994), esto permitió estimar las proporciones de densidad visual (%DV) que a su vez permite la estimación de la micomasa de endófito (ME) en las raicillas:

$$ME = \%DV \cdot \left(\frac{PSR}{100} \right)$$

donde PSR = peso seco de raicillas y % DV = Porcentaje de densidad visual. Los valores de ED se expresan preferiblemente en mg·g⁻¹ suelo.

Porcentaje de colonización. Se calculó el porcentaje de raicillas colonizadas por los HMA. Los valores fueron transformados por arc sen $\sqrt{x/100}$.

Conteo de esporas. La extracción de esporas se realizó por la técnica de tamizado y decantado en húmedo propuesto por Gerdemann y Nicolson (1963), con centrifugación en gradiente de sacarosa 2 M (Fernández, 1999). Los valores se expresaron en esporas por 50 g de suelo seco.

Análisis Foliar. Se tomaron cinco plantas por tratamientos y se le realizaron análisis de nitrógeno, fósforo y potasio por digestión H₂SO₄-Se y posterior análisis químico

Incrementos netos. Los incrementos se estudiaron a partir del índice de eficiencia (IE) que representa incrementos relativos y permite comparar experimentos conducidos en diferentes condiciones edáficas. En este trabajo, se le aplicó al área foliar, tomando como testigo la relación suelo(s):HL (3:1). La expresión en cuestión es la siguiente:

$$IE(\%) = \left(\frac{AF_{Inoculado} - AF_{Testigo}}{AF_{Testigo}} \right) \cdot 100$$

Análisis estadísticos. A las variables se les aplicó el análisis de varianza correspondiente con el diseño estadístico utilizado. En los casos en que se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó la prueba de Duncan con $P \leq 0.001$ como criterio de comparación.

Se realizaron análisis de regresión entre área foliar y endófito arbuscular los contenidos nutrimentales, obteniéndose como modelo de mayor ajuste el polinomio de segundo grado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de posturas de café

Se destacó la positiva respuesta de las plantas a la inoculación, presentándose siempre combinaciones HMA-suelo:HL que produjeron incrementos significativos en el área foliar y en las variables micorrízicas (Cuadros 4, 5 y 6).

En condiciones de baja fertilidad (Exp. 1), fueron necesario las mayores aportes de abono orgánico (S: HL; 3:1) para lograr mayor colonización micorrízica, sin embargo, cuando las cantidades de abono orgánico fueron menores (relación 5:1), la micorrización no logró en todos los casos superar la conducta del testigo y siempre presentó un comportamiento inferior al registrado con las mismas cepas en la relación 3:1 (Cuadro 4).

En el segundo experimento y relacionado con mayor fertilidad del suelo de los sustratos se obtuvieron plantas más

CUADRO 4. Efectos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) sobre el área foliar y algunas variables micorrízicas de posturas de café cultivadas en mezclas de suelo acrisol:humus de lombriz (Experimento 1).

| Cepas de HMA | S:HL | Área Foliar (cm ²) | IE (%) | CM (%) | ME (mg·g ⁻¹ de suelo) | Esporas-50 g ⁻¹ de suelo |
|--------------------------------|------|--------------------------------|----------|---------|----------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Acaulospora srobiculata</i> | 3:1 | 119.55 ab ^z | 107.1 b | 40.3 a | 32.32 a | 28.0 c |
| | 5:1 | 71.70 cd | 24.26 e | 35.5 b | 28.28 abc | 16.0 d |
| <i>Glomus spurgum</i> | 3:1 | 94.62 bc | 63.9 c | 37.3 b | 27.06 bc | 41.6 a |
| | 5:1 | 107.44 bc | 86.2 bc | 40.4 a | 21.76 cd | 32.0 bc |
| <i>Glomus clarum</i> | 3:1 | 138.83 a | 140.6 a- | 41.4 a | 31.62 ab | 35.6 b |
| | 5:1 | 33.61 e | 41.7 d | 22.7 d | 13.46 e | 32.3 bc |
| Testigo | 3:1 | 57.70 d | — | 30.5 c | 19.56 cd | 15.6 d |
| | 5:1 | 35.84 e | 37.8 f | 32.6 c | 15.23 e | 8.6 e |
| EE | | 6.32*** | 2.59*** | 0.45*** | 1.61*** | 1.97*** |
| CV (%) | | 18.87 | 15.8 | 2.4 | 12.63 | 15.06 |

^zMedias con letras iguales en la misma columna no difieren según Prueba de Duncan a una $P \leq 0.001$. ***, significativo a una $P \leq 0.001$.

S: suelo; HL: humus de lombriz; CM: colonización micorrízica; IE: índice de eficiencia; ME: micomasa endófito; EE: error estándar; CV: coeficiente de variación.

vigorosas. Los mayores efectos de la inoculación micorrízica se registraron en los sustratos con menor relación suelo:HL (5:1), en contraste con la mayor proporción de humus de lombriz (3:1), donde se originaron las plantas más pequeñas e inclusive, menores a las del testigo.

Este fenómeno pudo estar relacionado con las altas concentraciones de nutrimentos presentes en esa relación, lo cual influyó de manera negativa en la efectividad de las cepas (Cuadro 5).

El efecto positivo de la inoculación micorrízica se mantuvo en las condiciones de alta fertilidad, siendo entonces la relación suelo:HL (7:1) en la que se produjeron las mejores posturas de café y por ende donde se logró una colonización más efectiva (Cuadro 6).

La respuesta a la inoculación de plantas de café con HMA en diferentes tipos de suelos, demostró una alta dependencia entre la eficiencia de la micorrización y la

relación suelo:HL, considerando que la calidad de un determinado sustrato depende del tipo de suelo y su fertilidad asociada.

Los resultados apoyan la efectividad de la micorrización con un suministro subóptimo de nutrimentos, y la necesidad de un mínimo de nutrimentos para que la misma garantice los requerimientos de las plantas; de no existir, como en el caso del Experimento 1 la acción de estos microorganismos sería ineficiente.

Los incrementos del área foliar en las plantas inoculadas oscilaron desde 6 hasta 140.6 %, encontrándose efectos positivos tanto en suelos con bajas fertilidad, donde podía ser esperado según Harley y Smith (1983); Saggin-Junior *et al.* (1992); Pate (1994), Smith *et al.* (1994), como en suelos con adecuada fertilidad, corroborando la alta dependencia micorrízica del café (Siqueira y Franco, 1988) y la efectividad, cuando se escogen HMA específicas por tipo de suelo.

CUADRO 5. Efectos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) sobre el área foliar y algunas variables micorrízicas de posturas de café cultivadas en mezclas de suelo cambisol dístico:humus de lombriz (Experimento 2).

| Cepas de HMA | S:HL | Área Foliar (cm ²) | IE (%) | CM (%) | ME (mg·g ⁻¹ de suelo) | Esporas·50 g ⁻¹ de suelo |
|--------------------------------|------|--------------------------------|---------|---------|----------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Glomus spurgum</i> | 3:1 | 249.7 de | 8.94 d | 41.2 bc | 12.20 cd | 52.0 b |
| | 5:1 | 346.8 b | 51.3 b | 41.5 bc | 15.86 bc | 47.0 bc |
| <i>Acaulospora srobiculata</i> | 3:1 | 301.8 c | 31.6c | 35.2 cd | 11.46 cd | 31.3 c |
| | 5:1 | 213.6 fg | -6.8 e | 34.2 d | 9.73 e | 25.0 c |
| <i>Glomus clarum</i> | 3:1 | 206.3 g | -9.9 e | 25.9 e | 8.26 e | 61.3 a |
| | 5:1 | 481.1 a | 109.9 a | 49.5 a | 19.94 a | 50.6 b |
| Testigo | 3:1 | 229.2 ef | - - - | 38.4 bc | 10.53 de | 47.0 b |
| | 5:1 | 243.7 de | 6.3 d | 35.1 cd | 15.26 bc | 38.0 c |
| EE | | 13.90*** | 12.2*** | 1.94*** | 1.23*** | 1.25*** |
| CV (%) | | 6.30 | 10.25 | 15.98 | 17.01 | 17.94 |

*Medias con letras iguales en la misma columna no difieren según Prueba de Duncan a una $P \leq 0.001$. ***; significativo a una $P \leq 0.001$.

S: suelo; HL; humos de lombriz; CM: colonización micorrízica; IE: índice de eficiencia; ME: Micomasa endófito; EE: error estándar; CV: coeficiente de variación.

CUADRO 6. Efectos de hongo micorrízico arbusculares (HMA) sobre el área foliar y algunas variables micorrízicas de posturas de café cultivadas en mezclas de suelo cambisol eútrico:humus de lombriz (Experimento 3).

| Cepas de HMA | S:HL | Área foliar (cm ²) | IE (%) | CM (%) | ME (mg·g ⁻¹ de suelo) | Esporas·50 g ⁻¹ de suelo |
|----------------------------|------|--------------------------------|---------|---------|----------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Glomus clarum</i> | 5:1 | 176.1 c | 6 c | 43.4 c | 13.6 d | 47.0 b |
| | 7:1 | 299.6 a | 80.2 a | 61.8 a | 20.9 a | 41.6 c |
| <i>Glomus fasciculatum</i> | 5:1 | 207.4 b | 24.8 b | 41.1 d | 16.0 cd | 67.0 a |
| | 7:1 | 307.7 a | 85.1 a | 51.1 b | 19.4 b | 44.0 bc |
| <i>Glomus mosseae</i> | 5:1 | 164.4 d | -1.1 d | 38.3 fg | 5.8 e | 43.0 bc |
| | 7:1 | 161.2 d | -3.01 d | 42.4 cd | 6.0 e | 34.0 d |
| Testigo | 5:1 | 83.9 e | -49.5 e | 38.9 e | 11.5 d | 17.3 f |
| | 7:1 | 46.7 f | -71.9 f | 26.7 f | 3.0 f | 22.0 e |
| Testigo | 3:1 | 166.2 d | — | 25.1 e | 4.8 e | 44.2 bc |
| EE | | 5.67*** | 1.11*** | 1.11*** | 1.87*** | 2.10*** |
| CV (%) | | 7.00 | 5.1 | 4.63 | 17.54 | 8.46 |

*Medias con letras iguales en la misma columna no difieren según Prueba de Duncan a una $P \leq 0.001$. ***; significativo a una $P \leq 0.001$.

S: suelo; HL; humos de lombriz; CM: colonización micorrízica; IE: índice de eficiencia; ME: Micomasa endófito; EE: error estándar; CV: coeficiente de variación.

Las especies del género *Glomus*, mostraron un buen comportamiento. Según Herrera *et al.* (1988) y Sieverding (1991), poseen un amplio espectro funcional, predominando en ecosistemas tropicales de alta fertilidad, donde resultan eficientes y competitivas.

La aplicación de *Glomus clarum* produjo efectos positivos en el desarrollo foliar en todos los suelos, al igual que *Glomus fasciculatum*, que solamente se probó en el suelo cambisol eútrico. El estudio de la especie *Glomus spurcum*, aislada en la Provincia de Villa Clara (para este estudio), arrojó también resultados positivos, presentando buen comportamiento cuando se inoculó en condiciones edáficas similares a su origen (Experimento 2).

También se estudió la inoculación de *Acaulospora scrobiculata* (Cuadros 4 y 5), obteniéndose la mejor respuesta a esta especie en el suelo con elevadas concentraciones de aluminio (2.3 a 2.5 cmol·kg⁻¹ de suelo), coincidiendo con los resultados aportados por Barros (1987) en suelos cafetaleros similares.

Por otra parte, se demostró que la intensidad en la respuesta a la micorrización estuvo relacionada con la fertilidad de los suelos, disminuyendo el incremento a medida que aumentó la fertilidad. Los máximos incrementos alcanzado en el área foliar fueron, en el suelo de baja fertilidad, 140.6 %, en fertilidad media de 110 % y en el de alta fertilidad, 86 %.

Estos resultados concuerdan con los criterios de efectividad de la simbiosis en función del contenido de nutrimentos y fundamentalmente del fósforo (Siqueira y Franco, 1988; Sieverding, 1991; Miranda y Harris, 1994, van der Heijden, 2002), y si bien la mayor parte de esta información relaciona la alta efectividad en presencia de bajos contenidos de P disponible en el suelo evaluado como P inorgánico, todo parece indicar que en nuestro caso, al menos para las especies de *Glomus* estudiadas, la cantidad de P disponible asociada con la máxima eficiencia no fue baja.

Efecto de la inoculación de cepas de HMA sobre el funcionamiento de la simbiosis

El funcionamiento fúngico se pudo evaluar a través del porcentaje de colonización y la micomasa endófito arbuscular (ME), sin embargo, la discusión de los resultados, se hará a partir de la información de la ME, debido a que expresa la intensidad de la colonización (Herrera *et al.*; 1994).

Se encontró una elevada relación entre la masa del endófito arbuscular y el área foliar de las posturas, de forma tal que los tratamientos micorrizados que produjeron las mayores posturas presentaron a su vez los mayores valores de ME. En todos los casos (Cuadros 4, 5 y 6) se aprecian

diferencias significativas entre los tratamientos y a medida que la inoculación fue más eficiente se encontraron efectos superiores sobre la ME.

En condiciones de baja fertilidad (Cuadro 4) las variables micorrízicas mostraron los mayores valores (1.62 mg·g⁻¹·suelo) en la menor relación S:HL (3:1). Este fenómeno está relacionado con los bajos niveles de nutrimentos del Acrisol, donde si bien se encontró una respuesta positiva a la inoculación, los valores absolutos de área foliar, fueron inferiores a los alcanzados en otros suelos. En este caso la respuesta a la micorrización fue muy fuerte, sin embargo, las plantas presentaron valores de crecimiento inferiores a los otros experimentos en que la colonización fue menos intensa.

Esto no significa que los mayores efectos de la micorrización estén asociados a posturas más pequeñas, sino que el proceso fue más eficiente, cuando se desarrolló en condiciones de menor disponibilidad de nutrimentos. De la cepa en cuestión va a depender, en que la amplitud de disponibilidad de los elementos se obtiene la mayor eficiencia micorrízica, según lo establecido por Sieverding (1991) y Sánchez (2000).

En los cambisoles (Cuadros 5 y 6), las cepas más eficientes en el desarrollo foliar, *Glomus clarum*, *Glomus fasciculatum* y *Glomus spurcum*, produjeron valores elevados de ME (19.4 y 21.9 mg·g⁻¹).

La inoculación de *Acaulospora scrobiculata* produjo efectos positivos sobre el crecimiento y el funcionamiento fúngico cuando se aplicó en el suelo acrisol, sin embargo, en el cambisol dístico este efecto fue menor. La información evidenció que los valores fúngicos fueron inferiores a los del testigo en los casos en que no hubo efecto de la inoculación, lo cual no debe interpretarse como un proceso infectivo fallido, sino al contrario, la cepa introducida fue agresiva y competitiva para mantener su presencia en el interior radical, aún en detrimento de la propia planta manifestando un evidente proceso parasítico coincidente con lo asegurado por Herrera *et al.* (1988), para especies fúngicas y vegetales en ecosistemas naturales.

Otro aspecto interesante fue la diferencia entre los valores de ME en dependencia de los suelos. Los mayores valores se encontraron en el suelo acrisol, lo cual pudiera ser una consecuencia de la baja disponibilidad de nutrientes, condicionando una mayor reproducción de estructuras fúngicas, para compensar esta situación a través de un mayor funcionamiento micorrízico.

En la Figura 1 se muestran las curvas de tendencia y las ecuaciones de regresión (polinomio de segundo grado) entre la M.E (x) y la producción de área foliar (y), en cada una de las relaciones suelo: abono orgánico estudiadas en los diferentes experimentos.

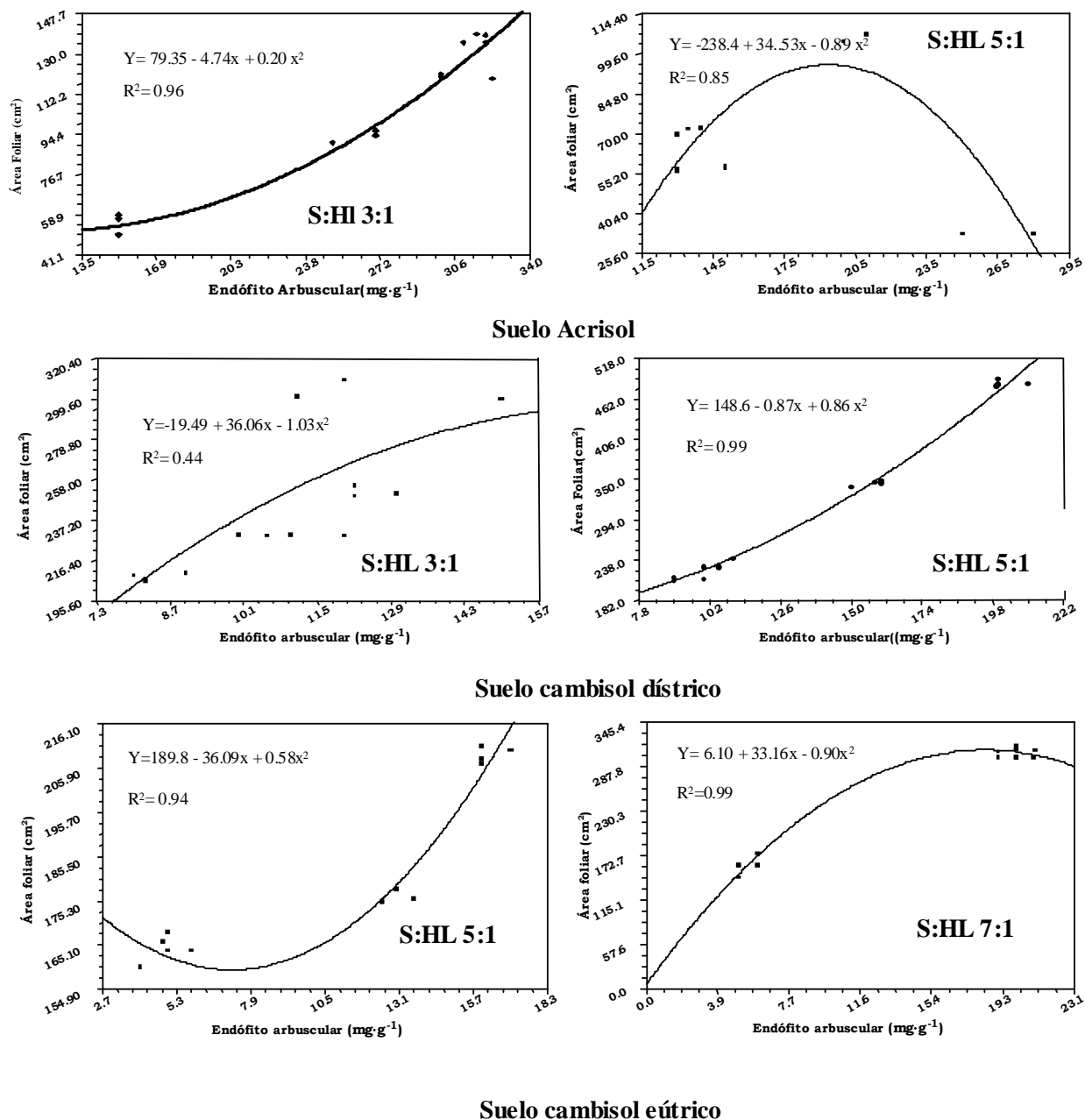


FIGURA 1. Curvas de tendencia y ecuaciones de regresión (polinomio de 2^{do} grado) entre la variable fúngica endófito arbuscular (x) y la producción de área foliar de café (y), en cada una de las relaciones suelo(s): abono orgánico (HL) estudiadas en los diferentes experimentos.

Las mayores relaciones se observaron en los sustratos más adecuados para la micorrización de las posturas de café en cada condición de suelo, siendo en los casos de alta y media fertilidad (Experimentos 3 y 2, respectivamente) donde se reportaron los mayores coeficientes de determinación, indicando que el crecimiento respondió en alta medida a la eficiencia de la micorrización.

Efecto de la inoculación de cepas de HMA sobre los contenidos nutricionales de las posturas de café

Los HMA desempeñan un papel preponderante en

los mecanismos de absorción de nutrientes en las plantas, por lo tanto una de las variables que mejor pueden evaluar la eficiencia de la infección micorrízica en las plantas son los contenidos nutrimentales (Marschner y Dell, 1994).

En el caso del fósforo (P), su proceso de absorción y transporte hacia la planta está muy relacionado con el funcionamiento de la simbiosis micorrízica, constituyendo el metabolito clave en el intercambio hongo-planta (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1988). Sin embargo, elementos como el nitrógeno (N) y el potasio (K) que se mueven en el suelo por efecto de masa, la micorrización no debe desempeñar un papel decisivo en dicho proceso,

no obstante, si la planta está micorrizada no hay dudas de que ellos se translocan a través de las hifas y de hecho la inoculación con cepas eficientes pudiera incrementar su absorción (Mäder *et al.*, 2000).

Si bien los tratamientos micorrizados presentaron los mejores contenidos foliares, éstos, sin embargo, fueron muy bajos sobre suelo acrisol (Cuadro 7), lo que está en correspondencia con la baja fertilidad del mismo (Cuadros 3 y 4).

En los experimentos desarrollados en los suelos del tipo cambisol (Cuadros 8 y 9), los contenidos foliares en la mejor combinación cepa: sustrato, fueron los más altos y de forma general éstos fueron muy similares entre cada experimento, indicando que la micorrización en presencia de un contenido "adecuado" de nutrimentos garantizó un buen estado nutricional, e inclusive óptimo, en las posturas.

CUADRO 7. Contenidos de N, P y K foliares encontrados en plantas cafeto cultivadas en suelo acrisol con cepas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

| Cepas de HMA | S:HL | N (%) | P (%) | K (%) |
|---------------------------------|------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <i>Acaulospora scrobiculata</i> | 3:1 | 1.70 b ^z | 0.13 b | 1.30 a |
| | 5:1 | 1.00 e | 0.10 d | 1.00 d |
| <i>Glomus spurgum</i> | 3:1 | 1.23 c | 0.10 d | 1.13 c |
| | 5:1 | 1.23 c | 0.10 d | 1.00 d |
| <i>Glomus clarum</i> | 3:1 | 1.76 a | 0.14 a | 1.30 a |
| | 5:1 | 1.13 d | 0.10 d | 1.20 b |
| Testigo | 3:1 | 1.00 e | 0.11 c | 1.00 d |
| | 5:1 | 1.00 e | 0.10 d | 1.00 d |
| EE | | 0.037 ^{***} | 0.005 ^{***} | 0.021 ^{***} |
| CV (%) | | 5.32 | 7.46 | 3.34 |

^zMedias con letras iguales en la misma columna no difieren según la prueba de Duncan a una $P \leq 0.001$.

3:1 y 5:1; relación suelo (S):humus de lombriz (HL); CV:coeficiente de variación; EE: error estándar.

***: Significativo a una $P \leq 0.001$

CUADRO 8. Contenidos de N, P y K foliares encontrados en plantas cafeto cultivadas en suelo cambisol dístrico con cepas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

| Cepas de HMA | S:HL | N (%) | P (%) | K (%) |
|---------------------------------|------|---------------------|----------------------|----------------------|
| <i>Glomus spurgum</i> | 3:1 | 1.73 e | 0.22 d | 1.80 c |
| | 5:1 | 2.10 c | 0.31 b | 2.00 b |
| <i>Acaulospora scrobiculata</i> | 3:1 | 2.73 b | 0.30 c | 2.56 a |
| | 5:1 | 1.80 d | 0.20 e | 1.56 d |
| <i>Glomus clarum</i> | 3:1 | 1.44 f | 0.18 f | 1.06 i |
| | 5:1 | 3.03 a | 0.37 a | 2.50 a |
| Testigo | 3:1 | 1.70 e | 0.21 e | 1.23 e |
| | 5:1 | 1.56 f | 0.13 g | 1.66 d |
| EE | | 0.10 ^{***} | 0.007 ^{***} | 0.072 ^{***} |
| CV (%) | | 8.88 | 5.05 | 7.22 |

^zMedias con letras iguales en la misma columna no difieren, según la prueba de Duncan a una $P \leq 0.001$.

3:1 y 5:1; relación suelo (S):humus de lombriz (HL); CV:coeficiente de variación; EE:error estándar.

***: Significativo a una $P \leq 0.001$.

Inoculación de hongos...

La inoculación con cepas seleccionadas influyó de manera positiva en la absorción de los nutrimentos. En el caso de las plantas sin inocular, estas absorben los nutrientes, o se hace necesario incrementar los aportes de éstos para compensar la ausencia de una micorrización eficiente, pues los incrementos nutricionales de las combinaciones inoculadas con las cepas eficientes de HMA indicaron que éstos no fueron suficientes en dichos tratamientos.

En el experimento desarrollado en el suelo tipo acrisol de baja fertilidad, aún cuando la inoculación conllevó a incrementos significativos en el área foliar en comparación con el testigo, el hecho que los contenidos foliares fueran inferiores a los obtenidos en las posturas micorrizadas en los otros experimentos, indicó que parece necesario realizar mayores aportes de nutrimentos aún en presencia de la inoculación para obtener plantas más vigorosas.

CUADRO 9. Contenidos de N, P y K foliares encontrados en plantas cultivadas en suelo cambisol eútrico.

| Cepas de HMA | S:HL | N (%) | P (%) | K (%) |
|----------------------------|------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <i>Glomus clarum</i> | 5:1 | 1.43 f | 0.12 f | 1.33 d |
| | 7:1 | 1.63 d | 0.24 b | 1.40 cd |
| <i>Glomus fasciculatum</i> | 5:1 | 1.90 b | 0.20 c | 1.70 b |
| | 7:1 | 2.70 a | 0.29 a | 2.23 a |
| <i>Glomus mosseae</i> | 5:1 | 1.56 e | 0.16 d | 1.30 e |
| | 7:1 | 1.70 c | 0.15 e | 1.26 f |
| Sin inoculación | 5:1 | 1.06 h | 0.10 g | 1.30 d |
| | 7:1 | 1.03 h | 0.10 g | 1.16 f |
| Testigo | 3:1 | 1.16 g | 0.15 e | 1.00 |
| EE | | 0.068 ^{***} | 0.009 ^{***} | 0.077 ^{***} |
| CV (%) | | 6.57 | 8.40 | 8.34 |

Medias con letras iguales en la misma columna no difieren, según la prueba de Duncan a una $P \leq 0.001$.

3:1 y 5:1; relación suelo (S):humus de lombriz (HL).

***: Significativo a una $P \leq 0.001$.

La inoculación de cepas eficientes de HMA por tipo de suelo y con la relación suelo-abono orgánico adecuada, produjo, así mismo, un incremento significativo en la nutrición mineral de las posturas expresadas en mayores contenidos de nutrimentos (NPK); obteniéndose, además, altas y significativas relaciones entre el área foliar de las posturas, los valores de funcionamiento fúngico (ME) y los índices nutricionales, lo que permite establecer que en éstos experimentos una de las vías principales del efecto agrobiológico de la micorrización se dió a través de mejoras en la absorción de los nutrientes y en el desarrollo del área foliar.

CONCLUSIONES

Se encontró respuesta del cafeto a la inoculación HMA en los tres tipos de suelos en que se estudió, oscilando los

incrementos en la producción de área foliar entre 10 y 257 % con respecto a los testigos de producción.

La eficiencia micorrízica dependió de la fertilidad del sustrato definido por la riqueza del suelo y la relación suelo-abono orgánico utilizado.

Las mejores relaciones suelo: humus de lombriz encontradas por tipos de suelo fueron: cambisol eútrico (alta fertilidad): 7:1; cambisol dístrico (media fertilidad): 5:1; acrisol (baja fertilidad): 3:1.

El funcionamiento fúngico expresado como micomasa del endófito, dependió de la fertilidad del suelo. En condiciones de media y alta fertilidad, las mayores posturas se obtuvieron con valores de endófito entre 20 a 23 mg·g⁻¹ de suelo, mientras que en condiciones de baja fertilidad, los valores adecuados de endófito se elevaron hasta 41.2 mg·g⁻¹ de suelo.

La inoculación de cepas eficientes de HMA por tipo de suelo, produjo incrementos en la nutrición mineral de las posturas, expresadas en mayores contenidos de nutrimentos.

LITERATURA CITADA

- ANTUNES, V. ANTUNES, V.; CARDOSO, E. J. B. N.; SIQUEIRA, J. O. 1988. Interacao entre diferentes tipos de solo e fungos micorrizicos vesículo arbusculares na producao de mudas de café *Coffea arabica*, L. Turrialba 38(2): 117-122..
- AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J. M. 1996. Arbuscular mycorrhiza and biological control of soil-borne plant pathogens- and overview of the mechanism involved. *Mycorrhiza* 6: 457-464.
- BAREA, J. M.; AZCÓN-AGUILAR, C.; OCAMPO, J. A.; AZCÓN, R. 1991. Morfología, anatomía y citología de las micorrizas vesículo-arbusculares, pp. 149-173. *In: Fijación y Movilización Biológica de Nutrientes. Colección Nuevas Tendencias. Vol. II. OLIVARES, J.; BAREA, J. M. (eds.) C.S.I.C. Madrid, España.*
- BARROS, A. 1987. Micorrizas vesículo arbusculares em cafeeiros da regio sul do estado de Minas Gerais. Tesis presentada para optar por maestría. Facultad Agronomía, Lavras. Minas Gerais, Brasil. 97 p.
- CARVAJAL, J. F. 1984. Cafeto, Cultivo y Fertilización. Instituto Internacional de la Potasa, San José, Costa Rica. 254 p.
- MINAGRI. 1987. Instrucciones Técnicas para el Cultivo del Café y del Cacao. Ministerio de Agricultura. La Habana, Cuba. 208 p.
- FERNÁNDEZ, F.; CAÑIZARES, E.; RIVERA, R.; HERRERA, R. A. 1992. Efectividad de tres hongos formadores de micorrizas va (MVA) y una cepa de bacteria solubilizadora de fósforo (BSF) sobre el crecimiento de posturas de cafeto (*Coffea arabica* L.). *Cultivos Tropicales* 13 (1): 28-32.
- FERNÁNDEZ, F. 1999. Manejo de las asociaciones micorrízicas en la producción de posturas de cafeto. Tesis de grado de Doctor en Ciencias. INCA. MES. San José de las Lajas, La Habana, Cuba. 102 p.
- GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. 1963. Spore of mycorrhizae endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans Br. Mycol. Soc.* 46: 235-244.
- GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. 1988. Cellular and genetics aspects of interaction between host and fungal symbionts in mycorrhizae. *Genome* 31: 336-341.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. 1980. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. *New Phytologist* 84: 489-500.
- HARLEY, J. L. ; SMITH, S. E. 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press. New York, USA. 483 p.
- VAN DER HEIJDEN, M. G. A. 2002. Arbuscular mycorrhiza fungi as a determinant of plant diversity: in search for underlying mechanism and general principles, pp. 243-265. *In: Mycorrhizal Ecology. Ecological studies* 157. VAN DEL HEIJDEN, M. G. A.; SANDERS, I. R. (eds.) Springer Verlag. Berlín, Germany.
- HERNÁNDEZ, A. J.; PÉREZ, J.M.; BOSCH, D. I.; RIVERO, L. R. 1999. Nueva Versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba. AGRINFOR. Instituto de Suelos. Ministerio de Agricultura. La Habana, Cuba. 64 p.
- HERRERA, R. A.; FERRER, R.; FURRAZOLA, E.; RODRÍGUEZ, M. 1988. Caracterización y dinámica de las fitomasas de raíces y micorrizas vesículo-arbusculares en la Sierra del Rosario, pp. 447-472. *In: Ecología de los Bosques Siempreverdes de la Sierra del Rosario, Cuba. Proyecto MAB No 1. 1971-1987. ROSTLAC, UNESCO. Capítulo 21. La Habana, Cuba.*
- HERRERA, R. A.; FURRAZOLA, E.; VALDÉS, A. R.; TORRES, Y.; GONZÁLEZ, S. L.; FERRER, R. L.; FERNÁNDEZ, F.; HERNÁNDEZ, L. 1994. Strategies of VA Mycorrhizae for Tropical Forest Functioning. Succession and Competition. International Foundation for Science. IFS. Final Report of IFS Grant D/251-3. "Vesicular-arbuscular Mycorrhizae as an Aid to Reforestation". IES. La Habana, Cuba. 170 p.
- INCA. 1996. Manual de técnicas analíticas del laboratorio de Agroquímica. Documento interno INCA. San José de las Lajas, La Habana, Cuba. 150 p
- LOPES, E. S. ; OLIVEIRA, G.; DÍAZ, R. 1983. Occurrence and distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in coffee plantation in central, Sao Paulo, Brasil. *Turrialba* 33: 417-422.
- MARSCHNER, H. ; DELL, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil* 159: 89-102.
- MÄDER, P.; VIERHAILIG, H.; STREITWOLF-ENGEL, R.; BOLLER, T.; FREY, B. CHRISTIE, P.; WIEMKEN, A. 2000. Transport of ¹⁵N from soil compartment separate by a polytetrafluoroethylene membrane to plants roots via the hyphae of arbuscular mycorrhiza fungi. *New Phytologist* 146: 183-193.
- MIRANDA, J. C. C.; HARRIS, P. J. 1994. The effect of soil phosphorus on the external mycelium growth of arbuscular mycorrhizal fungi during the early stages of mycorrhizal formation. *Plant and Soil* 166: 271-280.
- PATE, J. S. 1994. The Mycorrhizal association: just one way nutrients acquiring specialization in natural ecosystem. *Plant and Soil* 159: 1-10.
- PHILLIPS, D. M.; HAYMAN, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
- READ, D. J.; PÉREZ-MORENO, J. 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystem- a journey towards relevance. *New Phytologist* 157: 657-666.
- RIVERA, R.; FERNÁNDEZ, F.; SÁNCHEZ, C.; BUSTAMANTE, C.; HERRERA, R. A.; OCHOA, M. 1997. Efecto de la inoculación con HMA y bacterias rizosféricas sobre el crecimiento de posturas de cafeto. *Cultivos Tropicales* 3: 14-24.

- RIVERA, R.; FERNÁNDEZ, K. 2003. Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso el Caribe. MINREX. La Habana, Cuba. 166 p.
- RODRÍGUEZ, I. 1992. Certificado de Introducción del resultado científico técnico "Utilización del humus de lombriz en la producción de posturas de café". Dirección Nacional de Café y Cacao. La Habana, Cuba. 1 p.
- SAGGIN-JUNIOR, A.; SIQUEIRA, J. O.; COLLOZZI-FILHO, A.; OLIVEIRA, E. 1992. A Infestacao do solo com fungos micorrízicos no crescimento pos-transplante de mudas de cafeeiro nao micorrizadas. R. Bras. Ci. Solo 16: 39-46.
- SAGGIN-JUNIOR, A.; SIQUEIRA, J. O.; GUIMARAES; P. T. G.; OLIVEIRA, E. Interacao fungos micorrizicos versus superfosfato e seus efeitos no crescimento e te ores de nutrientes do cafeeiro em solo nao fumigado. Rev. Bras. Ci. Solo, 18 (1): 27-36, 1994
- SÁNCHEZ, C. 2001. Uso y manejo de los hongos micorrizógenos y abonos verdes en la producción de posturas de café en algunos suelos del macizo Guamuhaya. Tesis de grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. INCA. MES. San José de las Lajas, La Habana, Cuba. 105 p.
- SIEVERDING, E. 1991. Vesicular Arbuscular Mycorrhiza in Tropical Agrosystem. Deutsche Gesellschaft fur technische Zusammenarbeit GTZ. GMBH. Eschborn, Germany. 371 p.
- SIQUEIRA, J. O.; COLLOZZI-FILHO, A.; SAGGIN-JUNIOR, O.; GUIMARAES, P.T.G. 1993. Crescimento de mudas e producao de cafeeiro sob influencia de fungos micorrízicos e superfosfato. R. Bras. Ci. Solo 17: 53-60.
- SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. 1988. Biotecnología do solo. Fundamentos e Perspectiva. MEC-ESAL-FAEPE-ABEAS. Brasilia, Brasil. 235 p.
- SMITH, S. E. ; GIANINAZZI-PEARSON, V. ; KOIDE, R. ; CAIRNEY, J. G. W. 1994. Nutrient Transport in mycorrhizas: Structure, Physiology and Consequences for efficiency of the symbiosis. Plant and Soil 159: 103-113.
- SMITH, S. E.; READ, D. J. 1997. Mycorrhizal Symbiosis. 2nd ed. Academic Press. London, UK. 605 p.
- SOTO, F. 1980 Estimación del área foliar en *Coffea arabica* L. a partir de las medidas lineales de las hojas. Cultivos Tropicales 2(3): 115-128.
- TREJO, D.; HERNÁNDEZ, E.; FERRERA-CERRATO, R. 1998. Ecología y comportamiento de la endomicorriza arbuscular en el cultivo del café (*Coffea arabica* L.) Avances de la investigación micorrízica en México. Universidad Veracruzana. ZULUETA, R.; ESCALONA, M. A.; TREJO AGUILAR, D. (eds.). Xalapa, Veracruz, México. 283 p.
- TROUVELOT, A.; KOUGH, J.; GIANINAZZI PEARSON, V. 1986. Mesure du taux de mycorrhization va d'un systeme radicaire. recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle, pp. 217 221. In: Physiologi-cal and Genetical Aspects of Mycorrhiza. GIANINAZZI PEARSON, V. ; GIANINAZZI, S. (eds.). INRA. Paris, France.