

**Universidad de Pinar del Río
“Hermanos Saiz Montes de Oca”
Facultad de Forestal y Agronomía
Centro de Estudios Forestales**

**Efectos de *Glomus fasciculatum* Tul., en la nutrición y el crecimiento
de *Moringa oleifera* Lam., en un suelo Fersialítico Pardo Rojizo
Ócrico Eútrico**

Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Forestales

Alfredo Pita Hernández

**Universidad de Pinar del Río
“Hermanos Saiz Montes de Oca”
Facultad de Forestal y Agronomía
Centro de Estudios Forestales**

Programa de Doctorado Curricular Colaborativo en Ciencias Forestales

Efectos de *Glomus fasciculatum* Tul., en la nutrición y el crecimiento de *Moringa oleifera* Lam., en un suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico

Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Forestales

**Autor: MsC. Ing. Alfredo Pita Hernández
Delegación Provincial del MINAG. Pinar del Río**

**Tutores: Dr. C. Esteban García Quiñones
Profesor de Mérito Universidad de Pinar del Río
Dr. C. Rogelio Sotolongo Sospedra
Profesor Titular Universidad de Pinar del Río**

Pinar del Río

Diciembre del 2014

CUMPLIMIENTO DE LA RESOLUCIÓN RECTORAL N^o.17/98

Los resultados que se exponen en la presente tesis, se han alcanzado como consecuencia del trabajo realizado por el autor, asesorado y/o respaldado por la Universidad de Pinar del Río. Por tanto, los resultados en cuestión son propiedad del autor y de la universidad respectivamente, y solo ellos podrán hacer uso de los mismos de forma conjunta y recibir los beneficios que se deriven de su utilización.

MsC. Ing. Alfredo Pita Hernández

PENSAMIENTO

“Están las condiciones creadas para que el país comience a producir masivamente *Moringa oleifera* y *Morera*, que son además fuentes inagotables de carne, huevo y leche, fibras de seda que se hilan artesanalmente y son capaces de suministrar trabajo a la sombra y bien remunerado, con independencia de edad y sexo”

Fidel Castro Ruz

Junio 17 del 2012

Agradecimientos.

- A mis tutores, Doctores en Ciencias Esteban García Quiñones y Rogelio Sotolongo Sospedra, por el tiempo dedicado y la paciencia demostrada en el asesoramiento y revisión de este proceso de investigación científica.
- Al colectivo de profesores del Centro de Estudios Forestales, especialmente a los Dr. C. Raúl Ricardo Fernández, Angel Zaldivar Solís y Gretel Geada López por su participación en la formación integral del aspirante.
- A los Ingenieros Agrónomos Miguel A. Salcines y Medardo Naranjo, de la UBPC Organopónico Alamar, por haber facilitado el inóculo utilizado en el experimento.
- A la Ing. Maribel Rodríguez Serrano, directora de la Biofábrica de P. del Río, por su colaboración en la fase de campo del experimento.
- Al MsC Ing. Yoerlandy Santana Baños y los Ingenieros Agrónomos Beesham Vishores Bharat y Yasmani Peña Chávez por la ayuda en la preparación de las muestras y reactivos en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Pinar del Río.
- Al colectivo del Instituto de Suelos del MINAG, por los análisis realizados en su laboratorio provincial.

Dedicatoria

A Odalys, Raulito y Clara, por su constante estímulo para que alcanzara este objetivo en la tercera edad

SÍNTESIS

Para evaluar si el hongo micorrízico arbuscular (HMA) *Glomus fasciculatum* Tul., establece asociación micorrízica con *Moringa oleifera* Lam., y sus efectos sobre el estado nutricional y el crecimiento en altura y diámetro del tallo de la especie, en un suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico, se estableció un experimento en diseño de ajedrez (1) para comparar, a los seis y a los 24 meses, plantas no inoculadas e inoculadas al momento de la plantación. Para valorar el estado nutricional de las plantas se realizaron análisis foliares de macronutrientes (N, P, K, Ca y Mg), evaluados por la metodología de la menor diferencia (2).

También se midió a los seis meses el porcentaje de supervivencia y la producción de biomasa. Se realizaron análisis, para comprobar la micorrización efectiva a los 180 días, con el método de Helg-Cuevas del 2008 para la colecta de raíces, el de Phillips y Hayman de 1970 para la tinción y la posterior evaluación de la colonización micorrízica por el método de Giovannetti & Mosse de 1980 (3).

Como resultado se comprobó que se establece colonización efectiva entre el hongo *Glomus fasciculatum* Tul., y *Moringa oleifera* Lam., y las plantas del tratamiento inoculado fueron significativamente superiores en el estado nutricional a los seis meses, situación que se mantuvo en plantas que fueron analizadas a los 24 meses de plantadas. El tratamiento inoculado también fue superior en el crecimiento en altura de la planta y en el diámetro del tallo, en el porcentaje de supervivencia y en la producción de biomasa, dando diferencias significativas en los análisis estadísticos realizados.

Se concluye que *Moringa oleifera* Lam., responde positivamente a la inoculación del HMA *Glomus fasciculatum* Tul.

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁG.
SÍNTESIS	7
INTRODUCCIÓN	11
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	17
1.1 Los suelos de baja fertilidad en general	18
1.2 La degradación de los suelos como un problema grave	19
1.3 La nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba	21
1.4 El suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico	22
1.5 Necesidad de reforestar	23
1.6 Árboles fuera del bosque (AFB)	24
1.7 <i>Moringa oleifera</i> Lam.	27
1.8 Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) como parte de los biofertilizantes	30
1.9 HMA <i>Glomus fasciculatum</i> Tul.	34
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS	36
2.1 Parcela Experimental y tamaño de la muestra	37
2.2 Datos elementales del campo experimental	39
2.3 Tipo de investigación, método y diseño	39
2.4 Caracterización química del suelo del área experimental	42
2.5 Características climáticas del área experimental	44
2.6 Metodología de trabajo utilizada en la fase de campo	45
2.7 Proceso de inoculación del HMA <i>Glomus fasciculatum</i> Tul.	47

2.8	Atenciones culturales a la parcela experimental	48
2.9	Pruebas de laboratorio y mediciones de campo	49
2.10	Comprobación de la micorrización efectiva	49
2.11	Evaluación del estado nutricional de las plantas	52
2.12	Medición de las variables altura y diámetro del tallo	53
2.13	Medición de la variable % de supervivencia de la especie	53
2.14	Medición de la variable promedio de biomasa por planta	54
2.15	Pruebas estadísticas realizadas	54
2.16	Análisis de los principales costos y factibilidad del experimento	55
2.17	Organización de la bibliografía	55
	CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
3.1	Resultados de las pruebas para comprobar la colonización efectiva	57
3.2	Evaluación de la colonización micorrízica por el método de Giovannettii y Mosse	58
3.3	Discusión del resultado	59
3.4	Resultados de las pruebas para comparar el estado nutricional de las plantas inoculadas con las no inoculadas a los seis meses	60
3.5	Discusión del resultado	64
3.6	Resultados del análisis foliar para comparar el estado nutricional a los 24 meses	65
3.7	Discusión del resultado	66
3.8	Resultados de los análisis estadísticos para evaluar si existen diferencias en el crecimiento y desarrollo entre las plantas	68
3.9	Resultados de la evaluación del % de supervivencia	72

3.10	Resultados de la medición de la biomasa por tratamientos	72
3.11	Resultados de los análisis de costo y factibilidad	74
3.12	Discusión del resultado	77
	CONCLUSIONES	79
	RECOMENDACIONES	81
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
	ANEXOS	

INTRODUCCIÓN

El Ministerio de la Agricultura en los últimos 20 años ha sufrido un proceso de descapitalización de sus medios de trabajo. Ello fue consecuencia de la depresión económica de la década de los años noventa, de la crisis económica internacional y de la condición de país bloqueado hace más de cincuenta años.

Se fueron dejando de cultivar grandes extensiones de tierras y el banco de problemas con solución pendiente se incrementó. Actualmente la dirección del partido y el gobierno, en correspondencia con los lineamientos aprobados en el VI Congreso del PCC para la actualización del modelo económico cubano, modifican las formas de gestión a través del decreto ley 300, con el objetivo de recuperar parte de los niveles de producción perdidos.

Este proceso de investigación científica (PIC), realizado entre los años 2011 y 2013, aborda la interrelación de situaciones problemáticas que han estado presentes en las entidades del Ministerio de la Agricultura a partir del año 2005. Ellas son:

- El proceso de liberación de tierras, derivado de la reducción de la actividad agrícola y azucarera, que incorpora al patrimonio forestal suelos considerados de baja fertilidad para el desarrollo de plantaciones intensivas, entre ellos el Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico en que se desarrolló el experimento (4).
- La necesidad de forestar y reforestar con árboles fuera del bosque (AFB) para incrementar el patrimonio forestal en empresas ganaderas, de cultivos varios y de la agricultura urbana y suburbana (5).

-La necesidad de investigar sobre fuentes alternativas de biofertilizantes para atender el encargo estatal dado al Ministerio de la Agricultura de desarrollar masivamente las plantaciones de especies como *Moringa oleifera* Lam., de alto valor nutricional para la población y para los animales, así como por sus potencialidades en la industria de medicamentos (6, 7).

Existe desde el año 2009, un programa nacional de desarrollo de esta especie, que ejecuta el Ministerio de la Agricultura a través de la Dirección Nacional Forestal, la Dirección Nacional de Ganadería y el Grupo Nacional de Agricultura Urbana y Suburbana.

Hoy constituye un subprograma de la agricultura urbana y suburbana en el país (anexo 1) para generalizarla y consolidarla como una planta para reforestación de microcuencas, empresas de cultivos varios y ganaderas, patios familiares, áreas verdes, a orillas de las carreteras y autopista y en general masificarla en plantaciones intensivas y como una planta fuera del bosque mayoritariamente en suelos considerados de baja fertilidad (4) dentro de los cuales se incluye el Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico.

Ya en las empresas ganaderas la utilizan en la alimentación del ganado, en mezcla con otros pastos y forrajes. Según Rolando Núñez (*), Director de la Empresa Genética Pecuaria Camilo Cienfuegos de Consolación del Sur, existen resultados superiores en la producción de leche y carne, en aquellas unidades que incorporaron *Moringa oleifera* Lam., a la dieta de los animales.

(*) Ing. Rolando Núñez, actualmente (2014) especialista en la Delegación Prov. del MINAG. en Pinar del Río

Entre las características de la planta, está su rápido crecimiento durante el primer año, donde puede alcanzar de 3 a 5 metros de altura (8) lo que constituye aproximadamente el 40 % de la altura total que alcanza en su ciclo de unos 20 años (9). Por ello es una planta muy exigente a la nutrición mineral durante el primer año y sus deficiencias se observan rápidamente en la coloración del follaje (6).

El Programa Nacional de masificación del cultivo en el país no cuenta con disponibilidad de fertilizantes químicos, como ocurre con la mayoría de las especies forestales y ya un porcentaje importante de las áreas plantadas en suelos de baja fertilidad están presentando clorosis y pobre desarrollo debido a carencias nutricionales durante el primer año, muy visibles desde los primeros seis meses (6, 7 y 10).

Existe necesidad de investigar sobre vías alternativas de biofertilizantes para mejorar el estado nutricional de las plantaciones incluidas en el programa nacional de masificación del cultivo en empresas ganaderas y de cultivos varios y hasta el 2011 no hay antecedentes en la literatura sobre endomicorrizas en asociación con la especie, aunque si es conocido que es una planta que realiza simbiosis con ectomicorrizas (6,7).

La indicación del Ministerio de la Agricultura a sus institutos de investigaciones, técnicos y especialistas, sobre realizar investigaciones de ciencia concreta (7) dirigidas a la búsqueda de alternativas de biofertilizantes para *Moringa oleífera* Lam., en los programas de masificación de la especie, permitieron identificar la siguiente interrogante como:

Problema Científico

¿Cómo influye la inoculación del hongo micorrizógeno arbuscular *Glomus fasciculatum* Tul., en el crecimiento y desarrollo de *Moringa oleifera* Lam., plantada en un suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico?

Objetivo General

Determinar los efectos del HMA *Glomus fasciculatum* Tul., en la nutrición y el crecimiento de *Moringa oleifera* Lam., plantada en un suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico en Pinar del Río.

Objetivos Específicos

- 1.- Determinar si el HMA *Glomus fasciculatum* Tul., establece asociación micorrízica con *Moringa oleifera* Lam., en un suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico de Pinar del Río.
- 2.- Evaluar los efectos de la asociación micorrízica en el estado nutricional de *Moringa oleifera* Lam., y en el crecimiento y desarrollo de esta planta a los seis meses de plantada, en un suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico de Pinar del Río.
- 3.- Comprobar si los efectos del hongo en el estado nutricional de la planta, se mantienen a los 24 meses de efectuada la plantación.

Hipótesis de Trabajo:

Moringa oleifera Lam., establece simbiosis mutualista con el HMA *Glomus fasciculatum* Tul., y como resultado la planta mejora su estado nutricional e incrementa su crecimiento y desarrollo, plantada en un suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico.

Esta investigación agroquímica de campo sobre una especie forestal, formó parte del proyecto “ECOGUAMÁ- Producciones agropecuarias integradas para el desarrollo de agroecosistemas en conversión agroecológica en el municipio Pinar del Río”, auspiciado por la unidad ECOVIDA del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA) en la provincia. También fue avalada por el Consejo Técnico Asesor de la Delegación Provincial de la Agricultura, por la dirección del Servicio Estatal Forestal, el Grupo Empresarial de Agricultura de Montaña (GEAM) en el territorio y el Consejo Científico de la Facultad de Forestal y Agronomía de la Universidad “Hermanos Saiz Montes de Oca”.

Finalmente el tema de investigación fue aprobado por el Ministerio de Educación Superior (MES) y el Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente (CITMA).

Sus principales resultados fueron publicados en dos artículos del autor en la revista AVANCES del CITMA en Pinar del Río y presentados en el SIMFOR Universidad de Pinar del Río 2012.

Ya en cinco provincias del país (Artemisa, La Habana, Mayabeque, Matanzas y Villa Clara) se aplican los resultados de esta investigación en la práctica empresarial, con resultados satisfactorios. El factor limitante para que se generalice en el sistema del Ministerio de la Agricultura es terminar de montar, en las provincias que faltan, las plantas artesanales para la producción de concentrado de esporas de la endomicorriza utilizada.

CONTRIBUCIONES DE LA TESIS

Novedad Científica:

La comprobación de la asociación micorrízica entre el *Glomus fasciculatum* Tul., y *Moringa oleifera* Lam., y los beneficios al estado nutricional, crecimiento y desarrollo de la planta, en un suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico. Resultados análogos no han sido constatados en la literatura.

Utilidad práctica:

-Los resultados podrán ser considerados para el incremento de la producción de biomasa de *Moringa oleifera* Lam., en el programa nacional de masificación y desarrollo del cultivo, a través de la agricultura urbana y la Dirección de Ganadería del Ministerio de la Agricultura.

Contribución social y medioambiental

Permitirá elaborar planes de reforestación más efectivos para la conservación de los ecosistemas, donde predominen los suelos Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico.

PERTINENCIA DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación está en correspondencia con los lineamientos 133, 136, 204 y 206 de la Política Económica y Social del Partido y la Revolución, aprobados durante el VI Congreso en abril del 2011. También está en correspondencia con el artículo 27 de la Constitución de la República:

“Es deber de los ciudadanos contribuir a la protección del agua, la atmósfera, la conservación del suelo, la flora, la fauna y todo el rico potencial de la naturaleza”.

CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Los suelos de baja fertilidad en general

Según el Programa Nacional de Mejoramiento y Conservación de Suelos del Instituto de Suelos del MINAG (4), se define como suelos de baja fertilidad o productividad, “aquellos que son afectados por factores edáficos limitantes, que impiden alcanzar los rendimientos potenciales de los cultivos, por lo que es necesario aplicar las medidas de acondicionamiento y mejoramiento de suelos para aumentar su productividad “.

Para determinar la productividad de los suelos se toman como base los estudios edáficos con evaluaciones físicas y químicas, así como la información agroestadística de los cultivos predominantes en cada área. Estos estudios son esenciales para el diagnóstico de proyectos de factibilidad y para hacer un uso más racional de las tierras y los insumos (11, 12).

Los resultados de los estudios realizados a todos los cultivos de importancia económica en el ámbito nacional y que han sido incluidos en el Programa Nacional de Mejoramiento y Conservación de Suelos (4), muestran que solo el 23,2 % de los suelos de Cuba clasifican como productivos (fértiles) lo que indica que en ellos puede obtenerse rendimientos superiores al 50 % del potencial en una amplia gama de cultivos. El otro 76,8 % de los suelos cubanos (tabla 1) son clasificados como de poca a muy poca productividad (baja fertilidad).

De los elementos anteriores se comprende la importancia de la ejecución de acciones de conservación y mejoramiento en las áreas agrícolas del territorio nacional y en la provincia.

Tabla 1. Principales factores edáficos limitantes y % de áreas afectadas en Cuba

Factores	Millones has	% del área
Salinidad y sodicidad	1,0	14,9
Erosión	2,90	43,3
Mal drenaje superficial	2,70	40,3
Mal drenaje interno	1,80	26,9
Baja fertilidad	3,0	44,8
Compactación elevada	1,60	23,9
Acidez (pH KCL 6,0)	2,70	40,3
pH KCL 4,6	0,70	12,2
Muy bajo contenido M.O	4,66	69,6
Baja retención de humedad	2,50	37,3
Pedregosidad y rocosidad	0,80	11,9
De ellas muy rocosas	0,45	6,7
Desertificación (subhúmedas)	0,81	12,1
Zonas secas	0,71	10,6

Fuente: Programa Nacional de Mejoramiento y Conservación de Suelos (4)

1.2 La degradación de los suelos como un problema grave para la humanidad

El suelo es un sistema dinámico, que ha evolucionado y se ha diferenciado a lo largo y ancho de la corteza terrestre sólida (12). Su evolución alcanza el clímax en la madurez y precede a su degradación a largo plazo, pero esta última puede ser inducida por las actividades humanas y modificar el ciclo normal de la evolución (13). Se puede decir que la degradación es el proceso opuesto a la formación y evolución del suelo, ya que en esencia es la reducción de su calidad, productividad y capacidad de regulación ambiental (14). De acuerdo con la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO), citada por Tran en 1998 (15), la degradación del suelo conlleva a una disminución de su capacidad presente y futura para producir, cuantitativa y cualitativamente, bienes y servicios para la sociedad. Entre los bienes se encuentran los alimentos, las fibras y los productos de cultivos industriales, y entre los servicios ambientales están la captura de carbono y la filtración del agua pluvial que recarga los acuíferos.

La degradación de los suelos constituye uno de los problemas más apremiantes que enfrenta el mundo en el presente siglo. Se considera que más del 25 % del área terrestre del planeta se encuentra afectada por alguna de sus manifestaciones (15, **16, 17**). Más de 306 millones de hectáreas de los países de América Latina y el Caribe están siendo afectados actualmente y Cuba no escapa a esta situación mundial (4).

Según el Programa Nacional de Mejoramiento y Conservación de Suelos del MINAG (4), la degradación en la mayoría de las ocasiones es el resultado de una relación no armónica entre el suelo y el agua, donde el factor antrópico desempeña un papel determinante.

El proceso de la erosión hídrica provoca daños a la estructura del suelo, y lo arrastra hacia las fuentes de abasto, contaminando estas con restos de fertilizantes y pesticidas, a la vez que limita la capacidad de almacenamiento debido al azolve de las fuentes (**18**). La salinización de los suelos frecuentemente se produce por el uso de aguas de mala calidad, en ausencia de sistemas de drenaje, y por la contaminación procedente de algunas industrias. Se observa que cuando el hombre no propicia una relación armónica entre el suelo y el agua, estos se agreden mutuamente (4, 16, 17, **19, 20**).

La degradación biológica de los suelos involucra la disminución en la biodiversidad del ecosistema y de la materia orgánica (**21**). Tomando como base la pérdida de materia orgánica y biodiversidad en los primeros 30 cm. de suelo, Carrillo (12) clasifica la degradación en nula o ligera si es menor al 1 %, moderada si está entre 1-2,5 %, alta cuando se mueve en el rango de 2,5- 5 % y muy alta si es mayor al 5 %.

En términos generales la fauna del suelo, y especialmente la microbiota, es menor en suelos degradados que en los no degradados (15, 19).

Según García (3) todas las investigaciones que incluyen procesos de inoculación de hongos micorrizógenos arbusculares como en este caso, contribuyen a detener primero, y posteriormente disminuyen, los procesos de degradación biológica en los suelos objeto de estudio.

La degradación trae como consecuencia un empobrecimiento de las propiedades biológicas, físicas y químicas de los suelos que afectan su valor de uso para la producción de alimentos y productos forestales, ya que en esas áreas las especies disminuyen su rendimiento y producción, por lo que las áreas degradadas se incorporan al 76,8 % de los suelos considerados de baja fertilidad (4, 15, 16, 17, 18, 20).

1.3 La nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba

Desde la década del 70 del pasado siglo, con los resultados alcanzados en la Paleopedología, se evidenció que la clasificación de suelos basada en los procesos de formación no es del todo objetiva, ya que muchas veces los procesos que se manifiestan ocurrieron en condiciones climáticas diferentes a las actuales. Esta situación, unida a la clasificación en horizontes y características de diagnóstico mediante parámetros relativamente fáciles de determinar, provocó que la línea de clasificación genética quedara rezagada a nivel mundial (11, 22).

Para encontrar solución a esta problemática, diversos países con tradición en los estudios de suelos (Francia, China, Australia y varios países de la antigua URSS, etc.), prepararon nuevas versiones que presentaron en 1994 en el XV Congreso Mundial de Suelos en Acapulco, México (11, 22).

Utilizando los materiales presentados en ese evento y los resultados alcanzados en los últimos 20 años en la caracterización y clasificación de suelos de diferentes regiones de Cuba, el Instituto de Suelos del Ministerio de la Agricultura presentó en 1999 la Nueva versión de la Clasificación Genética de los Suelos de Cuba (11, 22) que establecen 12 horizontes principales, 14 horizontes normales y 17 características de diagnóstico. En la clasificación se mantienen las unidades taxonómicas superiores, se separan 14 agrupamientos, 36 tipos genéticos y 172 subtipos de suelos, haciendo la clasificación más sencilla y precisa, con la ventaja adicional de que al mantener el enlace con la génesis de los suelos, no se pierde el valor ecológico de la clasificación (11, 22).

1.4 El suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico

Con nomenclatura de acuerdo a la nueva versión, es un tipo de suelo que agrupa los horizontes que tienen un proceso de formación Fersialítico, generalmente con un contenido de materia orgánica por debajo de 3,0 (Ócrico), con características de diagnóstico de color pardo rojizo y de género Eútrico al presentar un grado de saturación de sales igual o superior al 50 % en alguna parte del perfil y a veces hasta en un metro de profundidad.

Se considera un suelo en transición a partir de los ferralíticos típicos y abundantes en la provincia de Pinar del Río y generalmente clasifica por diversos factores edáficos limitantes, entre los suelos de baja fertilidad o productividad, según el Programa Nacional de Mejoramiento y Conservación de Suelos del Instituto de Suelos del Ministerio de la Agricultura (4, 11, 22).

1.5 Necesidad de reforestar

Según Jaula Bottet (23), “el mundo transita en los últimos años por una grave crisis financiera, medio ambiental y de saberes, provocada en lo fundamental por el antropocentrismo, la ignorancia, el egoísmo y el consumismo, de unos cuantos representantes, mayoritariamente del sistema capitalista mundial. En lo medio ambiental, sistema del planeta que integra la economía, la sociedad y la naturaleza, se observan graves problemas de destrucción de la naturaleza por la tala total de grandes extensiones de bosques, pérdida de la biodiversidad, pérdida de la fertilidad de los suelos por agentes degradantes, desertificación y sequía, desequilibrio hidrológico, destrucción de paisajes, vulnerabilidad ante eventos naturales como sismos y ciclones, injusticia y desempleo derivado de un irracional orden económico internacional”.

La grave crisis financiera que padecen un alto número de sociedades hoy, están haciendo olvidar que el cambio climático y la destrucción de la biodiversidad siguen siendo los principales peligros que amenazan a la humanidad. Si no se modifica rápidamente el modelo de producción dominante, impuesto por la globalización económica, se alcanzará el punto de no retorno a partir del cual la vida humana en el planeta dejará poco a poco de ser soportable (24). Y la biodiversidad se continúa destruyendo cuando se tala indiscriminadamente las extensiones boscosas en el mundo sin una concepción de sostenibilidad (23, 24, 25).

Existe consenso en la comunidad científica internacional sobre la necesidad de reforestar, para incrementar la cobertura boscosa nacional y del planeta, disminuida durante tantos años de tala indiscriminada de bosques (5, 23).

En Cuba, con la introducción de la ganadería y el crecimiento de la agricultura, la tala de bosques era la actividad fundamental del sector forestal, especialmente durante los años de la colonia y la pseudo república. Esta situación cambió a partir del triunfo de la Revolución en el año 1959. La tabla 2 contiene la evolución de la superficie cubierta de bosques en Cuba desde 1492 hasta el 2005 por períodos y los datos actualizados del 2013 incluyendo el del país y el de Pinar del Río que es la provincia de mayor índice de boscosidad a nivel nacional (5, 25).

Tabla 2. Evolución del índice de boscosidad por períodos

Periodo	Superficie cubierta de bosques (mil ha)		Índice de boscosidad (%)	
	Inicio del período	Final del periodo	Inicio	Final
1492 – 1774	9890	9121	90,0	83,0
1774 – 1827	9121	7472	83,0	68,0
1827 – 1900	7472	5824	68,0	53,0
1900 – 1926	5824	2527	53,0	23,0
1926 – 1959	2527	1472	23,0	13,4
1959 – 1974	1472	1691	13,4	15,4
1974 – 1983	1691	1907	15,4	17,4
1983 – 1998	1907	2334	17,4	21,2
1998 – 2005	2334	2697	21,2	24,5
2013 – Cuba				28,66
P. del Río				44,32

Fuente: Programa Nacional Forestal República de Cuba hasta el año 2015 (5)

1.6 Árboles fuera del bosque (AFB)

Los árboles fuera del bosque (AFB) incluyen entre otros a árboles en tierras agrícolas, urbanas y peri-urbanas; árboles a lo largo de la infraestructura humana como carreteras, canales, al margen de ríos o riachuelos dentro del paisaje agrícola; árboles en parques y huertos; y también árboles en tierras naturales donde la cobertura arbórea es tan escasa que la vegetación no cumple con la definición de bosque (26).

Contrario al bosque, al cual se le define como un uso y una cobertura de la tierra, el término AFB se refiere solo al recurso árbol, que está asociado a diferentes tipos de uso y presenta diversas funciones según los intereses de los propietarios o usufructuarios de la tierra. Los AFB como recurso natural renovable están presentes en diferentes densidades en casi todas las tierras cultivadas o usadas por el ser humano, y deben ser tomados en cuenta en las políticas nacionales, incluyendo campos como forestería, agricultura, conservación de la naturaleza y de la biodiversidad, desarrollo rural y urbano, y planificación regional y del paisaje (27).

Los árboles fuera del bosque tienen importancia económica, ya que, contribuyen a la alimentación, al comercio y al marketing local y territorial, juegan un rol ambiental, pues, protegen al suelo y mejoran su fertilidad, mejoran o mantienen la biodiversidad y participan en la fijación del carbono (27).

Clasificación de los AFB, según Kleinn (26), de acuerdo a su origen natural o inducido por el hombre:

Ocurrencia natural: Árboles en grupos que no alcanzan el área mínima definida como bosque. Estos grupos de árboles son dejados con frecuencia por los agricultores por diferentes razones.

Inducidos por el hombre: Los sistemas agroforestales constituyen una clase de AFB.

Árboles individuales en potreros: Estos árboles pueden ser remanentes de bosque, plantados por el hombre o regenerados naturalmente.

Árboles en líneas: Estos árboles han sido plantados y son usados para diversos propósitos.

Árboles asociados con cultivos permanentes: En muchos países, se utilizan árboles asociados a cultivos permanentes (café, y cacao).

Árboles asociados con cultivos anuales: En estos se pueden encontrar árboles con cultivos como maíz, frijoles, arroz, entre otros.

Árboles en rompevientos: En este sistema, por lo general se utilizan de 3 a 5 líneas de árboles con distanciamientos de plantación que van de 1,5 m a 2 m entre líneas y de 1 m a 1,5 m entre árboles.

Postes Vivos: Este sistema se utiliza en muchos de los campos agrícolas, y para delimitar fincas o potreros.

Árboles asociados con asentamientos humanos: Los usos principales de este sistema de árboles, son ornamental, sombra, producción de frutos, entre otros. Es muy común verlos a orillas de carreteras, parques centrales de las comunidades, y en los jardines de los hogares. Está presente en comunidades rurales y urbanas. Dentro de sus funciones puede mencionarse: delimitación de propiedades, sombra, protección, producción y como árboles medicinales. Su distribución espacial es diversa formando grupos de árboles, árboles dispersos y formando líneas entre otros. Algunas de las especies más comunes de este tipo de AFB son:

Ehretia tinifolia

Moringa oleifera Lam.

Tamarindus indica

Cocos nucifera

Morinda citrifolia

Bursera simaruba etc.

Este antiguo recurso ha formado parte del contexto cultural cotidiano de las poblaciones rurales y en muchos casos los recursos que representan los árboles fuera del bosque, han sido cruciales para mantener la seguridad alimentaria de asentamientos poblacionales. Sin embargo, se requerirá mucho trabajo y debate antes de que los árboles que crecen en las zonas no clasificadas como bosques, puedan ser considerados como una parte integral de las políticas de planificación y desarrollo.

1.7 *Moringa oleifera* Lam.

Es la especie más conocida de las 13 identificadas del género *Moringa* (28). Se le conoce por varios nombres vulgares en diferentes zonas geográficas del mundo (árbol de la vida, árbol generoso, el milagroso, árbol de la esperanza, palo jeringa, acacia, jazmín francés, etc.).

Clasificación taxonómica (28).

Reino: Plantae
Orden: Brassicales
Familia: Moringaceae
Género: *Moringa*
Especie: *Moringa oleifera* Lam.

Se trata de un árbol perenne pero poco longevo ya que vive alrededor de 20- 21 años (29, 30). Los antiguos escritores Sánscritos la conocían como una planta medicinal. Escritos hindúes antiguos que datan de años anteriores a 150 A.C., se refieren a la planta de moringa y sus usos (30). Los primeros romanos, griegos y egipcios apreciaban a esta especie por sus propiedades terapéuticas y también la utilizaban para proteger la piel y por sus altas concentraciones de

vitaminas A, B, C y D (30). La Biblia (31) en el libro del Éxodo, se refiere a la planta como purificadora del agua del mar rojo, en aquella región de Asia Menor.

Su madera sirve como leña y para hacer carbón. Se considera que no tiene las cualidades físico-mecánicas para ser considerado como maderable, por lo que no es una especie apropiada para este fin (29, 30). Según Gómez y Rodríguez (32), en su estudio sobre árboles y arbustos forrajeros utilizados como fuente proteica, la madera de moringa constituye una excelente materia prima para pulpa de celulosa utilizada para la fabricación de papel de gran calidad por lo que se pueden establecer industrias con ese fin.

Varios autores (6, 7, 29, 32, 33), coinciden en que los mayores valores de esta especie están en el contenido de nutrientes que posee y que son útiles para la alimentación humana directamente, para los animales y para la industria farmacéutica.

Valores nutricionales de *Moringa oleifera* Lam.

Según Price (30) y García (34), el 40 % de sus hojas es pura proteína y tiene cuatro veces más calcio que la leche de vaca, cuatro veces más vitamina A que la zanahoria, siete veces más vitamina C que las naranjas, cuatro veces más hierro que la espinaca, tres veces más potasio que el plátano y más proteínas que la carne y la soya. Contiene 46 antioxidantes y 36 antiinflamatorios (6, 29, 30). De los 20 aminoácidos que el cuerpo necesita para sobrevivir, nueve son esenciales y el cuerpo no los produce. Esta planta contiene 18 de los 20 y los nueve considerados esenciales, por lo que varios autores (6, 29, 32, 35), plantean que solo con este alimento se puede mantener el hombre.

Valores medicinales de la especie

Esta planta también tiene una larga historia por sus aplicaciones medicinales, por la presencia de minerales, complejos vitamínicos A, B1, B2, B3, C, E, K, así como antioxidantes y aminoácidos esenciales, por lo que tiene mucha importancia para la nutrición (6, 29, **36**). Se recomienda también como antiinflamatorio, analgésico, antiasmático, antianémico, activador del metabolismo, protector del hígado, antihipertensivo, productor de hormonas (10), etc.

El gran botánico cubano Juan Tomas Roig y Mesa (**37**), planteaba, desde 1945: "Constituye una droga oficial, que figura en las obras de farmacografía con el nombre de leño nefrítico, pues desde la antigüedad se consideraba como litotriptico y contra la irritación de riñones y vejiga". Más adelante añadió informes de utilización popular, tales como: su raíz para la hidropesía, como estimulante y como diurético; su jugo como contrairritante; sus hojas como cataplasma en los granos. También destacó sus propiedades como purgante, antiescorbútica y para curar la sarna; las flores en infusión se utilizan como colirio y el aceite se emplea como laxante infantil.

Origen y características del crecimiento en el primer año

Es una especie exótica oriunda de la India (6, 30), que según Castro (**38**) lleva en Cuba varios cientos de años, pues fue introducida cuando la colonización del Caribe por los ingleses, pero tiene bajos porcentajes de autopropagación (6), por lo que requiere la asistencia del hombre para incrementar sus poblaciones. Por esa razón, el ecotipo Criollo (6) presente en el país, cuando dejó de tener interés comercial para los agricultores de la época de la colonia, comenzó a disminuir su presencia y se mantenía diseminado en puntos aislados de la geografía nacional (38).

Actualmente se han introducido tres ecotipos más (Plain, Supergenius y Nicaragüense) (6) y el nivel de jerarquización es tal, que en el año 2013 se planificó plantar 500 hectáreas en Pinar del Río, con destino a producir semillas (25), para seguir ampliando el área cultivada de esta especie. Esta asistencia del hombre es lo que está provocando un rápido incremento de las poblaciones del cultivo en todas las provincias.

La planta *Moringa oleifera* Lam., tiene una gran plasticidad ecológica, ya que es capaz de adaptarse a las más diversas condiciones edafoclimáticas (6, **39**). Su valor nutricional y los elevados rendimientos de biomasa, la hacen un recurso fitogenético de importancia en los sistemas de producción (39).

1.8 Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)

El suelo es uno de los ecosistemas de mayor biodiversidad en el planeta. En él se encuentran muchos de los macro y microorganismos representados. Los artrópodos, arácnidos, nematelmintos, bacterias, algas, hongos y actinomicetos constituyen la mayor proporción de biomasa del suelo (24, **40**).

Entre los microorganismos del suelo que pueden ser usados para mitigar o revertir la degradación, están los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) los cuales son capaces de colonizar las raíces y así acceder a los recursos de las plantas. Al darse esta asociación, ocurren cambios físicos y químicos en la rizósfera disparados por los cambios en la fisiología del hospedero y del hongo (**41**). De manera más detallada, los hongos micorrizógenos arbusculares, forman una asociación mutualista con las plantas, denominadas micorrizas, la cual facilita la absorción de elementos minerales a las plantas hospederas. Esta integración fisiológica entre los

simbiontes permite que el hongo suministre a la planta compuestos inorgánicos (sales minerales) que esta necesita para su nutrición (micotrofía) y la planta aporta al hongo heterótrofo los compuestos orgánicos (fotosintatos) para su desarrollo y crecimiento (42).

Este aporte del hongo es mediante una red de micelios que forma el simbiote hospedante facilitando una mayor exploración en los recintos del suelo por la obtención de los nutrientes que necesita la planta al igual que el agua y en la cantidad requerida, permitiendo esto un correspondiente aumento del crecimiento y vigorosidad de la planta, y por otro lado la misma adquiere defensa física y química que la protegen de la acción de algunos agentes patógenos (43).

Los hongos micorrizógenos arbusculares son parte integral del sistema suelo. La rizósfera se compone del suelo cercano a las raíces de las plantas y es afectada por la actividad de ellas. La micorrizosfera es la zona del suelo afectada por la asociación micorrízica, la cual tiene dos componentes, la capa de suelo alrededor de las raíces micorrizadas y la otra es el suelo cercano a las hifas del hongo micorrizico (HM) o micelio externo que compone la hifosfera o micosfera (41).

Con relación a los aspectos nutricionales, las plantas micorrizadas absorben mayor cantidad de N, P, K, Ca, Mg, Na, Zn y agua de acuerdo con Le Tacon (44), por:

- Aumento del área de suelo en contacto físico con la micorriza (raíz – hifas).
- Aumento de la movilidad a través de las hifas del hongo, de los minerales del suelo en las regiones próximas a la raíz.
- Incremento de la actividad biológica de la rizósfera, acelerando los procesos de mineralización y reciclaje de nutrientes.

Todo ello se refleja, en muchas ocasiones, en mayor crecimiento vegetal en altura, biomasa y supervivencia (45).

Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) actualmente han sido agrupados en el phylum Glomeromycota, el más reciente phylum en el reino de los hongos (46). Paradójicamente, Glomeromycota es considerado el grupo más antiguo de los hongos verdaderos, debido a sus esporas asexuales simples y la falta de reproducción sexual, aunque en la red hifal que está por fuera de las raíces, frecuentemente se forman anastomosis, donde los núcleos fluyen a través del micelio, conformando consorcios donde se favorece la heterogeneidad genética de los HMA (43).

Otros investigadores también han demostrado que la formación de la simbiosis mejora la capacidad de las plantas para sobrevivir a la sequía (47). Incluso participan en la formación de suelo, no solo para solubilizar minerales y aportar nutrientes como el nitrógeno y el fósforo (48), sino porque aportan exudados que forman el complejo órgano-mineral (41).

Las micorrizas son probablemente el mutualismo más abundante y más distribuido en la superficie terrestre, ya que se estima que el 95 % de las plantas tienen micorrización (49, 50). También se considera el más antiguo pues un estudio reciente (46) de rocas del período ordovícico muestran hifas y esporas que se parecen a los ejemplares modernos del género *Glomus*, lo cual hace fechar la relación hongo-planta en 460 millones de años atrás, antes incluso, que el reino vegetal colonizara toda la tierra.

Existen algunas prácticas de recuperación de suelos en las que se han empleado plantas germinadas en vivero e inoculadas con hongos micorrizógenos (51) ya que dichas plantas tienen mayor capacidad de establecimiento y supervivencia, cuando se comparan con plantas que no presentan asociaciones con estos hongos. Por lo

tanto, los HMA podrían considerarse como una herramienta biológica para la restauración (52).

Existen varios estudios recientes en México en el crecimiento de palmas (53) y en la recuperación de suelos contaminados (54), en los Estados Unidos (24, 40), en la restauración de sabanas tropicales en Venezuela (51), en la revegetación de ecosistemas amenazados de desertificación en España (19). En Inglaterra se han realizado investigaciones con ectomicorrizas en la reforestación de bosques (52). También existen investigaciones sobre micorrizas en Nigeria y en Kenya en el África (29).

Efectos beneficiosos del empleo de la micorrización con *Glomus intraradices*, para disminuir el número de *Rotilenchus similis* en bananos se informaron por Núñez y Álvarez en México (55). Trabajaron con la micorrización temprana de plántulas de banano con *Glomus fasciculatum* Tul., y *Glomus aggregatum*, donde se redujeron significativamente la cantidad de larvas de *Meloidogyne incógnita* que penetran en las raíces, al parecer por un mecanismo de resistencia a la invasión.

A escala nacional, en el Instituto de Botánica y Sistemática del CITMA, se han realizado investigaciones sobre restauración ecológica y también existen resultados sobre la influencia de las micorrizas en el Género *Pinus* en bosques naturales y bosques de plantación (56). En la zona niquelífera de Moa se ejecutan acciones de restauración de zonas degradadas por la minería a partir de un paquete de medidas encaminadas a recuperar la estructura y la textura de la capa superficial del suelo, con la adición de capa vegetal y la reforestación.

Existen reportes en la provincia en el cultivo del tabaco, de que los hongos micorrizógenos accionan como controles biológicos de otros patógenos del suelo, reduciendo su presencia o compensando sus daños (57). También la especie

Nicotiana tabacum, variedades Criollo 98 y Corojo 99, a pesar de su micotrofia facultativa estableció simbiosis con los HMA, tanto en la fase de semillero como en plantación, provocando ello favorables cambios en su desarrollo morfológico, fisiológico y fúngico. La combinación más eficiente se establecieron cuando fueron inoculados los productos comerciales EcoMic® y MicoFert® y no cuando fueron combinados con *Trichoderma* (57).

1.9 *Glomus fasciculatum* Tul.

Este hongo, perteneciente al phylum Glomeromycota, es uno de los endomicorrizógenos más abundantes en los climas tropicales. Fue clasificado en 1845 por el botánico francés Charles Tulasne (3). Tiene el micelio aseptado y delgado que al penetrar dentro de la raíz se extiende entre y dentro de las células corticales de la planta, donde puede originar arbusculos y vesículas. Los arbusculos son estructuras derivadas de la ramificación dicotómica de la hifa del hongo en su crecimiento, que copan los espacios entre células y dentro de las células de los tejidos de las raíces de la planta. Funcionan como sitios de intercambio entre el hongo y la planta hospedera, para el carbono, agua y minerales (42). Las vesículas son secciones intracelulares de toda esa red arbuscular donde las hifas del hongo se dilatan o hinchon y sirven para almacenar productos fosfolípidos. No todos los géneros de HMA desarrollan vesículas (3, **58**).

Este género, al igual que el resto de los endo y ectomicorrizas, desarrolla una red hifal exterior, que penetra de 2 a 3 metros en el suelo, facilitando a la planta la absorción de agua y nutrientes. Según Janos (52), la inoculación de las plantas con este género de hongos ocurre como en la mayoría de las razas de hongos por tres vías:

- a) Mediante la inoculación de esporas contenidas en un sustrato procedente de instalaciones productoras del inóculo industrial o artesanalmente, como fue el caso de este experimento.
- b) Por hifas de raíces secas o muertas
- c) Por redes hifales asociadas a plantas vivas aledañas.

Sobre el uso del hongo micorrizógeno *Glomus fasciculatum* Tul., la Unidad Básica de Producción Cooperativa (UBPC) Organopónico Alamar, en la capital, ha realizado experimentos de campo en hortalizas con resultados satisfactorios en todas las especies y variedades, en suelos ferralíticos rojos lo cual coincide con los resultados obtenidos en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). También han utilizado este hongo en la composición de los sustratos para la producción de plantas ornamentales y frutales, con dosificaciones de 10,0 Kg. / m³ (3, 56, 57).

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

La fase de campo de la investigación científica requirió de tres componentes principales:

- Una parcela experimental con un tamaño de muestra calculado por su área y por el número de plantas que corresponden, según las normas técnicas vigentes.
- 80 plantas de *Moringa oleifera* Lam., ecotipo Criolla
- 10 Kg. de concentrado de esporas del HMA *Glomus fasciculatum* Tul.

2.1 Parcela experimental y tamaño de la muestra.

El área seleccionada para la ejecución del experimento pertenece a la Empresa Nacional de Semillas Varias y está aledaña a la Biofábrica del Ministerio de la Agricultura en la ciudad de Pinar del Río, con las coordenadas cartesianas Norte 291,5 y Este 223,5 sobre un suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico (11) que durante más de 5 años ha estado libre de vegetación (Figura 1).



Figura 1. Campo experimental en el momento del trasplante. Ubicado en áreas interiores de la Biofábrica del MINAG., en Pinar del Río.

Al terreno de 1800 metros cuadrados (Población: N) se le calculó un tamaño de muestra para el campo experimental utilizando el procedimiento de Hernández (59), que garantizara un error estándar de solo 0,015 que se considera muy pequeño.

Para calcular el tamaño de la muestra (n), se utilizaron las fórmulas planteadas por ese autor donde 1:

$$n_{ca} = \frac{S^2}{V^2} = \frac{\text{varianza de la muestra}}{\text{varianza de la población}}$$

Si se conoce el tamaño de la población (N) se ajusta el tamaño de la muestra por la fórmula 2:

$$n_{Ajustada} = \frac{n_{calculada}}{1 + \frac{n_{calculada}}{N}}$$

Se = error estándar. Se prefija en 0,015 que es aceptable por ser muy pequeño (59)

$$V^2 = \text{varianza de la población} = (Se)^2 = 0,000225$$

S^2 = varianza de la muestra = $p(1-p)$ = probabilidad de ocurrencia, por tanto:

$$S^2 = 0,99(1-0,99) = 0,09$$

Y sustituyendo en (1):

$$n_{calculada} = \frac{0,09}{0,000225} = 400 \text{ m}^2$$

Ese es el tamaño de la muestra sin ajustar, pero sustituyendo en 2:

$$n_{ajustada} = \frac{400}{1 + \frac{400}{1800}} = 327 \text{ m}^2$$

Por tanto, el tamaño de muestra seleccionada como área de cálculo en el experimento (336 m²), se corresponde con los porcentajes de confianza y error estándar predeterminados para este experimento.

A ese tamaño de muestra en área, se le calculó el número de plantas que correspondían de acuerdo al marco de plantación indicado por el Instituto de Investigaciones Fundamentales de la Agricultura Tropical (INIFAT) de 2,0 metros x 1,5 metros, por lo que según Rodríguez (6), la muestra consideró área y número de plantas vinculadas, según la norma técnica vigente en ese momento.

En correspondencia con el tipo de diseño utilizado se conformó el campo experimental en 8 parcelas de 6 x 7 metros, garantizando que el área de cálculo coincidiera con el tamaño de muestra requerido.

2.2 Datos del campo experimental

Área de cálculo de cada parcela: 6 x 7 metros:	42	m ²
Total de parcelas	8	
Área total de cálculo.....	336	m ²
Área de borde o seguridad.....	140	m ²
Área total del campo experimental (n).....	476	m ²
Área total del suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico(N)	1 800	m ²
Tipo de muestreo.....	Parcelas fijas	
Número de plantas por parcela	9	
Total de plantas del campo experimental.....	72	

2.3 Tipo de investigación, método y diseño utilizados

Por su profundidad, según la clasificación de Hernández (59) fue un estudio que comenzó como exploratorio al comprobar la asociación micorrízica entre el hongo y la planta, después avanzó como descriptivo cuando midió el estado nutricional, la altura y el diámetro y concluyó como una investigación correlacional al comparar si un mejor estado nutricional representaba necesariamente un mayor crecimiento y

desarrollo en las plantas inoculadas. Al ser una investigación de presencia- ausencia de asociación micorrízica y de efectos de interés cuantitativo, no requiere, según Matamoros y Vázquez (60) de varias repeticiones anuales, porque se realizó en un tipo específico de suelo de baja fertilidad. Para generalizarlo a todos los tipos de suelos si se requerirá un mayor número de repeticiones en diferentes condiciones edáficas.

Para la organización, planificación y seguimiento de todo el proceso de investigación, dentro de los métodos teóricos se utilizaron el Lógico y el Sistemático (59, 61). Entre los métodos empíricos se utilizó el experimento y se cumplió durante toda la fase de trabajo de campo, con los tres requisitos básicos que se establecen para un experimento puro según Hernández (59):

- a) Se ejecutó una acción sobre una variable independiente
- b) Se midió el efecto de esa acción en la variable dependiente
- c) El control o validez interna de la situación experimental, referida a garantizar que los efectos observados se deben al hongo inoculado y no a otros. Para dar cumplimiento a esta validez se trabajó en tres momentos:
 - Se utilizó una parcela experimental que durante más de cinco años no ha tenido vegetación, lo que limita la presencia de HMA ya que el mutualismo hongo-planta es obligado para el hongo según Le Tacon y otros autores (44, 62).
 - Las bolsas para el pequeño vivero se llenaron con suelo de la propia parcela en que se iban a plantar.
 - Se muestrearon al final del experimento las parcelas no inoculadas, se llevaron las plantas al laboratorio de microbiología de la Universidad para determinar presencia-ausencia de asociación micorrízica.

- También se logra el control y la validez interna del experimento al tener cuatro grupos de comparación, de un mínimo de dos según Hernández (59).

Dentro de los diseños experimentales se utilizó un diseño no típico de Ajedrez, con dos tratamientos y tres réplicas en dos bandas o franjas (1). En la nomenclatura de la figura 2 del diseño experimental utilizado, la letra P corresponde a las parcelas numeradas del 1 al 8 y la letra T corresponde a los dos tratamientos; con inoculación y sin inoculación.

P- 1 T- 1	P- 3 T- 2	P- 5 T- 1	P- 7 T- 2
P- 2 T- 2	P- 4 T- 1	P- 6 T- 2	P- 8 T- 1

Figura 2. Ubicación de los tratamientos y réplicas en el diseño experimental en ajedrez
 Tratamiento 1: No se le inoculó HMA
 Tratamiento 2: Se le inoculó HMA

El Diseño Experimental en Ajedrez es uno de los tipos de diseños experimentales no típicos (1). En su estructura se asemeja bastante a los diseños en bloques, con la diferencia de que los tratamientos y réplicas se distribuyen siguiendo un orden prefijado y no al azar como en el cuadrado y el rectángulo latinos.

La ventaja de este diseño, es que permite que los tratamientos se coloquen en diferentes posiciones en las réplicas de manera que la desigualdad de la fertilidad del suelo se refleja en forma similar en los tratamientos. También para disminuir cualquier posible efecto de la desigualdad de la fertilidad del suelo se utilizaron parcelas de 42 metros cuadrados que están entre las dimensiones óptimas para este tipo de experimento según Matamoros y Vázquez (60). Esa ventaja que caracteriza a este tipo de diseño no típico, es lo que lo hace superior a los bloques al azar en las

condiciones del suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico, de topografía llana en que se realiza este experimento, pues durante muchas décadas se consideró los bloques al azar como lo más avanzado, porque se creía en esa época que la fertilidad del suelo variaba sobre el principio de la casualidad (1, 2). Posteriormente, con el desarrollo de los análisis físicos y químicos de los suelos, se llegó a comprender que la fertilidad del suelo no varía según la casualidad, sino de acuerdo con un determinado orden sistemático según el factor que la provoca y que ello se cumplía con mucha precisión en las topografías llanas.

Desde esa época se modificaron las tres etapas de montaje de los diseños en bloques, en una alternativa conocida como distribución justa dirigida (1) que disminuye lo aleatorio y aumenta lo dirigido al ubicar las parcelas y bloques. A partir de entonces, muchos investigadores comenzaron a preferir los Diseños de Ajedrez porque pueden crear condiciones de alta comparatividad tan o más efectivas que los diseños en bloques (1, 2). En el año 2005, Matamoros y Vázquez (60) vuelven a revitalizar este tipo de diseño y sus ventajas en su obra “Introducción a la Agroquímica”. En la Provincia se ha utilizado este tipo de diseño en la Estación Experimental del Tabaco de San Juan y Martínez.

Tiene como desventaja fundamental que es muy difícil aplicar la mecanización, aspecto no relevante en esta investigación donde todas las tareas del cronograma de trabajo se realizaron a mano.

2.4 Caracterización química del suelo de la parcela experimental

En el laboratorio del Instituto de Suelos en Pinar del Río, en el mes de octubre del 2011, se realizó el análisis físico y químico de la muestra de suelo del área experimental. En la calicata realizada para determinar el perfil, como parte del

análisis físico, se pudo comprobar que corresponde a un suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico, según la nueva versión de la Clasificación Genética de los Suelos de Cuba (11) que se considera un suelo en transición a ferralítico y que aparece muy frecuentemente asociado a este, por lo que está presente en muchos lugares del territorio de la provincia y el país (22).

Análisis de los resultados de la muestra de suelo de la parcela experimental

De la lectura del análisis químico de cationes y materia orgánica (tabla 3) resulta un pH de 7,66 al KCL, ligeramente alcalino, y niveles altos de calcio y magnesio, con baja presencia de M.O y K. Este suelo, según Pozo (22) clasifica como de baja fertilidad por las siguientes razones:

1.- Capacidad de intercambio de cationes (T) por debajo de 15.0

T = 12,80 = bajo

2.- Materia orgánica (MO) por debajo de 3.0

MO = 2,54 = bajo (Ócrico)

3.- Bajos niveles de Potasio (K= 0,36)

4.- Altos niveles de sales de calcio (8,38), sodio (0.64) y magnesio (3,50) con

pH ligeramente alcalino al KCl (7,66) (Eútrico)

5.- Valor S (Suma de las sales + K) superior al valor T (12,88 mayor que 12,80)

La parcela durante más de cinco años, se ha mantenido libre de vegetación por encontrarse dentro del perímetro de la biofábrica, lo que limita la presencia de cualquier tipo de hongo micorrizógeno arbuscular ya que se conoce que el mutualismo para el hongo es obligado (44, 55, 62).

Tabla 3. Resultados del análisis de caracterización química del suelo de la parcela experimental

Localización	Área ha	pH		Mg/ 100 grs.				%	
		KCL	Eval.	P ₂ O ₅	Eval.	K ₂ O	Eval.	M.O	Eval.
Parcela Experimental Biofábrica. Pinar del Río	0,25	7,66	L. Alc.	41,10	P3	16,66	K2	2,54	Bajo

Cationes intercambiables (Mq/100grs)										
Ca+	Eval.	Mg+	Eval.	Na+	Eval.	K+	Eval.	S	T	Eval.
8,38	Ad	3,50	alto	0,64	L. alto	0,36	Def.	12,88	12,80	Medio

2.5 Características climáticas del área experimental

El climograma de la figura 3 se preparó con datos de la Estación Meteorológica del Municipio Pinar del Río, localizada a los 22° 21' N y los 83° 41' W a 36,74 metros sobre el nivel del mar, para el cual se utilizó la serie de datos correspondiente a 21 años (1988- 2009) lo cual, según González (63) es considerado aceptable para los análisis.

Según el gráfico, en esta estación existe un periodo seco en diciembre, la evaporación potencial es mayor que las sumas de las precipitaciones, sin embargo se aprecian dos periodos poco lluviosos (noviembre y de enero – abril) y un periodo muy lluvioso (mayo - octubre). El total anual de precipitaciones en la Estación Meteorológica de la ciudad es de 1 554,5 mm.

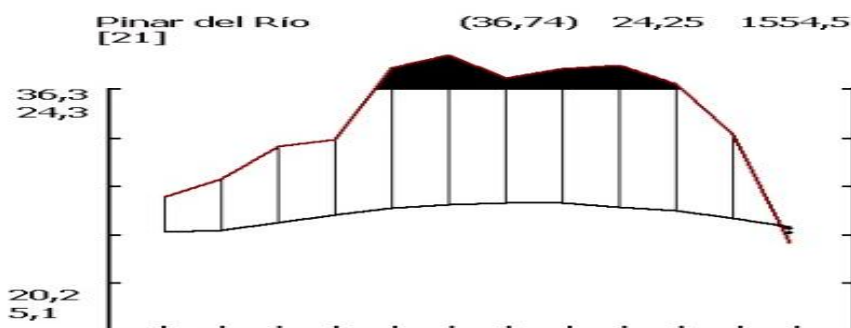


Figura 3 Climograma de la Estación Meteorológica de Pinar del Río

Se adjunta como complemento al climograma, en el anexo 2, la clasificación bioclimática de la tierra, según Salvador Rivas-Martínez.

2.6 Metodología de trabajo utilizada en la fase de campo

La fase de trabajo de campo se extendió de octubre del 2011 a diciembre del 2013 y durante ese período se ejecutaron las siguientes actividades:

Fase de vivero: El 25 de octubre del 2011 se sembraron 80 bolsas (de 10 cm. X 15 cm.) con la especie *Moringa oleifera* Lam., destinadas a este experimento, con suelo de la propia parcela experimental, que se mantenía sin vegetación durante cinco años, por lo que no fue necesario análisis previo de presencia-ausencia de HMA ya que el mutualismo hongo-planta es obligado para el hongo según Le Tacon (44).

La siembra se realizó con semillas frescas, con menos de tres meses de cosechadas y conservadas en refrigeración. Esas semillas procedían del Instituto Nacional de Investigaciones Fundamentales de la Agricultura Tropical (INIFAT) y fueron donadas por Orlando Gutiérrez Hernández (*). Se sembraron 2 semillas por bolsa y entre los 7 y los 10 días germinaron 141 para el 88 % de germinación.

(*) Manuel Orlando Gutiérrez Hernández. Actualmente jubilado, fue Viceministro del MINAG y Delegado Provincial del MINAG. en Pinar del Río durante 16 años

A los 20 días se entresacaron las plantas en las bolsas, dejando la planta más vigorosa en cada una de ellas.

Se manejó con mucho cuidado el riego, pues varios autores (6, 8, 30, 33) refieren la poca resistencia de esta planta al exceso de humedad, sobre todo en los primeros estadios. En los primeros días se le realizaron riegos ligeros en días alternos con norma neta de 200 mililitros por bolsa, indicada para la fase de vivero por el Jefe del Departamento de Riego en la Delegación Provincial de la Agricultura en Pinar del Río. Después se alargó a 4 días la frecuencia de riego con igual norma.

Plantación de la parcela Experimental:

La preparación de tierras fue ligera para toda el área, con hoyado en la posición de las plantas. La plantación de las 8 parcelas del área experimental se realizó el 20 de diciembre del 2011 y solo fueron utilizadas 72 bolsas con posturas, de las 80 que existían en el vivero.

El hoyado fue a 20 cm de diámetro por 25 de profundidad. La plantación se ejecutó a tresbolillos a 1,5 metros de separación entre hileras y 2,0 metros entre plantas, lo que permitió una separación de 3,0 metros entre plantas de diferentes parcelas. La numeración de las plantas para las evaluaciones de campo posteriores, fue de norte a sur y de izquierda a derecha en cada una de las parcelas, según el croquis de la figura 4.

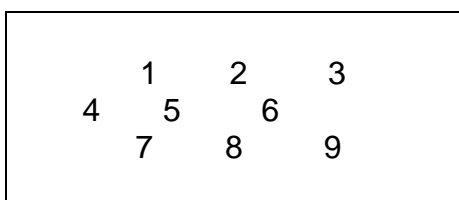


Figura 4. Croquis con la numeración y ubicación de las nueve plantas en cada parcela

2.7 Proceso de inoculación del HMA *Glomus fasciculatum* Tul.

El inóculo de *Glomus fasciculatum* Tul., utilizado, se trajo de la planta artesanal instalada en la Unidad Básica de Producción Cooperativa (UBPC) Organopónico Alamar en la Habana. El proceso productivo en esa planta es asesorado por el departamento de micorrizas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y el producto que comercializan tiene una concentración promedio de 30 esporas por gramo. Se adquirieron 10 Kg. del concentrado de esporas y fueron trasladadas hasta Pinar del Río por Pedro Caballero Barrios (*).

Para la inoculación del HMA a las plantas del tratamiento 2 (parcelas 2, 3, 6 y 7), se procedió de acuerdo con la metodología desarrollada por el autor:

- a) Se realiza el marcado y hoyado del área de plantación.
- b) Se pesa la dosis del sustrato inoculante (concentrado de esporas) correspondiente a cada planta (100 gramos) y se afora ese volumen en la vasija que será utilizada para toda la inoculación.
- c) Sobre el hoyo de plantación se abre la bolsa que contiene la postura por el fondo y se distribuye el inóculo a la tierra adherida a las raíces. El resto se vacía en las paredes y el fondo del hoyo.
- d) Se planta la postura, apretando la tierra sobre la base del tallo.
- e) Se aplican 250 mililitros de agua por planta para garantizar el inicio del desarrollo fúngico en las próximas 48 horas según los criterios de García (3) y el Departamento Provincial de Riego del MINAG.

Las parcelas 1, 4, 5 y 8 del tratamiento 1 no fueron inoculadas.

(*) Lic. Pedro Caballero Barrios. Jubilado, residente en Alamar, La Habana

Sobre el momento de inoculación del hongo a la planta, es importante explicar que la metodología para la inoculación del hongo a la planta, solo aporta valor de uso práctico. Era imprescindible elaborarla para el momento de la plantación por dos razones: Primero porque no se conocía de la existencia de otra metodología, al menos en esta especie forestal y segundo, porque en las investigaciones sobre micorrizas, que se inician como exploratorias, según García (3) y Harrison (43) debe inocularse en la plantación y no en la siembra de la semilla, debido a que la micorrización efectiva inoculando en vivero, demora más porque hay que esperar por el desarrollo radical y el desarrollo fúngico, pudiendo demorar hasta más de 40 días, mientras que en el trasplante es solo la actividad fúngica, la cual se inicia a las 72 horas y se aprecia el efecto antes de los 10 días.

También es importante la metodología de inoculación, porque constituye en si una acción para garantizar el control o validez interna de la situación experimental en esa fase, porque de su calidad dependerá parcialmente, que las parcelas no inoculadas no se contaminen con el hongo micorrizógeno inoculado utilizado en el experimento.

2.8 Atenciones culturales a la parcela experimental

A los dos días de plantadas hubo que reponer tres plantas de la parcela 8, por daños directos de caprinos, aspecto que quedó resuelto definitivamente con la reparación de la cerca perimetral.

Durante los primeros veinte días se le suministró 250 ml de agua por planta cada 4 días y a partir del segundo mes se amplió el intervalo de riego a cada 10 días. Al comenzar el mes de abril se le suspendió el riego, dejando que la humedad residual del suelo comenzara a depender de las precipitaciones de esos meses, lo cual está

en correspondencia con el tratamiento silvicultural de las especies forestales, que no tienen sistemas de riego. Entre el 20 de diciembre y el primero de abril hubo tres precipitaciones que totalizaron 28 mm.

El anexo 3 recoge una selección de fotografías de las diferentes etapas del crecimiento y desarrollo de las plantas en la parcela experimental.

2.9 Pruebas de laboratorio y mediciones de campo

A los seis meses de plantada la parcela experimental, en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Pinar del Río, se realizó la prueba para la comprobación de la micorrización efectiva y los análisis foliares de macronutrientes y se midieron las variables altura de la planta y diámetro del tallo. También se midió el porcentaje de supervivencia de la especie y la biomasa promedio por plantas en cada parcela. Para las acciones de pesado, se utilizaron las balanzas de alta precisión de la biofábrica de Pinar del Río, certificadas por el departamento de metrología de la Empresa Nacional de Semillas Varias del Ministerio de la Agricultura.

2.10 Comprobación de la micorrización efectiva en laboratorio

El objetivo de esta prueba fue comprobar si existe asociación micorrízica entre el hongo y la planta por lo que era necesario determinar la presencia del HMA *Glomus fasciculatum* Tul., en las raíces de la especie forestal *Moringa oleifera* Lam., en las plantas correspondientes a las parcelas que fueron inoculadas en el campo experimental. De ser positiva esa primera prueba, en un segundo momento se debía determinar que porcentaje de las muestras de raíces estaban micorrizadas. La primera fase, identificación presencia-ausencia del hongo en las raíces era la etapa cualitativa, mientras que la determinación del porcentaje de micorrización, era la etapa

cuantitativa de la prueba. Los análisis se realizaron en el laboratorio de microbiología de la Universidad "Hermanos Saiz Montes de Oca" de Pinar del Río.

De las parcelas inoculadas se tomaron muestras de raíces finas de 2 mm de diámetro, de 7 plantas por parcelas para un total de 28 muestras. Este total representa el 80 % de las plantas establecidas en las parcelas inoculadas. En las parcelas no inoculadas se tomaron muestras de raíces de cuatro plantas por parcela, para un total de 16 plantas, que representan el 52 % del total de plantas establecidas en las parcelas no inoculadas. Las 44 muestras de raíces observadas al microscopio, se conservan refrigeradas en el laboratorio de microbiología de la Universidad "Hermanos Saiz Montes de Oca" de Pinar del Río.

La identificación del HMA en las muestras de raíces de las plantas

Esta prueba, para su ejecución, se dividió en dos fases o momentos;

- a) Colecta de raíces en el campo
- b) Ablandamiento, tinción y observación de raíces al microscopio

La muestra de raíces en el campo se recogió siguiendo el procedimiento para la colecta de raíces de Helg-Cuevas del 2008 citado por García (3, 46)

- Tomar muestras de raíces lo más finas posible de las plantas de las parcelas inoculadas.
- Colocarlas en bolsas, correctamente identificadas según el número de planta y parcela y llevarlas al laboratorio antes de las 24 horas para evitar el inicio de procesos de descomposición (3).

El ablandamiento y la tinción para su observación al microscopio, se ejecutó siguiendo una de las variantes del procedimiento para la tinción de raíces de Phillips y Hayman de 1970 citado por García (3, 46) que aparece en el anexo No 4:

- Se lavaron las raíces de cada planta varias veces con agua corriente para evitar que quedaran adheridas partículas de suelo. Después se cortaron en porciones inferiores a un centímetro y se fueron colocando en tubos de ensayo identificando número de parcela y planta.
- Se cubrieron los fragmentos de raíces con KOH al 10 % y se pusieron todos los tubos de ensayo en baño de maría por 20 minutos.
- Se escurrió el KOH y se añadió HCL al 10 %, poniéndolo a hervir nuevamente en baño maría por 10 minutos.
- Se escurrió el HCL y sin enjuagar, se añadió azul de tripano al 5 %, se puso a baño maría por 30 minutos y después se dejó 24 horas a temperatura ambiente (figura 5).



Figura 5. Muestras de raíces de *Moringa oleifera* Lam. preparadas e identificadas en los tubos de ensayos en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Pinar del Río

- Posteriormente se hicieron las observaciones al microscopio, primero con segmentos de raíces disueltas en agua y después se pusieron en portaobjetos y se hicieron observaciones con lentes ocular 10 x y objetivo 40 x.

Determinación del porcentaje de colonización micorrízica

Para determinar el porcentaje de colonización micorrízica se utilizaron las muestras preparadas de la fase anterior y se realizó mediante el método de interceptos de

Giovannettii & Mosse de 1980 citado por García (3, 46). Este cálculo se realizó en la forma siguiente:

- Se tomaron las raíces ya teñidas y se arreglaron los segmentos en las láminas portaobjetos.
- El campo óptico del microscopio se movió a través de la lámina, se utilizó el indicador de ocular como línea de intersección.
- En cada intersección se registró algunas de las siguientes posibilidades:

NI = sección no colonizada por el hongo

Intercepciones colonizadas (positivas) de cualquier tipo (hifas, arbuscúlos y vesículas)

Se examinaron muestras de raíces de 28 plantas inoculadas y de 16 plantas de parcelas no inoculadas. En cada muestra de raíces se realizaron 3 análisis de intercepto por planta y se promediaron. Después se promediaron los porcentos de micorrización de las plantas por parcelas y finalmente se promedió el porciento de micorrización de las plantas inoculadas.

El porcentaje de micorrización (% M.A) se calculó por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Micorrización} = \frac{(\# \text{ Intersecciones positivas} - \text{NI}) \times 100}{\# \text{ Intersecciones observadas.}}$$

2.11 Evaluación del estado nutricional de las plantas

Para comparar el estado nutricional de las plantas inoculadas con las no inoculadas a los seis meses, se realizaron 16 análisis foliares de macroelementos, en el laboratorio provincial del Instituto de Suelos en Pinar del Río, determinando los niveles de los macroelementos N, P, K, Ca y Mg presentes en las hojas superiores e inferiores de las 8 parcelas. Los análisis se realizaron por la norma ramal del Ministerio de la Agricultura (NRAG) 564-2009. Las determinaciones de los porcentos de nitrógeno y fósforo se realizaron por el método colorimétrico de Nessler, los de

potasio por la fotometría de llama y el calcio y el magnesio por las valoraciones del método complexométrico.

A los 24 meses se repitieron 8 de los análisis foliares, en dos de las parcelas inoculadas y dos de las no inoculadas, pero solo a los elementos calcio y magnesio, para determinar si los efectos observados a los seis meses en el estado nutricional de las plantas se mantenían al concluir el segundo año. Para estos análisis a los 24 meses, las muestras foliares correspondieron a las dos plantas por parcelas que no se talaron para los estudios de biomasa a los seis meses y que se dejaron a más de 5 metros entre ellas para impedir los efectos interparcelas.

Para evaluar el estado nutricional de las plantas a partir de esos análisis foliares, se utilizó el método cualitativo de la menor diferencia de Dinchev de 1972 (2) el cual fue validado posteriormente con los análisis estadísticos sobre crecimiento y desarrollo.

2.12 Medición de las variables altura y diámetro del tallo.

La variable altura fue medida desde la base del tallo hasta la última yema vegetativa del tejido meristemático apical. La variable diámetro del tallo, por tratarse de plantas jóvenes fue medida a 5 cm. de altura. Los datos aparecen en el anexo 5.

Se utilizaron como instrumentos de medición, una cinta métrica y un pie de rey, de los investigadores del Instituto de Investigaciones Agrícolas en su filial en Pinar del Río. Ambos instrumentos están aprobados por la oficina de metrología de ese instituto.

2.13 Medición de la variable % de supervivencia de la especie

El % de supervivencia de la especie (plantas vivas) fue medido a los seis meses para cada una de las parcelas.

2.14 Medición de la variable promedio de biomasa por parcela a los 6 meses

Se determinó talando a 1 cm. del suelo, pesando toda la planta sin raíces y promediando el peso por parcela. Se talaron y promediaron 7 plantas de cada parcela. Se dejaron dos plantas por parcelas, separadas entre sí, para el análisis foliar que se realizaría 18 meses después. El pesaje se realizó en las balanzas analíticas (hasta dos décimas de gramos), de la biofábrica de P. del Río.

2.15 Análisis estadísticos realizados

Comprobación de supuestos matemáticos

Normalidad – Se empleó la prueba de Kolmogorov-Smirnov (64, 65).

Homogeneidad de varianza – Se empleó la prueba de Levene para la igualdad de varianzas (64, 65).

Se describen los resultados mediante diagramas de caja, estadísticos de tendencia central y de dispersión.

Se realizaron comparaciones de medias entre parcelas y entre plantas inoculadas y no inoculadas, para el primer caso: Variable independiente – Parcelas

Niveles – 8 Variables dependientes – Diámetro y Altura

- Se empleó un análisis de varianza simple (ANOVA) y la prueba de comparación múltiple de Tukey Alfa 0.05 (64, 65).

Para el segundo caso: Variable independiente – Inoculación

Niveles – 2 (plantas inoculadas o no inoculadas)

Variables dependientes – Diámetro y Altura

- Se realizó una prueba de comparación de t para dos muestras independientes (Alfa 0.05).

Se determinó mediante análisis de regresión lineal (64, 65) la relación entre las variables Diámetro y Altura.

Se realizaron además otros análisis estadísticos complementarios, que se incluyen en el anexo 6.

Las pruebas estadísticas realizadas se corresponden con los planteamientos de Matamoros y Vázquez (60) sobre como resolver estadísticamente el tipo de diseño sistemático en ajedrez, utilizado en el experimento.

Se empleó el software SPSS 15.0 para Windows.

2.16 Análisis de los principales costos del experimento y de factibilidad económica para la generalización

Este análisis consideró los principales gastos incurridos desde la fase preparatoria. A partir de una ficha de costo promedio para establecer una hectárea de *Moringa oleífera* Lam., en un año con marco de plantación de 2,0 x 1,5 metros, que es el utilizado para las plantaciones destinadas a producir semillas, se realizó un análisis resumido de factibilidad económica para la generalización de los resultados de este experimento en diferentes provincias del país, especialmente en las empresas ganaderas que son donde más rápido está avanzando el programa de masificación de este cultivo hasta el 2013.

2.17 Organización de la bibliografía de la tesis

Se utilizó el estilo Vancouver, actualizado por Concepción Díaz Mayans (66, 67) que recomienda utilizar los términos referencias bibliográficas o referencias citadas para indicar la lista de fuentes citadas y que es colocada al final del trabajo y ordenada en secuencia numérica correspondiente al orden en que se cita en el texto y utilizar el término Bibliografía Complementaria para indicar la lista de fuentes consultadas pero que no han sido citadas en el cuerpo del texto del trabajo.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Resultados de las pruebas para comprobar si el HMA *Glomus fasciculatum* Tul., establece micorrización con *Moringa oleifera* Lam.

En las muestras correspondientes a las plantas inoculadas, en el 100 % de los casos, se pudo observar la morfología de todas las estructuras fúngicas (figuras 6, 7 y 8) especialmente los micelios y las vesículas. Todo el proceso de comprobación de la colonización efectiva, fue supervisado por el Doctor en Ciencias Biológicas Esteban García Quiñones (3). Se adjunta como anexo 7 una selección de fotografías de los resultados de estos análisis. En el laboratorio de microbiología de la Universidad de Pinar del Río se conservan todas las muestras de raíces estudiadas. En las muestras de raíces correspondientes a plantas no inoculadas, no se observaron estructuras fúngicas, lo que corrobora que no existían cepas naturales de este hongo micorrizógeno en el suelo del área experimental.

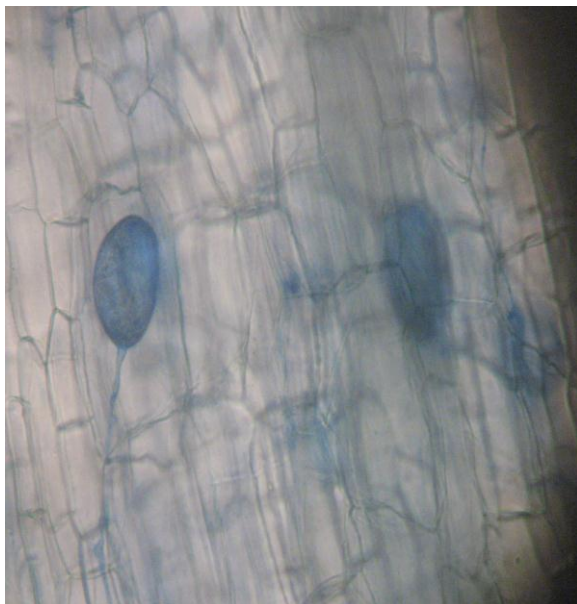


Figura 6. Vesículas de *Glomus fasciculatum* Tul. en raíces de *Moringa oleifera* Lam.



Figura 7. Hifas de *Glomus fasciculatum* Tul. en raíces de *Moringa oleifera* Lam.

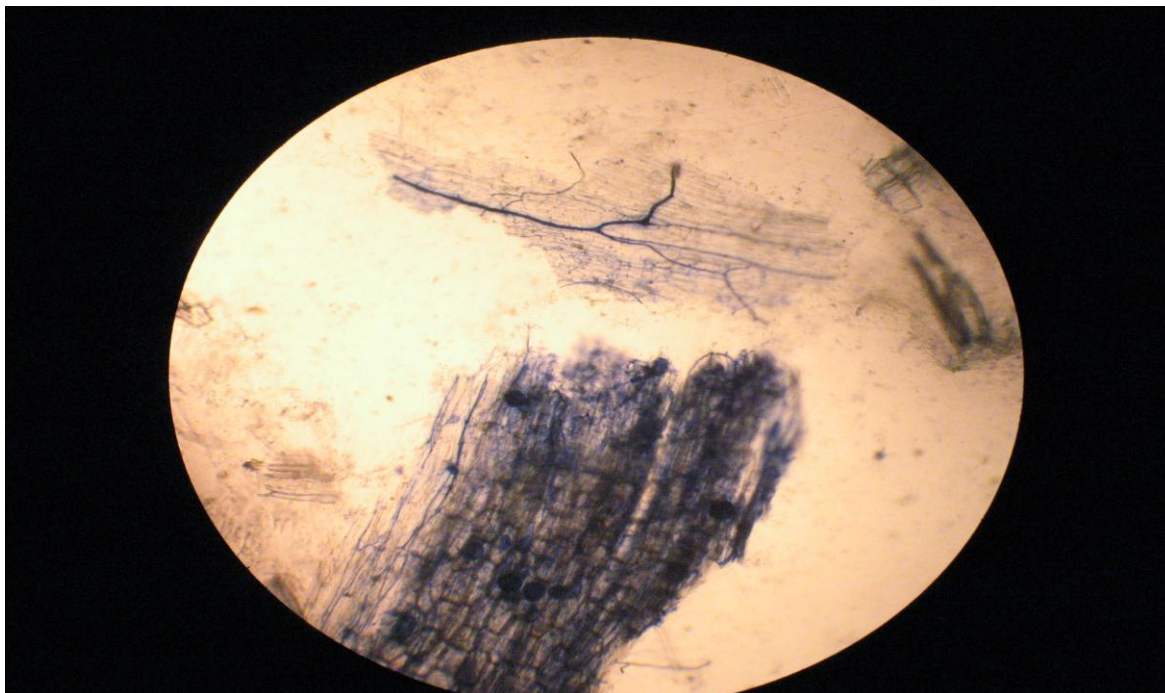


Figura 8. En la parte superior, hifas del hongo *Glomus fasciculatum* Tul., desarrolladas como red arbuscular. En la parte inferior, alta concentración de vesículas del mismo hongo. Ambas son en muestra de raíces de *Moringa oleifera* Lam., con lentes ocular 10 x y objetivo 40 x.

3.2 Evaluación de la colonización micorrizica por el Método de Giovannettii & Mosse de 1980 citado por García (3, 46)

Al realizar los análisis sobre los porcentos de micorrización en cada una de las parcelas se obtuvo el resultado de la tabla 4, representada en la figura 9.

Tabla 4 Porciento de micorrización del HMA *Glomus fasciculatum* Tul., por parcelas a los seis meses de plantada la especie *Moringa oleifera* Lam.

Parcela	Porciento de micorrización
2	32
3	28
6	29
7	33
Promedio Inoculadas	30,5
1	0
4	0
5	0
8	0

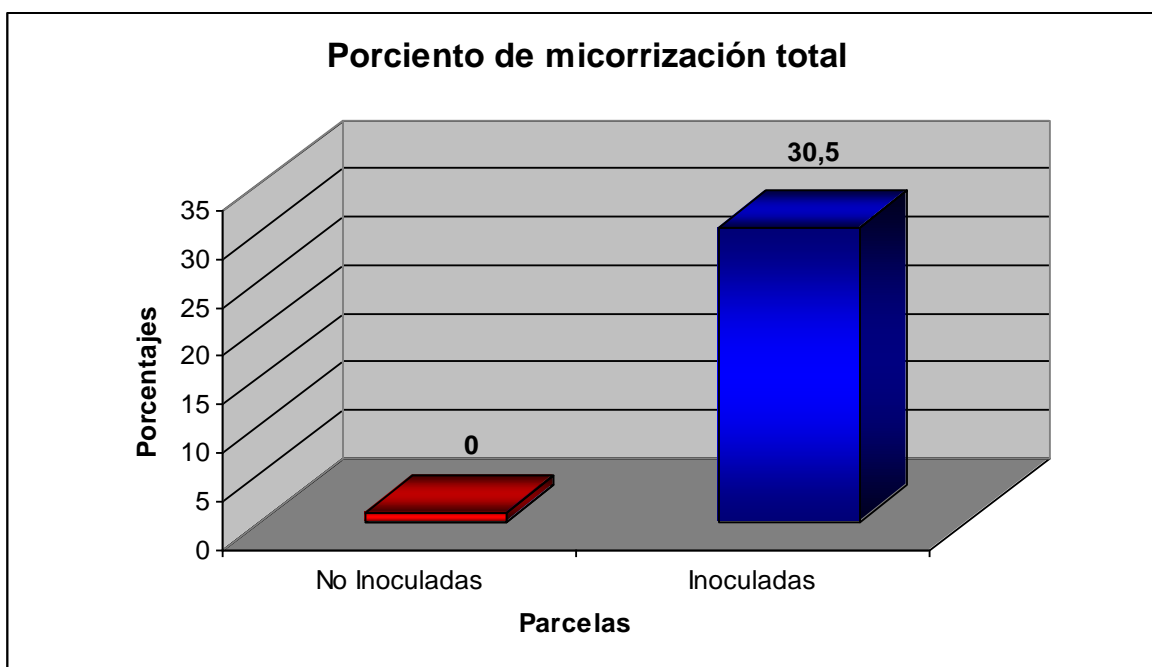


Figura 9 Histograma que ilustra el porciento de micorrización de las raíces de las plantas de *Moringa oleifera* Lam., inoculadas con el HMA *Glomus fasciculatum* Tul., con las no inoculadas, a los seis meses de la plantación

3.3 Discusión del resultado

Al comprobar, mediante análisis al microscopio con lentes ocular 10 X y objetivo 40 X, que el HMA *Glomus fasciculatum* Tul., establece micorrización efectiva con *Moringa oleifera* Lam., se confirmó lo planteado por Janos en 1996 (52) de que la inoculación de las plantas de este género de HMA puede ocurrir mediante esporas procedentes de plantas industriales o artesanales y la afirmación de Azcón en el 2000 (41) de que los HMA son capaces de colonizar raíces y así acceder a los recursos de la planta.

Se verifica además, lo planteado por Harrison en el 2001 (16) de que las micorrizas son probablemente el mutualismo más abundante y más distribuido en la superficie terrestre, ya que se estima que el 95 % de las plantas tienen micorrización y ésta es una de ellas.

Por otra parte, al inocular el hongo y comprobar su establecimiento mutualista en las raíces y en el suelo, se puede confirmar lo planteado por Tran en 1998 (15) y más reciente por Bailleres en el 2008 (68) de que en términos generales las vesículas y las hifas de esta endomicorriza se pueden observar en el citoplasma de las células de las raíces con mucha facilidad y nitidez al microscopio.

Según Matamoros y Vázquez (60), García (3) y Ruiz, L.A. (69), los experimentos de presencia-ausencia en micorrizas no requieren de repeticiones por varios años, ya que el número de muestras de raíces observadas al microscopio, son de hecho repeticiones que confirman el resultado.

El 30,5 obtenido al aplicar el método de Interceptos de Giovannettii & Mosse de 1980 citado por García (3, 46) , como media aritmética del por ciento de micorrización efectiva en las parcelas inoculadas, coincide con lo planteado por el propio García en el 2011 (3) de que en plantaciones de hasta un año la micorrización efectiva está entre el 25-35 % del área de raíces y que ello está influenciado por la dosis de inóculo y el tiempo que media entre la inoculación y el momento en que se realiza el análisis.

3.4 Resultados de las pruebas para comparar el estado nutricional de las plantas inoculadas con las no inoculadas a los seis meses.

Análisis por macroelementos. Se adjunta en el anexo 8 el reporte del laboratorio.

Nitrógeno:

El nitrógeno es uno de los macroelementos de mayor movilidad, yendo de las hojas inferiores (más viejas) a las superiores (más jóvenes). Este elemento está en la composición química de la mayoría de los compuestos orgánicos en la planta: proteínas, aminoácidos, clorofila, alcaloides, etc., siendo decisivo en el crecimiento,

multiplicación celular y en su fisiología, fundamentalmente en la fotosíntesis. Dinchev (2) lo define como el motor vital de la planta.

Los resultados de los análisis foliares presentados en la tabla 5, indican que en las parcelas 2, 3, 6 y 7, donde hubo inoculación del HMA, las diferencias entre los porcentos de nitrógeno en las hojas superiores e inferiores, son menores que las diferencias de las parcelas 1, 4, 5 y 8. Ello se corresponde con la teoría de la menor diferencia para evaluar el estado nutricional de las plantas argumentada por Dinchev en 1972 (2) por lo que en este portador las plantas de las parcelas 2, 3, 6 y 7 presentan mejor estado nutricional y han sido capaces de extraer del suelo, los niveles de nitrógeno que envían a los tejidos meristemáticos de las partes jóvenes del follaje. En su evaluación fenotípica no presentan clorosis o ésta es menor que las de las parcelas 1, 4, 5 y 8.

Tabla 5. Evaluación del nitrógeno (N) en % del peso de la muestra

No de parcela	2	3	6	7	1	4	5	8
Hojas superiores	3.58	3.17	2.99	2.86	2.15	2.24	2.20	2.02
Hojas inferiores	3.40	3.07	2.98	2.80	1.15	1.18	1.35	1.01
Diferencia	0.18	0.10	0.01	0.06	1.0	1.06	0.85	1.01

Fósforo:

El fósforo es básico para el crecimiento y desarrollo de la planta, pues al asociarse con otros compuestos orgánicos da origen a productos ricos en energía, como el ATP (ácido adenosín trifosfórico) que permiten el proceso metabólico. También forma parte de enzimas que aceleran procesos, está en las cadenas de los cromosomas, facilita la asimilación del nitrógeno. Una planta mejor nutrida de fósforo está en condiciones de tener una actividad fisiológica más ordenada, estable e intensa (2).

Los resultados de los análisis foliares presentados en la tabla 6, indican que las plantas de las parcelas 2, 3, 6 y 7 presentan un mejor estado nutricional del macroelemento fósforo, que las de las parcelas 1, 4, 5 y 8.

Tabla 6. Evaluación del fósforo (P) en % del peso de la muestra

No de parcela	2	3	6	7	1	4	5	8
Hojas superiores	0.25	0.22	0.23	0.21	0.28	0.30	0.28	0.26
Hojas inferiores	0.22	0.18	0.20	0.18	0.12	0.12	0.12	0.11
Diferencia	0.03	0.04	0.03	0.03	0.16	0.18	0.16	0.15

Potasio:

El Potasio es un elemento de rápida movilidad en la planta y regulador de otros nutrientes por lo que su carencia se refleja en otros elementos. Interviene en el intercambio de carbohidratos en diferentes partes, especialmente todo lo concerniente con el almidón. Influye en la síntesis de proteínas, estimula el crecimiento de meristemas, interviene en la fotosíntesis y coordina los estomas y con ello el régimen hídrico de la planta. Una planta mejor nutrida de potasio, debe tener un mejor crecimiento y desarrollo (2). Los resultados de los análisis foliares presentados en la tabla 7, indican que las plantas de las parcelas 2, 3, 6 y 7, inoculadas con *Glomus fasciculatum* Tul., presentan un mejor estado nutricional del elemento potasio y en su evaluación fenotípica las plantas de estas parcelas no presentan los síntomas característicos de la deficiencia del elemento.

Tabla 7. Evaluación del potasio (K) en % del peso de la muestra

No de parcela	2	3	6	7	1	4	5	8
Hojas superiores	1.22	1.27	0.80	1.27	1.45	1.45	1.58	1.62
Hojas inferiores	1.12	1.06	0.80	1.10	0.69	0.65	0.80	0.70
Diferencia	0.10	0.21	0.00	0.17	0.76	0.80	0.78	0.92

Calcio:

El calcio es de menor movilidad en la planta que el N, P y K. Por eso generalmente las hojas más viejas (inferiores), presentan mayores porcentajes que las más jóvenes. Es importante para el desarrollo de un fuerte sistema radicular, para el equilibrio fisiológico de otros nutrientes y para las estructuras de las paredes celulares (2).

Los resultados de los análisis foliares presentados en la tabla 8, también indican que las plantas de las parcelas 2, 3, 6 y 7 están mejor nutridas de este elemento que las parcelas 1, 4, 5 y 8.

Tabla 8. Evaluación del calcio (Ca) en % del peso de la muestra

No de parcela	2	3	6	7	1	4	5	8
Hojas superiores	1.02	1.02	1.56	1.50	0.66	0.65	1.06	1.04
Hojas inferiores	1.04	1.04	1.64	1.64	2.20	2.22	2.90	2.85
Diferencia	0.02	0.02	0.08	0.14	1.54	1.57	1.84	1.81

Magnesio:

El magnesio está presente en la molécula de clorofila por lo que participa en la fotosíntesis. También está presente en las semillas de las plantas. Al igual que el calcio, es un elemento de menor movilidad que el nitrógeno, el fósforo y el potasio por lo que los niveles en hojas viejas son ligeramente superiores a los niveles en hojas jóvenes (2). Los análisis foliares (tabla 9) indican que también en este elemento, las plantas de las parcelas 2, 3, 6 y 7 están mejor nutridas que las otras.

Tabla 9. Evaluación del magnesio (Mg) en % del peso de la muestra

No de parcela	2	3	6	7	1	4	5	8
Hojas superiores	0.12	0.12	0.30	0.30	0.10	0.10	0.18	0.18
Hojas inferiores	0.14	0.13	0.36	0.32	0.41	0.31	0.73	0.72
Diferencia	0.02	0.01	0.06	0.02	0.31	0.21	0.55	0.54

3.5 Discusión del resultado

Los resultados de los análisis foliares realizados, para determinar el estado nutricional de las plantas, a partir de la presencia en porciento del peso de las muestras de los elementos nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio en hojas superiores (jóvenes) y en hojas inferiores (viejas) de *Moringa oleifera* Lam., indican que en todos los elementos, las diferencias entre los valores de hojas superiores e inferiores, son menores en las plantas correspondientes a las parcelas 2, 3, 6 y 7 que en las plantas correspondientes a las parcelas 1, 4, 5 y 8.

Ello se corresponde con los resultados obtenidos por Dinchev en 1972 y Levistki en 1970 citado por Dinchev (2) sobre el procedimiento de la menor diferencia para evaluar cualitativamente el mejor estado nutricional de las plantas a partir de análisis foliares, supuesto teórico que indica que en todos los portadores estudiados, las plantas de las parcelas 2, 3, 6 y 7 presentan mejor estado nutricional a los seis meses, lo cual debe corresponderse con un mayor crecimiento y desarrollo en el período.

También se corresponden con los resultados obtenidos en fecha más reciente por Matamoros y Vázquez (60) en el 2005, sobre el método de balance biológico, considerando específicamente el balance biológico entre hojas superiores e inferiores, en el estado nutricional de plantas de una misma especie.

Según Tran (15) y Harrison (16) la asociación entre los hongos micorrizógenos arbusculares y las especies vegetales, siempre es beneficiosa para ambos y en el caso de las plantas, posibilita un mejor estado nutricional que se aprecia en diferencias en el crecimiento y desarrollo en variables medibles como el diámetro

del tallo y la altura de la planta. Sin embargo, los efectos del hongo en el estado nutricional y en el crecimiento y desarrollo de la planta si difieren, según esos autores y Le Tación (44) para diferentes tipos de suelos, observándose que generalmente los efectos de las micorrizas, no tienen correlación fuerte y directa con la fertilidad del suelo. Esos autores, y Chacalo (70) en experimentos de campo, han obtenido mayores efectos en el crecimiento y desarrollo de plantas inoculadas con micorrizas, en suelos menos fértiles, que en los más fértiles.

Azcon et al en el año 2000 (41) argumenta otro tipo de interrelaciones entre los HMA y las bacterias fijadoras de nitrógeno, presentes en las leguminosas como es *Rhizobium*, la cual es considerada sinérgica, ya que el hongo proporciona el fósforo indispensable para su nodulación y crecimiento e incrementa la cantidad de sustancias isoflavonoides o fitoalexinas.

Los resultados obtenidos en el experimento, están en concordancia además, con lo planteado por Pfeleger y Linderman en 1996 (71) de que la formación de micorrizas en las raíces de las plantas incrementa la absorción de P por las plantas y consecuentemente favorece su crecimiento y desarrollo. Ello se debe, según Azcon et al., reportado en el año 2000 (41) a que el trabajo en equipo de los hongos micorrizógenos arbusculares se ve complementado con el de las bacterias solubilizadoras de fósforo *Agrobacterium* sp y *Pseudomonas* sp, las cuales producen hormonas de crecimiento para las plantas.

3.6 Resultados del análisis foliar para comparar el estado nutricional a los 24 meses.

Este análisis foliar a los 24 meses para dar seguimiento al estado nutricional de las plantas inoculadas y compararlas cualitativamente con las no inoculadas, se realizó

con una muestra de hojas superiores y otra de hojas inferiores, correspondientes a dos plantas por parcelas, en las parcelas 1, 2, 5 y 6. Solo se realizaron análisis de Ca y Mg porque estos dos elementos, de menor movilidad en la planta que los restantes (N, P, K), son muy importantes en las plantaciones destinadas a producir semillas, pues el calcio interviene en el desarrollo de un fuerte sistema radicular, para el equilibrio fisiológico de otros nutrientes y para las estructuras de las paredes celulares y el magnesio está presente en la molécula de clorofila por lo que participa en la fotosíntesis y también está presente en las semillas de las plantas. Además ambos elementos son muy importantes en la estructura de las células esclerenquimatosas que dan sostén a la planta (2).

Los resultados aparecen en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados de las evaluaciones de Ca y Mg a los 24 meses en

% del peso de la muestra

Parcelas	Hojas	Ca	Mg
1	Superiores	4,00	0,69
1	Inferiores	4,74	0,86
	Diferencia	0,74	0,17
5	Superiores	3,48	0,61
5	Inferiores	5,30	0,80
	Diferencia	1,82	0,19
2	Superiores	4,30	0,54
2	Inferiores	4,60	0,57
	Diferencia	0,30	0,03
6	Superiores	3,28	0,42
6	Inferiores	3,78	0,49
	Diferencia	0,50	0,07

3.7 Discusión del resultado

También a los 24 meses, al evaluar por el método cualitativo de la menor diferencia, los resultados de los análisis foliares realizados para determinar el estado nutricional de las plantas, a partir de la presencia en porciento del peso de las muestras de los

elementos calcio y magnesio en hojas superiores (jóvenes) y en hojas inferiores (viejas) de *Moringa oleifera* Lam., indican que en todos los elementos, las diferencias entre los valores de hojas superiores e inferiores, son menores en las plantas correspondientes a las parcelas 2 y 6 (que fueron inoculadas con el hongo) que en las plantas correspondientes a las parcelas 1 y 5 (que no fueron inoculadas).

Ello coincide con los resultados obtenidos por Dinchev en 1972 y Levistki en 1970 citado por Dinchev (2) sobre el procedimiento de la menor diferencia para evaluar cualitativamente el mejor estado nutricional de las plantas a partir de análisis foliares, supuesto teórico que indica que en los dos portadores analizados a los 24 meses, las plantas de las parcelas 2 y 6, presentan mejor estado nutricional, lo cual debe corresponderse con un mayor crecimiento, desarrollo y producción de semilla en ese período. También se corresponden con los resultados obtenidos en fecha más reciente por Matamoros y Vázquez (60) en el 2005 sobre el método de balance biológico, considerando específicamente el balance biológico entre hojas superiores e inferiores, en el estado nutricional de plantas de una misma especie, por lo que las plantas de las parcelas que fueron inoculadas con el HMA presentan mejor estructura esclerenquimatosa y podrán ser más resistentes según el criterio de Cuenca, Andrade, Machuca, et al (72) que plantean que con el incremento del tiempo, los efectos beneficiosos de los hongos micorrizógenos en el enraizamiento, establecimiento y crecimiento de la planta, principalmente en suelos con bajos contenidos de nutrientes, se incrementan debido a que existe una mayor capacidad de absorción de nutrientes poco móviles como el calcio, el magnesio, el fósforo y el zinc.

En conclusión el aprovechamiento de las investigaciones sobre estos hongos

benéficos nos permiten ver el gran potencial que tienen como biofertilizantes y mejoradores biológicos del suelo, particularmente para suelos degradados o de baja fertilidad.

3.8 Resultados de los análisis estadísticos que comparan el crecimiento y desarrollo entre las plantas inoculadas y las no inoculadas

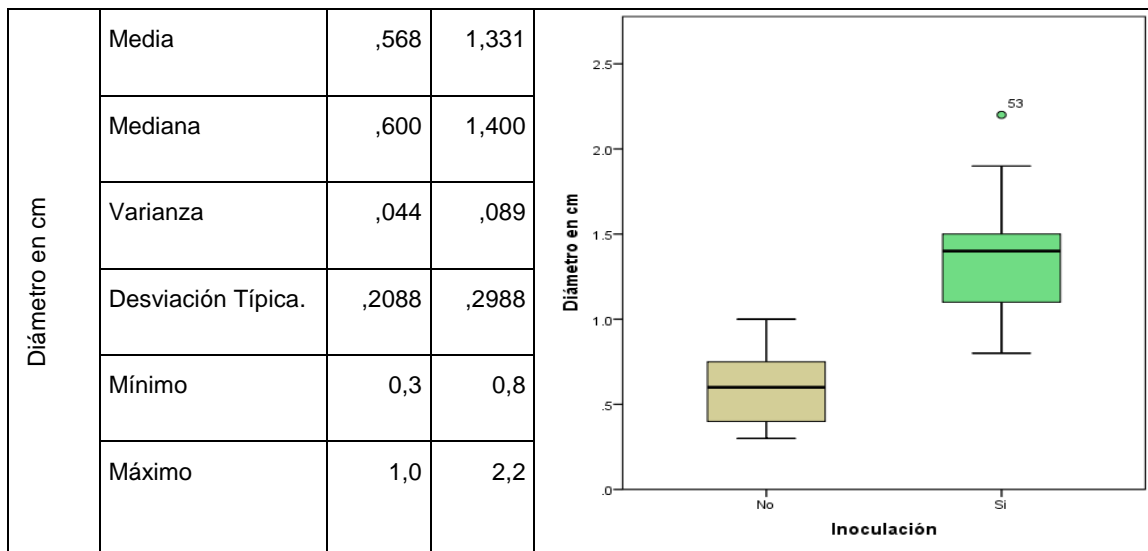
Los datos de campo referentes a la altura de la planta en cm., y el diámetro del tallo, fueron agrupados en tablas de distribución de frecuencias, presentados en gráficos y evaluados mediante análisis estadísticos. En el anexo 7.9 aparecen todas las pruebas realizadas, cuyos principales resultados fueron los siguientes:

Se comprobó que los datos cumplen con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza por lo que se aplicaron procedimientos de análisis estadísticos de tipo paramétrico.

Los resultados de los descriptivos de acuerdo a los dos tratamientos empleados se presentan en la tabla 11.

Tabla 11 – Descriptivos estadísticos para el efecto de la inoculación sobre el diámetro y altura de las plantas de *Moringa oleifera* Lam., a los 120 días.

		Inoculación		
		No	Si	
Altura en cm	Media	15,94	46,74	
	Mediana	14,00	46,00	
	Varianza	57,462	95,726	
	Desviación Típica	7,580	9,784	
	Mínimo	5	28	
	Máximo	32	77	



La prueba de comparación reveló un efecto significativo ($p < 0,05$) de la inoculación sobre el diámetro y la altura de las plantas. Para ambas variables las plantas inoculadas alcanzaron valores superiores.

La comparación entre parcelas también reveló diferencias significativas ($p < 0,05$). En la tabla 12 se presentan los valores promedios por parcelas y los resultados de la comparación múltiple.

Tabla 12 – Valores promedios de diámetro y altura por parcelas

Parcelas	Altura en cm	Diámetro en cm
8	9.50 b	.387 b
4	15.00 b	.588 b
5	18.63 b	.650 b
1	21.29 b	.657 b
7	43.13 a	1.262 a
2	44.33 a	1.200 a
3	46.44 a	1.367 a
6	52.67 a	1.489 a

Letras desiguales indican diferencias significativas ($p < 0,05$) prueba de Tukey

En todos los casos las parcelas cuyas plantas fueron inoculadas el promedio es superior tanto para el diámetro como para la altura de las plantas.

El análisis de correlación (tabla 13) mostró una correlación significativa ($p < 0,05$) y alta entre las variables diámetro y altura del tallo, el coeficiente de correlación alcanzó un valor de 0,962. En la figura 10 se muestra el diagrama de dispersión entre ambas variables donde se aprecia que la dispersión es baja. Los resultados fueron similares cuando se analizaron por separado las plantas inoculadas y no inoculadas con la micorriza.

Tabla 13 Coeficiente de correlación lineal de Pearson

		Altura	Diámetro
Altura	Correlación de Pearson	1	,962(**)
	Sig. (bilateral)		,000
	N	65	65
Diámetro	Correlación de Pearson	,962(**)	1
	Sig. (bilateral)	,000	
	N	65	65

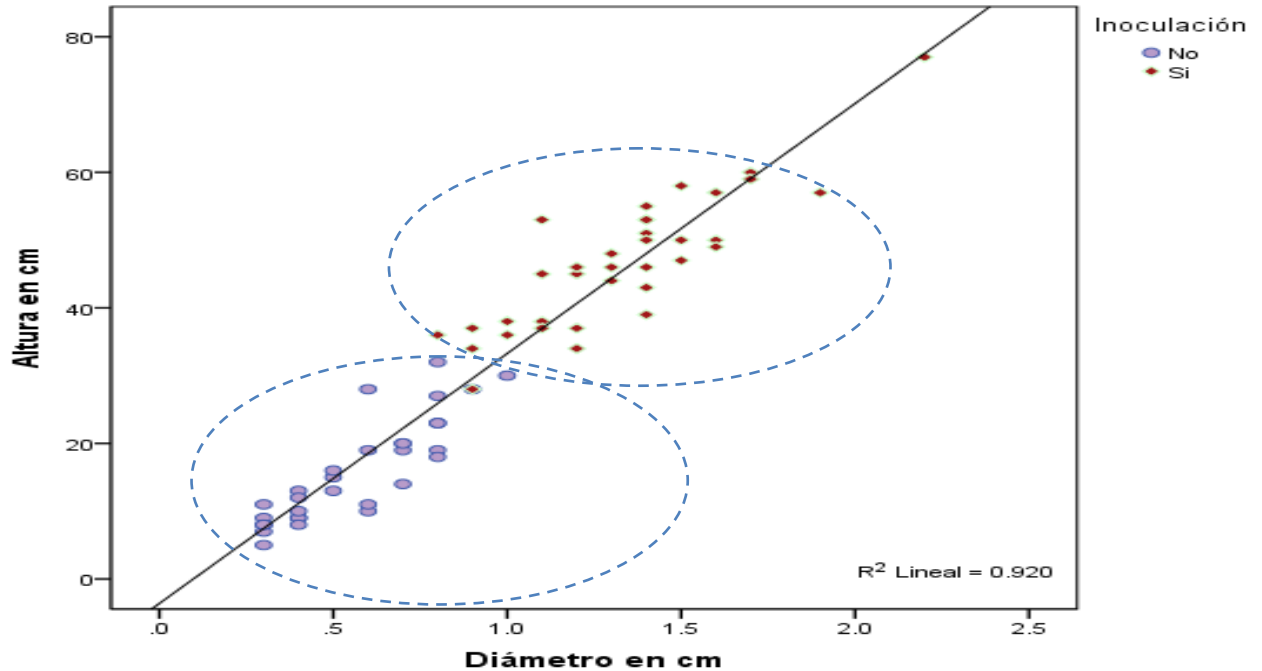


Figura 10. Diagrama de dispersión entre las variables diámetro del tallo y altura de la planta de *Moringa oleífera* Lam., a los seis meses.

En el diagrama de dispersión las plantas inoculadas se sitúan en la elipse superior y las no inoculadas en la elipse inferior y los datos están concentrados con muy poca variación. Este resultado cualitativo, más la evaluación cuantitativa del coeficiente de correlación de Pearson explican que durante los primeros seis meses de su desarrollo, la especie forestal *Moringa oleífera* Lam., presenta correlación fuerte y directa en el crecimiento del diámetro del tallo de las plantas y su altura, lo cual coincide con los resultados de Cuenca en el 2004 (51) y Rodríguez en el 2010 (6) en esta especie y con otros autores (50, 51, 52) en diversas especies.

3.9 Resultados de la evaluación de la supervivencia a los seis meses en las parcelas

El experimento demuestra (Tabla 14) que la *Moringa oleífera* Lam., es una especie de alto porcentaje de germinación en sus semillas, superior al 85, con semillas frescas de poco tiempo de conservación en frío. También tuvo alto porcentaje de supervivencia a los seis meses, con inoculación. Las plantas inoculadas tuvieron un 97 % de supervivencia y las no inoculadas un 86 %. Las diferencias fundamentales están en el estado nutricional y en el mejor crecimiento y desarrollo de las plantas inoculadas con el hongo, comparadas con las no inoculadas, que presentan deficiencias nutricionales con marcadas clorosis ya a los seis meses de plantadas en suelos de baja fertilidad.

Tabla 14. Porcentaje de supervivencia a los seis meses

Parcelas	% de supervivencia
1	78
2	100
3	100
4	89
5	89
6	100
7	89
8	89

3.10 Resultado de la medición de la biomasa verde por tratamientos

La media aritmética del peso de cada planta en las parcelas que fueron inoculadas (tabla 15) por el HMA *Glomus fasciculatum* Tul., fue de 473,139 gramos, notablemente superior a los 187,22 gramos que promediaron las plantas en las parcelas que no fueron inoculadas.

Tabla 15 Promedio del peso por planta de *Moringa oleifera* Lam., en cada parcela a los seis meses.

No de parcela	Peso en gramos por plantas (promedio)	
	Inoculadas	No inoculadas
2	447,82	
3	491,14	
6	547,48	
7	407,12	
1		286,32
4		120,00
5		251,15
8		94,22
Promedio	473,139	187,22

No se consideró necesario ningún análisis estadístico pues según Chacalo (70), el peso de la planta en todas las especies, tiene correlación fuerte y directa con la altura y el diámetro del tallo y en ambas variables ya las pruebas estadísticas realizadas, demuestran que existen diferencias significativas a favor de las plantas de las parcelas que fueron inoculadas con el HMA. Además, el marco de plantación del experimento (2,0 x 1,5 metros) en plantaciones para producción de semillas, no tendrán reiterados cortes, por lo que la producción de biomasa se evalúa como complemento del mejor estado nutricional, crecimiento y desarrollo de las plantas inoculadas sobre las no inoculadas. Sin embargo, es importante considerar en futuras investigaciones, darle continuidad al análisis de las diferencias en la producción de biomasa sobre todo en los rebrotes de aquellas plantaciones de marcos de siembra/ plantación más pequeños y que sean destinadas a forrajes, para evaluar los efectos del hongo en la cantidad y el vigor de los nuevos retoños después del primer corte.

3.11 Resultados de los análisis de costo y factibilidad

Costo del experimento:

La ejecución del experimento costó 1138,06 CUP. No se cuantificó el valor de la fuerza de trabajo, porque las acciones fueron ejecutadas por el aspirante, compañeros y familiares. Los principales elementos de gastos a partir del modelo 5924 en CUP fueron:

<u>Conceptos</u>	<u>Importes</u>
- Materias primas y materiales	125,00
- Combustible	
- Energía	
- Salarios	
- Depreciación y amortización	
- Otros gastos monetarios	500,00
- Análisis foliares y de suelo	513,06
Costo de la investigación	1138,06

Estos gastos fueron cubiertos con el presupuesto asignado para capacitación en la Delegación Provincial del Ministerio de la Agricultura en Pinar del Río.

Análisis de costo- beneficio para la generalización de la investigación

En el país no existen datos acumulados de muchos años, de análisis de costo beneficio en plantaciones de *Moringa oleífera* Lam., a 2,0 x 1,5 metros, destinadas a producir semillas para dar respuesta a los planes de masificación de la especie.

Por ello se utilizaron los datos de certificación realizados por el Servicio Estatal Forestal en Pinar del Río, durante el año 2013 y los precios de comercialización de la

semilla por calidades, establecidos por la Empresa Nacional de Semillas Varias del MINAG.

Durante el año 2013 el Servicio Estatal Forestal en Pinar del Río, certificó el establecimiento de 6,0 hectáreas de *Moringa oleifera* Lam., plantada a 2,0 x 1,5 metros destinadas a producir semillas. Esta especie se considera establecida a los 12 meses. El costo de esa inversión ascendió a 19 365,70 CUP para 3 227,61 CUP por cada hectárea establecida.

Inocular una hectárea de *Moringa oleifera* Lam., con el HMA *Glomus fasciculatum* Tul., incrementa este costo por hectárea en 250,0 CUP considerando el costo del inóculo y la mano de obra para el proceso. Ello eleva entonces a 3 477,61 CUP el costo de llevar la hectárea destinada a producir semillas, a su primer año para certificarla como establecida por el Servicio Estatal Forestal. Este costo aumenta en 15 000,00 CUP por hectárea cuando comienza el proceso de recolección y beneficio de la semilla en el segundo año, fundamentalmente por concepto de fuerza de trabajo.

Cada hectárea de la especie con este marco de plantación tiene 3 333 plantas.

Varios autores consultados (4, 8, 29, 30), coinciden en que cada planta de *Moringa oleifera* Lam., es capaz de producir al año entre 15 000 y 25 000 semillas a partir del segundo año y que ya en el propio primer año es capaz de producir hasta el 50 % de esos niveles. Considerando valores medios a esos potenciales, una hectárea puede producir al año entre 20 y 24 millones de semillas.

Un Kg. de semillas de Moringa tiene entre 2 200 y 2 300 semillas según información del Establecimiento Provincial de Semillas Varias del MINAG en Pinar del Río, lo que implica que una hectárea del cultivo puede producir entre 8 000 y 10 000 kg. de semilla al año.

Los precios de compra al productor al cierre del 31 de diciembre del 2013 para la semilla de Moringa oleifera, con máximos de 18 % de humedad y 12 de impurezas son:

- Con más de 75 % de germinación (semilla fresca)..... 50,00 CUP el Kg.
- Entre el 60 y el 74,99 % de germinación..... 40,00 CUP el Kg.
- Con menos de 60 % de germinación (para aceites y otros) 10,00 CUP el Kg.

Utilizando valores mínimos en cada uno de los elementos conceptuales anteriores, se puede resumir lo siguiente:

<u>Relación Costo – Beneficio</u>	<u>Importes</u>
-Costo de inversión de plantación de semilla por hectárea	3 227,61 CUP
- Costo por hectárea de la inoculación con el hongo	250,00 “
- Costo por hectárea inoculada certificada por el SEF (12 meses)	3 477,61 “
- Costo por hectárea en el segundo año al beneficiar semillas	15 000,00 “
- Costo total hasta el segundo año	18 477,61 “
- Aportes al fisco por Impuesto sobre las ventas (5%)	11 880,00 “
- Estimado de otros aportes por Seguridad social, transporte terrestre, etc.	3 150,00 “
- Valor de la producción de semilla anual por hectárea	232 000,00 “
- Utilidad o beneficio por hectárea al concluir el segundo año	198 492,39 “

Con cualquiera de las tres calidades de semillas obtenidas, los productores alcanzan utilidades a partir del segundo año, pero aún no se debe asegurar que es económicamente factible aplicar los resultados de la investigación en la esfera productiva del Ministerio de la Agricultura, pues solo fueron evaluadas 6,0 ha y un año por lo que el estudio en este aspecto de costo beneficio constituye una aproximación a los componentes económicos.

Hay que considerar además que la inoculación del hongo posibilita un mayor desarrollo de la planta, derivado de un mejor estado nutricional al ampliar con la simbiosis que se establece, su área de absorción de nutrientes. Hay mayor producción de biomasa en general y de semilla en particular y ello implicará que los ingresos serán superiores.

No existen aún análisis de factibilidad para la aplicación de la inoculación en plantaciones con marcos de siembra/plantación estrechos para cortes reiterados en organopónicos y en las áreas forrajeras de la ganadería.

3.12 Discusión del resultado

Se comprobó mediante las evaluaciones realizadas, que existen diferencias significativas en el crecimiento y desarrollo de las plantas, ya que las inoculadas muestran valores superiores a las no inoculadas en la altura, el diámetro del tallo, la producción de biomasa y el % supervivencia a los seis meses.

Este resultado coincide con los obtenidos por Gaur y Aldoleya en el 2004 (47) de que el micelio del hongo realiza una mayor exploración de los recintos del suelo para la obtención de los nutrientes que necesita la planta, al igual que el agua, permitiendo esto un correspondiente aumento del crecimiento y vigorosidad de la planta, lo que en las plantaciones destinadas a producir semillas implican un aumento en los niveles de producción.

También coincide con lo planteado unos años antes por Le Tacón en 1985 (44) de que las plantas al ser micorrizadas o establecer micorrización natural en suelos donde existan HMA, en muchas ocasiones es mayor su crecimiento vegetativo en altura, biomasa y supervivencia.

Además, todo coincide con lo planteado por Cuenca en el 2004 (51) que también reporta que las plantas micorrizadas tienen mayor capacidad de establecimiento y

supervivencia cuando se comparan con plantas que no presentan asociaciones con hongos.

A partir de los resultados obtenidos por el autor en el 2012 (**73, 74**), se puede confirmar lo reportado por Davet en el 2004 (40) de que los hongos micorrizógenos arbusculares podrían considerarse como una herramienta biológica para la restauración, ya que al posibilitar un mejor estado nutricional en las plantas asociadas, permiten un mayor crecimiento y desarrollo como obtuvo Dinchev en 1972 (2) y más reciente Matamoros y Vázquez (60). Es significativo señalar que ese mejor estado nutricional de las plantas inoculadas se mantuvo hasta los 24 meses en los elementos calcio y magnesio, que son importantes para un mejor desarrollo radical y de la estructura esclerenquimatosa de la planta (2).

Aunque el estudio de costo y factibilidad constituye solo una aproximación al tema, porque solo fue posible disponer de datos contables de un año, lo cual no permite asegurar con certeza que sea económicamente factible su generalización, en opinión de Abel Izquierdo (*), Subdirector Económico del Grupo Empresarial de Agricultura de Montaña (GEAM) en Pinar del Río, en cualesquiera que sean las condiciones en que se ejecute el proceso de inoculación del hongo micorrizógeno en plantaciones semilleras, el proceso es rentable porque los precios de la semilla son altos y dejan utilidades que estimulan a los productores.

(*) Lic. Abel Izquierdo Hernández. Subdirector de Economía. Grupo GEAM. Edificio de la Delegación Provincial del MINAG. en Pinar del Río. Calle Los Pinos Final. Reparto Hnos Cruz. Ciudad

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1.- El hongo micorrizógeno arbuscular *Glomus fasciculatum* Tul., establece asociación micorrízica con *Moringa oleífera* Lam., lo que sitúa a esta especie entre las que establecen simbiosis con endomicorrizas.
- 2.- La inoculación de *Glomus fasciculatum* Tul., mejora el estado nutricional de *Moringa oleífera* Lam., en un suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico, lo que garantiza una mayor calidad en los procesos de reforestación con esta especie en ese tipo de suelo.
- 3.- La inoculación de *Glomus fasciculatum* Tul., a *Moringa oleífera* Lam., tiene efectos significativos sobre el crecimiento y la producción de biomasa durante el primer año de la plantación, en un suelo Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico.

RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES

1.- Al Instituto de Investigaciones Forestales: Continuar estudios de dosificación del HMA *Glomus fasciculatum* Tul., para determinar la dosis económicamente más adecuada en el momento de la inoculación.

2.- A la Dirección Nacional Forestal: Tener en cuenta los resultados de esta tesis como alternativa de biofertilización, para el programa de establecimiento masivo de *Moringa oleifera* Lam., en los perímetros urbanos y suburbanos y en las empresas ganaderas y agrícolas que inician su plantación, especialmente en los suelos que clasifican como Fersialítico Pardo Rojizo Ócrico Eútrico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Ivanov, Z. 1985. La experimentación agrícola. Editorial Pueblo y Educación. La Habana. Cuba.
- 2.- Dinchev, D. 1972. Agroquímica. Instituto Cubano del Libro. La Habana. Cuba.
- 3.- García, E. 2012. Conferencia sobre micorrizas en el Programa de Doctorado Curricular Colaborativo en Ciencias Forestales. Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Pinar del Río. 20 de abril. Pinar del Río. Cuba.
- 4.- Riverol Rosquet, M., Castellanos Pina, N., Peña Valenti, F., Fuentes Soto, A. 2001. Programa Nacional de Mejoramiento y Conservación de Suelos. Agrinfor. La Habana. Cuba.
- 5.- Dirección Nacional Forestal. 2006. Programa Nacional Forestal de la República de Cuba hasta el año 2015. Impreso en Producciones gráficas del MINREX. Ministerio de la Agricultura. La Habana. Cuba.
- 6.- Rodríguez Nodals, A. 2011. Instrucciones técnicas para el manejo de Moringa oleifera Lam., en organopónicos. Instituto Finlay. La Habana. Cuba.
- 7.- Rodríguez Morales, S. 2012. Conferencia sobre la situación de los alimentos en el mundo. Palacio de Convenciones. La Habana. Cuba.
- 8.- Reyes, N. 2008. Moringa oleifera and Cratylia argentea: potential fodder Species for ruminants in Nicaragua . Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science Department of Animal Nutrition and Management Uppsala. Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala. Pp:140. Managua. Nicaragua.
- 9.- Smith, O. B. 1996. El forraje de árboles y arbustos como alimento para el ganado en los trópicos. Serie “mejores cultivos” No. 42. FAO. Roma. 52 p. Italia.

- 10.- Jyothi, P.V. 2008. Pollination ecology of *Moringa oleifera* (Moringaceae).
Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Plant Sciences). 100:33. India.
- 11.- Hernández Jiménez, A., Rivero Ramos, L., Camacho Díaz, E., Ruiz Careaga, J.,
Marsán Bartolomé, R., Orellana Gallegos, Rosa, et al .1999. Nueva versión de la
clasificación Genética de los Suelos de Cuba. Agrinfor. La Habana. Cuba.
- 12.- Carrillo González, R. 2009. Degradación de suelos. Conceptos generales.
Editorial Las Prensas de Ciencias. Ciudad México. México.
- 13.- Hobbs, R.J. y D.A. Norton. 1996. Towards a conceptual framework for
restoration ecology. Restoration Ecology 4. EUA. Pp93-110.
- 14.- SER. 2004. Society for Ecological Restoration Science.Policy Working Group
Tucson. EUA. Pp 120 .
- 15.- Tran, G. 1998. Effect of soil degradation of leaf decomposition and nutrient
realease under humid tropical conditions. Soil Science 163. EUA. Pp: 905.
- 16.- Harrison, L. 2001. La fertilidad de los suelos. Editado por H. Hieronimi.
Canberra. Australia.

En: <http://www.tierramor.org/articulos/fertilidad-desuelos.htm>
- 17.- Ibáñez, J .J. 2008. ¿Qué es la fertilidad del suelo. Universidad de Valencia.
Valencia. España.

En: <http://www.madrimasd.org/blogs/universo/2008/01/29/83481>
- 18.- Flores, L .H. E. 2004. Rutas de transporte superficiales de nitrógeno y fósforo
en un área de drenaje. Tesis de doctorado. Colegio de Postgraduados.
Texcoco. México.
- 19.- García González, M.J. 2004. Fertilidad del suelo. Universidad de Madrid.
España.

En: <http://www.monografias.com/trabajos76/fertilidad-suelo/fertilidad-suelo/.shtml>

- 20.- Bardales Aguilar, Z. 2006. Estudio de Mecánica de suelos. Enciclopedia virtual. Lima. Perú. En: http://www.peruecologico.com.pe/lib_c18.htm
- 21.- Sotolongo, R. 2011. Conferencia sobre biodiversidad. Programa de Doctorado Curricular Colaborativo en Ciencias Forestales..Universidad de Pinar del Río. Cuba.
- 22.- Pozo Hernández, C. 2011. Conferencia sobre la clasificación genética de los suelos de Cuba. Laboratorio Provincial de Suelos. MINAG. Pinar del Río. Cuba.
- 23.- Jaula Bottet, J.A. 2011. Conferencia sobre desarrollo forestal sostenible. Programa de Doctorado Curricular Colaborativo en Ciencias Forestales. UPR. Pinar del Río. Cuba.
- 24.- Altieri, M.A. 2006. Desafíos agroecológicos para el desarrollo de una agricultura sustentable en la América Latina del siglo XXI. Conferencia. VI Encuentro de Agricultura Orgánica. La Habana. Cuba.
- 25.- Rodríguez Lara, P. J. 2013. Informe sobre el estado de la reforestación en Pinar del Río. Oficina Provincial del Servicio Estatal Forestal (SEF). Pinar del Río. Cuba.
- 26.- Kleinn, C. 2000. Inventario y evaluación de los árboles fuera del bosque en grandes espacios. Unasylva, 200(51):3-10. Ciudad de México. México.
- 27.- Reinoso Pérez, M. 2010. Los árboles fuera del bosque, una opción para incrementar la biodiversidad y productividad en agroecosistemas frágiles. III Congreso de Agricultura Tropical. La Habana, Cuba.
- 28.- Font Quer, P. 1975. Diccionario botánico. Edit. Labor S.A. Barcelona. 1244 p. España.

- 29.- OLUFUNMILAYO, E. 2012. Moringa oleifera Lam. Grown in Nigeria. Journal of Pharmacy. Bioallied sciences. Sitio:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc3341715>
- 30.- Price, M.L. 2000. The Moringa tree. Educational Concerns for Hunger Organization (ECHO). Technical Note. 1985 (revised 2000). pp:230. New York. EUA.
- 31.- Sociedades Bíblicas Unidas. 1993. Dios habla hoy. La biblia con Deuterocanónicos. Poyng Yang. Corea.
- 32.- Gómez, M. L., Rodríguez, E. 1995. Árboles y arbustos forrajeros utilizados en alimentación como fuente proteica. Edit. CIPAV. Bogotá. Colombia. 126 p.
- 33.- Croess, Rubelis y Villalobos, Nuris. 2009. Caracterización en cuanto a edad y altura de corte del moringo (Moringa oleifera) como uso potencial en la alimentación animal. Instituto Universitario de Tecnología de Maracaibo. Trabajo especial de grado para optar al Título de Técnico Superior Universitario en Ciencias Agropecuarias. Maracaibo. República Bolivariana de Venezuela.
- 34.- García Roa, M. 2010. Producción de semillas forestales de especies forrajeras enfatizadas en sistemas silvopastoriles. INAFOR. 37 p. La Habana. Cuba.
- 35.- Agropecuaria FAR. 1987. Plantas silvestres comestibles. Catálogo. Imprenta Central de las FAR. MINFAR. 185 p. La Habana. Cuba.
- 36.- Alfaro Villatoro, C. N. y Martínez, W. 2008. Uso potencial de Moringa oleifera Lam. para la producción de alimentos nutricionalmente mejorados. INCAP. Ciudad de Guatemala. Guatemala.
- 37.- Roig, J.T. 1991. Plantas medicinales aromáticas o venenosas de Cuba. 2da Ed. Editorial Científico Técnica. La Habana. Cuba. p. 722-4.

- 38.- Castro Ruz, Fidel. 2012. Respuesta a Handy Acosta Cuellar. 24 de octubre del 2012. La Habana. Cuba. Sitio : Cubadebate en: <http://www.cubadebate.cu/>
- 39.- Pérez, R. 2009. Avanza validación de moringa como alternativa forrajera para ovinos. Fundación Produce. Sinaloa, México.
- 40.- Davet, P. 2004. Microbial ecology of the soil and plant growth. Chapter 2. Science Publishers Inc. End field, USA pp: 22-30.
- 41.- Azcon, R. 2000. Papel de la simbiosis micorrízica y su interacción con otros organismos en el crecimiento vegetal. IRENAT-Colegio de Postgraduados. Mundo Prensa. México. pp-1-15 .
- 42.- Harley, J.L. y S.E. Smith. 1984. Mycorrhizal simbiosis. Segunda impresión. Academic Press, Londres, Gran Bretaña. Pp: 4-33.
- 43.- Harrison, M.J. 1997. The arbuscular mycorrhizal symbiosis . Trends in Plant Science 2 : 54-60. Tucson. EUA.
- 44.- Le Tacon, F. 1985. Las micorrizas. Una cooperación entre plantas y hongos. Editorial Mundo Científico. México. pp: 776.
- 45.- Tacón, A. 1998. Identificación y caracterización de productos forestales no maderables en el bosque nativo chileno. Actas del Primer Congreso Latinoamericano IUFRO. Valdivia. Chile.
- 46.- MICOLOGIA FORESTAL 6 APLICADA, S.L. 2008. Rbla. Arnau de Vilanova, 6 Ent. A de Vilanova i la Geltrú y CIF B64390040. 08800 Barcelona. España. En: <http://www.micofora.com/index.asp?al=&idioma=ES&opc=10>
- 47.- Gaur, A. y Adoleya, A. 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metals contaminated soils. Current Science. EUA. 86: 528-534.

- 48.- Fundora, O. N. Arbola y Machado J. 1992. Agroquímica. Editorial Científico Técnica. La Habana. p. 179 - 183. Cuba.
- 49.- Ruiz Martínez, L.A. 2001. Uso y manejo de las micorrizas azotobacter y fosforina como alternativa para la fertilización de las hortalizas en Cuba. INIVIT. Santo Domingo. Villa Clara. Cuba.
- 50.- Varela Lucía y Trejo Dora. 2001. Los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo en México. Revista Zoológica Mexicana. Ciudad de México. México. Sitio: <http://www.redalyc.org/57500004pdf>
- 51.- Cuenca, Gisela. 2004. Las micorrizas arbusculares y la restauración de sabanas en Venezuela. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas. Venezuela.
- 52.- Janos, D.P. 1996. Mycorrhizas, sucesión and the rehabilitation of deforested lands in the humid tropics. Cambridge University Press, Gran Bretaña. Pp: 129-162.
- 53.- Fernández-Martín, Félix. 2003. Avances en la producción de inoculantes micorrízicos arbusculares. Ediciones INCA, La habana, pp.97-110. ISBN 959-7023- 24-5.
- 54.- Angles González, M. del Carmen. 2009. Biorrecuperación de suelos contaminados con elementos potencialmente tóxicos. Uso de hongos arbusculares. Editorial la prensa de ciencia. México.
- 55.- Núñez-Castillo, O. y Álvarez Sánchez, J. 2009. Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas. Editorial las Prensas de Ciencias. México. pp: 27-32.

- 56.- Ortega, E. y Mirabal, Lorely. 2008. Comunidad microbiana asociada a los Hongos micorrizógenos arbusculares . Universidad de la Habana. La Habana. Cuba.
57. - Cué, J.L. 2003. Evaluación del biobras-16 y diferentes especies de micorrizas en el cultivo del tabaco negro. Universidad de Pinar del Río, Cuba.
- 58.- Johnson, N.C., T. O. Dell y C.S. Bledsoe. 1999. Methods for ecological Studies of mycorrhizae. Oxford University Press, Estados Unidos.
- 59.- Hernández Sampier, R. 2004. Metodología de la investigación. Editorial Félix Varela La Habana. Cuba.
- 60.- Reyes Matamoros, J.M., Vázquez Ramírez, R. 2005. Introducción a la Agroquímica. Editado por la Universidad de Puebla. México. ISBN: 968863848X.
- 61.- Rojas Soriano, R. 1981. Guía para realizar investigaciones. UNAM. México DF. Sexta Edición.
- 62.- Raisman, J. S. y González, Ana María. 2007. Hipertextos del área de la biología. Universidad Nacional del Nordeste. Chaco. Argentina.
- En: <http://www.biologia.edu.ar/fungi/micorrizas.htm>
- 63.- González Izquierdo, E. 2011. Conferencias sobre Tipología Forestal. Programa de Doctorado Curricular Colaborativo en Ciencias Forestales. UPR. Cuba.
- 64.- Freud, J.E. 1980. Estadística elemental moderna. Editorial Pueblo y Educación. La Habana. 466 p. Cuba.
- 65.- Bouza Herrera, C.M y Sistachs Vivian. 2003. Estadística. Teoría y Ejercicios. Editorial Félix Varela. La Habana. Cuba. 406 p.
- 66.- Diaz Mayans Concepción. 2005. Referencias bibliográficas estilo Vancouver. Centro de Nuevas Tecnologías de la Información y las Comunicaciones. Ministerio de Educación Superior. La Habana. Cuba.

- 67.- Referentes/ Bibliography. Vancouver Style Quick Guide how to use it. 2001 (15 páginas). Disponible en: <http://www.library.uq.edu.au/trainig/citation/vancouv.htm>
Consultado: 22-12-2013.
- 68.- Bailleres, A. 2008. Hacia un desarrollo sustentable. Informe anual 2002.
Disponible en: <http://www.penoles.com.mx> (revisado en marzo del 2010).
- 69.- Filipia, Rosa y Ruiz, L.A. 2008. Metodología para la micorrización de plátano y malanga. INIVIT. Villa Clara. Cuba. Sitio: <http://www.ACTAF.co.cu>
- 70.- Chacalo, A. 1993. El árbol. Estructura y función. Información Científica y Tecnológica. 15 (207): 45 - 47. Distrito Federal. México.
- 71.- Pfleger, F.L., Linderman, R.G. 1996. Mycorrhizae and plant health. 2da edn. APS Press, USA. 344 p.
- 72.- Cuenca, G., Z. Andrade, M. Lovera, L. Fajardo, E. Meneses, M. Márquez y R. Machuca. 2000. El uso de arbustos nativos micorrizados para la rehabilitación de áreas degradadas de la Gran Sabana, estado Bolívar, Venezuela
INTERCIENCIA V. 27. No 4

Bibliografía del autor relacionado con el tema de la tesis.

Artículos publicados:

73. Pita, A. y García, E. 2012. Efectos de *Glomus fasciculatum* en la nutrición de *Moringa oleifera* Lam. Revista AVANCES. CITMA. Pinar del Río. Cuba.
En: <http://www.ciget.pinar.cu/Revista.htm>
74. Pita, A.; García, E.; Iglesias, M.; Miranda, C. 2012. Asociación micorrízica entre *Glomus fasciculatum* y *Moringa oleifera* Lam. Revista AVANCES. CITMA. Pinar del Río. Cuba. En: <http://www.ciget.pinar.cu/Revista.htm>

Bibliografía complementaria

- 75.- Álvarez Kile, P.M. 2010. Efectos de los hongos micorrizógenos arbusculares en las variables morfológicas del tomate. Instituto Liliana Dimitrova. La Habana. Cuba. Sitio: [http:// www.monografias.com/trabajos69/hongos-micorrizogenos](http://www.monografias.com/trabajos69/hongos-micorrizogenos)
- 76.- De La Concha, J.C. 2009. Micorrizas y endomicorrizas. Editado por Bonsaime, Madrid, España. Sitio: <http://www.bonsaime.com>
- 77.- Falasca, S. y Bernabé, M.A. 2008. Potenciales usos y delimitación del área de cultivo de Moringa oleifera en Argentina. Revista Virtual REDESMA. Disponible en: <http://revistavirtual.redesma.org/vol3/pdf/investigacion/Moringa.pdf>
- 78.- Filipia, Rosa y Ruiz, L. A. 2004. Tecnología para la biofertilización en el cultivo del frijol común. INIVIT. Santo Domingo. Villa Clara. Cuba.
- 79.- Rodríguez Nodals, A. 2010. Conferencia sobre Moringa oleifera Lam. Delegación Provincial del Ministerio de la Agricultura. Pinar del Río. Cuba.
- 80.- Ruiz Martínez, L. A. y Carvajal D. 2001. Tecnología para la micorrización de los organopónicos. INIVIT. Santo Domingo. Villa Clara. Cuba.
- 81.- Téllez Montiel, F. y Barón López, F. J. 2004. Apuntes de bioestadística. Tercer ciclo en ciencias de salud y medicina. Universidad de Málaga. España. En: <http://www.bioestadistica.uma.es/baron/>
- 82.- Martínez, R. 2003. Importancia actual de los biofertilizantes y bioestimuladores Bacterianos. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical INIFAT. La Habana. Cuba. p. 8-9
- 83.- Covacevich, F., Hecheverría, H.E., Aguirrezabal Lan. 2001. Comparación de dos técnicas de cuantificación de infección micorrítica. UI EEA. INTA-FCA, Balcarce. CC 276,7620 . Barcarce. Argentina

- 84.- Giovanetti, M., Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular- arbuscular mycorrhizal infection in roots. *Nem Phytol.* 84: 489-500
- 85.- Phillips, J.M., Hayman, D.S. 1970. Improves procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. B. Mycol. Soc.* 55: 158-161
- 86.- Reyes Jaramillo, Irma. 2006. La micorriza arbuscular (MA), centro de la rizosfera: comunidad microbiológica dinámica del suelo. Dpto de Biología, División del CBS. UAM- Iztapalapa. México
- <http://www.infojardin.com/foro/showthread.php?p=7645917>

ANEXOS

Anexo 1

SUBPROGRAMA DE MORINGA DEL GRUPO NACIONAL DE AGRICULTURA URBANA Y SUBURBANA DEL MINAG.

INTRODUCCIÓN:

Moringa Oleifera Lam., constituye un cultivo de grandes perspectivas. La planta tiene usos en la alimentación humana, como alimento animal y con fines industriales.

Dentro del Programa Nacional de Agricultura Urbana y Suburbana la tarea priorizada con este cultivo es con vistas a la alimentación humana.

OBJETIVOS:

1. Lograr como mínimo un cantero de Moringa en cada organopónico.
2. Promover el consumo de esta planta como un vegetal de hojas.
3. Promover el consumo humano de los frutos, las flores y las semillas.
4. Que cada patio familiar con posibilidades cuente con 1- 5 plantas de Moringa de los eco tipos “Supergenious” y “Plain”, ambos de la India.
5. Priorizar en organopónicos los eco tipos “Criolla” y “Nicaragua”.
6. Producir semillas de alta calidad genética.
7. Contribuir a la reforestación de microcuencas en las Fincas de la ASU.
8. Lograr una eficiente post-cosecha y comercialización.

INDICADORES DE LA AGRICULTURA URBANA:

1. Se cumple las distancias de siembra indicadas para organopónicos.
2. Se logra un rendimiento de 1,6 – 2 kg/m² en el primer corte en organopónicos.
3. Del segundo corte en adelante se logra 1,8 – 2,20 kg/m² como mínimo en organopónicos.
4. Los Huertos familiares tienen no menos de un 85 % de supervivencia en las posturas sembradas y la atención popular es la correcta.

5. Los mazos tienen $\frac{1}{4}$ de kilo y se hidratan previa a su colocación en los puntos de venta.

INDICADORES DE LA AGRICULTURA SUBURBANA:

1. Las áreas para semilla tienen un 95 % de población como mínimo.
2. En medio Km. a la redonda no existen plantas de Moringa de otros ecotipos en las áreas destinadas a semillas.
3. Las microcuencas reforestadas con Moringa como uno de sus componentes están bien establecidas y atendidas.
4. Las producciones de follaje o fruta de la ASU con destino a las áreas urbanas cumplen los requisitos de post-cosecha.
5. Se cumple la distancia de siembra para reproducción de semillas, según la variedad.

EVALUACIÓN DE LA AGRICULTURA URBANA Y SUBURBANA:

Se evaluará integralmente en base a los 10 indicadores.

Bien: 7 o más indicadores.

Regular: Entre 4 y 5 indicadores.

Mal: 3 o menos indicadores Bien.

Anexo 2

Clasificación bioclimática de la Tierra (Bioclimatic classification system of the World), según Salvador Rivas-Martínez.

Índice ombrotérmico (Io), explica la relación entre las precipitaciones anuales y la suma de la

Bioclimas	Valores climáticos				
	Io	Ios	Ioe	P>2T	P<T
P Pluvial [Trpv]	$\geq 5,5$	$> 3,0$	$> 1,0$	10-12	0 - 1
T. Pluviestacional [Trps]	$\geq 3,0$	$< 3,0$	$> 0,6$	5-12	0 - 5
T. Xérico [Tr]x	1,1-3	-	0,25-0,6	2 - 7	3 - 8
T. Desértico [Trd]	0,1-1,1	-	0,02-0,25	0 - 1	7-12
T. Hiperdesértico [Trhd]	$< 0,1$	-	$< 0,02$	0	12

temperatura media mensual, **Io = Pp/Tp = 5.34**

Indice de ombro-evaporación anual (Ioe), Ioe = P/PE = 1.61

Índice ombrotérmico estival compensado Ios₂, del periodo estival correspondiente a los 2 meses mas secos del año, independientemente de la Temperatura **Ios₂ = 2.18.**

Índice ombrotérmico estival compensado Ios₃ = 2,45.

Índice ombrotérmico estival compensado Ios₄ = 2,70.

	P > 4T	P:2T a 4T	P:T a 2T	P < T	T <= 0
No. de meses	6	5	1	0	0

Faja continentalidad-latitudinal: Termotropical

Bioclima: Pluvial

Buscando estos valores en Tabla 1. Clasificación bioclimática de la Tierra (Bioclimatic classification system of the World), según Salvador Rivas-Martínez, podemos ver que a la Estación Meteorológica de Pinar del Río le corresponde: Macrobioclimas un Clima tropical y un bioclima Pluvial [Trpv], con **Termotipo** Termotropical porque **It** esta entre 730-491, **Ombrotipo** Sub-húmedo 3,0 y 6,0.

Anexo 3

SELECCIÓN DE FOTOS DE LA PARCELA EXPERIMENTAL



DSC 09858



DSC 09859



DSC 09853



DSC 09664



DSC 06687



DSC 06683

Las fotos de la parcela experimental donde se observan las plantas de *Moringa oleifera* Lam., en diferentes estadios de desarrollo. Cortesía del tutor

Anexo 4

Procedimiento para la tinción de raíces . (Phillips y Hayman, 1970)

1.- Lavar las raíces con agua corriente, cortarlas a 2 cm. De largo y colocarlas en un erlenmeyer, frasco de vidrio o caja histológica.

2.- Cubrir las raíces con KOH al 10 %.

a) Para las raíces finas, blandas y no pigmentadas, elegir una de las tres continuaciones siguientes.

- Dejar las raíces 24 horas en el KOH a temperatura ambiente

- Calentarlas a baño maría por 15-30 minutos

- calentarlas por 5 minutos en un microondas.

b) Para raíces lignificadas y pigmentadas elegir una de las siguientes opciones:

- Dejarlas 24 horas en el KOH a temperatura ambiente y enseguida enjuagar y añadir KOH a punto de ebullición

- Agregar KOH y meter en autoclave a 15 libras de presión por 15-30 minutos y enseguida enjuagar.

- Agregar KOH hirviendo y colocar en baño maría por 30-40 minutos y repetir 2-3 veces

3.- Las raíces que aún queden pigmentadas añadir agua oxigenada al 3 % con NH_4OH por 3-5 minutos en baño maría o microondas. Después enjuagar con agua corriente.

4.- Cubrir las raíces con HCL al 10 % por 10 minutos o en microondas por 5 minutos

5.- Escurrir el HCL y sin enjuagar, añadir azul de tripano al 5 % por 24 horas a temperatura ambiente, o baño maría 30-40 minutos o microondas 5 minutos. El azul de tripano puede sustituirse por tinta china azul.

6.- Escurrir el colorante y guardar las raíces en lactoglicerol hasta su revisión al microscopio.

7.- Revisar las raíces con el microscopio estereoscópico, colocando segmentos con agua. A este nivel se puede observar micelios, vesículas y esporas.

8.- Tomar secciones y poner en portaobjeto con agua y observar en microscopio óptico (objetivo 20x- 40x). Se podrá observar mejor la morfología de todas las estructuras fúngicas, incluyendo arbúsculos.

Anexo 5

Resultados de las mediciones de la altura y diámetro del tallo de las plantas en el trabajo de campo.

Parcela	No. de planta	Altura en cm	Diámetro en cm
1	1.1	X	X
1	1.2	32	0,8
1	1.3	20	0,7
1	1.4	27	0,8
1	1.5	23	0,8
1	1.6	X	X
1	1.7	19	0,6
1	1.8	13	0,4
1	1.9	15	0,5
2	2.1	50	1,6
2	2.2	37	1,2
2	2.3	45	1,1
2	2.4	38	1,0
2	2.5	46	1,3
2	2.6	53	1,1
2	2.7	51	1,4
2	2.8	45	1,2
2	2.9	34	0,9
3	3.1	46	1,2
3	3.2	28	0,9
3	3.3	55	1,4
3	3.4	60	1,7
3	3.5	46	1,4
3	3.6	47	1,5
3	3.7	39	1,4
3	3.8	59	1,7
3	3.9	38	1,1
4	4.1	19	0,8
4	4.2	16	0,5
4	4.3	13	0,5
4	4.4	7	0,3
4	4.5	10	0,6
4	4.6	9	0,3
4	4.7	28	0,9
4	4.8	X	X
4	4.9	18	0,8
5	5.1	9	0,4
5	5.2	X	X
5	5.3	28	0,6
5	5.4	30	1
5	5.5	19	0,7
5	5.6	23	0,8
5	5.7	9	0,4
5	5.8	11	0,6
5	5.9	20	0,7
6	6.1	37	0,9
6	6.2	50	1,4
6	6.3	44	1,3
6	6.4	53	1,4

6	6.5	48	1,3
6	6.6	50	1,5
6	6.7	57	1,9
6	6.8	77	2,2
6	6.9	58	1,5
7	7.1	57	1,6
7	7.2	53	1,4
7	7.3	37	1,1
7	7.4	36	1,0
7	7.5	49	1,6
7	7.6	36	0,8
7	7.7	43	1,4
7	7.8	34	1,2
7	7.9	X	X
8	8.1	8	0,3
8	8.2	14	0,7
8	8.3	8	0,4
8	8.4	8	0,3
8	8.5	10	0,4
8	8.6	X	X
8	8.7	11	0,3
8	8.8	12	0,4
8	8.9	5	0,3

Anexo 6

Análisis estadísticos complementarios:

Principales descriptivos

				Altura en cm		Diámetro en cm	
				Media	Recuento	Media	Recuento
Parcela	1	Número inicial de casos	1	32	1	.8	1
			2	20	6	.6	6
	2	Número inicial de casos	1	44	9	1.2	9
	3	Número inicial de casos	1	49	8	1.4	8
			2	28	1	.9	1
	4	Número inicial de casos	2	15	8	.6	8
	5	Número inicial de casos	2	19	8	.6	8
	6	Número inicial de casos	1	53	9	1.5	9
	7	Número inicial de casos	1	43	8	1.3	8
	8	Número inicial de casos	2	10	8	.4	8

	N	Media Altura en cm	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
1	7	21.29	6.651	2.514	13	32
2	9	44.33	6.671	2.224	34	53
3	9	46.44	10.501	3.500	28	60
4	8	15.00	6.803	2.405	7	28
5	8	18.63	8.297	2.933	9	30
6	9	52.67	11.158	3.719	37	77
7	8	43.13	8.839	3.125	34	57
8	8	9.50	2.828	1.000	5	14

Total	66	32.27	17.794	2.190	5	77
	N	Media Diámetro en cm	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
1	7	.657	.1618	.0612	.4	.8
2	9	1.200	.2121	.0707	.9	1.6
3	9	1.367	.2646	.0882	.9	1.7
4	8	.588	.2295	.0811	.3	.9
5	8	.650	.2000	.0707	.4	1.0
6	9	1.489	.3723	.1241	.9	2.2
7	8	1.262	.2875	.1017	.8	1.6
8	8	.387	.1356	.0479	.3	.7
Total	66	.973	.4629	.0570	.3	2.2

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Altura en cm	1.245	7	58	.294
Diámetro en cm	1.133	7	58	.355

Prueba de análisis de varianza

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Altura en cm	Inter-grupos	16672.690	7	2381.813	35.346	.000
	Intra-grupos	3908.401	58	67.386		
	Total	20581.091	65			
Diámetro en cm	Inter-grupos	10.389	7	1.484	24.300	.000
	Intra-grupos	3.542	58	.061		
	Total	13.931	65			

Prueba de Duncan para la altura

Altura en cm

Duncan^{a,b}

Parcel a	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
8	8	9.50			
4	8	15.00	15.00		
5	8		18.63		
1	7		21.29		
7	8			43.13	
2	9			44.33	44.33
3	9			46.44	46.44
6	9				52.67
Sig.		.180	.149	.446	.056

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 8,195.

b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Prueba de Duncan para el diámetro

Diámetro en cm

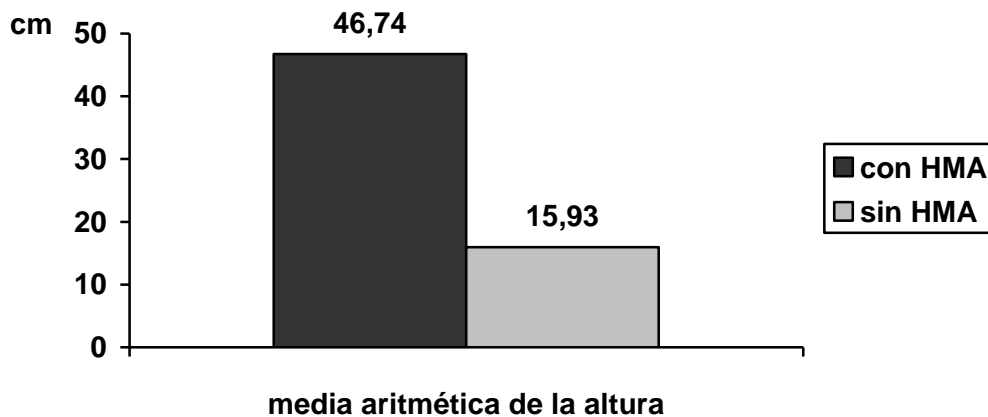
Duncan^{a,b}

Parcel a	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
8	8	.387			
4	8	.588	.588		
5	8		.650		
1	7		.657		
2	9			1.200	
7	8			1.262	1.262
3	9			1.367	1.367
6	9				1.489
Sig.		.107	.595	.204	.084

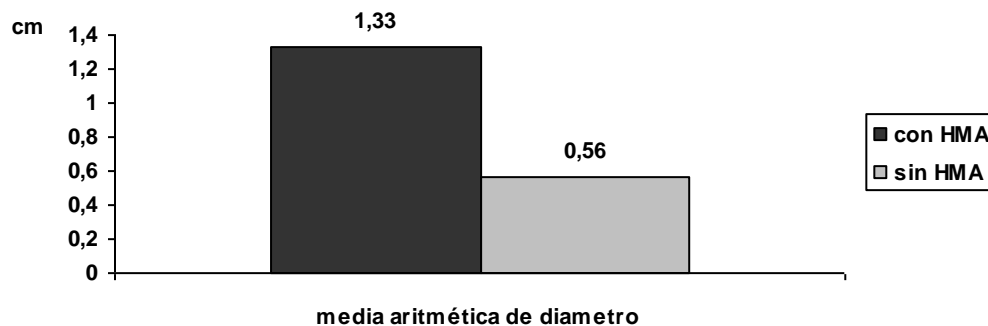
Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 8,195.

b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.



Histograma comparando la media aritmética de la altura de las plantas de *Moringa oleifera* Lam., inoculadas y las no inoculadas con el HMA *Glomus fasciculatum* Tul., a los seis meses de plantadas.



Histograma comparando la media aritmética del diámetro del tallo, de las plantas de *Moringa oleifera* Lam., inoculadas y las no inoculadas, a los seis meses de plantadas

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	16672,690	7	2381,813	35,346	,000
Intra-grupos	3908,401	58	67,386		
Total	20581,091	65			

Análisis del resultado:

Significación: 0,000 menores que alfa: 0,05 por tanto:

Rechazo H_0 : no hay diferencias significativas

Acepto H_1 : Hay diferencias significativas en las varianzas de la altura

Prueba de los subconjuntos homogéneos

Parcela	N	Subconjunto para alfa = .05			
		2	3	4	1
8,00	8	9,5000			
4,00	8	15,0000	15,0000		
5,00	8		18,6250		
1,00	7		21,2857		
7,00	8			43,1250	
2,00	9			44,3333	44,3333
3,00	9			46,4444	46,4444
6,00	9				52,6667
Sig.		,180	,149	,446	,056

Post hoc: altura

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a) Usa el tamaño muestral de la media armónica = 8,195.

b) Los tamaños de los grupos no son iguales.

Prueba de homogeneidad de varianzas

Diámetro			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,133	7	58	,049

Análisis del resultado:

Significación: 0,049 menor que alfa: 0,05 por tanto:

Rechazo H_0 : no hay diferencias significativas

Acepto H_0 : Hay diferencias significativas en las varianzas del diámetro del tallo

Prueba de los subconjuntos homogéneos

Post hoc: Diámetro del tallo

Parcela	N	Subconjunto para alfa = .05			
		2	3	4	1
8,00	8	,3875			
4,00	8	,5875	,5875		
5,00	8		,6500		
1,00	7		,6571		
2,00	9			1,2000	
7,00	8			1,2625	1,2625
3,00	9			1,3667	1,3667
6,00	9				1,4889
Sig.		,107	,595	,204	,084

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 8,195.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Análisis del resultado

Todas las significaciones por la vertical, son mayores que alfa: 0,05 lo que indica que no existen diferencias significativas entre las parcelas de cada subconjunto. Por esa

razón, en los subconjuntos dos y tres, que incluyen a las parcelas 1, 4, 5 y 8 que no fueron inoculadas con el hongo micorrizógeno arbuscular, los valores del diámetro del tallo son significativamente inferiores a los alcanzados por los subconjuntos uno y cuatro, que agrupan a las parcelas 2, 3, 6 y 7 que si fueron inoculados con el hongo.

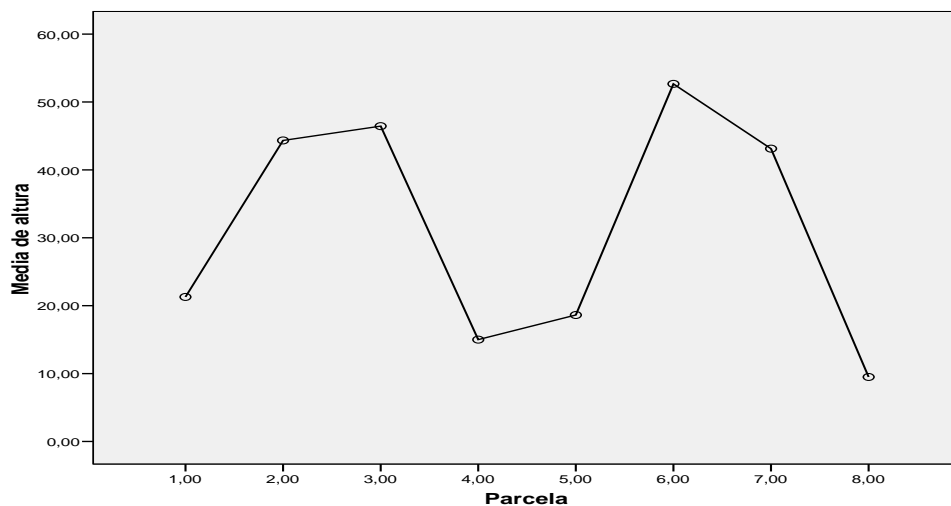


Gráfico de las medias de la altura por parcelas a los seis meses con el eje de las y en cm.

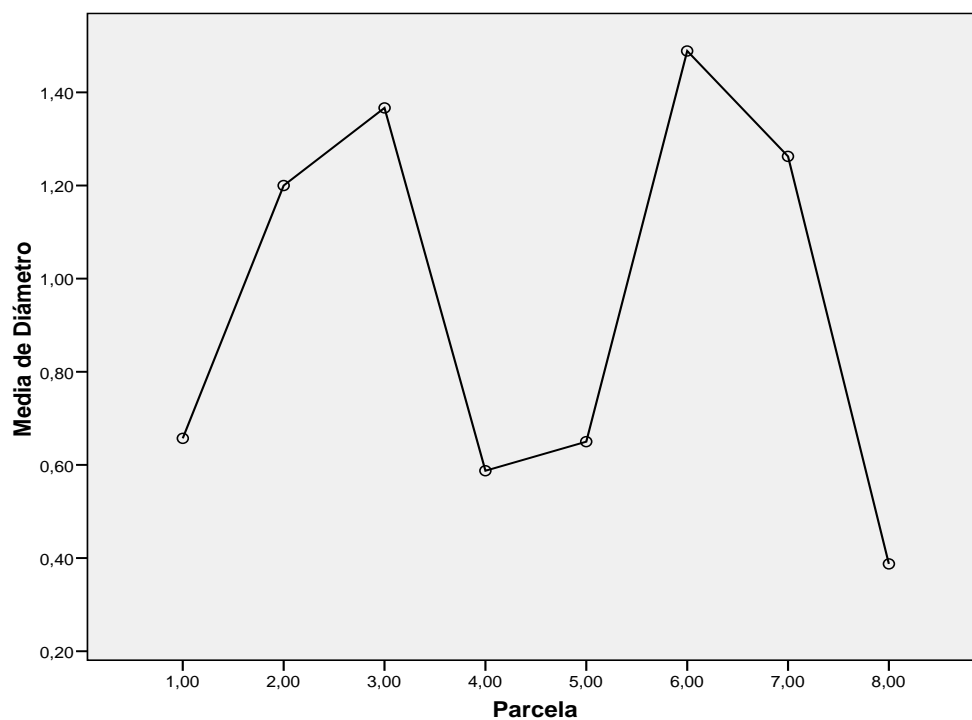
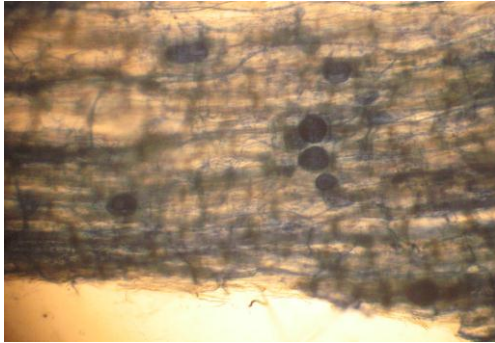


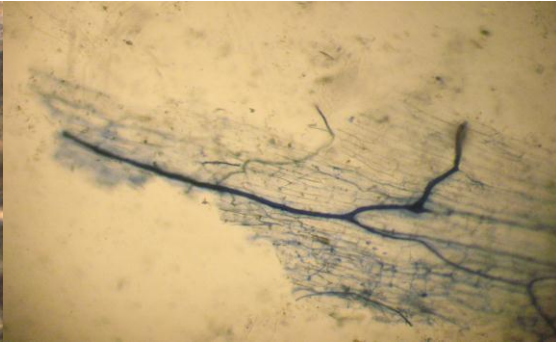
Gráfico de las medias de los diámetros del tallo por parcelas a los seis meses con el eje de las y en cm.

Anexo 7

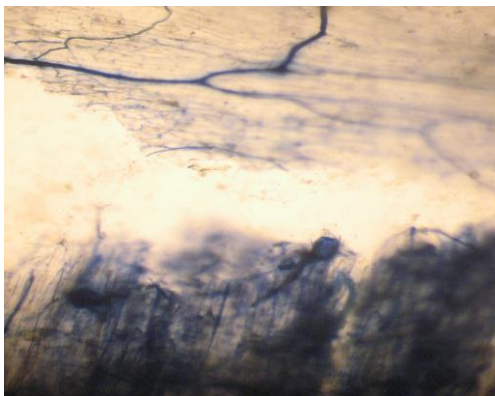
SELECCIÓN DE FOTOS DE LA PRUEBA DE MICORRIZACIÓN EFECTIVA



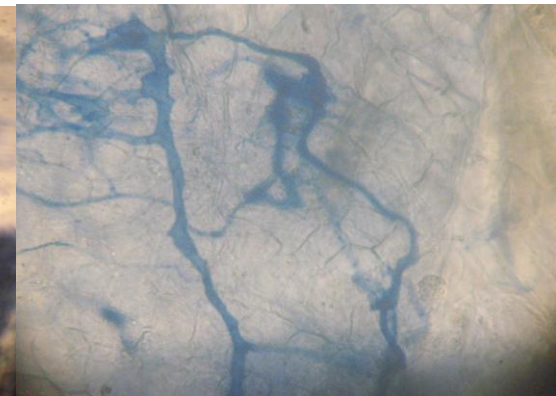
IMG – 8975



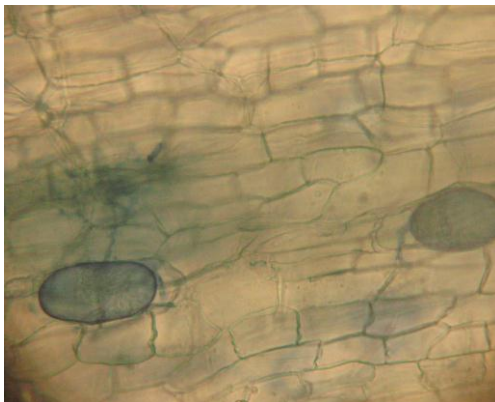
IMG- 8977



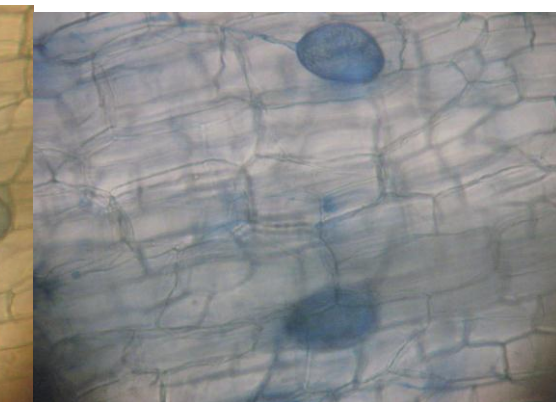
IMG - 8981



IMG - 8982



IMG – 9028



IMG - 9033

En cada una de estas fotos se aprecian las estructuras fúngicas del hongo *Glomus fasciculatum* Tul., en las muestras observadas en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Pinar del Río. Cortesía del tutor.

Anexo 8

Resultados de los análisis foliares en el Laboratorio Provincial del Instituto de Suelos en Pinar del Río a los seis meses.

Fecha: 20 de junio del 2012

Parcela	Hojas	N	P	K	Ca	Mg
1	Sup.	2.15	0.28	1.45	0.66	0.10
1	Inf.	1.15	0.12	0.69	2.20	0.41
2	Sup.	3.58	0.25	1.22	1.02	0.12
2	Inf.	3.40	0.22	1.12	1.04	0.14
3	Sup.	3.17	0.22	1.27	1.02	0.12
3	Inf.	3.07	0.18	1.06	1.04	0.13
4	Sup.	2.24	0.30	1.45	0.65	0.10
4	Inf.	1.18	0.12	0.65	2.22	0.31
5	Sup.	2.20	0.28	1.58	1.06	0.18
5	Inf.	1.35	0.12	0.80	2.90	0.73
6	Sup.	2.99	0.23	0.80	1.56	0.30
6	Inf.	2.98	0.20	0.80	1.64	0.36
7	Sup.	2.86	0.21	1.27	1.50	0.30
7	Inf.	2.80	0.18	1.10	1.64	0.32
8	Sup.	2.02	0.26	1.62	1.04	0.18
8	Inf.	1.01	0.11	0.70	2.85	0.72

Técnico que realizó los análisis:

MsC. Ing. Alexey Morejón Murguía