

Efecto del EcoMic y MicoFert en condiciones de cepellón para el cultivo de *Nicotiana tabacum*, Lin., var. Criollo 98, bajo diferentes dosis de fertilizantes fosfórico.

Águeda C. Páez Gázquez, Jorge L. Cué Díaz, Esteban García Quiñónez, Edenis Miranda Izquierdo y Nancy Viñas Suárez

Universidad de Pinar del Río. Cuba

RESUMEN. Con el objetivo de determinar la o las dosis de fertilizantes químicos cuyos niveles de fósforo, permitan una mayor efectividad en el proceso de micorrización empleando EcoMic® y MicoFert® en plántulas de tabaco negro (*Nicotiana tabacum* L. var Criollo 98) bajo condiciones de cepellón, se desarrolló durante la campaña 2002-2003, en la Estación Experimental del Tabaco de San Juan y Martínez, un experimento bifactorial de parcelas divididas, montado sobre un diseño de bloques completos al azar (BCA), compuesto por 15 tratamientos y 4 réplicas. Dicho experimento fue realizado en los meses comprendidos de diciembre (2002) a enero (2003) durante la fase de semilleros, con la aplicación de la tecnología de cepellón, en donde fueron inoculados los productos EcoMic y MicoFert con un sustrato compuesto por un 80 % de turba negra y 20 % de cáscara de arroz ensayándose dosis de fósforo de 0; 0,01; 0,02; 0,03 y 0,04 g/L (0, 25, 50, 75 y 100 %) según la dosis recomendada de 0,5 g/L a aplicar en dicha tecnología, de la fórmula soluble 20-8-20. Los resultados obtenidos fueron procesados estadísticamente mediante un análisis de varianza de clasificación doble (ANOVA) y la prueba de Duncan para la comparación de medias, empleándose el SPSS 10,1. Se demostró que la inoculación de MicoFert y EcoMic al momento de la siembra provoca efectos positivos en el comportamiento morfo-fisiológico de las plantas de tabaco negro, lográndose colonización del sistema radical, en los tratamientos donde se inocularon MicoFert y EcoMic, con el nivel de 75 % de P_2O_5 (0,03 g/L).

Palabras clave: Tabaco, EcoMic, MicoFert, cepellón.

ABSTRACT. The aim of our study was to determine the correct dose of the Phosphorate-Chemical fertilizers to improve the process of micorhyzae association using EcoMic® and MicoFert® in black tobacco (*Nicotiana tabacum*, L var Criollo 98) under floating tray technology during 2002-2003 in the Experimental Station of Tobacco in San Juan y Martínez. The bi-factorial split-parcel experiment was designed and set over a randomized complete block design with 15 treatments and 4 replicas. During phase of seed-bed was inoculated the EcoMic® y MicoFert® into the seedling-bed using a substrate with 80 % of peat, 20 % of rice peel and different doses of phosphorous from 0; 0,01; 0,02; 0,03 and 0,04 g/L, corresponding with 0, 25, 50, 75 and 100 % of the dose suggested for this technology (20-8-20). The results were statistically assessed with a bi-factorial analysis of variance (ANOVA) and their significance was tested with a Duncan test using the SPSS 10.1 version package. The inoculation with MicoFert® and EcoMic® during the 15 days after the seedling establishment have positive effects in the morpho-physiological characteristics of the tobacco seedling particularly when the level of phosphorous (P_2O_5) was 75 % (i.e. 0,03 g/L), under this condition the radical system.

Key words: tobacco, EcoMic, MicoFert.

INTRODUCCIÓN

La agricultura como sistema multidisciplinario e integral requiere del conocimiento y la aplicación de diversas ciencias, cuyos aspectos de estudio influyen sobre la sostenibilidad de la producción agrícola y la conservación del medio ambiente.

Uno de estos aspectos es garantizar los requerimientos nutrimentales de los cultivos donde interactúan activamente las plantas, el suelo y las

fuentes externas de suministro de nutrientes, dentro de los que se encuentran los fertilizantes minerales, que aplicados a la agricultura moderna a gran escala y en exceso han traído graves consecuencias.

Teniendo en cuenta las razones antes expuestas, ha resultado imprescindible la búsqueda y evaluación de fuentes alternativas de fertilización; siendo una de ellas, el uso de biofertilizantes.

En este sentido, en Cuba, la utilización de biofertilizantes como EcoMic y MicoFert en una gran gama de cultivos, ha contribuido de manera satisfactoria a la reducción parcial del empleo de fertilizantes minerales, sin verse afectada la calidad biológica de las producciones.

La presencia de hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares en estos productos resulta de gran interés en la actualidad, pues estos endófitos juegan un papel fundamental sobre la planta huésped al incrementar la adquisición de nutrientes, siendo importante su efecto selectivo sobre el fósforo (Gildon y Tenker, 1983; Saif, 1987, citado por de la Noval *et al.*, 1997).

El cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum*, L.) es un renglón agrícola de gran importancia económica para Cuba y particularmente para la provincia de Pinar del Río, siendo la tecnología de producción de plantas en bandejas flotantes (cepellón) una de las vías de producción que cobra auge hoy día en el mundo para lograr plantas de calidad, de tamaño uniforme y sistema radical vigoroso, además de un alto rendimiento de plantas por m².

Es conocido que el cultivo del tabaco está incluido dentro de las plantas que se caracterizan por poseer una micotrofia facultativa (Collins y Pflieger, 1992); existiendo varios factores que pueden afectar el desarrollo de la simbiosis mutualista entre estos hongos y las raíces de estas plantas, uno de ellos es el alto contenido de fósforo asimilable en la rizosfera.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en la campaña 2002-2003 en la Estación Experimental del Tabaco, "Finca Vivero", en San Juan y Martínez, provincia de Pinar del Río, desarrollándose un experimento bifactorial de parcelas divididas montado sobre un diseño de bloques completos al azar (BCA). El mismo se desarrolló en la fase de semilleros, con la aplicación de la tecnología de producción en bandejas flotantes o cepellón.

El diseño correspondiente al experimento tuvo las características siguientes:

Tratamientos o variantes

En todos los casos se hizo empleo del sustrato comercial (SC).

- Inoculado con MicoFert + (0 % P₂O₅) (1).
- Sin inocular + (0 % P₂O₅) (2).
- Inoculado con EcoMic + (0 % P₂O₅) (3).
- Inoculado con MicoFert + (25 % P₂O₅) (4).
- Sin inocular + (25 % P₂O₅) (5).
- Inoculado con EcoMic + (25 % P₂O₅) (6).
- Inoculado con MicoFert + (50 % P₂O₅) (7).
- Sin inocular + (50 % P₂O₅) (8).
- Inoculado con EcoMic + (50 % P₂O₅) (9).
- Inoculado con MicoFert + (75 % P₂O₅) (10).
- Sin inocular + (75 % P₂O₅) (11).
- Inoculado con EcoMic + (75 % P₂O₅) (12).
- Inoculado con MicoFert + (100 % P₂O₅) (13).
- Sin inocular + (100 % P₂O₅) (14).
- Testigo, Inoculado con EcoMic + (100 % P₂O₅) (15).

El llenado de las bandejas, fue a razón de 5 L/bandeja. El método de inoculación del EcoMic y MicoFert fue la mezcla de los mismos con el sustrato comercial.

El EcoMic, es una mezcla de especies del género *Glomus*; dicho producto es comercializado por el Instituto de Ciencias Agrícolas (INCA).

El MicoFert, está constituido por la cepa IES-9; este producto es elaborado por el Instituto de Ecología y Sistemática (IES).

La tabla 1 representa la cantidad de EcoMic y MicoFert empleada por bandejas, según el producto comercial.

Tabla I. Cantidad de EcoMic y MicoFert empleada en el experimento

	Total	Cantidad (kg/m ² ó L/m ²)	
		Por bandeja	Total
Bandejas inoculadas con EcoMic	20	0,2 kg/m ²	4 kg
Bandejas inoculadas con MicoFert	20	0,2 L/m ²	4 L

Se empleó semilla básica de tabaco negro, dicha variedad proviene de los progenitores siguientes: Habana 92 * Habana PR.

La tabla 2 refleja las dosis de fertilizantes químicos aplicadas (g/L), en los niveles de fósforo de 0 a 100 %.

Tabla 2. Dosis de fertilizantes químicos (fósforo) aplicadas.

Niveles de fósforo (%)	Dosis de fósforo (g/L)
100	0,04
75	0,03
50	0,02
25	0,01
0	0

Variables morfo-fisiológicas, fúngicas y productivas estudiadas

Caracteres morfológicos: área foliar (AFo) en cm². Caracteres fisiológicos: Masa seca (MS) en mg y tasa de crecimiento absoluta (TAC) en mg/d. Carácter fúngico: porcentaje de colonización micorrizógena (CM) (%). Carácter productivo: producción de posturas útiles.

Las mediciones y evaluaciones de los dos primeros grupos de caracteres fueron realizadas en tres momentos (35, 42 y 49 días después de la siembra, salvo la tasa de crecimiento, la cual fue determinada a los 42 y 49 días después de la siembra), mientras que las correspondientes a los últimos caracteres (porcentaje de colonización micorrizógena y producción de posturas útiles) fueron realizadas posteriormente, a los 49 días de la siembra.

Los criterios fisiológicos de masa seca total (35, 42 y 49 días) y tasa de crecimiento absoluta (TAC),

fueron determinados y analizados empleando el método de Watson (1952).

La colonización micorrizógena (CM), fue determinada empleando el Método de Intercepto de Giovanetti y Mosse (1980), siendo necesario realizar la tinción de las raicillas según la metodología de Phillips y Hayman (1970).

El procesamiento de los datos obtenidos en el experimento fue efectuado mediante un análisis de varianza de clasificación doble (ANOVA), con una probabilidad de error del 5 % a partir de los valores medios de cada una de las variantes.

Para determinar las diferencias entre las variantes se utilizó la dócima de rangos múltiples de Duncan. Se empleó el procesador estadístico SPSS 10.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 3 representa el comportamiento de los tratamientos a los 49 días de la siembra en la fase de semillero en los parámetros estudiados.

En la misma se puede apreciar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos inoculados y sin inocular con EcoMic y MicoFert pertenecientes al 50, 75 y 100 % de fósforo (7 al 15). Los tratamientos de peor comportamiento fueron el 1, 2 y 3 pertenecientes al 0 % de fósforo.

Los resultados del área foliar en los tratamientos reflejan la existencia de diferencias significativas, pudiéndose apreciar que la mejor respuesta se alcanzó cuando se inoculó MicoFert con 75 % de fósforo (0,03 g/L) (10); seguido de EcoMic con igual nivel de fósforo (12).

En los resultados obtenidos de la tasa de crecimiento absoluta se refleja diferencia estadística. El mejor comportamiento lo presentaron los tratamientos 7 y 10 (50 % de fósforo, 0,02 g/L, e inoculado con MicoFert y 75 % de fósforo, 0,03 g/L, e inoculado con MicoFert). Los tratamientos de peor comportamiento, fueron los de niveles de 0 y 25 % de fósforo (0 y 0,01 g/L) y, dentro de éstos, el más crítico fue el de 0 % de fósforo.

Tabla 3. Variación de los tratamientos a los 49 días de la siembra en la fase de semillero

Tratamientos	MS Total (mg)	TCA (Mg/día)	Area Foliar (cm ²)	Posturas útiles por bandejas
1	98 c	2,5714 f	53,62 f	-
2	103 c	2,1429 f	55,74 f	-
3	93 c	3,0000 f	51,42 f	-
4	213 b	8,1429 e	89,79 de	156b
5	192 b	4,0000 ef	80,13 e	168b
6	217 b	9,8571 de	92,43 de	158b
7	310 a	21,1429 a	119,23 abc	253a
8	286 a	14,2857 bcd	106,77 bcd	249a
9	298 a	17,8571 ab	123,06 abc	250a
10	316,5 a	21,6429 a	128,99 a	254a
11	304 a	15,4286 bc	122,24 abc	251a
12	310,3 a	18,7571 ab	126,77 ab	253a
13	292,5 a	15,8429 bc	103,67 cd	253a
14	276 a	12,4286 cde	97,01 de	252a
15	296,8 a	16,9714 abc	108,08 abcd	251a
S_z	17,2	47	7,05	12,3

Los resultados en el porcentaje de colonización micorrizógena (% CM), muestran que el tratamiento mejor fue el 10 (75 % de fósforo, 0,03 g/L, e inoculado con MicoFert) seguido por el tratamiento 12 (75 % de fósforo, 0,03 g/L, e inoculado con EcoMic), según se reflejan en la figura 1.

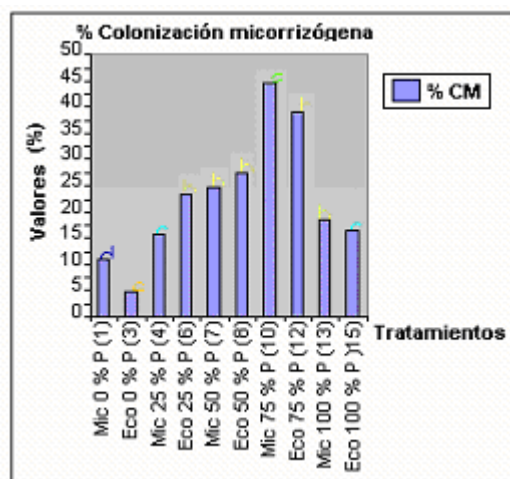


Figura 1. Porcentaje de colonización micorrizógena a los 49 días del experimento.

En el comportamiento de la producción de posturas útiles por bandejas se puede apreciar que existen diferencias significativas entre las medias de los tratamientos inoculados con EcoMic, MicoFert y sin inocular, pertenecientes a niveles de fósforo de 50, 75 y 100 % (0,02; 0,03 y 0,04 g/L, respectivamente), incluyéndose en este grupo élite

el tratamiento testigo (14) cuyos valores de producción oscilaron como promedio entre 249 y 254 posturas útiles.

El comportamiento de las plántulas de tabaco en los diferentes tratamientos estudiados bajo las condiciones de bandejas flotantes (cepellón),

evidenciaron que existió una marcada estimulación del ritmo de desarrollo cuando se inocularon los productos comerciales EcoMic y MicoFert y se aumentaron paulatinamente las dosis de fertilizantes fosfatados; observándose los mejores resultados en las plántulas inoculadas con porcentajes entre 50 y 75 % de este elemento.

La tabla 3 representa el comportamiento de la masa seca total (MS total en mg) a los 49 días de edad junto con el resto de los parámetros estudiados. En esta variable se manifestaron evidentes signos de desarrollo siendo más marcados a partir de los tratamientos con porcentajes de fósforo de 50 %, que se corresponden con los tratamientos del 7 al 15.

El análisis del área foliar y tasa absoluta de crecimiento, demostraron significación en el tratamiento número 7.

De modo general, como consecuencia de la formación de hongos MVA ya sea por su existencia en el medio natural o por la inoculación de ellos a partir de productos comerciales o inoculando cepas de los diferentes géneros en sustratos artificiales, tiene lugar normalmente una considerable estimulación del ritmo de desarrollo de las plantas, que influye finalmente en incrementos en la producción de biomasa y, por ende, en el resto de las variables tanto morfológicas como fisiológicas.

Los resultados obtenidos en este estudio evidenciaron signos de desarrollo morfofisiológico en la especie (*Nicotiana tabacum*) siendo más evidente en los rangos entre 50 y 75 % de este elemento.

Son muchos los criterios y las contradicciones que hoy se discuten acerca del verdadero rol que juega la aplicación de fertilizantes químicos y, en especial, el papel del fósforo sobre el desarrollo de las simbiosis mutualistas con los MVA. La generalidad de los estudios ha sido en experimentos donde se ha empleado suelo, estando más limitados los experimentos donde crecen las plantas en sustratos comerciales y específicamente en la tecnología de bandejas flotantes (cepellón), empleando como sustratos de crecimiento turba negra y cáscara de arroz; el conocimiento actual es aún muy escaso.

Teniendo en cuenta lo anteriormente planteado se considera que *N. tabacum*, bajo condiciones de cepellón y con niveles de P_2O_5 que oscilan entre el 0 y 100 % (0 a 0,04 g/L de fósforo), es capaz de establecer simbiosis mutualistas con las MVA cuando se emplean productos tales como EcoMic y MicoFert, siendo los rangos de porcentajes entre 50 y 75 (0,02 y 0,03 g/L de fósforo) los que expresan más claramente este mutualismo, estando implicados, en estos resultados los factores siguientes:

- Edad de las plántulas,
- características anatomorfológicas del sistema radical de esta especie perteneciente a la clase *Magnoliatae*,
- fase de desarrollo de la especie en el momento de la inoculación de los productos EcoMic y MicoFert,
- buen estado sanitario y vigor de las plántulas,
- empleo de un sustrato de crecimiento con buenas características físicas y estado de agregación,
- micotrofia facultativa de la especie,
- empleo de dosis moderada de P_2O_5 en los embalses del cepellón.

La inoculación temprana de los productos comerciales EcoMic y MicoFert influyó en los resultados obtenidos coincidiendo con los planteamientos de Azcón-Aguilar (1994), quienes afirman que existen mejoras considerables en el desarrollo de las plantas cuando éstas son inoculadas tempranamente con hongos MVA.

Por otra parte, el fósforo, elemento esencial para las plantas, por formar parte de los ácidos nucleicos, los fosfolípidos, las coenzimas NAD y NADP y lo que es más importante, como parte integrante del ATP (Vázquez y Torres, 1995); fue suministrado en el embalse del cepellón en dosis creciente según los tratamientos estudiados que coinciden con el incremento del desarrollo observado en dichos tratamientos.

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente planteado, se puede afirmar que las dosis de fertilizante fosfórico en los porcentajes 50 y 75 %, son adecuadas para un desarrollo morfofisiológico eficiente en el cultivo de *N. tabacum*.

La micotrofia facultativa de la especie en este estudio

no pareció provocar importantes cambios desfavorables en el desarrollo de las plántulas; por el contrario, lo favoreció, pudiendo ello estar dado por estimulaciones citoplasmáticas que pudieron haber implicado: formación de nuevos orgánulos, movilización de nuevas reservas de almidón, aumento de la respiración a nivel celular, aumento de la actividad enzimática, incrementos de la superficie de la pared celular, entre otros.

Todos los resultados anteriormente discutidos demostraron que el empleo de EcoMic y MicoFert no sustituye a los fertilizantes químicos.

Por otra parte, el logro de infecciones micorrízicas en edades tempranas en el cultivo del tabaco posibilita que las plantas lleguen al campo con la simbiosis mutualista establecida, lo que las hará más fuertes ante cualesquiera de las condiciones adversas o de estrés propio de este proceso.

La figura 1, que representa el comportamiento del porcentaje de colonización micorrízica (CM) (%), refleja que en todos los tratamientos inoculados con EcoMic y MicoFert existió mutualismo, observándose los menores valores en los tratamientos con 0 % y 100 % de P_2O_5 .

La máxima infección se verificó en el tratamiento donde se inoculó MicoFert con niveles de 75 % de P_2O_5 (0,03 g/L), seguido por el tratamiento de EcoMic con niveles también del 75 % de P_2O_5 (0,03 g/L).

Por los resultados observados todo parece indicar que los extremos 0 y 100 % de P_2O_5 inhiben el establecimiento del mutualismo con los endófitos de MVA.

A pesar de la micotrofia facultativa de la especie y las condiciones particulares de la tecnología de bandejas flotantes, *N. tabacum* logró establecer simbiosis mutualistas con los MVA que se expresaron en los resultados morfofisiológicos, sin existir marcadas diferencias entre la utilización de EcoMic o MicoFert.

BIBLIOGRAFÍA

Azcón-Aguilar (1994): "Efecto de las MVA sobre el crecimiento y desarrollo de vitroplantas de *Annona cherimolla*". en: *Agric. Sci. Finl.* 3 (3): 281-88.

Collins, N. y F. L., Pflieger (1992): "Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal and Cultural Stresses", en: *Mycorrhizal in Sustainable Agriculture* (USA): Special Publication, no. 59.

De la Noval, B. *et al.* (1997): "Utilización de las micorrizas vesículo-arbusculares en la adaptación de vitroplantas de banano (*Musa* sp.): Dosis y cepas de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) y combinaciones de sustratos", en *Cutivos Tropicales* 18 (3):5.

Giovannetti, M. y B. Mosse (1980): "An evaluative of techniques for measuring vesicular-arbuscular micorrhizal infection in roots". *New Phytol.* 84: 489-500.

Phillips, J. M. y D. S. Hayman (1970): "Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesiculo-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection". *Trans. British. Mycol. Soc.* 55: 58-61.

Vázquez, E. y S. Torres (1995): *Fisiología Vegetal*, (I Parte). Editorial Pueblo y Educación, Ciudad de La Habana, pp.451, 291-292.

Watson, D. J. (1992): "The physiological basic of variation in yield". *Adv. Agron.* 4: 101-145.

