

Respuesta de la cebada a la inoculación con micorrizas combinada con la fertilización mineral

Response of barley to mycorrhiza inoculation combined with mineral fertilization

A. GARCÍA-CIUDAD / M.A. JIMÉNEZ MATEOS / B.R. VÁZQUEZ-DE-ALDANA / L. GARCÍA-CRIADO / B. GARCÍA-CRIADO

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (IRNASA-CSIC), Apdo. 257, 37071, Salamanca
antonia.gciudad@irna.csic.es

Resumen: Se ha realizado un ensayo en una zona semiárida de la provincia de Salamanca, para estudiar la respuesta de la cebada, como planta forrajera, a la inoculación con micorrizas, combinada con la fertilización mineral. Se controlaron los parámetros: producción de biomasa aérea (forraje), concentraciones de N, P y K, y extracciones de los tres elementos por la planta, referidas a unidad de superficie, en la fase fenológica de grano lechoso. Se consideraron dos dosis de fertilizante mineral, dos formulaciones comerciales en polvo como inoculantes, y un testigo sin aporte alguno. Los resultados mostraron que la adición de fertilizante mineral combinada con inoculantes micorrícicos, incrementó significativamente la producción de biomasa aérea y extracción de los tres elementos. Asimismo, se apreció un cierto efecto positivo por parte de la micorriza integrada por un mayor número de especies fúngicas. La fertilización no influyó de manera significativa ($p > 0,05$) en la concentración de N en la planta, pero dio lugar a una disminución en la de P.

Palabras clave: *Hordeum vulgare*, producción biomasa aérea, concentración nutrientes, extracción nutrientes.

Abstract: An experiment was established in a semiarid Mediterranean environment (Salamanca province) to determine the effect of mycorrhizal inoculants and mineral fertilization on barley crop. Dry matter (DM), N, P and K concentrations and N, P and K extractions were controlled at medium-milk phenological stage. A total of five treatments were considered: witness fertilization treatment (no fertilizer input), and two doses of NPK combined with the addition of two different mycorrhizal inoculants. The results showed that the addition of fertilizer combined with mycorrhizal inoculants significantly increased DM biomass and N, P and K extractions. A positive effect of the mycorrhizal with greater fungal species number and spores concentration was detected. Fertilization treatment did not produce significant effect on N concentration but it decreased P concentration.

Key words: *Hordeum vulgare*, biomass yield, nutrient concentrations, nutrient extractions.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la cebada (*Hordeum vulgare* L.) es el de mayor extensión de Castilla y León, tiene una gran diversidad de aplicaciones, entre las que cabe citar la utilización en alimentación animal como forraje asociada generalmente con avena o una leguminosa, o formando parte de las dietas en forma de pienso.

Los fertilizantes químicos nitrogenados incrementan significativamente la producción forrajera y de grano, pero el uso excesivo puede generar problemas medioambientales (Rivera *et al.*, 2010; Velázquez *et al.*, 2010). Además, el coste de este tipo de fertilizantes se ha ido incrementando, por lo que han surgido nuevas alternativas como la utilización de productos biológicos (biofertilizantes), que incluyen microorganismos como hongos micorrícicos (micorrizas). Éstos pueden jugar un papel importante para la sostenibilidad

de los ecosistemas y además tienen cierto potencial para favorecer la asimilación de nutrientes por las plantas (Johansen *et al.*, 1994), que facilita un aumento de la producción y mayor calidad biológica de ésta (Gárate y Bonilla, 2001). Asimismo, Fernández y Maldonado (2001) indican que las micorrizas mejoran la capacidad de la raíz para absorber iones de difusión lenta o iones que la planta requiere en cantidades elevadas, como fosfato, amonio, nitrato y K. Otro efecto beneficioso de las micorrizas es que contribuyen a la protección de las plantas frente a patógenos del suelo (Guerra Sierra, 2008).

En un ensayo realizado por nuestro grupo, sobre la influencia de las micorrizas asociadas a la fertilización mineral, en el estado nutricional de la planta (concentraciones de N, P y K de la hoja bandera), no se obtuvo una respuesta neta a las micorrizas aunque sí a los fertilizantes minerales (García-Ciudad *et al.*, 2011). Continuando con la investigación, en este trabajo se ha realizado un nuevo ensayo, simplificando los tratamientos de fertilización (mineral y micorrícicos). El objetivo fue estudiar el efecto de dos inoculantes micorrícicos asociados a dos niveles de fertilización mineral, sobre la producción de biomasa aérea y concentraciones y extracciones de N, P y K de la cebada cultivada en secano semiárido.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en una parcela de secano de zona semiárida, Finca experimental Muñovela del IRNASA-CSIC (Barbadillo, Salamanca). El suelo, clasificado según FAO como luvisol crómico, posee una textura areno-arcillosa y pH ácido (5,1).

La siembra se realizó en otoño de 2010, empleando 205 kg ha⁻¹ de semilla de cebada de dos carreras (*Hordeum vulgare* L. cv Volley), en líneas separadas entre sí aproximadamente 13 cm. En el diseño experimental se utilizaron parcelas elementales de 200 m x 12 m para cada tratamiento, separadas entre sí por un pasillo de 0,20 m. Cada parcela elemental se dividió en cuatro subparcelas (aproximadamente 600 m² cada una), separadas entre sí 0,50 m, que actuaron como repeticiones de cada tratamiento.

Se ensayaron dos tratamientos de fertilización mineral: a) F1, consistente en la adición en sementera de 100 kg ha⁻¹ de N-P-K (10-5-20) y en cobertera 400 kg ha⁻¹ de un fertilizante nitrogenado mixto (27% N; 29% SO₃). b) F2, que supuso una aplicación en sementera de 300 kg ha⁻¹ de N-P-K (10-5-20) y en cobertera 400 kg ha⁻¹ del mismo fertilizante nitrogenado mixto que en F1. Como inoculantes micorrícicos, se consideraron dos formulaciones comerciales en polvo: a) M1, inoculante compuesto por esporas de *Glomus intraradices* y *Glomus mosseae* y b) M2 que incluyó cinco especies de hongos, *G. intraradices*, *G. mosseae*, *G. claroideum*, *G. etunicatum* y *G. microaggregatum*. La cantidad total de inoculante aportada en los dos tratamientos (M1 y M2), fue la misma: 4 kg ha⁻¹, con una concentración total, en ambos tratamientos, de 200 esporas g⁻¹. La adición de ambos inoculantes se realizó directamente en la semilla, inmediatamente antes de la siembra. Cada tratamiento mineral (F1 y F2) se combinó con cada uno de los dos inoculantes M1 y M2 y, además, se consideró un tratamiento sin aporte alguno, como testigo (F0).

A mediados de la primavera de 2011 (19 de mayo) se tomaron muestras de biomasa aérea en las cuatro subparcelas de cada tratamiento, en la fase fenológica de grano en estado lechoso. Para ello se utilizó un cuadrado de 0,5 m de lado lanzado tres veces al azar y se cortaron las plantas contenidas en su interior, aproximadamente a 2 cm del suelo. Se determinó la producción de biomasa seca, por secado de las muestras a 60 °C en estufa de aire forzado. En las muestras, secas y molidas se analizó la concentración de N por el método clásico de destilación Kjeldahl, la de P espectrofotométricamente mediante el método del amarillo de vanado-molibdofosfórico y K por emisión en un equipo de absorción atómica. Se determinó la extracción de N, P y K, por la planta, multiplicando la producción de biomasa por la concentración de cada uno de ellos.

Los datos se analizaron mediante un análisis de la varianza (ANOVA) para determinar el efecto del tratamiento de fertilización sobre las concentraciones y extracciones de N, P y K (SPSS Statistics 19,0). Se utilizó el test de Duncan para la comparación de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La fertilización mineral aplicada conjuntamente con inoculantes micorrícicos, incrementa significativamente ($p < 0,05$) la producción de materia seca de forraje de cebada (tabla 1). Las producciones llegan a cuadruplicarse con los aportes más altos de fertilizante mineral y que incluyen M2 (F2M2 = 711 g m⁻²) respecto al testigo (F0 = 179 g m⁻²).

Tabla 1. Efecto de la fertilización en la producción de forraje de cebada en la fase fenológica de grano lechoso.

Tratamiento	Producción de biomasa seca (g m ⁻²)			
	Rango	Valor medio	D.E.	C.V. (%)
F0	106 - 242	179 ^a	56,5	31,59
F1M1	492 - 600	534 ^b	46,2	8,66
F1M2	564 - 700	609 ^{bc}	61,7	10,14
F2M1	548 - 712	655 ^c	73,0	11,14
F2M2	552 - 828	711 ^c	115,3	16,21
Total	106 - 828	538	204,4	38,01

F0 = no adición de fertilizante; F1, F2 = fertilizante mineral; M1, M2 = micorrizas
Diferentes superíndices a, b, c indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos de fertilización.

Considerando la misma dosis de fertilizante mineral, se aprecia un cierto efecto positivo (aunque no estadísticamente significativo) de la micorriza M2 en la producción de forraje, que puede ser debido a que esta micorriza incluye mayor número de especies de hongos. El efecto positivo de M2 da lugar a que el incremento de fertilización mineral F2 no produzca efecto significativo respecto al F1M2, pero sí respecto al trata-

miento que lleva el otro inoculante (F1M1). Esto indica que el inoculante M2 tiene un potencial beneficioso para el cultivo que conllevaría la disminución de la aportación de abono mineral y supondría no solo un abaratamiento de los costes, sino también contribuiría a una mayor protección del medio ambiente. Estos resultados concuerdan con las afirmaciones de Gárate y Bonilla (2001) sobre el efecto positivo de la inoculación con micorrizas en el crecimiento de las plantas.

Respecto a la concentración de N no se aprecian diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos (tabla 2). Ello puede ser debido a que el incremento en la dosis de fertilización nitrogenada lleva consigo un aumento en la producción de biomasa y por el efecto de dilución, no se traduce en un aumento en la concentración del elemento. No obstante, igual que ocurría con la producción de biomasa, los tratamientos que incluyen la micorriza M2 dan lugar a concentraciones de N ligeramente más altas que los correspondientes a M1. Se obtienen valores medios de 1,29 %-1,43 %.

Tabla 2. Efecto de la fertilización en las concentraciones de N, P y K, en forraje de cebada en la fase fenológica de grano lechoso.

T	N (%)			P (%)			K (%)		
	Rango	Media	C.V.	Rango	Media	C.V.	Rango	Media	C.V.
F0	1,00 - 1,43	1,29 ^a	15,67	0,18 - 0,27	0,23 ^b	16,27	0,92 - 1,12	0,99 ^c	9,50
F1M1	1,20 - 1,32	1,25 ^a	3,96	0,14 - 0,18	0,17 ^a	11,76	0,73 - 0,89	0,81 ^{ab}	8,89
F1M2	1,24 - 1,58	1,41 ^a	11,84	0,15 - 0,16	0,16 ^a	3,72	0,73 - 0,84	0,78 ^a	5,99
F2M1	1,21 - 1,43	1,34 ^a	7,18	0,12 - 0,16	0,14 ^a	11,98	0,82 - 1,16	0,94 ^{bc}	16,78
F2M2	1,36 - 1,54	1,43 ^a	5,58	0,14 - 0,16	0,15 ^a	6,49	0,94 - 1,06	0,98 ^c	5,80
Total	1,00 - 1,58	1,34	10,13	0,12 - 0,27	0,17	22,30	0,73 - 1,16	0,90	13,51

F0 = no adición de fertilizante; F1, F2 = fertilizante mineral; M1, M2 = micorrizas
Diferentes superíndices a, b, c indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos de fertilización.

La extracción de N por la planta, como cabía esperar, sigue una tendencia similar a la de producción de biomasa (tabla 3). Se obtienen también diferencias significativas ($P < 0,05$) entre F0 y el resto de los tratamientos. En este caso, el efecto de la dosis es mayor que en el de producción de biomasa, así, se obtienen extracciones de N 4,5 veces superiores con la dosis más alta de fertilizante, respecto al tratamiento sin aporte alguno ($10,08 \text{ g m}^{-2}$ vs. $2,25 \text{ g m}^{-2}$). En este parámetro se ve más claro el efecto de la micorriza M2 respecto a M1, de forma que para el mismo nivel de fertilización mineral, se obtienen extracciones de N significativamente más altas con el inoculante M2. Además, con el tratamiento F1M2 se consiguen extracciones similares a las de F2M1; ello indica que con una inoculación adecuada, puede disminuirse en cierta medida, el aporte de fertilización mineral. Los resultados concuerdan con Gárate y Bonilla (2001) en relación a que las micorrizas tienen potencial para mejorar la capacidad de la raíz para absorber determinados iones como fosfato, amonio, nitrato y potasio.

La fertilización produce un efecto depresivo significativo ($p < 0,05$) en la concentración de P de la planta (tabla 2). El valor medio obtenido sin aporte de fertilizante

(0,23%) es significativamente superior a los obtenidos con todos los tratamientos fertilizantes, no habiendo diferencias significativas entre dosis (valores medios comprendidos entre 0,14 % y 0,17%). Se confirma el efecto depresivo, al comparar los resultados entre tratamientos: las dosis más altas de fertilización mineral dan lugar a concentraciones de P más bajas, aunque las diferencias no lleguen a ser significativas.

Tabla 3. Efecto de la fertilización en las extracciones de N, P y K por la planta de cebada en la fase fenológica de grano lechoso.

T	N (g m^{-2})			P (g m^{-2})			K (g m^{-2})		
	Rango	Media	C.V.	Rango	Media	C.V.	Rango	Media	C.V.
F0	1,50 - 2,78	2,25 ^a	23,95	0,29 - 0,45	0,40 ^a	18,91	1,04 - 2,26	1,77 ^a	32,46
F1M1	6,03 - 7,89	6,68 ^b	12,53	0,73 - 1,08	0,91 ^b	15,70	3,58 - 5,32	4,35 ^b	17,00
F1M2	7,64 - 9,16	8,51 ^c	7,50	0,85 - 1,12	0,95 ^b	12,80	4,23 - 5,43	4,77 ^b	10,35
F2M1	7,81 - 9,36	8,70 ^c	7,79	0,82 - 1,08	0,93 ^b	12,63	5,62 - 6,48	6,10 ^c	6,57
F2M2	8,50 - 11,26	10,08 ^d	11,47	0,77 - 1,17	1,05 ^b	17,86	5,86 - 7,74	6,90 ^c	11,28
Total	1,50 - 11,26	7,24	39,77	0,29 - 1,17	0,85	31,24	1,04 - 7,74	4,78	39,49

F0 = no adición de fertilizante; F1, F2 = fertilizante mineral; M1, M2 = micorrizas
Diferentes superíndices a, b, c indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos de fertilización.

Al considerar la extracción de P por la planta, se produce el efecto contrario que en la concentración, la fertilización induce un aumento significativo en la extracción de este elemento, pero no de la magnitud que se producía con la extracción de N (tabla 3). Así, las de P consiguen ser dos veces y media superiores (valores medios $0,40 \text{ g m}^{-2}$ y $1,05 \text{ g m}^{-2}$). Sin embargo, no existen diferencias significativas entre tratamientos, aunque para un mismo nivel de fertilización mineral, M2 da lugar a extracciones de P ligeramente superiores a las de M1, de forma análoga a como ocurría con la producción de biomasa y extracción de N. Los resultados relativos a la extracción de este elemento, pueden justificarse por la interacción de los distintos factores que intervienen; por un lado las micorrizas favorecen la absorción de nutrientes (Johansen *et al.*, 1994; Fernández y Maldonado, 2001), pero altos niveles de NPK pueden afectar a la eficiencia de las mismas (Gianinazzi y Schüepp, 1994).

La fertilización no muestra una tendencia definida en la concentración de K (tabla 2). El tratamiento sin aporte alguno de fertilizante, da lugar a una concentración media del mismo orden de magnitud (0,99%) que los tratamientos más altos (0,98%). Los tratamientos con F1 disminuyen de forma significativa la concentración de K respecto del control. La extracción de este elemento por la planta, sigue una tendencia similar a la del N, pero más nítida (tabla 3), con diferencias significativas entre el tratamiento testigo con los demás, y entre dosis de fertilizante mineral. La extracción originada por las dosis más altas es aproximadamente cuatro veces superior ($6,90 \text{ g m}^{-2}$) a la obtenida con el tratamiento testigo ($1,77 \text{ g m}^{-2}$). También en este caso se pone de manifiesto la mayor efectividad de la micorriza M2 frente a la M1: al considerar el mismo tratamiento de fertilización mineral, las extracciones de K se ven favorecidas por M2.

CONCLUSIONES

La adición de fertilizante mineral combinado con inoculantes micorrícicos incrementa significativamente la producción de biomasa forrajera de cebada, así como la extracción de los elementos N, P y K. Se observa un cierto efecto positivo de la micorriza M2, compuesta por un mayor número de especies fúngicas, aunque el efecto sólo es significativo en la producción de biomasa aérea. La concentración de N no se ve afectada por la fertilización, la de P disminuye con el aumento de fertilizante, aunque la diferencia es sólo significativa con el testigo y con respecto a la de K no aparece una tendencia clara.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado por la Empresa MIRAT Fertilizantes S.L.U. (Proy. Ref.: 080102_000020). La participación de M.A. Jiménez Mateos fue posible gracias a una beca de Titulado Superior en Prácticas, de la Junta de Castilla y León y Fondo Social Europeo, a través de la Fundación General de la Universidad de Salamanca. Se agradece la colaboración técnica de V.O. González y R. Muñoz Cenual.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FERNÁNDEZ J.A. Y MALDONADO J.M. (2001) Absorción y transporte de nutrientes minerales. En: Azcón-Bieto J. y Talón M. (Eds) *Fundamentos de Fisiología Vegetal*, pp. 99-112. Madrid y Barcelona, España: McGraw-Hill/Interamericana de España.
- GARATE A. Y BONILLA I. (2001) Nutrición mineral y producción vegetal. En: Azcón-Bieto J. y Talón M. (Eds) *Fundamentos de Fisiología Vegetal*, pp. 113-130. Madrid y Barcelona, España: McGraw-Hill/Interamericana de España.
- GARCÍA-CIUDAD A., PETISCO C., VÁZQUEZ-DE-ALDANA B.R., JIMÉNEZ MATEOS M.A., GONZÁLEZ V.O., GARCÍA-CRIADO L. Y GARCÍA-CRIADO B. (2011) Influencia de micorrizas y fertilización mineral en el estado nutricional de la cebada. En: López-Carrasco C. *et al.* (Eds) *Pastos, paisajes culturales entre tradición y nuevos paradigmas del siglo XXI*, pp. 293-298. Getafe, Madrid, Sociedad Española para el Estudio de los Pastos.
- GIANINAZZI S.Y SCHÜEPP H. (1994) *Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems*. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag.
- GUERRA SIERRA B.E. (2008) Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. *Tecnología en marcha*, **21**, 191-201.
- JOHANSEN A., JACOBSEN I. Y JENSSEN E.S. (1994) Hyphal N transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus associated with cucumber grown at three nitrogen levels. *Plant and Soil*, **160**, 1-9.
- RIVERA L.P., ROBLEDO M., MENÉNDEZ E. Y MATEOS P.F. (2010) Biofertilizantes... ¿En cereales? *Tierras: Agricultura*, **173**, 52-57.
- VELÁZQUEZ E., MATEOS P.F., PEIX A., RIVAS R., TRUJILLO-TOLEDO M.E., IGUAL ARROYO J.M. Y MARTÍNEZ-MOLINA E. (2010) Los rhizobia: biofertilizantes para leguminosas y no leguminosas. *Tierras: Agricultura*, **173**, 78-85.

La producción y el valor nutritivo del primer corte de la alfalfa crecida en invernaderos de gradiente térmico en condiciones de cambio climático varían con la cepa de *Sinorhizobium meliloti*

Yield and nutritional value of first-cutting alfalfa grown in temperature gradient greenhouses under future climate change scenarios depend on *Sinorhizobium meliloti* strain

A. SANZ-SÁEZ¹ / G. ERICE¹ / J. AGUIRREOLEA¹ / F. MUÑOZ² / M. SÁNCHEZ-DÍAZ¹ / J.J. IRIGOYEN¹

¹Departamento de Biología Vegetal, Sección Biología Vegetal (Unidad Asociada al CSIC, EEAD, Zaragoza e ICWV, Logroño) Facultades de Ciencias y Farmacia, Universidad de Navarra, c/Iruñiarrea 1, 31008 Pamplona, Spain
²Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, Avda. de Montañana 930, 50059 Zaragoza, Spain. alvaro_ss@hotmail.com

Resumen: El objetivo del estudio fue analizar bajo distintos escenarios de simulación de cambio climático (CO₂ y temperatura elevados), el efecto de tres cepas de *Sinorhizobium meliloti*, en la producción, calidad y digestibilidad *in-vitro* de la alfalfa. Las alfalfas más productivas en su primer corte durante el mes de noviembre fueron las inoculadas con la cepa 102F34, seguidas por la 102F78 y la 1032GMI. El CO₂ y la temperatura elevados aumentaron el contenido en fibras, disminuyendo la digestibilidad *in-vitro* de la materia seca en las plantas inoculadas con las cepas 102F78 y 1032GMI. La proteína bruta, un indicador de la calidad del forraje, descendió en condiciones de CO₂ y temperatura elevados, independientemente de la cepa inoculada. Si bien las plantas inoculadas con la cepa 102F78 produjeron forraje con mayor concentración de proteína bruta, la mayor digestibilidad obtenida con la cepa 102F34, hizo que de las tres cepas analizadas, sea ésta la más adecuada en el escenario de cambio climático estudiado.

Palabras clave: dióxido de carbono, alta temperatura, invernaderos de gradiente térmico, digestibilidad *in-vitro* de la materia seca.

Abstract: Elevated CO₂ may decrease alfalfa forage quality and *in-vitro* digestibility through a drop in crude protein and an enhancement of fibre content. The aim of the present study was to analyze the effect of elevated CO₂, elevated temperature and *Sinorhizobium meliloti* strains on alfalfa yield, forage quality and *in-vitro* dry matter digestibility. Shoot dry matter under elevated CO₂ and temperature was different depending on the *S. meliloti* strain, with 102F34 inoculated plants being the most productive, followed by 102F78, and then 1032GMI. Plants inoculated with the 102F34 strain did not enhance neutral or acid detergent fibre under elevated CO₂ or temperature and hence, *in-vitro* dry matter digestibility was unaffected. Crude protein content, an indicator of forage quality, was negatively related to shoot yield. Plants inoculated with 102F78 showed a similar shoot yield to those inoculated with 102F34, but had higher crude protein content at elevated CO₂ and temperature. Under these climate change conditions, 102F78 inoculated plants produced more quality forage. However, the higher digestibility of plants inoculated with the 102F34 strain under any CO₂ or temperature conditions, makes them more suitable for growing under applied experimental climate change conditions.

Key words: carbon dioxide, high temperature, temperature gradient greenhouses, *in-vitro* dry matter digestibility.

INTRODUCCIÓN

Según el IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) la concentración atmosférica de CO₂ pasará de 392 µmol mol⁻¹ a 700 µmol mol⁻¹ para finales de siglo. Asimismo, el calentamiento global producido por el incremento del CO₂ podría aumentar la temperatura media del planeta en 4 °C (IPCC, 2007).