

COMPORTAMIENTO DE 15 CEPAS DE HONGOS MICORRIZOGENOS (HMA) SOBRE EL DESARROLLO DE POSTURAS DE CAFETO EN UN SUELO PARDO GLEYZOSO.

Ciro Sánchez*, Eugenio Montilla**,
Ramón Rivera,*** René Cupull*

RESUMEN

El trabajo se desarrolló durante tres campañas de vivero en la localidad El Rincón municipio Manicaragua, provincia Villa a una altura de 340 msnm, con el objetivo de determinar el comportamiento de diferentes especies de hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares (HMA) sobre la producción de posturas de cafeto en un suelo Pardo Gleyzoso. Se utilizó un diseño de bloques al azar con tres replicas y 16 tratamientos. A los siete meses de sembradas las posturas se evaluó: altura, diámetro del tallo, número de pares de hojas, área foliar; masa seca aérea, de la raíz y total y se determinó el porcentaje de colonización micorrízica. Los datos se procesaron mediante las técnicas de análisis multivariado, de componentes principales y análisis jerárquico de conglomerados. Las cepas más eficientes fueron *Glomus fasciculatum* (I¹), *Glomus mosseae* ecotipo1 (I⁵), *Glomus mosseae* ecotipo2 (I⁸),

Palabras Clave: Posturas de cafeto, Micorrizas vesículo- arbusculares.

*Estación de Investigaciones de Café Jibacoa. Manicaragua, Villa Clara. Cuba. CP 54590. E-mail: invcafe@cimavc.co.cu.

**Universidad de los Andes (ULA). Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP). Santa Rosa. La Hechicera. Mérida-Venezuela. E-mail: eugmonti@ula.ve

***Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. (INCA) Gaveta postal 1, San José de las Lajas, La Habana Cuba CP 32 700. E-mail: rrivera@inca.edu.cu

BEHAVIOR OF 15 STRAINS OF MYCORRHIZAL FUNGI (HMA) ON THE DEVELOPMENT OF COFFEE SEEDLINGS IN A SOIL GLEYED BROWN

Ciro Sánchez*, Msc. Eugenio Montilla**.
Ramón Rivera, *** René Cupull*

ABSTRACT

The present work was developed during three nursery campaigns in El Rincon location at a height of 340 msnm, with the aim of finding out the effect of different strains of mycorrhizal fungi on the development of coffee seedlings in a soil Gleyed Brown. A randomized blok design with 16 treatments and three replicates was used, besides evaluating stem height, stem diameter, leaf pair number, leaf area, plant top, root and total dry weights, seven months after seeding ; also, mycorrhizal colonization percentage was determined. The data were processed according to multivariate procedure of main components and cluster analysis. The highest values were achieved by *Glomus fasciculatum* (T1), *Glomus mosseae* ecotipo1 (T5) y *Glomus intraradices* (T9)

Key word: Coffea seedlings, Vesicular –arbuscular mycorrhiza

*Estación de Investigaciones de Café Jibacoa. Manicaragua, Villa Clara. Cuba. CP 54590. E-mail: invcafe@cimavc.co.cu.

** Universidad de los Andes (ULA). Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP). Santa Rosa. La Hechicera. Mérida-Venezuela. E-mail: eugmonti@ula.ve

*** Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. (INCA) Gaveta postal 1, San José de las Lajas, La Habana Cuba CP 32 700. E-mail: rrivera@inca.edu.cu

INTRODUCCIÓN

El uso indiscriminado de productos químicos ha provocado grandes trastornos ecológicos en los agrosistemas siendo esta una de las causas de que en los últimos años se ha incrementado el interés en el campo de la microbiología del suelo (Altieri 1997), cobrado especial énfasis el empleo de los hongos micorrizógenos arbusculares por la contribución que estos realizan en la nutrición de las plantas.

Las micorrizas son asociaciones simbióticas mutualistas que se establecen entre las raíces de las plantas y ciertos hongos del suelo (Sieverding et al., 1985). Su principal efecto consiste en promover el crecimiento y desarrollo de las plantas al aumentar su área de exploración radical y facilitar la absorción de diferentes nutrientes como: N, K, Ca, Mg, B, Fe y en especial el ion fosfato (Barea et al., 1991).

El cafeto es un cultivo que de forma natural establece simbiosis con los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), necesitando de estos para su establecimiento, por lo que es considerado un cultivo micotrófico obligatorio (Sieverding, 1991), que presenta una alta dependencia micorrizica (Siqueira y Franco, 1988).

Para los cultivos que inicialmente se propagan en viveros, como el cafeto, ésta es una fase adecuada para efectuar la inoculación con hongos micorrizógenos, donde se combinan cantidades bajas de cepas eficientes y altamente competitivas (Rivera *et al* 2003).

Este trabajo se desarrolló con el objetivo de determinar el comportamiento de 15 cepas formadoras de hongos micorrizógenos en un suelo Pardo Gleyzoso del Escambray.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se repitió durante tres campañas, entre los meses de noviembre y junio en el vivero de la Estación de Investigaciones de Café Jibacoa, provincia de Villa Clara a 340msnm, cuya ubicación geográfica es: N230.10 E 602.70 con temperatura media anual de 22 °C y su precipitación media anual 1600 mm.

El suelo según la clasificación cubana es Pardo Gleyzoso, WRB-FAO UNESCO Cambisol gléyico y Soil Taxonomy Aquic Haplustalf.

Este suelo posee una fertilidad de media, con pH adecuado, contenido medio de materia orgánica, contenidos medios de Ca y Mg intercambiables y con una relación Ca/Mg adecuada de 3,5. Los contenidos de K y P son medios.

Tabla 1. **CARACTERÍSTICAS DEL SUELO EMPLEADO**

	campaña	pH	MO %	P disponible mg.100g ⁻¹	K disponible mg. 100g ⁻¹	Ca cmol. kg ⁻¹	Mg cmol. kg ⁻¹
Cambisol gléyico	1994-95	5.91	3.39	15.50	19.30	7.66	2.30
Cambisol gléyico	1995-96	6.00	3.42	19.14	17.50	8.33	2.20
Cambisol gléyico	1996-97	6.12	3.40	18.60	22.10	8.20	2.40
		6.01	3.40	17.75	19.63	8.06	2.30

Se utilizó un diseño de bloques al azar con 16 tratamientos y tres réplicas, resultantes de la inoculación de las semillas de cafetos con 14 cepas de hongos micorrizógenos sobre un sustrato conformado por una relación 5:1 suelo: humus de lombriz volumen: volumen (v:v) y dos testigos, compuestos por las relaciones suelo: humus de lombriz 5:1 y 3:1 respectivamente, ambos sin inoculación de cepas de HMA (Tabla 2). La relación 3:1 es el testigo, según normas técnicas del cultivo. El sustrato sobre el cual se desarrolló el experimento es mucho más rico que el suelo, resultante de la adición del abono orgánico, no obstante esta mezcla de 5/1 estudiada no garantiza de por sí, todos los nutrientes para el desarrollo óptimo de la postura de cafeto, la cual necesita de una mezcla, más rica en humus de 3/1 (Minagri, 1987). Tabla 3

Tabla 2. **TRATAMIENTOS UTILIZADOS.**

Tratamientos	Relación suelo: humus de lombriz y cepas de HMA inoculadas
T1.	5:1+ <i>Glomus fasciculatum</i> . Francia (Gerdemann & Trappe).
T2.	5:1+ <i>Glomus clarum</i> . Colombia (Nicolson & Schenck).
T3.	5:1+ <i>Glomus spurcum</i> . (Topes de Collantes)
T4.	5:1+ <i>Glomus aggregatum</i> (Schenck & Smith) .
T5.	5:1+ <i>Glomus mosseae</i> (ecotipo 1) (Gerdemann & Trappe).
T6.	5:1+ <i>Glomus etunicatum</i> , Pinar del Río. (Becker & Gerdemann).
T7.	5:1+ <i>Glomus etunicatum</i> , Topes de Collantes. (Becker & Gerdemann).
T8.	5:1+ <i>Glomus mosseae</i> (ecotipo 2) (Gerdemann & Trappe).
T9.	5:1+ <i>Glomus intraradices</i> , UNAM México (Schenck & Smith)
T10.	5:1+ <i>Acaulospora scrobiculata</i> (Trappe).
T11.	5:1+ <i>Glomus occultum</i> , CIAT Colombia (Walker).
T12.	5:1+ <i>Glomus caledonium</i> (Gerdemann & Trappe)
T13.	5:1+ <i>Glomus mosseae</i> (ecotipo 3) (Gerdemann & Trappe).
T14.	5:1+ <i>Glomus mosseae</i> (ecotipo 4) (Gerdemann & Trappe).
T15.	5:1. Sin inoculación.
T16.	3:1. Sin inoculación

3:1= Tres partes de suelo y una de humus de lombriz;

5:1= Cinco partes de suelo y una de humus de lombriz;

Cada parcela estuvo conformada por 120 plantas, de las cuales se evaluaron 24 al finalizar el período experimental.

En todos los experimentos se utilizaron bolsas de polietileno negro de 14cm de diámetro por 22cm de alto, llenas con los sustratos correspondientes, donde se sembraron dos semillas de *Coffea arabica* L., variedad 'Caturra Rojo', dejando una sola plántula por bolsa cuando el 80% de éstas alcanzó la fase de mariposa.

En todos los casos se utilizó como sombra la proyectada por cobertizos individuales de pencas de *Roystonea regia* (guano).

Las actividades agrotécnicas para la producción de posturas se realizaron

según las Instrucciones Técnicas para el Cultivo del Café y el Cacao (Cuba. Ministerio de la Agricultura 1987).

Las cepas de HMA certificadas que se utilizaron inicialmente provenían del cépario del Instituto de Ecología y Sistemática (IES), perteneciente al Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA).

Pasado 90 días se extrajo el inoculante con las siguientes características de calidad micorrízica: raicillas infectadas (60%) y esporas (≥ 20 esporas. g de suelo⁻¹), con un grado de pureza superior al 95%.

El inóculo se aplicó en el momento de la siembra debajo de las semillas a razón de 10g por bolsas, de acuerdo con la metodología descrita por Sieverding (1991).

A los siete meses, para caracterizar el desarrollo de las posturas, se evaluó la altura de la planta, el diámetro del tallo, el número de pares de hojas, el área foliar, la masa seca aérea, la masa seca de la raíz y total.

Para determinar el parámetro fúngico Porcentaje de colonización, se tomaron muestras de raicillas de los distintos tratamientos y se aplicó la metodología descrita por Phillips y Hayman (1970), para clasificar y teñir las raicillas. La cuantificación se realizó por el método descrito por Giovannetti y Mosse, (1980); los valores se transformaron según Arc. sen \sqrt{x} .

Los datos se procesaron mediante técnicas de análisis multivariado de componentes principales, que permiten estudiar las relaciones entre las variables cuantitativas, reduciendo su número a través de la síntesis de otras que se forman que no están correlacionadas entre si (Varela, 1998). Se estandarizaron las más representativas y se procesaron mediante análisis Jerárquico de conglomerados (Cluster análisis) para permitir la creación de los grupos de tratamientos (cepas de HMA) de acuerdo con su comportamiento. Se realizó análisis factorial 16 x 3 (cepas x años) y se eliminó el efecto de las réplicas en los años, según Steel y Torrie (1990).

Al encontrar diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, se aplicó la prueba de comparación de rangos múltiple de Duncan, con $P \leq 0.001\%$ como criterio comparativo entre estos.

Tabla 3. **CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL SUSTRATO UTILIZADO (MEZCLA DE SUELO/HUMUS DE LOMBRIZ EN RELACIÓN**

5/1)

	campaña	pH	MO %	P disponible mg. 100g ⁻¹	K disponible mg.100g ⁻¹	Ca cmol.kg ⁻¹	Mg cmol. kg ⁻¹
Cambisol gléyico	1994-95	6.00	4.30	72.80	40.48	13.21	4.60
Cambisol gléyico	1995-96	5.95	4.34	75.80	41.00	11.30	4.10
Cambisol gléyico	1996-97	6.17	4.41	80.00	45.90	15.60	3.98
		6.04	4.35	76.2	42.46	13.37	4.23

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

El análisis de los componentes principales mostró la mayor extracción para la primera componente, la cual explicó en un 87% la variación total de los índices evaluados en los diferentes tratamientos (Tabla 4).

Se encontró una alta correlación entre las variables de crecimiento, siendo la masa seca y el área foliar las que alcanzaron los mayores coeficientes de correlación, con valores similares corroborándose lo planteado por Soto (1994) de que el área foliar es un índice que expresa adecuadamente la respuesta del crecimiento integrado de las posturas, siendo esta la variable más comúnmente utilizada para definir el desarrollo de las posturas de cafeto (Soto 1994; Rivera et al., 1997; Fernández, 1999).

Tabla 4. **COMPONENTES PRINCIPALES, VECTORES PROPIOS Y PORCENTAJE DE CONTRIBUCIÓN. (PROMEDIO DE TRES CAMPAÑAS).**

VARIABLES	C1
Altura	0.95*
Diámetro del tallo	0.90*
Pares de hojas	0.77*
Área foliar	0.96*
Masa seca aérea	0.97*
Masa seca de la raíz	0.97*
Masa seca total	0.98*
λ	6.08
Contribución (%)	87.00

Leyenda: C1: Componente principal

A través de los análisis multivariados de los componentes principales y

análisis de cluster se aprecia el efecto diferenciado ocasionado por la inoculación de las diferentes cepas de HMA en el desarrollo de las posturas de cafetos (Figuras 1 y 2).

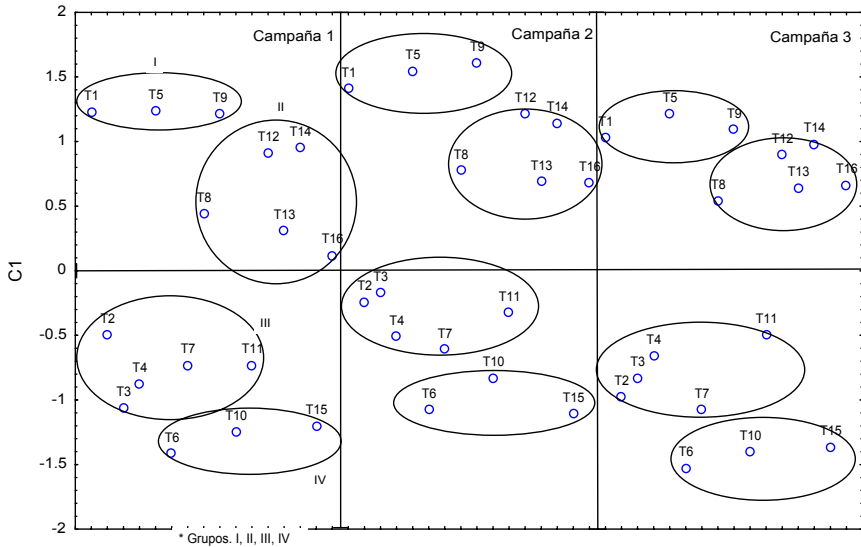


Figura 1. Efecto de la Inoculación con Cepas de HMA en el Desarrollo de Posturas de Cafetos

Análisis Multivariado

Se destaca en las tres campañas la formación de cuatro grupos compuestos por las mismas cepas, lo cual indica que el comportamiento de éstas fue altamente reproducible y tiene un alto valor práctico para el manejo de las asociaciones micorrízicas a través de la inoculación con cepas de HMA.

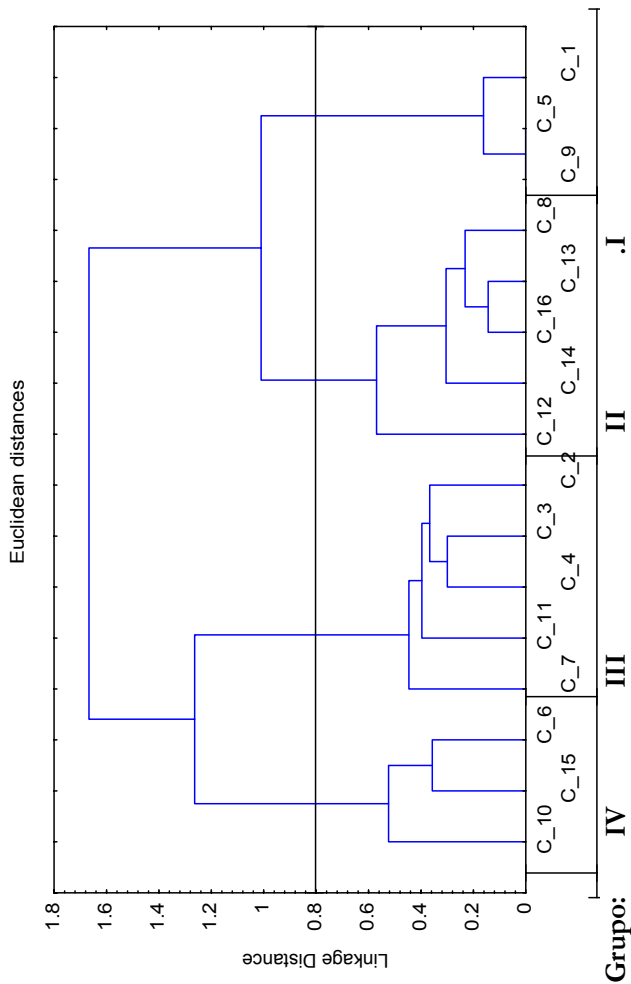


Figura 2. Dendrograma de Comportamiento de los Tratamientos

En relación con el agrupamiento de las cepas (Figuras 1 y 2) se encontró que el grupo I estuvo integrado por las cepas *Glomus fasciculatum* (T1), *Glomus mosseae* ecotipo1 (T5) y *Glomus intraradices* (T9), quienes propiciaron los mayores valores promedios en los diferentes índices de crecimiento evaluados y con un comportamiento superior al tratamiento recomendado en las Normas Técnicas (Tabla 5). Estos resultados confirman los alcanzados por Trelles (1995); Ojeda et al. (1995) y Fernández (1999) quienes lograron buenos resultados cuando utilizaron la cepa *Glomus fasciculatum* en suelos con características similares al utilizado en el experimento en los cultivos de Guayaba, Leucaena y Cafeto, respectivamente.

Tabla 5. VALORES PROMEDIOS DE LOS INDICES ANALIZADOS POR CADA GRUPO.

Grupo (#)	Tratamientos (#)	Altura (cm)	Diámetro del tallo (cm)	Pares de hojas (#)	Area foliar (cm ²)	Masa seca total (g)
I.	1,5,9.	24.50 ± 0.30	0.43 ± 0.01	7.43 ± 0.11	476.80 ± 5.81	5.07 ± 0.08
II	8,12,13,14,16.	21.14 ± 1.06	0.40 ± 0.08	7.35 ± 0.06	398.36 ± 9.36	4.61 ± 0.20
III	2,3,4,7,11.	18.37 ± 0.46	0.38 ± 0.01	7.06 ± 0.11	349.56 ± 20.41	3.53 ± 0.09
IV	6,10,15.	15.56 ± 0.75	0.33 ± 0.01	6.84 ± 0.05	286.93 ± 13.31	3.06 ± 0.08

Se observa la alta eficiencia micorrízica alcanzada con la inoculación de las cepas de HMA que formaron el grupo I, (relación suelo: humus de lombriz 5:1), las cuales produjeron un desarrollo superior al alcanzado por el tratamiento más comúnmente utilizado en la producción de posturas de cafeto (3:1 suelo: humus de lombriz). El cual disponía de un 34% más de abono orgánico que el anterior.

Esta eficiencia micorrízica, según señala Barea et al. (1991) se explica por el incremento del área de exploración radical de las plantas y sus consiguientes incrementos en la absorción de nutrimentos, lo que implica que en una misma condición de disponibilidad de estos, se presenten mayores coeficientes de aprovechamiento y crecimiento de las plantas en el caso de una micorización eficiente.

El grupo II estuvo conformado por las cepas *Glomus mosseae* ecotipo2 (T⁸), *Glomus caledonium* (T¹²), *Glomus mosseae* ecotipo3 (T¹³), *Glomus mosseae* ecotipo4 (T¹⁴) que mantuvieron un comportamiento similar al tratamiento recomendado en las Normas Técnicas. (T¹⁶).

Las cepas que ocasionaron los peores crecimientos fueron *Glomus etunicatum* (T⁺), *Glomus Acaulospora scrobiculata* (T¹⁰) presentando un comportamiento similar al testigo no inoculado, en la relación suelo: humus de lombriz 5:1 (T¹⁵), indicativa de la no existencia de una simbiosis efectiva de estas cepas en este tipo de suelo.

CONCLUSIONES:

1. Se encontró un efecto positivo de la inoculación con cepas de HMA sobre la producción de posturas de cafetos, con una alta reproducibilidad en cualquiera de los años estudiados.
2. Las cepas más eficientes fueron *Glomus fasciculatum* (T1), *Glomus mosseae* ecotipo1 (T5) y *Glomus intraradices* (T9)
3. Con la inoculación de una cepa eficiente de HMA en la relación suelo humus de lombriz.5:1 se obtienen posturas similares a las alcanzadas en el tratamiento recomendado en la norma técnica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Altieri, M. A. 1997. **Agroecología.** Bases Científicas para una Agricultura Sustentable. CLADES. ACAO. Tercera Edición. La Habana. 249p.
2. Barea, J. M.; Azcon-Aguilar. C; Ocampo, J. A.; R. Azcon. 1991. **Morfología, Anatomía y Citología de las Micorrizas Vesículo Arbusculares.** EN: fijación y movilización de nutrimentos II. Fijación de nitrógeno y micorrizas Madrid, - 150-173.
3. Cuba. 1987. Ministerio de la Agricultura. **Instrucciones Técnicas para el Cultivo del Café y el Cacao.** Ciudad de La Habana: CIDA, 208 p.
4. FAO-ISRIC and ISSS. (1998). **World Reference Base for Soil Resources.** *World Soil Resources Report 84.* Vienna: FAO.
5. Fernández, F. 1999. **Manejo de las Asociaciones Micorrízicas Arbusculares sobre la Producción de Posturas de Cafeto (C. arabica L. var. Catuaí) en Algunos Tipos de Suelos.** Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. La Habana. Inst. Nac. Cienc. Agrícolas, MES. 102 p.
6. Giovannetti, M.; B. Mosse. 1980. **An Evaluation of Techniques for Measuring Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Infections in Root New Phytol.** 489-500.
7. Hernández, A. J. 1995. **Nueva Versión de Clasificación Genética de Suelos de Cuba.** Instituto de suelos. MINAG.
8. Ojeda, L. 1998. **Efecto de Micorrizas Vesículo Arbusculares del Genero Glomus en la Producción de Leguminosas Forrajeras Promisorias en la Cuenca Pecuaria El tablón.** Tesis para optar por el grado de doctor en ciencias Agrícolas. La Habana. 125p
9. Phillips, D. M.; D. S. Hayman. 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.

10. Rivera, R.; F. Fernández; C, Sánchez. 1997. **Efecto de la Inoculación con Hongos Micorrizogénos (v.a) y Bacterias Rizosféricas sobre el Crecimiento de las Posturas de Cafeto.** *Cultivos Tropicales* 18(3): 15-23.
11. Rivera, R; F. Fernández; A, Hernández; J., R., Triana y Kalyane Fernández. 2003 **EL Manejo Efectivo de la Simbiosis Micorrizica, una Vía Hacia la Agricultura Sostenible Estudio de Caso:** El caribe: Ciudad de La Habana. 160 p.
12. Sieverding, E.; Mariana Sánchez de Prager; N. B. Otero. 57-124. **Investigación Sobre Micorrizas.** Memorias sobre el primer curso nacional sobre micorrizas. Colombia.
13. Sieverding, E. 1991. **Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal in Tropical Agrosystems.** Federal Republic of Germany: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (Gtz) GMBH. 371 p
14. Siqueira, J. O.; A. Franco. 1988. **Biotecnología do Solo Fundamentos e Perspectivas.** Ciências nos Trópicos Brasileiros. Serie Agronomía. 235 p.
15. Soto, F. 1994. **Crecimiento de Posturas de Cafetos (C. arabica L.) Influido por Diferentes Condiciones de Aviveramiento.** Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. (INCA).-- La Habana: Inst. Nac. Cienc. Agrícolas, MES. 174 p.
16. Steel, R.; J. Torrie. 1995. **Bioestadística. Principios y Procedimientos.** México: Mc Graw/ Interamericana de México, 1990. PP. 328-333.
17. Trelles, N. 1995. **Estudio del Uso de las Micorrizas Vesículo Arbusculares del Género Glomus en el Cultivo de la Guayaba.** Tesis para optar por el título de ingeniero agrónomo.(UCLV) Santa Clara.
18. Várela, M. 1998. **Análisis Multivariado de Datos.** Aplicación a las Ciencias agrícolas. Departamento de Matemática aplicada. La Habana: Inst. Nac. Cienc. Agríc., MES, 56 p.