



Trabajo de Diploma en opción al Título de Ingeniero Agrónomo.

Título del trabajo: Aplicación de hongos micorrízico-arbusculares en *Tithonia diversifolia*(Hemsl.) Gray para la producción de forraje.

Autor: Eduardo Alfredo Martínez Ramírez.

Tutor: Dr. C. Lázaro J. Ojeda Quintana.

Curso 2019-2020

“Se deben tener en cuenta los beneficios de las plantas proteicas como alimento animal, probados ya en disímiles escenarios y que constituyen alternativas que ofrecen respuestas”.

**Miguel Díaz Canel Bermúdez
Presidente de la República de Cuba
Periódico Granma 20 de mayo/2020**

AGRADECIMIENTOS

Los resultados de dicho trabajo me han permitido valorar la ayuda que he recibido para lograr alcanzar parte de mis sueños, hacerme Ingeniero, es por ello que agradezco a mi familia y a mi esposa el apoyo incondicional que me han dado, a los trabajadores de la Estación Experimental de Barajagua que hicieron posible que los éxitos alcanzados fueran favorables, así como mi Profesor Dr. Lázaro J. Ojeda Quintana, quien ha sido un ejemplo digno a imitar por sus conocimientos y entrega a la labor que realiza.

Resumen

La producción de forrajes con alta productividad de biomasa por unidad de superficie y adecuada calidad para el consumo animal resulta esencial para lograr la sostenibilidad de la ganadería, donde el uso de plantas forrajeras en la dieta de diferentes especies animales constituye una de las opciones para la producción eficiente y rentable cuando se trata de sistemas agropecuarios. Con el objetivo de incrementar el rendimiento y la calidad proteica para la producción de forraje, se evaluó en condiciones experimentales el efecto de la aplicación de Hongos Micorrízico-Arbusculares (HMA) en *Tithonia diversifolia*(Hemsl.)Gray. La investigación se realizó en un área demostrativa del Centro Universitario Municipal (CUM) Cumanayagua desde el 21 de diciembre del 2018 hasta el 9 de noviembre del 2019. El experimento se condujo en un diseño de Bloques al azar con 3 réplicas, y los tratamientos: Suelo, Suelo + *Funneliformis mosseae*/INCAM-2, Suelo + *Rhizogloium irregulare*/INCAM-11y Suelo + NPK. Se evaluaron la cantidad de esquejes por plantas/cortes, rendimiento de biomasa seca aérea (g/planta), eficiencia micorrízica (%), proteína bruta (%) y el pHdel suelo antes de la plantación y posterior a los cortes practicados. Los resultados se analizaron por ANOVA de clasificación simple y cuando F resultó significativa, las medias se compararan según la prueba de Rangos múltiples de Duncan. La mayor cantidad de esquejes/plantas tanto en el corte de establecimiento como en los cortes sucesivos estuvo en los tratamientos Suelo + NPK y Suelo +*Funneliformis mosseae*/INCAM-2. Resultó evidente la respuesta favorable del rendimiento y proteína bruta en relación al Testigo con la inoculación de *Funneliformis mosseae*. El pH del suelo al final de los cortes se incrementó en todos los tratamientos en relación al valor inicial.

Palabras clave: hongo micorrízico, forraje, producción de biomasa, proteína.

Abstract

The production of forages with high productivity of biomass for surface unit and appropriate quality for the animal consumption is essential to achieve the sustainable of the cattle raising, where the use of plants for forage in the diet of different animal species is one of the options for the efficient and profitable production when it is agricultural systems. With the objective of increasing the yield and the protein quality for the forage production, it was evaluated under experimental conditions the effect of the application of Mycorrhizal fungi in *Tithonia diversifolia*(Hemsl.)Gray. The investigation was carried out in a demonstrative area of the Municipal University Center (CUM) Cumanayagua from December 21 the 2018 up to November 9 the 2019. The experiment behaved at random in a design of Blocks with 3 repetitions, and the treatments: Soil, Soil + *Funneliformis mosseae*/INCAM-2, Soil + *Rhizoglosum irregulare*/INCAM-11y Soil + NPK. Were evaluated the quantity of stem cuttings, yield of air dry biomass (g/plant), mycorrhizal efficiency (%), and gross protein (%) and the soil pH, before the plantation and later to the practiced cuts. The results were analyzed by ANOVA of simple classification and when F was significant, the stockings were compared according to the test of multiple Ranges of Duncan. The biggest quantity in stem cuts as much in the establishment as in the successive cuts was in the treatments Soil + NPK and Soil +*Funneliformis mosseae*/INCAM-2. It was evident the favorable answer of the yield and gross protein in relation to the witness with the inoculation of *Funneliformis mosseae*. The soil pH at the end of the cuts was increased in all the treatments in relation to the initial value.

Key words: mycorrhizal fungi, forages, biomass production, protein.

INDICE

Introducción	1
 Capítulo 1. Revisión Bibliográfica	
1.1) <i>Tithonia diversifolia</i> , (Hemsl) acercamiento a la botánica, fenología, cultivo y generalidades de la especie	10
1.2) <i>Tithonia diversifolia</i> , especie proteica promisorio de amplio uso agropecuario.	16
1.3) Hongos Micorrízico-Arbusculares en la nutrición de las plantas.	21
 Capítulo II. Materiales y Métodos	30
 Capítulo III. Resultados y Discusión	33
 Conclusiones	50
 Recomendaciones	51
 Bibliografía	52

Introducción

La demanda para alimentos de origen animal sigue creciendo, y hasta el año 2050 se espera un crecimiento adicional de 70 % comparado con el año 2010, para alimentar una población de 9.000 millones en 2050, de los cuales 70 % vivirá en centros urbanos. Eso lleva a reconocer la importancia ambiental que el sector ganadero mundial tiene: la producción animal ocupa 30 % de la tierra, 80 % de las tierras agrícolas, 8 % del agua dulce y emite el 14.5 % de las emisiones de gases con efecto invernadero (Friedrich, 2014).

La ganadería de leche y carne en el trópico, depende fundamentalmente de la producción de pastos, la cual está sometida a condiciones ecológicas diversas que la afectan, no sólo en cuanto al volumen de biomasa producida, sino también a una distribución estacional, determinada por variaciones ambientales, dependiente de la distribución de las precipitaciones que ocurren anualmente. Estas características, junto a las de múltiples especies forrajeras y a las razas animales y su mestizaje, conforman un inmenso complejo de factores que, en forma aislada o interaccionada, afectan la productividad de estos ecosistemas ^{(Murgueitio, et al., 2015).}

Existe un interés creciente en la búsqueda de recursos alimenticios que sustituyan parcialmente el uso del alimento balanceado o que sirvan para recuperar los suelos degradados, disminuyendo costos, principalmente, para pequeños productores (De Souza y Gualberto, 2007). Esta estrategia permite acercarse a los sistemas agropecuarios sostenibles, ofreciendo ventajas como el incremento de la cobertura vegetal, protección y mejoramiento de la calidad de los suelos, aumento de la diversidad biológica, recuperación y conservación de fuentes de agua, sumideros de CO₂, producción de leña fuente de alimento para rumiantes y monogástricos, e incluso para el hombre.

Los pastizales constituyen un recurso renovable por lo que es necesario usarlos de manera sostenible. En la producción ganadera basada en pastos y forrajes, el sujeto más importante desde el punto de vista biológico, económico y social es el resultado de la combinación equilibrada de todos los factores que intervienen en el complejo “suelo-planta-animal-hombre” y que se define como un ecosistema de pastos. En él influyen y se relacionan todos los factores que determinan la

producción, utilización y permanencia del pasto y se diferencia de otro ecosistema, por el suelo o el clima donde se explotan, por los insumos que se destinan al suelo o al animal, por el propósito con que se explotan y por la forma en que el hombre los maneja ^(Lok, 2005).

Las pasturas tropicales generalmente se caracterizan por presentar bajo rendimiento productivo y baja calidad nutricional, razones por las que los productores se ven en la necesidad de encontrar nuevos materiales que ayuden a mejorar la oferta alimenticia para sus animales. La acumulación de biomasa y la composición bromatológica de esta obedecen a diversos factores, por un lado, los que se asocian a la especie vegetal y de otro, los asociados a condiciones agroecológicas y de manejo de los cultivos forrajeros ^(Wencomo y Ortiz, 2012).

La producción de forrajes con alta productividad de biomasa por unidad de superficie y adecuada calidad para el consumo animal es esencial para lograr la sostenibilidad de la ganadería. Es por ello que estudios recientes han evaluado varias especies tropicales promisorias, entre las que destaca *Tithonia diversifolia*, por su alto contenidos de proteína (18-20%), altos contenidos de fosforo, alta digestibilidad y bajo contenido de taninos y fenoles ^(Rodríguez, 2009).

El uso de plantas forrajeras en la dieta de diferentes especies animales es una de las opciones para la producción eficiente y rentable cuando se trata de sistemas agropecuarios. Estas aportan una importante cantidad de nutrientes a los suelos, ayudándolos a su recuperación y a un mayor rendimiento en cultivos adyacentes, mejorando la economía de los productores ^(González et al., 2014).

La *Tithonia diversifolia* (botón de oro), originaria de América Central ha sido introducida en el trópico en todo el mundo ^(Maina et al., 2012); esta especie tiene muchas cualidades que permiten clasificarla como planta forrajera de un alto potencial para la producción animal, especie que presenta innumerables cualidades y es de resaltar su fácil adaptación a diversas condiciones de suelos y resistencia al corte frecuente ^(Nieves et al., 2011).

Hasta hace pocos años, los estudios sobre la fertilización de los pastos se enfocaban, principalmente, en el incremento de la producción de biomasa por unidad de superficie y la evaluación del impacto económico del uso de los fertilizantes. Actualmente, sin perder de vista el

aspecto económico dado el aumento creciente de los precios de los fertilizantes, se le concede gran importancia a la preservación del ambiente; de modo que se ha acrecentado la necesidad de diseñar estrategias de fertilización que garanticen una nutrición adecuada de los pastos y a la vez, aseguren la protección de los recursos naturales (Richardson et al., 2009)

Dentro de esas estrategias se puede considerar el uso de biofertilizantes es una de las técnicas empleadas por el hombre para obtener elevados rendimientos en los cultivos, sin causarle daños al ambiente. Se plantea que una tecnología que está vinculada con este concepto es la inclusión de microorganismos en las semillas (inoculación), tales como hongos micorrízicos, bacterias fijadoras de N_2 y/o solubilizadores de fósforo, los cuales producen efectos aditivos, de particular importancia en la productividad de los cultivos y en una mejor calidad fitosanitaria, además de aumentar el contenido de materia orgánica del suelo (Corredor, 2008).

Los beneficios de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en los agroecosistemas de pastizales están estrechamente relacionados con el aumento de la absorción de elementos minerales, agua y otras sustancias, a través de una red de hifas interconectadas que incrementan el volumen de suelo que exploran las raíces y facilitan el acceso de las plantas a los nutrientes que se encuentran en formas menos asimilables (Johnson et al., 2003 y Leigh et al., 2009). Así, podrían disminuirse las dosis de fertilizantes a aplicar a los pastos en función de un mayor aprovechamiento y eficiencia del uso de los nutrientes del suelo y de los propios fertilizantes.

La inclusión de hongos micorrízicos arbusculares en los sistemas de biofertilización para los pastos y cultivos forrajeros puede ser una vía efectiva para mejorar su rendimiento y valor nutritivo, pues los beneficios de estos microorganismos en los agroecosistemas de pastizales están muy ligados al aumento de la superficie de absorción de las raíces y consecuentemente, a la mejora de la eficiencia de la utilización de los nutrientes por las plantas (Verbruggen et al., 2013).

Resulta imprescindible mejorar la calidad de los pastos y forrajes, encontrar alternativas que puedan suplir el déficit de los mismos, sobre todo abaratar los costos de los fertilizantes minerales y proteger el medio ambiente.

En el municipio de Cumanayagua se han realizado estudios agroproductivos de las especies: *Moringa oleifera*, *Tithonia diversifolia*(Hemsl.) Gray, y *Morus alba*, y es evidente la necesidad de mejorar la nutrición de estas plantas. Disponer de alternativas biológicas y orgánicas constituye una necesidad que los productores e investigadores deben resolver para aportar soluciones que se reviertan en mayor rendimiento y calidad de los forrajes. No cuentan antecedentes en Cuba de la evaluación de los HMA en *Tithonia diversifolia*, lo que fundamenta el tema de investigación seleccionado, y le imprime una novedad científica de marcado alcance. Lo anteriormente expuesto permite plantear el siguiente problema científico:

Problema científico:

¿Se incrementa el rendimiento y la calidad del forraje de *Tithonia diversifolia*(Hemsl.) Gray con la inoculación de Hongos Micorrízico-Arbusculares (HMA) como biofertilizantes?

Hipótesis:

La inoculación de *Tithonia diversifolia*(Hemsl.) Gray con Hongos Micorrízicos Arbusculares incrementará el rendimiento y calidad de la biomasa para forraje.

Objetivo general:

Evaluar el efecto de la aplicación de Hongos Micorrízico-Arbusculares (HMA) en *Tithonia diversifolia*(Hemsl.) Gray para la producción de forraje.

Objetivos específicos:

1. Comprobar el efecto de la inoculación con diferentes especies de HMA en la producción de esquejes de *Tithonia diversifolia*(Hemsl.) Gray en el tiempo.
2. Determinar la respuesta del rendimiento, calidad de la biomasa e Índice de Eficiencia Micorrízica de *Tithonia diversifolia*(Hemsl.) Gray inoculada con diferentes especies de HMA.
3. Medir el comportamiento del pH del suelo posterior a los cortes de forraje.

Capítulo I: Revisión bibliográfica

1.1) *Tithonia diversifolia*, (Hemsl) acercamiento a la botánica, fenología, cultivo y generalidades de la especie.

Existe un interés creciente en la búsqueda de recursos alimenticios que sustituyan parcialmente el uso del alimento balanceado o que sirvan para recuperar los suelos degradados, disminuyendo costos, principalmente, para pequeños productores (De Souza y Gualberto, 2007). Debido a la gran diversidad de árboles y arbustos forrajeros, el estudio de especies promisorias para entornos agroecológicos específicos y sistemas productivos pecuarios es una necesidad, ya sea en función de la productividad de biomasa o del valor nutritivo.

Esta especie pertenece a la familia de las compuestas, (Asteracea), originaria de Centro América (Nash 1976 y Murgueito 2005) e introducida en el territorio restante de América Latina y el Caribe. Esta especie forma parte de la flora de Cuba, donde se ha naturalizado con el nombre vulgar de Margaritona. También se le conoce en Cuba como margarita gigante y margarita isleña.

La planta posee gran volumen radicular, habilidad especial para recuperar los nutrientes del suelo, aun cuando se presentan en escasas proporciones, amplio rango de adaptación y de distribución en la zona tropical. Se caracteriza por su alto grado de plasticidad ecológica, pudiéndose encontrar desde el nivel del mar hasta los 2500 msnm, con precipitaciones anuales entre 800 a 5000 mm y en diferentes tipos de suelo; tolera condiciones de acidez, de baja fertilidad y crece espontáneamente a orillas de caminos, ríos y carreteras (Calle y Murgueito, 2008). Su potencial forrajero está ligado directamente a su tolerancia a la poda y a su capacidad de rebrote, efecto que permite obtener gran cantidad de biomasa por unidad de área (Lugo et al., 2012).

Clasificación taxonómica y descripción botánica de la especie *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray (1883, Botón de oro): División: Spermatophyta, Clase: Dicotiledoneae, Subclase: Metaclamídeas Orden: Campanuladas, Familia: Compositae y Género: *Tithonia*.

La familia Asteracea posee unas 15.000 especies distribuidas por todo el mundo (Gómez y Rivera, 1987). El género *Tithonia* comprende diez especies originarias de Centro América. *Tithonia diversifolia* fue introducida a Filipinas (Cairns, 1997) la India y Ceilán. También se registra en el Sur de México, Guatemala, Honduras, Salvador, Costa Rica, Panamá (Nash, 1976), Cuba (Roig y Mesa, 1974), Venezuela (Adolfo Cardozo, profesor UNELLEZ, Venezuela, comunicación personal) y Colombia (Ríos, 1993).

Tithonia diversifolia es una planta herbácea de 1,5 a 4,0 metros de altura, caracterizada por una amplia red radicular (Peters et al., 2002; Murgueitio et al., 2003), con ramas fuertes subtomentosas, raíz principal fusiforme con numerosas derivaciones secundarias muy finas (Figura 1); lígulas amarillas a naranja de 3 a 6 cm y corolas de 8 mm de longitud (Murgueitio y Ospina, 2002). Posee un tallo erecto, ramificado y único, con aproximadamente 24 a 36 haces vasculares colaterales que le proporcionan un máximo soporte esquelético a pesar de su escasa madera en los tejidos del parénquima; sus ramas tiernas permanecen cubiertas de pelillos, los cuales se pierden con la edad (Pérez et al., 2009).

Las hojas son alternas, pecioladas, de 7 a 20 cm de largo por 4 a 20 cm de ancho, con un ápice acuminado, divididas en tres a cinco lóbulos, muy pilosas en el envés, con dientes redondeados en el margen y labase, que en ocasiones se presenta algo truncado y se hace muy angosto a lo largo del peciolo, en la que se amplían dos lóbulos pequeños. La cara superior está cubierta de pelos, mientras la cara inferior presenta puntos glandulares y el envés generalmente glauco con bordes aserrados (Ipou et al., 2011).

La inflorescencia de *Tithonia diversifolia* contiene varias cabezuelas grandes, en ocasiones agrupadas y en otras solitarias, sobre pedúnculos fuertes de hasta 20 cm de largo, en capítulos con pétalos amarillos (Murgueitio et al., 2003), a veces cubiertos de vellosidades, hinchados debajo de la cabezuela. Las flores sésiles y pequeñas están dispuestas sobre un receptáculo convexo, provisto en su superficie de brácteas rígidas, puntiagudas, que alcanzan los once milímetros de largo con algunos pelillos en la superficie que abrazan a las flores del disco; el conjunto de estas flores está rodeado por fuera, por el involucre anchamente campanado que puede alcanzar los cuatro centímetros de ancho (Ipou et al., 2011).

Las flores liguladas, de doce a catorce, están ubicadas en la periferia de la cabezuela en donde la

corola se muestra como un tubo en la base y a manera de cinta hacia el ápice, asemejándose a un pétalo de una flor sencilla, de color amarillo brillante (Pérez et al., 2009;), muy vistosa y tipo margarita (Murgueitio y Ospina, 2002).

El fruto de *Tithonia diversifolia* es seco, indehisciente y contiene una sola semilla conocida como aquenio o cipsela el cual es oblongo, de hasta seis milímetros de largo, cubierto de pelillos recostado sobre su superficie. En el ápice del fruto se presenta una estructura llamada vilano, formada por dos aristas desiguales, de hasta cuatro milímetros de largo, entre seis y diez escamas que alcanzan los 2,5 mm de largo, unidas en la base e irregularmente divididas en su margen superior en segmentos muy angostos (Inayat Gordon, 2009).

La semilla es pequeña, liviana, numerosa, con un diámetro aproximado de 2,9 mm y generalmente presenta baja viabilidad para su propagación. La forma de la raíz tiene por funciones principales el anclaje de la planta, la absorción de nutrientes y el almacenamiento de los mismos, dependiendo de su forma de propagación, siendo pivotante cuando es sexual y adventicias cuando es asexual (Peters et al., 2002).

Etejere y Olayinka (2014), reportan que el número de semillas por planta depende del número de flores allí encontradas; cada planta puede producir entre 35 y 212 flores, cada flor produce entre 32 y 52 semillas, el número de flores promedio por planta es de 88,7, y cada flor produce en promedio 61,2 semillas. Por cada planta de *Tithonia diversifolia* se pueden obtener entre 1120 y 13144 semillas, con un peso promedio por cada 1000 semillas de entre 6.42 y 7,5 g, valor cercano a lo encontrado por Gallego (2016), quien reporta un peso de 7,36 g por cada 1000 semillas.

En Colombia se le conoce como Mirasol o Botón de Oro, debido a su color. En Cuba se le denomina Margaritona o Árnica de la Tierra, por su uso (Roig y Mesa, 1974). También se le conoce como Quil Amargo, en Guatemala (Nash, 1976), (Murgueitio, 2002). Actualmente se encuentra ampliamente distribuida en la zona tropical; se tienen reportes de Sur de Méjico, Honduras al Salvador, Guatemala, Costa Rica, Panamá, India, Ceylán (Nash 1976), Cuba (Roig y Mesa, 1974) y Colombia.

El género *Tithonia* comprende diez especies, todas originarias de México o Centro América. Una de ellas, *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray, fue introducida a las Indias Occidentales y a

Ceylan^(Nash, 1976). *T. diversifolia* no soporta niveles freáticos altos ni encharcamientos, pero se puede asociar con pastos y leguminosas rastreras de trópico bajo, medio y alto. Se encuentra distribuida en la zona tropical. ^{(Sanabria y Ávila, 2015).}

El “botón de oro” se puede reproducir por semilla o por estaca; con la segunda opción es recomendable sembrarlas con el primer y segundo tercio del tallo (^{Ipou et al., 2011}). Sin embargo, ^{Weaver (1987)} sostiene que no se debe desechar ninguna porción del material cortado; aunque se debe tener en cuenta que la parte apical del tallo no es recomendada debido a la poca capacidad de propagación que posee por el bajo desarrollo del tejido conductor y sus yemas ^(Ramírez et al., 2005). Para su propagación se ha utilizado material vegetativo proveniente de plantas jóvenes sin florecer; tomando tallos de aproximadamente 50 cm de longitud con 2 a 3,5 cm de diámetro y 4 o 5 yemas; los cuales son colocados de manera vertical o inclinada sin cubrirlos totalmente de tierra (Peters et al., 2002). El tipo de tronco utilizado para la siembra tiene influencia sobre la producción de biomasa de las plantas generadas, en donde los más leñosos crean mayores rendimientos ^(Murgueitoy Ospina, 2002).

La siembra y establecimiento de botón de oro se ha realizado tradicionalmente empleando estacas como material de propagación, con al menos dos yemas germinales, tomadas del tercio inferior o intermedio de los tallos. Las estacas deben conservar un estado óptimo para ser empleado en propagación, ser un material maduro, ni muy verde ni muy lignificado sino en punto intermedio de desarrollo, y se descartan las partes muy leñosas y las puntas de las ramas. Este método que resulta costoso y que además requiere de tiempo, por lo que en muchos casos no resulta práctico ^(Saavedra et al., 2011).

La dificultad para conseguir el material vegetativo o el daño y deshidratación que este sufre durante el transporte, son aspectos que han planteado la necesidad de encontrar alternativas para el establecimiento de *T. diversifolia*, aspectos que pudiesen comprometer el establecimiento de las mismas, una vez plantadas las estacas ^(Romero et al., 2014).

Las características de las estacas utilizadas en la plantación influyen sobre la producción de biomasa, que es mayor cuando estas están maduras. ^{Sanabria y Ávila(2015)} destacan que el tamaño de la

estaca puede variar entre 20 a 40 centímetros de longitud, el corte debe ser fino, en bisel en ambos extremos y se debe hacer con un machete bien afilado, un golpe seco para evitar desgarres y heridas, este material, debe ser tratado cuidadosamente para evitar daños en los puntos germinales.

Las estacas deben colocarse en semilleros de enraizamiento^{Weaver (1987)} sostiene que no se debe desechar ninguna porción del material cortado; aunque se debe tener en cuenta que la parte apical del tallo no es recomendada debido a la poca capacidad de propagación que posee por el bajo desarrollo del tejido conductor y sus yemas^(Ramírez et al., 2005). Para su propagación se ha utilizado material vegetativo proveniente de plantas jóvenes sin florecer; tomando tallos de aproximadamente 50 cm de longitud con 2 a 3,5 cm de diámetro y 4 o 5 yemas; los cuales son colocados de manera vertical o inclinada sin cubrirlos totalmente de tierra^(Peters et al., 2002).

La semilla sexual se plantea como un método alternativo de siembra, sin embargo, los reportes de germinación en general no han sido muy alentadores; ^{Saavedra et al., (2011)} lograron niveles máximos de 13% de germinación; ^{Muoghalu y Chuba (2005)} encontraron un 16,3% de germinación; mientras que ^{Romero et al., (2014)}, encontraron que a partir de semillas clasificadas como viables, es posible obtener plántulas para el trasplante.

La semilla de *Tithonia diversifolia* posee un porcentaje muy bajo de germinación; en cierta medida, según ^{Inayat y Gordon (2009)}, esta es una circunstancia favorable para impedir el comportamiento invasor de la planta.

La germinación de la semilla de *Tithonia diversifolia* está determinada por varios factores tales como la exposición a la luz, humedad, sustrato, pretratamiento, profundidad de siembra entre otros. ^{Agboola et al., (2006)}, encontraron que la germinación inicial es relativamente baja, alrededor de 30% después de 5 días de la siembra, sin embargo al aplicar pretratamientos a la semilla como la inmersión de esta en agua caliente a una temperatura entre los 80 y los 100°C, por un lapso de 30 a 60 segundos, se puede elevar la tasa de germinación a niveles entre 80 y 85%, esto puede ser debido a que el aumento de la temperatura genera cambios metabólicos que finalizan el estado de latencia de la semilla, además permite el ingreso de agua y oxígeno y remueve sustancias que inhiben la germinación. El almacenamiento de las semillas aumenta de manera ostensible la tasa de

germinación ^{(Etejere y Olayinka (2014),} esto al parecer es debido a que el embrión requiere de un elevado periodo de maduración para aumentar su viabilidad ^{(Li et al., 1999).}

La información acerca de la propagación de esta especie por medio de semilla sexual es escasa, aunque la necesidad de desarrollar alternativas de propagación más efectivas ha fomentado la investigación en este campo y la presentación de resultados ha tenido un incremento significativo en los últimos años. ^{Según Romero et al., (2014),} se pueden obtener alrededor de 17.000 plántulas por cada Kg de semilla sexual de botón de oro preparando un germinador en un sustrato compuesto por suelo, arena y materia orgánica, protegiendo la semilla de la exposición solar directa y de la humedad excesiva, utilizando como fuente de semilla plantas adultas de más de 4 meses de edad.

El uso de este método de siembra es más viable en términos económicos, aunque el desarrollo inicial de la planta sea un poco más lento, el sistema radicular es más profundo lo que podría brindar un mejor anclaje y una mayor superficie para la captación de nutrientes ^{(Gallego, 2016).} El porcentaje de pérdidas es significativamente menor con semilla sexual (entre el 5 y el 10 % con semilla sexual contra 30 al 40% con semilla vegetativa), y los costos de producción son menores reduciendo a la mitad los costos generados por la mano de obra.

Respecto a su cultivo, *Tithonia diversifolia* se puede sembrar en monocultivo o en asociación; para el segundo caso, se usan surcos de esta planta intercalados con franjas de otras especies alimenticias como frijol, yuca, maíz, plátano, papaya, caña de azúcar, forrajeras y árboles como el nacedero, san Joaquín o el chachafruto, en donde la distancia dependerá del desarrollo de las plantas asociadas, buscando que no se presente competencia ni se afecte su crecimiento ^{(Murgueitio y Ospina, 2002).} *Tithonia diversifolia* se puede cosechar cuando esté bien establecida, lo cual sucede aproximadamente a los cuatro meses después de la siembra por estaca. Se debe prestar atención a su respecto en condiciones de extrema sequía y encharcamiento del suelo, donde en ambas situaciones no refleja tolerancia ^{(Jama et al.,2000).}

1.2) *Tithonia diversifolia*, especie proteica promisorio de amplio uso agropecuario.

La zona tropical contiene la mayor diversidad genética en el mundo, que se expresa en el gran número de plantas vasculares por unidad de área. Sin embargo, a pesar de esta riqueza, los modelos de alimentación animal se han basado principalmente en el uso de pocas especies vegetales. Esto cobra mayor vigencia en el caso de los árboles y arbustos forrajeros que no han tenido la adecuada utilización como alimento para los animales. En el estudio de los sistemas alimenticios utilizados en climas cálidos se sugiere que la sostenibilidad del sistema depende, en gran medida, de la utilización de los diferentes recursos biológicos locales (Holguín et al., 2015).

Tithonia diversifolia es una de las plantas no leguminosas considerada como promisoría para la utilización en la alimentación de diferentes especies animales, en especial en rumiantes. Muchas de estas especies (no leguminosas) tiene valores nutricionales superiores a los de los pastos y pueden producir elevadas cantidades de biomasa comestible que son más sostenidas en el tiempo que las del pasto bajo condiciones de cero fertilización (Gutiérrez et al., 2015).

Las no leguminosas acumulan tanto nitrógeno en sus hojas como las leguminosas, tienen altos niveles de fósforo un gran volumen radicular, una habilidad especial para recuperar los escasos nutrientes del suelo, un amplio rango de adaptación, tolera condiciones de acidez y baja fertilidad del suelo, y puede soportar la poda a nivel del suelo, tiene rápido crecimiento y baja demanda de insumos y manejo para su cultivo (Ruíz et al., 2014). Además, se dispone de información de su empleo en la alimentación del vacuno (Mauricio et al., 2014) que incluye los sistemas silvopastoriles (Mejía et al., 2017).

Los productores asimilan esta planta, la incorporan a diferentes sistemas de manejo de los animales, no solo de forma estabulada, sino bajo pastoreo. Se incorpora a otras alternativas de fertilización, por lo que el uso de la *Tithonia diversifolia* para la alimentación animal es cada vez más generalizado debido a su alta rusticidad, buen valor nutricional, alta digestibilidad de la materia seca y la presencia de aceites en sus hojas y flores; además, de la elevada tasa de producción de biomasa, alcanzando anualmente las 77 toneladas de carbono por hectárea (Murgueitio et al., 2005).

En Colombia, se utiliza en apicultura y alimentación de vacas, conejos, curíes, ovejas, y cerdos. También se siembra como cerca viva para rodear sitios donde se ubican colmenas y áreas de bosque para protección de fuentes de agua (Ríos, 1998). Se utiliza también como especie ornamental y en parcelas de producción agrícola con alta diversidad para atraer insectos benéficos.

En Costa Rica se está utilizando *T. diversifolia* a nivel experimental para incrementar la producción de frijol en barbechos mejorados. Se considera que esta especie aporta nutrientes en especial fósforo, para el desarrollo del frijol (Gloria Meléndez, Universidad de Costa Rica, comunicación personal). En Filipinas se utiliza como abono verde en cultivos de arroz (Cairns, 1996).

Se utiliza para alimentación de cabras en un sistema de corte y acarreo en Mindanao, Filipinas. El estiércol de los animales se aplica en los callejones del cultivo. Este sistema combina los beneficios de la producción pecuaria, el ciclaje eficiente de nutrientes y la conservación de suelos. También se aprovecha para el ramoneo de ovejas y, en Luzón, algunos agricultores esparcen hojas de *T. diversifolia* en los estanques para ser consumida por tilapias. Adicionalmente en Indonesia y Filipinas se han realizado ensayos con resultados promisorios, al incorporar hojas de esta especie en raciones para alimentación de gallinas (Cairns, 1997).

Un sistema de producción en Venezuela utiliza *Tithonia* como forraje fresco sin picar. Este se ofrece colgado para el consumo de ovejas y cabras, como parte de una dieta con cogollo de caña y pasto elefante. En la tarde se ofrece a los animales, forrajes como nacedero (*Trichanthera gigantea*), matarratón (*Gliricidia sepium*) y cañafístola (*Cassia moschata*).

En ovinos, Vargas (1994), concluyó que la *Tithonia diversifolia* puede ser usada tanto como suplemento proteico o como fuente única, en la alimentación de esta especie, al evaluar dietas con el 50 y 100 % de esta forrajera, picada en estado de floración, durante cinco días, suplementando a los animales a voluntad con un bloque multinutricional que contenía 10 % de urea y follaje de *Gliricidia sepium* en base fresca en proporción diaria al 3 % del peso vivo por animal; y, a aquellos animales que consumían el tratamiento con menor inclusión de *Tithonia diversifolia*, su dieta es complementada con cogollo de caña picado. El autor observó que el consumo de los animales que

recibían la dieta con el 50 % de *Tithonia diversifolia* fue de 0,868kg/día en base fresca, equivalente a 0,369 kg/día en base seca; mientras que los que recibieron la dieta del 100 % de *Tithonia diversifolia* consumieron 1,66 kg/día en base fresca, o sea 0,712 kg/día en base seca.

Ramírez et al. (2010), demostraron que la inclusión de la *Tithonia diversifolia* hasta el 20 % de la dieta en la alimentación de ovejas, aumenta el consumo de materia seca y la digestibilidad del alimento, concluyendo que este porcentaje de inclusión no cambia la proporción del nitrógeno retenido, situación que convierte a esta planta en una alternativa para la alimentación de animales criados en pasturas de baja calidad.

Nieves et al. (2011), sostienen que el follaje de *Tithonia diversifolia* es una materia prima alternativa en la alimentación de conejos al observar que se eleva el contenido de nutrientes digestibles totales al incluir entre el 9 y 18 % de follaje de esta forrajera como parte de la dieta de los animales, bajo condiciones tropicales. Sin embargo, López et al. (2012) no la recomiendan como única fuente alimenticia en esta especie porque genera bajas ganancias de peso, próximas a los 40 gramos diarios por animal, argumentando que este resultado se debe al bajo contenido de materia seca de la forrajera el cual altera la relación energía- proteína de la dieta.

Al evaluar la preferencia de los bovinos por el consumo de diversas forrajeras tropicales García et al., (2008a) observaron que *Tithonia diversifolia* fue medianamente aceptada por los animales, en comparación con otras como la *Leucaena leucocephala* que fue la más consumida. El mismo grupo investigador corroboró estos resultados al alimentar bovinos con doce forrajeras tropicales y observar que los vacunos prefirieron el follaje de *P. pedicellare*, *L. leucocephala*, *G. ulmifolia*, *M. alba*, *C. tinctoria* y *C. alba*, antes que el de la *Tithonia diversifolia* (García et al., 2008b). No obstante, los resultados, los autores destacan a esta última planta como un recurso potencial, al igual que una fuente de proteína, minerales y carbohidratos, para ser usado en la alimentación de esta especie animal. Contemplan su rusticidad de adaptación, que permite incluirla en sistemas de pastoreo o forraje, con un uso factible por los productores, ya sea en pequeñas o medianas producciones o en áreas mayores de ganadería.

La suplementación con leguminosas o con forrajeras proteicas mejora el aporte de nitrógeno al rumen, pero para maximizar la eficiencia son necesarias buenas fuentes de carbohidratos tanto solubles como estructurales; la *T. diversifolia* posee una composición en cuanto a la proteína y carbohidratos que la hacen interesante desde este punto de vista, en comparación con otras especies forrajeras arbustivas. Essiott y Akpan (2013), reportan una composición para tallos de *T. diversifolia* de 9,62, 70,35 y 15,82%, en proteína cruda, carbohidratos y fibra cruda respectivamente, aunque en su estudio no hacen referencia ni a la edad ni a la altura de corte de la planta.

De acuerdo con Gualberto et al., (2010), las publicaciones sobre el valor nutritivo y alimenticio de la *Tithonia diversifolia* son escasas, sin embargo los estudios reportados permiten hacer inferencias sobre la potencialidad de este forraje, que en términos generales se caracteriza por presentar una alta aceptabilidad y altos niveles de proteína, además de su rápida degradabilidad y buen nivel de fermentación ruminal. Lo anterior coincide con los hallazgos de Medina et al., (2009), quienes reportaron valores para la digestibilidad ruminal entre 68,93% y 73,73% .No resultó afectada por el contenido de metabolitos secundarios de la planta.

La composición promedio de la harina de hojas de botón de oro, parece adecuada para usarse como concentrado proteico en rumiantes (Ekeocha, 2012). Este autor indica que puede ser un buen sustituto de materias primas como el salvado de trigo, por sus aceptables niveles de fibra cruda y extracto libre de nitrógeno, por lo que el animal podría obtener la energía que requiere. Este mismo autor reporta valores promedios de 16,33, 44,38 y 21,80%, para proteína cruda, extracto libre de nitrógeno y fibra cruda respectivamente; la harina de hojas de botón de oro se obtuvo de plantas cosechadas a 50 cm de altura luego de cuatro semanas de rebrote.

El forraje botón de oro ha sido reconocido entre los productores por su capacidad para la acumulación de nitrógeno (Verdecia et al., 2011) y de fósforo y potasio; cuenta con importantes niveles de proteína y carbohidratos solubles (Medina et al., 2009). Además, su nivel de taninos no se considera tan alto como para llegar a influir de manera negativa el aprovechamiento de los nutrientes por parte del ganado bovino, de ahí que el consumo de la misma no sea restringido de manera total, se maneja el mismo por parte de los productores.

El botón de oro (*Tithonia diversifolia*) resulta una planta útil como mejoradora de la fertilidad general de los suelos, principalmente cuando se maneja como abono verde (Crespo et al., 2011), sea enterrado al suelo o manejado como cultivo acompañante (alle y cropping) (Ríos 2002). Esta es una planta que evita la erosión (Murgueitio e Ibrahim 2004).

La *Tithonia diversifolia* se convierte en un arbusto multipropósito, al restablecer la fertilidad del suelo gracias a su alto contenido de nitrógeno y rápida tasa de descomposición (Ademiluyi y Omotoso, 2007), condición que se refleja en el aumento del contenido de carbono orgánico y nitrógeno en los suelos a los seis meses de establecido el cultivo, con incrementos de 0,15 % y 0,002 %, respectivamente; el beneficio también se refleja en el mayor rendimiento de los cultivos de asociación con maíz o los que reciben incorporación de la biomasa de dicha planta, al ser comparados con los monocultivos o con aquellos que reciben fertilización química (Sao et al., 2010). La capacidad de desoje de hasta el 95% le permite a la planta reducir su transpiración y resistir mejor las épocas de sequía (Ipou et al., 2011).

La planta restablece rápidamente la fertilidad y los nutrientes de los suelos degradados (Inayat Gordon, 2009). Al respecto, Rutunga et al., (1999), observaron que los suelos después de seis meses de sembrada la *Tithonia diversifolia* aumentaron el contenido de nitrógeno en 191 kg/ha, de fósforo en 8,1 kg/ha, potasio en 271 kg/ha, calcio en 70 kg/ha y magnesio en 32 kg/ha.

Tithonia diversifolia se caracteriza por producir en condiciones diversas de clima y suelo, debido a su variabilidad genética (Ruiz et al., 2010). Esto determina la amplia variación en el rendimiento y composición química de sus variedades (Holguín et al., 2015, y Mejía-Díaz et al., 2017), lo que motiva el interés por esta planta, especialmente, como fuente de alimento animal.

En Cuba, Ruiz et al., (2010) evaluaron 29 materiales de *Tithonia diversifolia*, recolectados en el centro-oeste del país e informaron variabilidad en sus características. Después de una selección informaron además su potencialidad para la producción animal. Sus propiedades nutricionales hacen de esta, una especie vegetal promisorio e importante en raciones para animales porque disminuye los costos de producción, beneficia a los productores pecuarios y mantiene el

rendimiento fisiológico de los animales; convirtiendo de este modo, en fructíferos, eficientes y rentables sus sistemas productivos (Ruiz et al., 2014).

1.3) Hongos Micorrízico Arbusculares en la nutrición de las plantas.

Frente a la perturbación del suelo y competencia entre las plantas, es muy importante el uso de herramientas biológicas que aseguren el establecimiento exitoso de las especies vegetales, como los microorganismos del suelo, que cumplen un rol preponderante debido a las variadas funciones que realizan, y su existencia en el suelo está estimada en billones, donde cada uno de ellos interviene en funciones específicas, y además alcanzan una interrelación que ocupa procesos edáficos fundamentales. En este particular, directamente intervienen los microorganismos del suelo que conviven en la rizosfera de las plantas y establecen relaciones simbióticas y de vida libre. Algunos de ellos desarrollan interacciones benéficas sobre el crecimiento y la productividad de los cultivos, como son los hongos micorrizógenos arbusculares, bacterias fijadoras de nitrógeno, solubilizadores de fósforo y potasio y estimuladores del crecimiento vegetal^(Heredia, 2003).

El segundo grupo con mayor número de especies entre los seres vivos, después de los insectos, es el de los hongos. Se estima que existen cerca de 1.5 millones de especies de hongos, de las cuales sólo se han descrito 72 000; aunque, cada año se registran cerca de 1500 nuevas especies. Los hongos son, por tanto, uno de los reinos biológicos menos conocido. Además de la megadiversidad de las especies fúngicas, es importante tomar en cuenta que este grupo de organismos es básico para el bienestar humano debido a su utilización en campos tan diversos como la producción de alimentos, la micología industrial, la salud humana, la agricultura, la biorremediación y la biodeterioración (e.g. plásticos), entre otras aplicaciones; así como por ser actores activos fundamentales dentro de los procesos ecosistémicos (Guadarrama et al., 2004).

El término micorriza fue acuñado por el botánico alemán Albert Bernard Frank en 1885, y procede del griego mykos que significa hongo y del latín rhiza que significa raíz, literalmente quiere decir “hongo-raíz”, definiendo así la asociación simbiótica, o mutualista, entre el micelio de un hongo y las raíces o rizoides de una planta terrestre. Describe la asociación simbiótica de las raíces de plantas con hifas de hongos especializados del suelo, y se considera el órgano principal

involucrado en la captación de nutrientes. Se refleja la interpretación errónea inicial de su carácter parasítico (Simón, 1996).

La historia de las Micorrizas, se remonta a unos 400 millones de años, especialmente al período Devónico, a partir del cual las plantas acuáticas con la ayuda de las micorrizas, consiguieron colonizar el medio terrestre hasta lo que son hoy en día. Por ello, estas asociaciones están presentes en casi todos los grupos de plantas terrestres. Aparecen en Briofitos, sobre todo en Hepáticas, muchos Pteridófitos, en todos los grupos de Gimnospermas y en la mayoría de Angiospermas. No están presentes en algunas familias de Angiospermas, como: Ciperáceas, Juncáceas, Cariofiláceas o Crucíferas. El rol de las micorrizas en la relación suelo/planta ha sido objeto de estudio, y cada vez mayor cantidad de resultados apuntan a la eficiencia que la misma representa para las plantas (Azcón y Barea, 2015).

La simbiosis de la micorriza arbuscular está formada por las raíces de más del 80 % de las especies de plantas terrestres y los hongos Zigomicetes del Orden Glomales. Los efectos benéficos de esta simbiosis suceden como resultado de un diálogo molecular complejo entre los socios simbióticos. La identificación de las moléculas involucradas en este proceso es un prerrequisito para una mayor comprensión de la simbiosis. Hay evidencia de los eventos de señalización-reconocimiento en diferentes estados de las interacciones planta-hongo en la micorriza arbuscular, pero no se conoce la naturaleza de las moléculas señal y los procesos de percepción-transducción. Para conocer el potencial de la micorriza arbuscular en la agricultura sustentable, es preciso identificar las moléculas principales de la interacción planta-hongo. Existen numerosos métodos disponibles para el análisis molecular de los hongos arbusculares que ayudan a comprender la interacción dinámica entre las plantas y éstos (Camarena-Gutiérrez, 2012).

Las plantas han desarrollado numerosas estrategias desde que colonizaron los ecosistemas terrestres, para hacer frente a los diversos retos bióticos y abióticos. Una de las más eficaces es la capacidad de los sistemas de raíces, para establecer relaciones simbióticas mutualistas benéficas con los microorganismos. La micorriza, representa a los órganos de absorción de la mayoría de las plantas en la naturaleza (Gianinazzi et al., 1984). Esta asociación cumple una función muy importante en la explotación eficaz de los recursos minerales del suelo y en la protección de las

raíces contra una serie de patógenos. Por ello, las micorrizas son fundamentales para la supervivencia de muchos taxones de plantas en diversos ecosistemas y áreas de cultivos.

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

Las micorrizas arbusculares son el resultado de la asociación mutualista entre algunos hongos del suelo y la raíz de la mayoría de las plantas. En ella, el micelio del hongo coloniza la corteza radical a modo de endófito y proyecta sus hifas tanto al interior como al exterior de la raíz.). Frank, en el año de 1885, nombró a la simbiosis entre hongos y las raíces de las plantas como "Micorriza", término que procede del griego —mykosl, hongo y —rhizal, raíz. Entre las asociaciones de micorrizas, la asociación micorriza arbuscular es la más común (Forero et al., 1996). Se estima que más del 80% de las plantas terrestres forman este tipo de asociación. Estas incluyen muchas especies de cultivo importantes en la agricultura y horticultura (Smith y Read, 2009).

Se reconocen varios tipos de micorrizas, los cuales se presentan en el ecosistema en función de características relacionadas con la presencia de fósforo y nitrógeno, tanto orgánico como inorgánico, y su relación con el tipo de vegetación dominante. Dentro de éstos se encuentran: a) micorriza orquideoide; b) micorriza ericoide; c) micorriza monotropoide; d) micorriza arbutoide; e) ectomicorriza, y f) micorriza arbuscular (Alarcón, 2007).

La clasificación de los hongos formadores de la micorriza es complicada y ha sufrido numerosos cambios a lo largo de las últimas décadas. Hasta finales del año 2000 estos hongos formaban parte de la clase de los Zigomicetos, y se agrupaban en un solo orden, los Glomales. Este orden estaba constituido por dos subórdenes (Glominae y Gigasporinae), tres familias (Glomaceae, Acaulosporaceae y Gigasporaceae) y seis géneros (*Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora* y *Scutellispora*). Actualmente se considera que pertenecen al Phylum Glomeromycota (Schüßler et al., 2011), con más de 150 especies descritas.

Dentro de los presupuestos que han acelerado la aplicación de las micorrizas en las plantas, se encuentran el impacto que estas producen en su protección contra plagas y enfermedades, ya que las plantas son capaces de adaptarse a condiciones hostiles en su entorno mediante mecanismos de percepción y respuesta de su sistema inmune. Como consecuencia de una estimulación previa, la respuesta del sistema basal de defensa ante el ataque por un patógeno o insecto es más rápida y contundente, respuesta que es potenciada por la micorrización y que permite una defensa natural más fuerte en las plantas que han sido micorrizada, en relación a las que no asimilan la simbiosis, y favorece la protección fitosanitaria (Prager et al., 2001).

En el caso concreto del ataque de patógenos o insectos, tal potenciación de las defensas naturales de las plantas por micorrizas traen como consecuencia una mayor resistencia de la planta frente a enfermedades y plagas. Se puede hablar por tanto, de una Resistencia Sistémica Inducida (RSI) por micorrizas, fundamental en el control biológico de patógenos, insectos y plantas parásitas. Se conocen los mecanismos moleculares implicados en la RSI (Pozo et al., 2015).

La aplicabilidad a nivel agronómico de estas actividades de protección frente a enfermedades y plagas es aún limitada, pero se progresa en este sentido y se están diseñando estrategias que optimicen dicha capacidad y seleccionar los hongos micorrícicos más eficaces a tal fin. Una de las estrategias que sigue la planta para adaptarse y resistir a situaciones adversas de sequía, salinización está basada en su capacidad para formar micorrizas. En efecto, a las micorrizas se les reconoce un papel fundamental para proteger a la planta frente a salinidad y sequía, habilidad que ha sido ampliamente estudiada por ser un mecanismo que puede mejorar la producción agrícola en las zonas afectadas por dichos factores de estrés (Ruiz-Lozano et al., 2016).

Las expectativas de investigación de la simbiosis micorrizas-plantas siguen siendo muy amplias, con énfasis en una perspectiva multifuncional más amplia, incluyendo los efectos de la simbiosis micorrízica sobre las comunidades vegetales y microbianas, así como en los procesos del ecosistema. Es relevante la movilización de N y P a partir de polímeros orgánicos, la liberación de los nutrientes de las partículas minerales, los efectos sobre el ciclo del carbono, la mediación de la respuesta de las plantas a factores de estrés como la sequía, la acidificación del suelo, metales tóxicos y patógenos de plantas, así como una amplia gama de posibles interacciones con grupos de

otros microorganismos del suelo, de ahí la necesidad de continuar investigaciones en diferentes especies promisorias para la agricultura (Finlay (2004).

En la agricultura, el uso de micorrizas tiene un gran potencial biotecnológico debido a que facilitan la disponibilidad de nutrientes para las plantas, por lo tanto, plantas micorrizadas poseen una ventaja importante con respecto a las plantas no micorrizadas. Sin embargo, el conocimiento sobre las interacciones entre las condiciones edáficas y la ecología de los HMA nativos y la efectiva asociación simbiótica entre las plantas y estos microorganismos es limitado (Serralde y Ramírez, 2004).

La importancia de los HMA en la agricultura radica en que por su extenso micelio extra radical, se forma un vínculo entre la planta y el suelo debido a que al darse la asociación planta-hongo, las plantas micorrizadas presentan ventajas en cuanto a la absorción de nutrientes de poca movilidad (como el P) con respecto a las plantas no micorrizadas, ya que en las primeras el micelio externo se extiende a una mayor distancia en el suelo que los pelos radicales de las plantas no micorrizadas. Como se mencionó antes, el crecimiento de la planta se da debido al aumento en la absorción de p por la baja disponibilidad de este elemento característico en los suelos tropicales; sin embargo la simbiosis se puede reducir o inhibir si el nivel de p en el suelo es alto y la raíz de la planta puede absorberlo por si misma (Blanco y Salas, 1997).

En la agricultura se utilizan dos métodos importantes para manejar los HMA, uno de ellos es trabajar con hongos nativos con el fin de obtener el mejor beneficio de ellos, estimulando uno o varios de los géneros después de que han sido determinados, y el otro es introducir o inocular con HMA seleccionados que puedan ser manejados con prácticas agronómicas que ya hayan sido utilizadas con estos hongos. El problema de este método está en que la inoculación puede alterar la acción de HMA nativos eficientes, al tener que competir con los hongos seleccionados. Sin embargo, es una opción importante ya que sistemas de monocultivos reducen la abundancia de las especies fúngicas (Klironomos, 2003).

En Chile, en estudios en invernadero donde se han empleado HMA nativos y comerciales para inocular suelo nativo de cultivos de pimentón, las plantas sometidas al tratamiento con HMA nativos presentaron mejores resultados que las plantas inoculadas con HMA comerciales. Lo mismo sucedió en la aclimatación de plantas micropropagadas de banano (*Musa sp gran enano*), al

ser inoculadas con HMA provenientes de suelos bananeros de Colombia (Usuaga et al., 2008).

Algunas plantas como por ejemplo la guayaba o la palma de aceite (Corley y Tinker, 2003), por citar solo algunas, son dependientes de HMA, lo que indica que en suelo estéril el crecimiento de las plántulas es deficiente. Plantas con sistemas radicales abundantes como la yuca (*Manihot esculenta*), cítricos (citrus) y cebolla (*Allium spp.*) pueden ser muy dependientes de la micorriza arbuscular (Sánchez, 1999), mientras que plantas caracterizadas por raíces abundantes pero finas y con pelos radicales largos, son poco dependientes a la micorrización (Sieverding, 1991).

El papel de la simbiosis es fundamental en la captación de elementos minerales de lenta difusión en los suelos, como los fosfatos solubles, el Zn y el Cu. La absorción de N también se favorece con la micorrización. Otros elementos como K y Mg se encuentran a menudo en concentraciones más altas en las plantas micorrizadas. La absorción de calcio es estimulada también con la simbiosis (Rillig y Mummey, 2007).

Entre los microorganismos del suelo, los HMA son importantes en la formación y estabilización de los agregados del suelo, los hongos son frecuentemente el mayor componente de la biomasa microbiana en los suelos cultivables, el tamaño y la distribución de la población fúngica del suelo está relacionada con la cantidad y calidad de la materia orgánica aportada y los métodos de manejo del suelo empleados (Barea et al., 1997).

Dentro de estos, los HMA son simbiosis asociados a la mayoría de las plantas terrestres. Sus efectos sobre la agregación del suelo han recibido recientemente atención especial. Sin embargo, la implicación actual de este fenómeno no está todavía clara. Existen muchas consideraciones teóricas que dan particular importancia a los HMA sobre la agregación del suelo (Rillig, 2004).

El uso común de pesticidas también tiene efectos, aunque contradictorios, en la acción de los HMA, porque dependiendo del suelo y del cultivo, puede haber un efecto estimulador, depresivo o no significativo sobre el hongo (Koide y Mosse, 2004). No ha sido bien documentado el efecto que los herbicidas puedan tener sobre la actividad de los HMA en el suelo, sin embargo dada la naturaleza

biológica de los productos basados en estos hongos no se recomienda hacer aplicaciones de herbicidas sobre la aplicación de HMA nativos o comerciales. Insecticidas o fungicidas biológicos basados en especies de *Bacillus* y *Trichoderma* son recomendados como controles de plagas donde se aplican HMA.

La utilización de los hongos micorrízicos debe ser considerada en el diseño de cualquier sistema de producción agrícola, ya que, además de ser componentes inseparables de los agroecosistemas, realizan diversas e importantes funciones en su asociación con las plantas. Entre ellas destacan: aprovechamiento más eficiente de los nutrientes en la zona radical a partir de un aumento en el volumen de suelo explorado, mayor resistencia a las toxinas, incremento de la traslocación y solubilización de elementos esenciales, aumento de la tolerancia a condiciones abióticas adversas (sequía y salinidad), así como cierta protección contra patógenos radicales (Smith, y Read, 2009).

Atendiendo a los criterios anteriormente expuestos, en la década de los 90, el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) inició un amplio programa de investigaciones básicas con estos simbiontes y como resultado se obtuvo un biofertilizante de formulación sólida registrado como EcoMic® (Fernández, et al., 2000), con alto grado de pureza y estabilidad biológica, con el cual se ejecutaron estudios que mostraron resultados satisfactorios en viveros de especies forestales, en cereales como el arroz cultivado en condiciones de estrés salino, trigo duro y en hortalizas como el tomate (Mujica, 2012).

El efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) sobre los indicadores de crecimiento y desarrollo de las plantas ha sido ampliamente demostrado en la agricultura, horticultura y sistemas forestales. Si bien es conocido que los HMA favorecen la nutrición de las plantas, lo que se traduce en un aumento de la translocación de nutrientes del suelo hacia la planta a través de las hifas del hongo, es vital destacar el papel de estos simbiontes en la estabilidad de agregados en el suelo, y lo que esto representa para la conservación, ya que aunque sean resultados a mediano o largo plazo, los mismos contribuyen al mejoramiento y recuperación de los suelos agrícolas (Anwar et al., 2008).

Diversos estudios han demostrado los efectos benéficos de la asociación simbiótica entre los HMA

y las plantas ^(Akhtar y Siddiqui, 2008), tales como: Incremento en la superficie de absorción, de agua y de nutrimentos, de los pelos radiculares, más la que se produce por la cobertura producida por el hongo, Incremento de la vida útil de las raíces absorbentes, Mejoramiento de la absorción iónica y acumulación eficiente, especialmente, en el caso del fósforo, solubilización de minerales que se encuentran en el suelo, facilitando su absorción por las raíces de las plantas. Aumento de la capacidad fotosintética de la planta, por ende, la producción de biomasa de las plantas y Resistencia de raíces a infecciones causadas por patógenos, ocupación de los espacios radiculares. Incremento de la tolerancia de las plantas a toxinas del suelo (orgánicas e inorgánicas), valores extremos de acidez del suelo y disminuye el estrés causado por factores ambientales ^(Anwar et al., 2008).

Finlay (2004), menciona que, recientemente, existe una mayor atención en observar la interacción de los HFM con las comunidades microbianas de la rizósfera y las repercusiones en las plantas hospedadas. La nueva perspectiva incluye el estudio de la multifuncionalidad de los HFM, en procesos como: movilización de N y P a partir de polímeros orgánicos, posible liberación de nutrientes de las partículas minerales o de roca, Efectos sobre el ciclo del carbono, Interacciones con plantas heterótrofas, mediación de respuestas de las plantas a factores de estrés, como la sequía, la acidificación del suelo y la salinidad ^(Beauchamp et al., 2009), biorremediación de suelos contaminados con compuestos tóxicos y metales pesados, protección contra patógenos de plantas, posibles interacciones con grupos de otros microorganismos del suelo e inducción de resistencia sistémica en plantas ^(Hause y Schaarschmid, 2009).

La complejidad de las interacciones planta-suelo-microorganismos-ambiente son variadas; una comprensión completa de todas las relaciones en cuestión es poco probable; sin embargo, los efectos benéficos de las interacciones que estimulan los rendimientos de los cultivos y mejoran la sanidad de las plantas pueden ser evaluados y quedar en evidencia algunas estrategias generales de la interacción ^(Sturz y Christie, 2003).

La simbiosis micorrízica arbuscular es el resultado evidente de la interacción entre las raíces de las plantas y un hongo, así como es un excelente ejemplo de las extensas alteraciones morfológicas que las raíces experimentan con el fin de acomodarse a la presencia de un simbionte. Los HMA reciben fotosintatos de la planta, mientras que esta mejora su habilidad para la toma de nutrientes ^(Aggarwal, 2012).

América es el continente donde más se ha estudiado *Titonia diversifolia* como especie forrajera, con un 57,14% de los trabajos evaluados, seguido de África con un 33,33%; en Nigeria se reportan el 20,24% de los trabajos considerados en este documento y en cuanto a las investigaciones realizadas por países siguen en su orden Colombia y Cuba con 19,05% y 16,67%, respectivamente. De los trabajos realizados en Cuba el 57,14% se dedicaron a estudiar el comportamiento agronómico y un 35,71% al potencial de uso en nutrición animal, en tanto que de los realizados en Colombia 12,5% se destinaron al estudio en nutrición de rumiantes, conservación de suelos y comportamiento agronómico con participaciones iguales del 18,75% y un 37,5% estudiaron su uso potencial en nutrición animal (Gallego et al., 2014).

Las micorrizas requieren un desarrollo planta (raíz)- hongo (micelio) sincronizado, pues las hifas fúngicas solo colonizan raíces jóvenes, excepto en orquídeas, en las que el hongo puede infectar células del tallo. La planta, en cualquier caso, es quien realmente controla la intensidad de la simbiosis, por el crecimiento de su raíz, pero también por la digestión de la interfase de intercambio, en las endomicorrizas, o por la formación de un singular tipo de raíz (secundaria y de crecimiento limitado), en el caso de las llamadas ectomicorrizas. La raíz constituye en realidad un nicho ecológico donde se desarrolla el hongo, que éste aprovecha (Brundrett, 2002). Esta disparidad de tipos y estrategias nutricionales son producto de un proceso prolongado y selectivo en cuanto a los grupos fúngicos beneficiados

Los HMA son claves para garantizar la sostenibilidad del sistema suelo-planta (Oehl et al., 2004). La simbiosis entre el hongo micorrízico y la planta, puede ser utilizada como bio-inoculante para reducir la carencia de nutrientes y para participar en procesos de agregación y retención del suelo por medio de mecanismos físicos (producción de micelio) y químicos (producción de sustancias adherentes), con el fin de aliviar los efectos causados por la erosión (Jaizme y Rodríguez, 2008).

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y METODOS

Localización, suelo y clima.

La investigación se realizó en un área demostrativa del Centro Universitario Municipal (CUM) Cumanayagua desde el 21 de diciembre del 2018 hasta el 9 de noviembre del 2019.

Se emplearon bolsas de polietileno horadadas con capacidad para 2 kg, en las que se depositó el suelo del tipo Pardo grisáceo (Hernández et al., 2015) con pH, fósforo y potasio asimilable respectivamente y materia orgánica. Antes de efectuar la plantación se eliminó la costra superficial y se introdujeron dos estacas por bolsas con dos yemas debajo del suelo y cuatro sobre el suelo, las que se apretaron de forma uniforme, sin permitir bolsas de aire.

Diseño, procedimiento y muestreo.

El experimento se condujo en un diseño de Bloques al azar con 3 réplicas, y los siguientes tratamientos:

1. Suelo (Testigo).
2. Suelo + *Funneliformis mosseae*/ INCAM-2.
3. Suelo + *Rhizoglyphus irregularis*/ INCAM-11.
4. Suelo + NPK (Control).

Las especies de HMA probadas se clasifican taxonómicamente de acuerdo a los siguientes autores: *Funneliformis mosseae*/ INCAM-2 (Schüßler et al., 2011) y *Rhizoglyphus irregularis*/INCAM-11N.C. Schenck & G.S. Sm. Sieverd., G.A. Silva & Oehl (Sieverding et al., 2014), procedentes de la colección de cepas de HMA del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA).

Los inoculantes utilizados se multiplicaron en un sustrato arcilloso esterilizado en autoclave a 120 °C por una hora durante 3 días, con el uso de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk como planta hospedera. Cada inóculo contiene 30 esporas por gramo de sustrato de la especie de HMA a evaluar, así como abundantes cantidades de fragmentos de raicillas e hifas.

La inoculación con los HMA se realizó por el método del recubrimiento, para lo cual se sumergieron las estacas en una pasta fluida, elaborada mediante la mezcla de una cantidad de inóculo sólido equivalente al 10% del peso de las mismas y agua, en una proporción de 60 ml de agua por cada 100 g de inóculo (Simó et al., 2016).

La fertilización NPK se aplicó 20 días después de plantar las estacas, a razón 40 kg ha⁻¹ de nitrógeno de P₂O₅ y 120 kg ha⁻¹ de K₂O. Posterior a cada corte se aplicó solamente el nitrógeno en el control. Las bolsas se rotaron cada 10 días entre replicas y tratamientos para contrarrestar el efecto de bordes.

El corte de establecimiento fue a los 45 días de brotadas las estacas. Se realizaron cinco cortes sucesivos en dependencia del comportamiento que tuvo la planta madre en la producción de esquejes laterales y los factores abióticos. La secuencia se expresa en la Tabla que sigue.

Tabla 1. Secuencia de cortes de *Tithonia diversifolia*

Mediciones realizadas:

Objetivo 1:

1. Cantidad de esquejes por plantas/cortes (brotes laterales establecidos).

Establecimiento	I corte	II corte	III corte	IV corte	V corte	Media y total/días
24/1/19	4/3/19	18/4/19	31/5/19	31/7/19	11/9/19	
45 días	39 días	39 días	43 días	60 días	41 días	44.40
	84 días	123 días	166 días	226 días	267	267

Objetivo 2:

1. Peso verde de toda la masa cortada (g) y Materia Seca Total (MST%),
2. Contenido (%) de nitrógeno (digestión húmeda con H₂ SO₄ + Se y colorimetría con el reactivo de Nessler).
3. Rendimiento de Biomasa (g/planta) = (Masa Verde (g planta) x % Materia seca /100.
7. Proteína bruta = % de nitrógeno foliar x k (6,25).

Se calculó el Índice de Eficiencia Micorrízica (IE), según la fórmula de Siquiera y Franco (1988), citada por Rivera y Fernández (2003).

$$IE = \frac{\text{Rendimiento MS BMS inoculado} - \text{Rendimiento BMS Testigo}}{\text{Rendimiento BMS Testigo}} \times 100$$

Objetivo 3:

1. Valor del pH antes de la plantación y posterior a los cortes.

En la Figura 1 se aprecia el comportamiento de las precipitaciones en el transcurso del período de cortes.

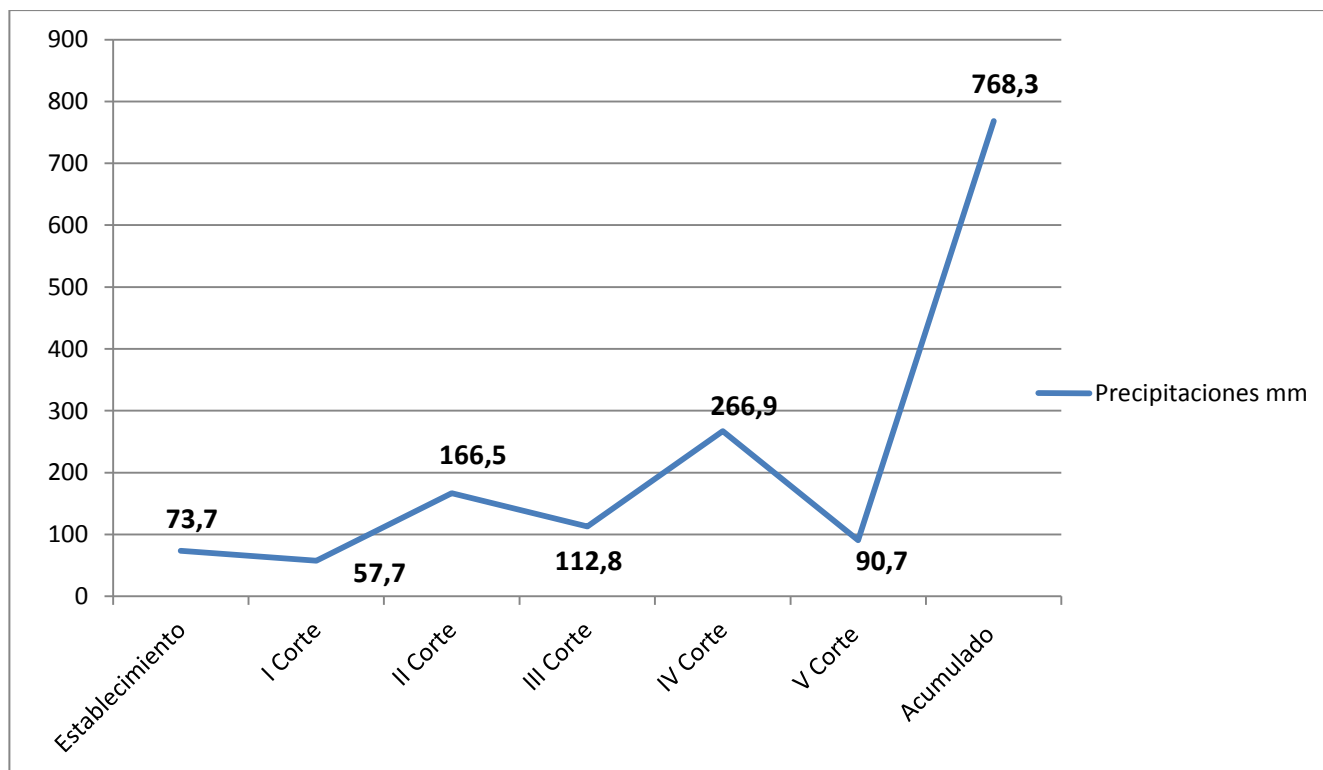


Figura 1. Precipitaciones en el transcurso del período de cortes.

Análisis estadísticos:

Los resultados alcanzados se analizaron por ANOVA de clasificación simple y cuando F resultó significativa, las medias se compararon según la prueba de Rangos múltiples de Duncan (1955).

Capítulo III: Resultados y discusión

El número de esquejes por plantas se expresa en la Figura 2. A partir del establecimiento, las plantas se sometieron a cortes durante 267 días (aproximadamente 8.90 meses), con un promedio de 44,4 días entre los cortes. Se pudo constatar un comportamiento favorable de las mismas en las bolsas, de

igual forma, no hubo presencia de plagas y enfermedades durante todo el periodo de explotación. Como apreciación visual más relevante, resultó que *Tithonia* se mostró sensible la falta de agua y también a condiciones de humedad extrema, en ambos casos con marchitez temporal.

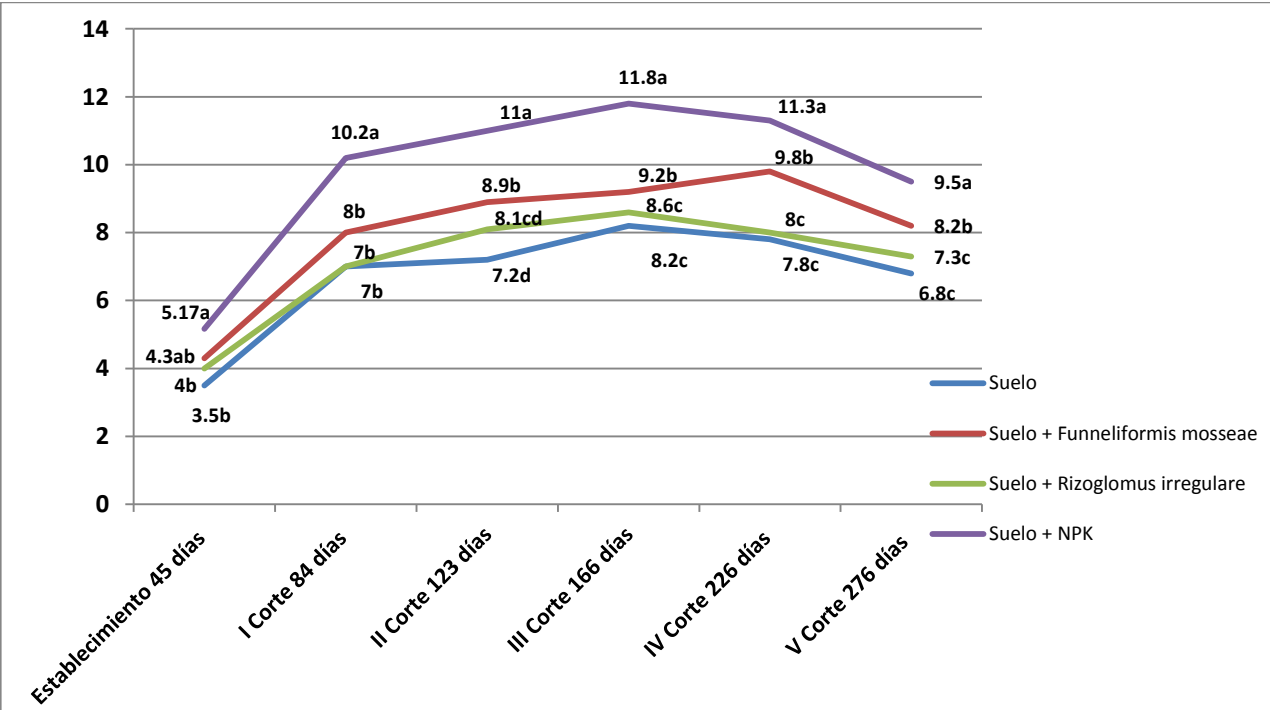


Figura 2. Número de esquejes laterales por plantas en cada corte.
ES±: 0.891*, 1.421*, 1.589*, 1.716*, 1.544*, 0.891*.
CV %: 20.98, 17.67, 18.00, 17.91, 16.70, 20.98.
Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Duncan ($p\leq0,05$).

Se observa en la Figura anterior, que en el establecimiento el Control obtuvo la mayor cantidad de esquejes, con diferencias de los demás tratamientos, lo cuales no difirieron entre sí, similar respuesta se alcanzó también en el 1er corte. A partir del segundo corte y hasta el quinto hubo mejor respuesta en la producción de esquejes laterales en el tratamiento Control, seguido de Suelo + *Funneliformis mosseae*/INCAM-2), por su parte la menor cantidad de esquejes se obtuvo en el Testigo, aunque sin diferencias estadísticas con el tratamiento Suelo +*Rhizogloinus irregularis*/INCAM-11.

En relación al tiempo en que estuvieron sometidas a cortes las plantas, se pudo apreciar que la producción de esquejes fue creciente en todos los tratamientos hasta el tercer corte (con 166 días de edad), mientras que en el cuarto corte (226 días), únicamente el tratamiento inoculado con *Funneliformis mosseae* mostró incrementos. En el 5to corte, ya con 267 días de explotación (8.90 meses), todos los tratamientos decrecieron la producción de esquejes.

Aunque el propósito del trabajo es la producción de forraje, considerar el índice de multiplicación de las plantas resulta también importante, al obtener información válida para establecer programas de reproducción en viveros comerciales, por lo que el efecto de la micorrización en la producción de esquejes no debe soslayarse.

La mayoría de los HMA no presentan una alta especificidad con el hospedante, lo cual es una de las bases del manejo de la inoculación en secuencias de cultivos. Normalmente ocurre una selectividad entre las especies de una población de HMA y la planta, por influencia de las condiciones edáficas (Alvarado et al., 2004), este comportamiento favoreció la inoculación con *Funneliformis mosseae*, al alcanzar la mayor cantidad de esquejes durante el período de cortes en relación a la especie *Rhizoglyphus irregularis*, también inoculada.

En la Figura 3 se muestra el número de esquejes laterales alcanzado en el establecimiento y al final del período de cortes. La mayor cantidad estuvo en el control NPK, que difirió estadísticamente del resto de las variantes estudiadas, le siguió el tratamiento 2 (*Funneliformis mosseae*/ INCAM-2), con diferencias de los tratamientos 1 y 3, estos últimos sin diferencias estadísticas entre sí.

La capacidad forrajera de *Tithonia diversifolia*, está determinada entre otros factores, por el estado fenológico. Esta especie presenta una marcada resistencia a la poda, se recupera de forma rápida de cortes sucesivos y además posee una elevada tasa de rebrote, lo que le permite producir gran cantidad de biomasa (Lugo et al., (2012).

Los resultados alcanzados en el trabajo parecen coincidir con los autores anteriormente citados, al registrar un incremento en la producción de esquejes laterales a partir de los cortes sucesivos practicados, con una elevada tasa de rebrote. Destacar que el tratamiento inoculado con *Funneliformis mosseae* resultó superior al Testigo y a la especie *Rhizoglyphus irregularis* en la proliferación de esquejes laterales.

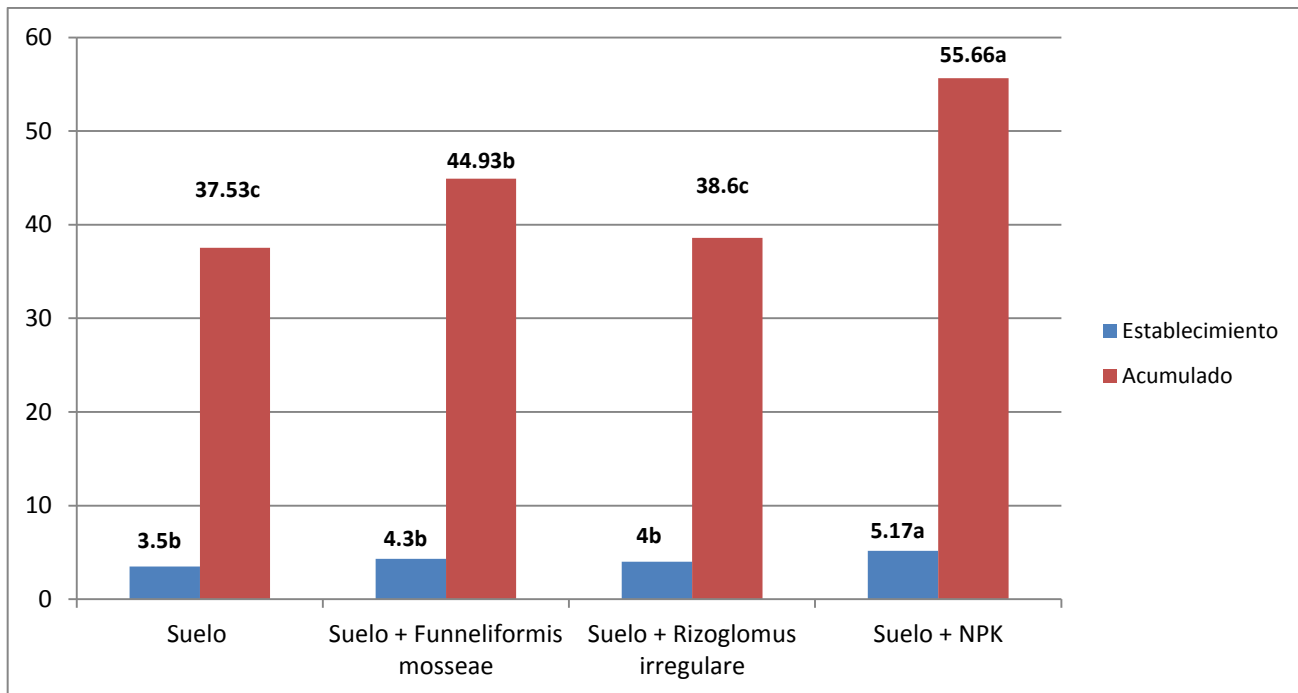


Figura 3. Esquejes laterales alcanzados en el establecimiento y al final del período de cortes.

ES±: 0.891*, 6.84*

CV %: 20.98, 15.66.

Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Duncan ($p \leq 0,05$).

El incremento de la cantidad de esquejes, independientemente de contribuir al volumen de biomasa para forraje, significa además para los productores, disponer de material vegetativo que pueden utilizar en la reproducción de las plantas y fomentar áreas de producción de esta especie promisorio para la ganadería en los trópicos.

El periodo de recuperación ideal para *Tithonia* bajo condiciones de corte coincide con el estado de prefloración, es decir, alrededor de los 50 días, esto con el fin de no causar deterioro al cultivo y asegurar una producción estable y duradera, sin embargo en sistemas silvopastoriles de ramoneo este periodo debe ser más prolongado, entre 60 y 90 (Calle y Murgueitio, 2014).

En el trabajo, las condiciones de bolsas en que se desarrollaron las plantas y el régimen ambiental imperante propiciaron un promedio de 44.4 días entre los cortes, con una longitud promedio de cm por cada tratamiento respectivamente. Se destaca que aproximadamente 96 horas

después del corte, el largo de los brotes alcanzó cm de largo, lo que indica la rápida capacidad de rebrote que presenta esta especie.

Tithonia diversifolia se puede cosechar cuando esté bien establecida, aproximadamente a los cuatro meses después de la siembra en campo por estacas. Esta práctica es posible hasta seis veces al año cuando se va a utilizar como forraje y tres o cuatro con fines de abono verde. Como forraje, se corta la planta sin florecer y se aprovechan hojas y tallos hasta de dos centímetros de grosor; pero si es para abono verde, o fabricación de compostaje, se usa toda la planta incluyendo las flores (Ríos, 1998). Las mediciones del grosor del tallo realizadas en el trabajo durante cada corte no sobrepasaron los 1.5 cm en ninguno de los tratamientos, con un valor medio cercano al centímetro.

(Phiri, 2003), en estudios realizados en un suelo volcánico, demostró que el método de establecimiento de *Tithonia* mediante plantas a raíz desnuda fue superior, con un mayor crecimiento de las plantas y adquisición de nutrientes del suelo, en comparación con la plantación de estacas provenientes del corte de tallos laterales, con

La Figura 4 refleja el rendimiento de biomasa en el corte de establecimiento. En la misma se aprecia como el tratamiento Control superó estadísticamente al resto de las variantes evaluadas, seguido del tratamiento Suelo + *Funneliformis mosseae*, el cual difirió estadísticamente del Testigo y de Suelo + *Rhizoglyphus irregularis*, la otra especie de micorrizainoculada.

En condiciones de campo *Tithonia* produce entre 90 y 130 t de materia verde por hectárea por año, con un 27% de materia seca, lo cual equivale a un rango entre 24 y 35 t por hectárea por año de materia seca, en una densidad de siembra de 1m x 1m. Debe ofrecerse a los animales antes de florear, ya que su calidad nutricional va a disminuir después de la floración (Arronis, 2014).

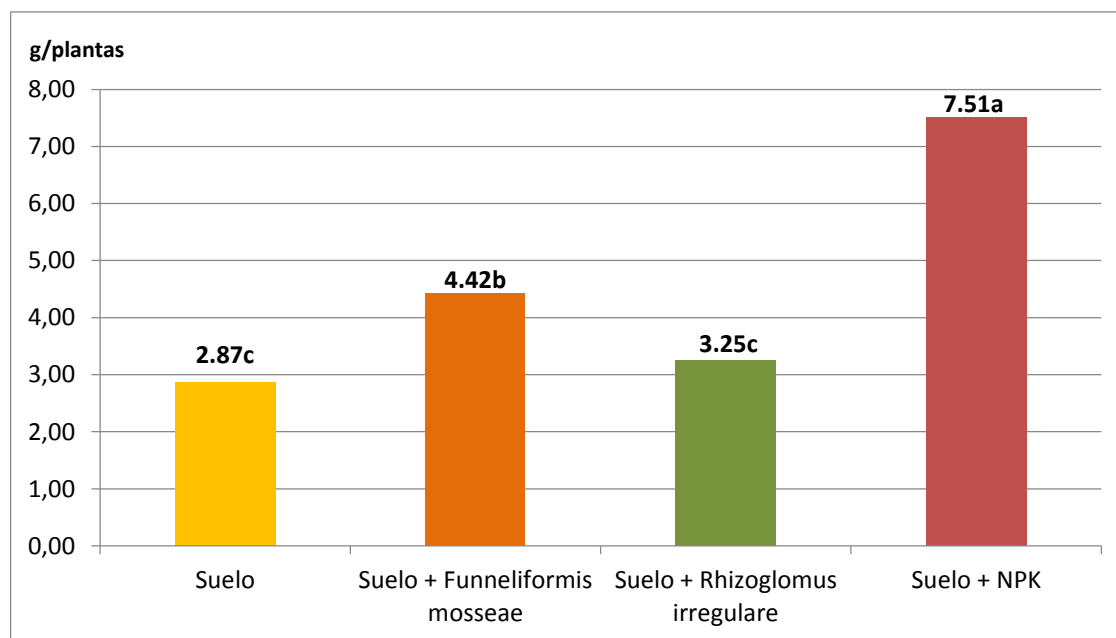


Figura 4. Rendimiento de biomasa en el corte de establecimiento.

ES $\pm$ 1.9378*

CV %: 42.92.

Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Duncan ($P \leq 0,05$).

En el corte de establecimiento del trabajo se alcanzó un 14.22, 15.45, 13.8 y 23.53% de materia seca por cada uno de los tratamientos respectivamente. Este comportamiento, inferior a lo reportado por el autor anteriormente citado, pudo estar dado por el área nutricional que le ofrece la bolsa a la planta para su desarrollo, además del tiempo promedio de 44 días entre los cortes, lo que pudiera condicionar la planta a una respuesta limitada de sus potencialidades.

En la Tabla 2 se refleja el rendimiento de biomasa por plantas en los cortes realizados y el acumulado. Se aprecia cómo el tratamiento Suelo + NPK mantuvo el mayor rendimiento en todos los cortes y también en el acumulado, con diferencias estadísticas del resto. En el primer corte no hubo diferencias estadísticas entre los tres primeros tratamientos, sin embargo en el segundo los tratamientos inoculados con las especies micorrízicas superaron al testigo (sin diferir entre ellos).

En el tercer corte, y hasta el acumulado, el tratamiento 2 con la inoculación de *Funneliformis mosseae* superó al Testigo y a la especie de micorrizas *Rhizogloinus irregulare*. Resulta evidente la respuesta favorable al rendimiento de *Funneliformis mosseae* en relación al Testigo.

Se pudo apreciar una disminución marcada del rendimiento en el 3ro y 4to corte, aunque con una tendencia similar entre los tratamientos. Esta situación pudo estar dada por el volumen alto de precipitaciones registradas previo a esos cortes (112,8 y 266,9 mm respectivamente) que provocó afectaciones en las plantas por encharcamiento de agua y sobre saturación de humedad. En el 5to corte hubo incrementos del rendimiento nuevamente y coincidió con una disminución de las precipitaciones a 90.7 mm. De acuerdo a las precipitaciones alcanzadas, las plantas en 267 días (8,90 meses) recibieron 768.3 mm de lluvia (como se aprecia en la Figura 1).

Tabla 2. Rendimiento de biomasa (g/plantas) por cortes y acumulado.

Tratamientos	I Corte	II Corte	III Corte	IV Corte	V Corte	Acumulado
Suelo	2.44b	2.59c	2.40c	1.89c	2.84c	13.11c
Suelo + <i>F. mosseae</i>	3.09b	4.21b	3.57b	2.77b	4.17b	17.32b
Suelo + R irregulare	2.71b	3.70b	2.42c	1.73d	2.78d	13.40c
Suelo + NPK	4.37a	7.26a	5.80a	5.64a	7.3a	30.20a
ES±	0.9497	1.8410	1.4957	1.7004	1.8703	7.388
CV (%)	30.07	41.42	42.10	56.61	44.18	39.92

Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Duncan ($P \leq 0,05$).

Ojeda et al., (2018), evaluaron el efecto de hongos micorrízico arbusculares (HMA) sobre el rendimiento y la calidad del forraje de *Canavalia ensiformis* en la fase de establecimiento en un suelo Pardo grisáceo similar al del presente trabajo, con pH-H₂O de 5,68, materia orgánica 1,78%, P₂O₅ y K₂O 3,62 y 8,35 mg/100g de suelo respectivamente, concluyendo que las diferentes cepas de HMA inoculadas superaron al testigo en el rendimiento de masa seca, proteína bruta y extracción de macro-nutrientes del suelo, aunque la mayor efectividad se encontró con la inoculación de la cepa *Funneliformis mosseae*/INCAM-2. Asimismo, fue evidente la factibilidad de utilizar cepas eficientes de HMA como alternativa biológica de nutrición en *C. ensiformis*.

Resulta coincidente, el efecto superior de *Funneliformis mosseae*/INCAM-2 en relación a otras especies de micorrizas inoculadas y al testigo, aunque en diferentes especies de plantas, pero en el mismo tipo de suelo con otros componentes de fertilidad. Este comportamiento sugiere que *Funneliformis mosseae*/INCAM-2 responde favorablemente a suelos de pH ácido y baja fertilidad.

Referente al rendimiento de biomasa, Mustonen et al., (2012), señalan que *Tithonia* presenta una alta producción, debido a su capacidad para aprovechar los nutrientes del suelo, fácil establecimiento, resistencia al corte frecuente y es tolerante a suelos pobres. En el experimento se puso de manifiesto la rápida capacidad de rebrote de la planta y su fácil establecimiento en suelos con baja fertilidad natural.

Nurhajati et al., (2015), evaluaron diferentes tratamientos con inoculación de Micorrizas, *Azotobacter*, *Azospirillum*, Bacterias y Hongos solubilizadores de fosfatos en *Tithonia* durante ocho meses, con cortes de follaje cada dos meses. Los mayores incrementos de biomasa se encontraron en la variante con Micorrizas + Bacterias + Hongos solubilizadores de fosfatos respectivamente. Se aprecia coincidencia con la respuesta de *Funneliformis mosseae* (INCAM-2) en el trabajo. Resulta interesante que los microorganismos que produjeron mayor incremento de biomasa estuviesen relacionados con la captación del fósforo del suelo, facultad atribuida a las micorrizas, a partir de la capacidad de explorar un mayor volumen de sustrato y aumentar la capacidad absorbente de las raíces (Azcón et al., 2003).

Naranjo y Cuartas, (2011), obtuvieron en *Tithonia diversifolia* sometida a cortes bajo condiciones de campo, un contenido de materia seca total de 19,1%. Los resultados del presente trabajo indicaron 16,75 % de materia seca como promedio por tratamientos en el corte de establecimiento (45 días), con los mayores porcentajes en el Control y la variante Suelo + *Funneliformis mosseae* (INCAM-2), resultado superior al 10,13 y 12,78 % para hojas y tallos tiernos en periodo lluvioso respectivamente, reportado por Lezcano et al., (2012) en plantas de *Tithonia* con sesenta días de edad y condiciones de campo para periodos poco lluviosos. Es importante considerar que la edad de corte de las plantas y la época del año son factores que influyen sobre el contenido de materia seca.

Alonso et al., (2012), encontraron en cosechas de *Tithonia* a los 90 días de rebrote, porcentajes entre 19.5 y 23,8 % de materia seca respectivamente, sin embargo acotan que, resulta importante tener en cuenta que varios factores pueden influir en el contenido de materia seca, entre los que encuentran la edad del cultivo, la frecuencia de corte, la temporada del año y el manejo agronómico.

Para condiciones de trópico alto, sin realizar fertilización, se reportan producciones de 13, 17 y 19 t MS/ha/año (Gallego et al., 2015), por su parte Zapata y Silva (2010) encontraron en *T. diversifolia* un rápido crecimiento, con producción de biomasa a entre 30 y 70 t/ha de forraje verde.

En un estudio realizado por Lugo et al., (2012), donde se evaluó la producción de materia seca y proteína cruda de *Tithonia diversifolia*, a diferentes alturas (20 y 50 cm) y edades de corte (30, 60 y 85 días), se determinó que la altura de corte no incide sobre la producción de biomasa, caso contrario a la frecuencia de corte que tuvo un marcado efecto sobre la producción, presentándose el valor más elevado a los 85 días con un total de 2.58 kg por planta, a los 60 días 1,73 kg por planta y a los 30 días 0,82 kg por plantas.

Gallego et al., (2017) refieren que en la actualidad se han realizado diferentes propuestas para diversificar la oferta forrajera en los sistemas ganaderos tradicionales, los que promueven la implementación de bancos forrajeros o pasturas asociadas con forrajeras arbustivas. Se destaca de manera particular el botón de oro (*Tithonia diversifolia*), el cual puede constituir una buena alternativa en la alimentación de ganado de alta producción lechera, dada sus cualidades que la permiten clasificar como planta forrajera de un alto potencial para la producción animal, y es de resaltar su fácil adaptación a diversas condiciones de suelos y resistencia al corte frecuente (Nieves et al., 2011).

La Figura 5 refleja el Índice de Eficiencia Micorrízica (IEM) en la fase de establecimiento y el acumulado. Se aprecia un mayor IEM en la fase de establecimiento, el cual disminuyó en el acumulado de los cinco cortes sucesivos realizados. La mejor respuesta del rendimiento en relación a la especie de HMA inoculada estuvo en *Funneliformis mosseae* (INCAM-2), tanto en el establecimiento, como en el acumulado.

En los resultados que se discuten todas las especies de HMA evaluadas pertenecen al mismo género, y sin embargo hubo diferencias en la respuesta de la planta hospedera (rendimiento y eficiencia micorrízica). Se aprecia cómo disminuye en el tiempo el efecto de la micorrización en las variantes inoculadas desde los 45 días en que se realizó el corte de establecimiento hasta 267 días, donde concluyó el 5to corte.

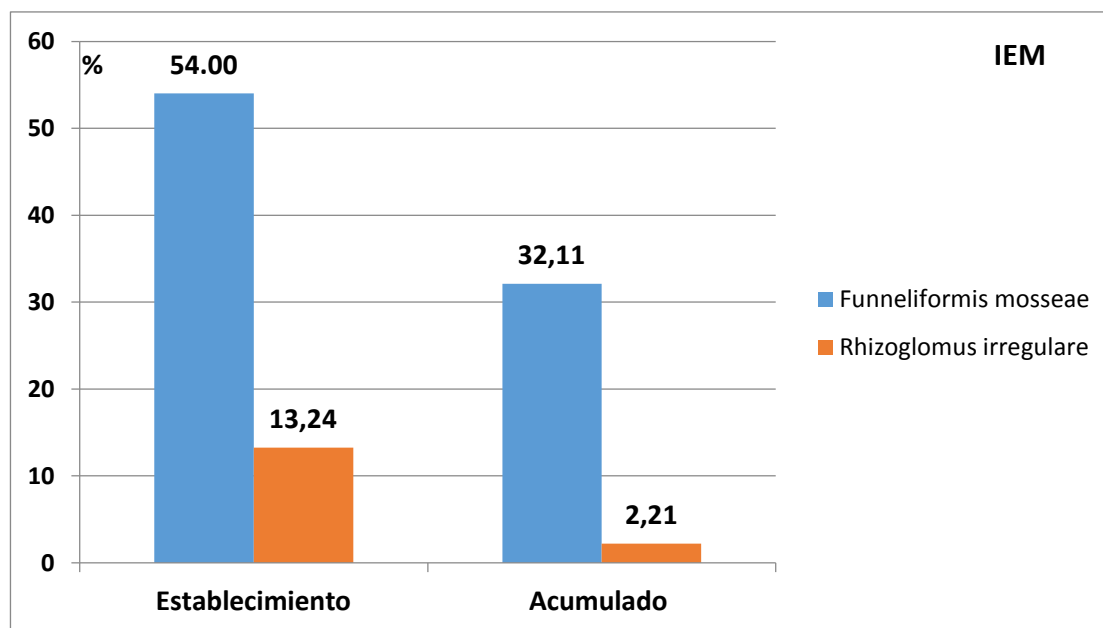


Figura 5. Índice de Eficiencia Micorrízica en la fase de establecimiento y acumulado de cortes.

La efectividad micorrízica es la capacidad de un endófito de influir positivamente sobre el crecimiento de la planta, su rendimiento, aumentar el número de propágulos o mejorar la transferencia de nutrientes. Es resultado de la interacción fisiológica entre los simbiontes, está determinada por el tipo de hongo micorrizógeno, la planta hospedante, la interfase simbiótica y el tipo específico de suelo o sustrato, su grado de fertilidad y disponibilidad de agua. El IEM contribuye a la selección de las especies de HMA inoculadas con mejor comportamiento a la simbiosis. La principal forma de cuantificar la efectividad micorrízica es mediante la evaluación de la respuesta de la planta hospedante en su crecimiento (Samasundaram et al., 1996 y Janos, 2007).

Smith y Read (1997); y Van der Heijden (1997), citados por Quilambo (2003), refieren que aparentemente, las especies de HMA no tienen especificidad en la elección de sus hospederos, sin embargo, diferencias en los efectos que las HMA causan sobre el crecimiento de los individuos que colonizan indican que éstas responden a especies específicas de HMA, y consecuentemente, hay un aumento en la diversidad y productividad de las plantas en un ecosistema determinado, criterios que deben ser tomados en cuenta en la selección de cepas promisorias y la aplicación de HMA a escala de producción.

Sharrock et al., (2004), reportaron la presencia de un vasto grupo de micorrizas arbusculares en raíces de *Tihonia*. Determinaron que las hifas del micelio extramático de las micorrizas asociadas con

Tithonia contribuyen a una mejor absorción del fósforo del suelo, cuando este se encuentra en formas no asimilables, dada su capacidad de exploración, aunque las mismas no intervienen en el ciclo natural de este elemento.

Ojeda et al., (2019), en un trabajo de selección de especies efectivas de HMA en la leguminosa *Crotalaria juncea* (L.) con fines de abono verde y para forraje en un suelo Pardo Grisáceo de baja fertilidad natural, pH 5,6, P_2O_5 y K_2O 1.23 y 4.43 mg/100g/suelo de respectivamente y 2.93% de materia orgánica, encontraron el mayor rendimiento de biomasa en la fertilización mineral, mientras que *Funneliformis mosseae*, *Glomus cubense*, *Rhizoglyphus irregularis* y *Claroideoglomus claroideum* superaron al testigo, a excepción del Consorcio que no difirió del mismo. Los autores anteriormente citados reportaron un ÍEM mayor en *Funneliformis mosseae* (58,74%), seguido de *Glomus cubense* (52,09 %), *Rhizoglyphus irregularis* (41,26%) y *Claroideoglomus claroideum* (31,84). *Funneliformis mosseae* en la fase de establecimiento mostró un IEM de 52 % que resultó cercano al alcanzado por los autores de referencia.

Tithonia diversifolia establecida a raíz desnuda mostró una biomasa total del rebrote de 16.5 t/ha, significativamente superior ($P < 0.05$) que las 7 t/ha cuando se estableció por estacas a partir del corte de los tallos laterales (Phiri, 2003).

La Dependencia micorrizica no se puede extrapolar a condiciones naturales donde se desarrolla la micorrización nativa (Fernández, 2003), tal es el caso del tratamiento testigo, el cual se emplea únicamente para determinar el efecto que se produce en el rendimiento de biomasa del cultivo evaluado por la inoculación de especies comerciales.

En la Figura 6 se aprecia el contenido de proteína bruta foliar alcanzado en el establecimiento. El comportamiento muestra que la inoculación con *F. mosseae* superó al tratamiento Suelo y a Suelo + *R. irregularis*. El valor más elevado se obtuvo en la variante que recibió la fertilización NPK de base.

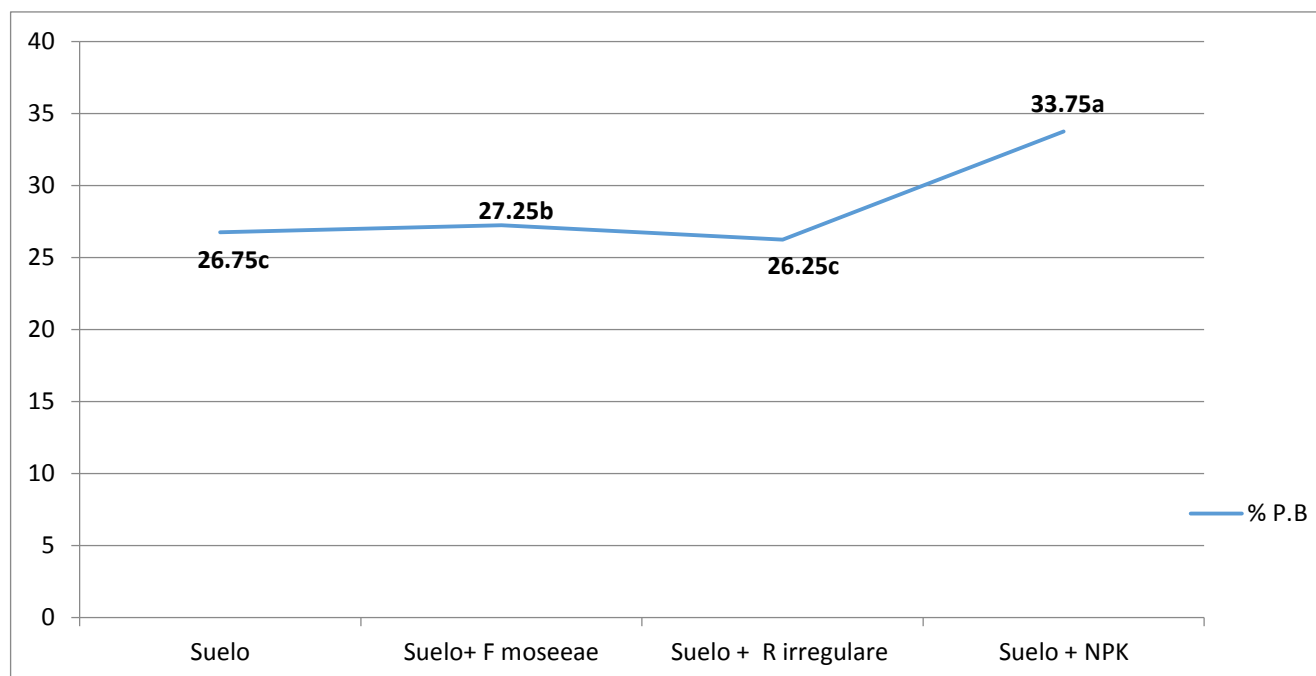


Figura 7 Contenido de proteína cruda foliar en el corte de establecimiento.

ES $\pm$: 2.929*

CV %: 10.3534.

Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Duncan ($P \leq 0,05$).

Gualberto et al., 2010), reportaron que en el contenido de proteína de los forrajes puede influir las partes de la planta empleadas para su análisis, tipo de suelo, programas de fertilización, temporada del año, entre otros, aspectos que la mayoría de publicaciones no aclaran, por su parte, Gallego et al., (2017) compararon la composición bromatológica del forraje de botón de oro (*Tithonia diversifolia*) a los 56 días del corte de uniformización obtenido bajo tres sistemas de siembra, encontrando un porcentaje de proteína cruda de 14,1 %, 12,76 % y, 13,31 % respectivamente, valores inferiores a los alcanzados en la presente investigación.

El contenido de proteína cruda encontrado en este estudio fue superior al 9%, valor mínimo proteico requerido para la alimentación de rumiantes adultos, y por encima del 7% definido para que no se afecte el consumo voluntario (Gualberto et al., 2010).

Calsavara et al., (2015), evaluaron la producción de biomasa y el contenido nutricional de *Tithonia diversifolia* en 2 etapas de maduración (inicio y prefloración), obtuvieron niveles de proteína de 16,5% y 14,9%, en la planta entera, y para las hojas de 22,5% y 22,3% respectivamente. En el

trabajo los valores encontrados superaron el rango descrito anteriormente para la planta entera y también para las hojas y ramas.

La composición nutricional del botón de oro puede presentar variaciones en función de las condiciones del suelo donde se cultive, así como de otros factores ambientales, siendo de especial importancia considerar el efecto de las temporadas secas o lluviosas a lo largo del año. En el caso del período lluvioso y poco lluvioso la proteína bruta alcanza valores de 28,95 y 27,49% respectivamente ^(Gallego et al., 2014). En los resultados obtenidos de proteína bruta, la variante inoculada con *F. mosseae* estuvo en este rango, mientras que el tratamiento del Suelo + NPK mostró un porcentaje de 33.75%.

De acuerdo a la distribución de las precipitaciones, desde su plantación hasta el corte de establecimiento en el experimento se reportaron 768,3 mm de lluvia, lo que puede considerarse un período lluvioso.

La Tabla 3 muestra el porcentaje de proteína bruta por cortes. Puede constatar que *F. mosseae* superó en todos los cortes a los tratamientos Suelo y Suelo + R. irregularis, variante esta, que en el 4to y 5to corte estuvo por debajo del porcentaje alcanzado en el tratamiento Suelo. El tratamiento Suelo + NPK mostró el mayor contenido de proteína bruta en cada corte foliar realizado. De forma general, en el tercer corte, hubo una caída del contenido de proteína bruta en todos los tratamientos, con ascensión en los cortes subsiguientes.

Tabla 3.

Tratamientos	I Corte	II Corte	III Corte	IV Corte	V Corte
Suelo	15.12d	14.30d	12.56c	16.23c	18.09c
Suelo + <i>F. mosseae</i>	18.75b	18.66b	15.74b	17.30a	18.55b
Suelo + <i>R. irregularis</i>	16.25c	16.27c	12.55c	14.32d	17.d
Suelo + NPK	27.75 ^a	25.34a	20.26a	16.79b	18.90a
ES±	5.075*	4.354*	3.312*	1.184*	0.7680*
CV (%)	26.1038	23.3522	21.674	7.330	4.2071

Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Duncan ($P \leq 0,05$).

La calidad nutricional de esta planta varía en función de la edad de cosecha, condiciones del suelo y prácticas culturales realizadas. También puede verse influenciada por factores ambientales, siendo importante considerar el efecto de las temporadas secas o lluviosas a lo largo del año (Jama et al., 2000).

La composición bromatológica de *T. diversifolia* en base seca, indica altos porcentajes de proteína bruta que varían entre el 14,8 y el 28,7 % (Crespo et al. (2011). Como se aprecia en la tabla anterior, el comportamiento de la proteína bruta en función de la edad de cosecha se mantuvo dentro de las cifras planteadas por los autores anteriormente citados. Únicamente en el tercer corte, el tratamiento Suelo y Suelo + R. irregular estuvieron por debajo del 14.8 % referido por dichos autores.

Con respecto al análisis bromatológico del material vegetativo, *Tithonia* posee bajos niveles de Fibra Detergente Neutro (FDN), que indica paredes celulares: 35.3%, su Fibra Detergente Acido (FDA) (lignocelulosa en el forraje) es de aproximadamente 30.4%, 40.2% del contenido total de proteína y una proteína cruda de 16.6%. Una de las más grandes bondades de la especie desde su análisis composicional es su alta digestibilidad y su baja concentración del polifenoles y taninos, lo que facilita el uso del recurso vegetal como proveedor de N y energía para las comunidades de microorganismos celulolíticos que habitan el tracto digestivo posterior a la degradación ruminal incrementando el consumo voluntario de materia seca y la digestibilidad aparente (Ramírez et al, 2010).

La producción de forrajes con alta productividad de biomasa por unidad de superficie y apropiada calidad para el consumo animal es esencial para lograr la sostenibilidad de la ganadería. Es por ello que estudios recientes han evaluado varias especies tropicales promisorias, entre las que destaca *Tithonia diversifolia*, por su alto contenidos de proteína (18-20%), altos contenidos de fósforo, alta digestibilidad y bajo contenido de taninos y fenoles (Rodríguez, 2009).

Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray presenta adecuado valor nutricional del follaje, y puede acumular proteína en sus hojas (hasta 33%) como las leguminosas, con altos tenores de fósforo y digestibilidad de materia seca y presencia de aceites en hojas y flores. Posee 39.8 % de azúcares y puede alcanzar alta concentración de C en su biomasa mayor de 77 t/ha/año (Ibrahim et al., 2005).

La Figura 8 refleja el comportamiento de la proteína bruta (PB) desde el corte de establecimiento hasta los cinco cortes realizado. Se aprecia como el mayor porcentaje estuvo en el corte de

establecimiento, y la misma fue decreciendo en los cortes sucesivos. Los mayores valores estuvieron en los tratamientos Suelo + N.P.K y Suelo+ F. mosseae.

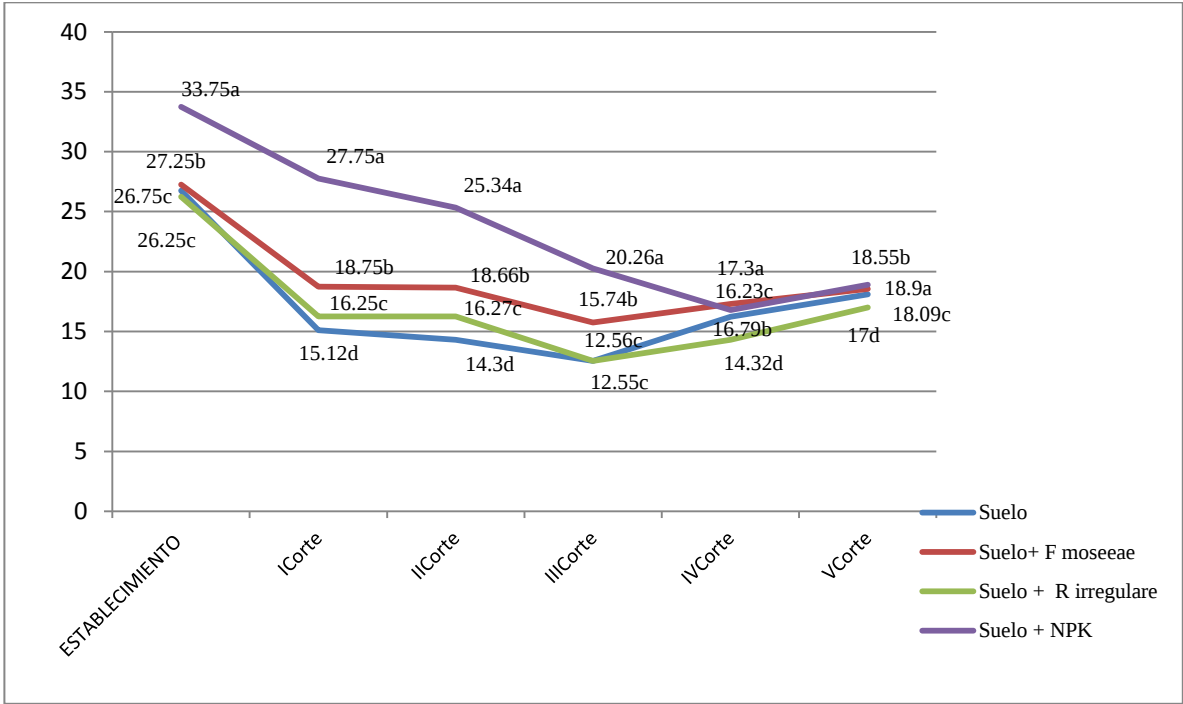


Figura 8. Contenido de proteína bruta en el establecimiento y el resultado de los cinco cortes.
 ES±: 2.929*, 5.075*,4.354*, 3.312*,1.184* y 0.7680*.
 CV %: 10.3534, 26.1038, 23.3522, 21.6740, 7.330 y4.2071.
 Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Duncan ($P\leq0,05$)

La *Tithonia diversifolia* ha sido reconocida entre los productores como una planta con un importante valor nutricional, principalmente por su capacidad para la acumulación de nitrógeno (Medina et al., 2009, Verdecia et al., 2011) y por el nivel de fibra bruta, siendo este del 31,6% a los sesenta días de edad (Roa et al., 2010).

Tithonia diversifolia, por su contenido de proteína, carbohidratos solubles y la presencia de taninos, puede ayudar a mejorar el balance ruminal en cuanto al aporte de energía y proteína.Los animales consumen la planta completa, con preferencia por hojas y flores (Maina et al., 2012).

La composición química de los forrajes depende en gran medida de las partes de la planta que sean cosechadas, la edad de cosecha, la altura sobre el nivel del mar a la que se desarrolle el cultivo o el

manejo agronómico dado al cultivo (Wencomo y Ortiz, 2012). Se pudo apreciar en el experimento, que las plantas se recuperaron muy bien de los cortes en la frecuencia en que se realizaron los mismos, por su parte, la producción de biomasa en relación al testigo se benefició con la inoculación de los HMA como ha sido tratado con anterioridad.

En la Figura 9 se aprecia, como todos los tratamientos incrementaron el pH en relación a la muestra de suelo desnudo tomada para el llene de las bolsas, aunque sin diferencias estadísticas entre sí, lo que sugiere que la plantación de *Tithonia* en las bolsas contribuyó a elevar el pH en relación al suelo muestreado inicialmente, con un efecto acentuado en el tratamiento Suelo + *F. mosseae*, que pudiera indicar que la inoculación con esta especie de HMA pudo influir en el pH del suelo en estas condiciones experimentales.

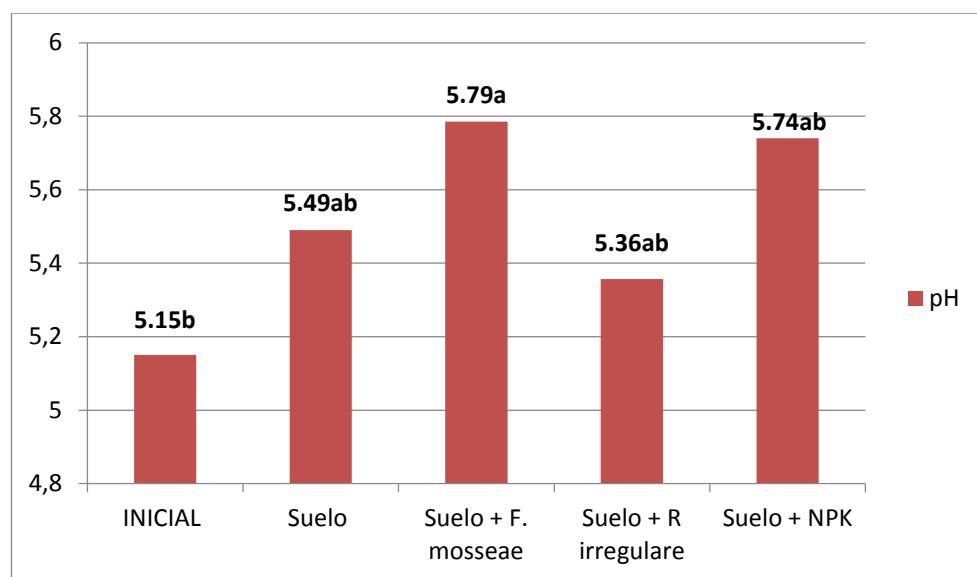


Figura 9. pH del suelo posterior a los cortes.

ES $\pm$: 0.3712*

CV %: 6.74.

Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Duncan ($P \leq 0,05$).

La respuesta de los HMA al pH ha sido estudiada debido a su efecto en la productividad de las plantas, la fisiología del endófito y el hospedante y en la Capacidad de Cambio de Bases (CCB). Las diferentes especies de HMA toleran diversos rangos de pH (Alvarado et al., 2004). En los estudios de selección de especies de HMA con alta eficiencia simbiótica, hay que tener en cuenta el efecto del pH, ya sea sobre la productividad de la asociación o sobre los mecanismos de reproducción fúngicos (Fernández, 2003).

Algunas especies de HMA no se adaptan a condiciones de pH diferentes al suelo nativo de donde fueron aisladas, por eso se considera al pH esencial en el establecimiento de especies de HMA por tipo de suelo (Entry et al., 2002).

Tithonia diversifolia presenta potencial para la recuperación de suelos degradados, adaptación a diferentes condiciones climáticas y contribuye a la producción de alimento de buena calidad que podría permitir el establecimiento de programas de suplementación estratégica para las épocas críticas en sistemas ganaderos (Navas y Montaña, 2019).

Aunque la efectividad que puede ser obtenida por la inoculación depende del manejo dado a la planta y al suelo. Así, Rivera et al., (2017), informan que los rangos de pH-H₂O encontrados y las cepas HMA eficientes en los mismos fueron: pH > 4,7–5,8 *F. mosseae* (INCAM -2), pH 5,6–7,2 *G. cubense* (INCAM- 4) y pH > 7– 8,3 *R. irregulare* (INCAM-11). La respuesta alcanzada por *Funneliformis mosseae* (INCAM-2) en el trabajo coincide con lo planteado por estos autores para un el suelo ácido de baja fertilidad.

De acuerdo a lo planteado por los autores anteriormente mencionados, los resultados alcanzados indican que en las condiciones del pH del suelo donde se desarrolló el experimento, *F. mosseae* se mantuvo en un rango de pH favorable para lograr un comportamiento eficiente, a diferencia de *R. irregulare*, donde el pH resultó medianamente ácido para su desarrollo, situación que pudo influir en el efecto alcanzado por esta especie de HMA en los parámetros medidos a *Tithonia diversifolia*.

Tithonia diversifolia posee habilidad para recuperar los pocos nutrientes en suelos pobres, ya que es rústica, soporta las podas extremas, se adapta a los terrenos ácidos con pH entre 3 y 6 (Wambui et al., 2006); tiene rápido crecimiento, compite bien con las malezas y su cultivo requiere prácticas de labranza mínimas y poca inversión en insumos (Inayat y Gordon, 2009).

Existen evidencias que especies de plantas no leguminosas como *Tithonia diversifolia* toleran condiciones de acidez y baja fertilidad en el suelo, puede soportar la poda a nivel del suelo, tiene rápido crecimiento y baja demanda de insumos y manejo para su cultivo (Ruíz et al., 2014). Además, se

dispone de información de su empleo en la alimentación del vacuno (Mauricio et al., 2014), que incluye los sistemas silvopastoriles (Mejía-Díaz et al., 2017).

La respuesta de los HMA al pH ha sido estudiada debido a su efecto en la productividad de las plantas, el efecto directo en la fisiología del endófito y la planta hospedante y el efecto indirecto vía cambios en la Capacidad de Cambio de Bases (CCB). Las diferentes especies de HMA toleran diversos rangos de pH (Alvarado et al., 2004).

En los estudios de selección de especies de HMA con alta eficiencia simbiótica, hay que tener en cuenta el efecto del pH, ya sea sobre la productividad de la asociación o sobre los mecanismos de reproducción fúngicos (Fernández, 2003). Algunas especies de HMA no se adaptan a condiciones de pH diferentes al suelo nativo de donde fueron aisladas, por eso se considera al pH esencial en el establecimiento de especies de HMA por tipo de suelo (Entry et al., 2002).

Scrase et al., (2019), consideran que el uso de *Tithonia diversifolia* como abono verde se fundamenta en su rápido ciclo de crecimiento, alta capacidad de fijación de nitrógeno y la posibilidad de acumular fósforo en sus tejidos, a partir de mejorar la exploración de nutrientes en suelos pobres en fósforo. Estos autores presuponen la capacidad de explorar nutrientes en suelos pobres de esta especie a una simbiosis con las micorrizas nativas. En sus investigaciones en un suelo Eutric Fluvisol con pH (H₂O) de 5.48 demostraron que el micelio extramático de los hongos micorrízicos asociados a *Tithonia diversifolia* contribuía a la captación del fósforo limitante en el suelo, pero no intervenían en el ciclo orgánico del fósforo.

CONCLUSIONES

1. La mayor cantidad de esquejes/plantas tanto en el establecimiento como en los cortes sucesivos se produjo en los tratamientos Suelo + NPK y Suelo + *Funneliformis mosseae*/INCAM-2.
2. El número de esquejes fue creciente en todos los tratamientos hasta el tercer corte (con 166 días de edad de las plantas), mientras que para el cuarto corte (226 días), únicamente el tratamiento Suelo + *Funneliformis mosseae* mostró un incremento discreto. En el 5to corte, ya con 267 días de explotación, todos los tratamientos decrecieron la producción de esquejes.
3. El rendimiento de biomasa en el establecimiento, por cortes y acumulado fue superior en el tratamiento Suelo + NPK. Resultó evidente la respuesta favorable del rendimiento con la inoculación de *Funneliformis mosseae* en relación al Testigo.
4. El Índice de Eficiencia Micorrízica fue mayor en el corte de establecimiento y disminuyó en el acumulado de los cinco cortes sucesivos realizados. Se obtuvo mejor respuesta con la inoculación de *Funneliformis mosseae* (INCAM-2) con un 54.0 y 32.1% respectivamente.
5. El tratamiento Suelo + NPK mostró mayor contenido de proteína bruta por cortes, la variante inoculada con *Funneliformis mosseae* superó en todos los cortes al testigo y a *Rhizoglyphus irregularis*.
6. El pH del suelo al final de los cortes se incrementó en todos los tratamientos en relación al valor inicial.

RECOMENDACIONES

1. Emplear la inoculación con la especie micorrízica *Funneliformis mosseae* de *Tithonia diversifolia* como alternativa a la fertilización mineral para incrementar el rendimiento y la calidad de la biomasa forrajera en un suelo Pardo grisáceo.
2. Extender las evaluaciones de la inoculación de *Tithonia diversifolia* con la especie micorrízica *Funneliformis mosseae* a plantaciones de en condiciones de campo.
3. Facilitar los resultados de esta investigación como material docente para contribuir al incremento del conocimiento en esta rama del saber e incorporarlo a la extensión agropecuaria.

Bibliografía

- Azcón, R.; Ambrosano, E. y Charest, C. (2003). “Nutrient acquisition in mycorrhizal lettuce plants under different phosphorus and nitrogen concentration”. *Plant Science*; 165(5), 1137-1145.
Recuperado de
DOI 10.1016/S0168-9452(03)00322-4.
- Alvarado, A.; Chavarría, M.; Guerrero, R.; Boniche, J. y Navarro, J. R. (2004). “Características edáficas y presencia de micorrizas en plantaciones de teca (*Tectona grandis* Lf) en Costa Rica”. *Agronomía Costarricense*; 28(1):pp. 89–100, ISSN 0377-9424.
- Agboola A, Idowu F, Kadiri M. (2006). Seed Germination and Seedling Growth of the Mexican Sunflower *Tithonia Diversifolia* (Compositae) in Nigeria, Africa. *Revista de Biología Tropical*. 54(2), 395-402.
- Ademiluyi, B.O., Omotoso, S.O., (2007). Comparative Evaluation of *Tithonia diversifolia* and NPK Fertilizer for soil improvement in maize (*Zea mays*) production in Ado Ekiti, Southwestern Nigeria. *American-Eurasian. Journal of Sustainable Agriculture*, 1 (1), 32-36.
- Alarcón A. (2007). Micorriza arbuscular. En: R, Ferrera-Cerrato, A, Alarcón (Editores), *Microbiología Agrícola*. (pp. 90-118): Editorial Trillas.
- Anwar, Z.; Sayeed, M. y Futai, K. (2008). *Mycorrhizae: sustainable agriculture and forestry*.
- Akhtar, M.S, Siddiqui, Z.A. (2008). Biocontrol of a root-rot disease complex of chickpea by *Glomus intraradices*, 27, 410-417.
- Alonso, J., T. Ruíz, G. Achang, L. Santos, y R. Sampaio. (2012). Producción de biomasa y comportamiento animal en pastoreo con *Tithonia diversifolia* a diferentes distancias de

plantación. Liv. Res. Rural Dev; 24:160. Recuperado de <http://www.lrrd.org/lrrd24/9/lazo24160.htm>.

Aggarwal, A.; Kadian, N.; Neetu, K.; Tanwar, A. y Gupta, K. K. (2012). ‘‘Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviation of stress’’ *Journal of Applied and Science*,4(1).

Arronis V. (2014). Bancos forrajeros de energía y proteína como estrategia para enfrentar los efectos negativos del cambio climático.

Azcón-Aguilar, C., Barea, J. M. (2015). Nutrient cycling in the mycorrhizosphere. In: Gianfreda, L. (Guest Editor) Biogeochemical processes in the rhizosphere and their influence on plant nutrition. *Special issue of the Journal of Soil Science and Plant Nutrition*,15, 372-396.

Blanco F, Fabio y Salas, Eduardo. (1997). Micorrizas en la agricultura: Contexto Mundial e investigación realizada en costa Rica. *Agronomía costarricense*,21(1), 55-67.

Brundrett, MC. (2002).Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*,154,275-304.

Beauchamp, V.B.; Walz, C.; Shafroth, P.B. (2009).Salinity tolerance and mycorrhizal responsiveness of native xeroriparian plants in semi-arid western USA.*Applied Soil Ecology*, 43,175-184.

Cairns M. F. (1996). Study on Farmer Management of Wild Sunflowers (*Tithonia diversifolia*) short communication. ICRAF S E. Asian Regional Research Programme.

Cairns, M. F. (1997). Property Rights Dimensions of Indigenous Fallow Management (IFM): Summary of Ten Intersecting Issues@ document prepared for the Asia-Pacific Resource Tenure Network (ARTN) Indonesia.

- Corley, R H y Tinker, Peter. (2003). The oil palm. chapter 11: Mineral nutrition of oil palm 4ta ed. Iowa USA: Blackwell science.
- Calle Z, Murgueitio E. (2008). El Botón de Oro: Arbusto de Gran Utilidad Para Sistemas Ganaderos de Tierra Caliente y de Montaña. *Revista Carta Fedegán*, 108, 54–63. Recuperado de: <http://www.fedegan.org.co/carta-fedegan-108-alimentacion-y-productividad>.
- Corredor, Gloria A. (2008). Micorrizas arbusculares: Aplicación para el manejo sostenible de los agroecosistemas.
- Crespo, G.; Ruiz, T. y Álvarez, J. (2011). Efecto del abono verde de tithonia (*T. diversifolia*) en el establecimiento y producción de forraje de *P. purpureum* vc. Cuba CT-169 y en algunas propiedades del suelo. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 45 (1),79–82.
- Camarena-Gutiérrez. (2012). Interacción Planta-Hongos Micorrízicos Arbusculares. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*,18(3),409-421.
- Calle, Z., y E. Murgueitio. 2014. El botón de oro: arbusto de gran utilidad para sistemas ganaderos de tierra caliente y de montaña. *Rev. Carta Fedegan*,108, 51-62.
- Calsavara F, Ribeiro R, Silveira S, Delarota G, Freitas D, Sacramento J, et al. (2015). Productivity and chemical characteristics of *Tithonia diversifolia* forage. Argentina; 3° Congreso nacional de sistemas silvopastoriles: VII Congreso Internacional Sistemas Agroforestales. Ediciones INTA; Recuperado de: http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-libro_actas_silvopastoriles_agroforestales.pdf.
- Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F test. *Biometrics*. 11 (1), 1-42. Recuperado de: <https://www.jstor.org/stable/pdf/3001478.pdf>.

De Souza, J.O.F., Gualberto, R., (2007). Influência de espaçamentos e da época de corte na produção de biomassa e valor nutricional de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray: (Tesis de mestria), Universidade de Marília São Paulo.

Entry, J. A.; Rygiewicz, P. T.; Watrud, L. S. y Donnelly, P. K. (2002). "Influence of adverse soil conditions on the formation and function of Arbuscular mycorrhizas". *Advances Environmental Research*; 7(1),123-138, Recuperado de: DOI 10.1016/S1093 0191(01)00109.

Ekeocha, A. (2012). Performance of growing west African dwarf ewe fed mexican sunflower leaf meal based diets. *J. Rec. Adv. Agri*; 1,69-76.

Essiett, U., y E. Akpan. 2013. Proximate composition and phytochemical constituents of *Aspilia Africana* (Pers) C. D. Adams and *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray Stems (Asteraceae). *Bull. Env.Pharmacol. Life Sci*, 2(4), 33-37.

Etejere E. Olayinka U. (2014). Seed production, germination, emergence and growth of *Tithonia diversifolia* (HEMSL) A Gray as influenced by different sowing depths and soil types. *American-Eurasian J Agric y Environ Sci*, 14(5), 440. Recuperado de :[https://www.idosi.org/aejaes/jaes14\(5\)14/9.pdf](https://www.idosi.org/aejaes/jaes14(5)14/9.pdf).

Fernández, F.; Gómez, R.; Vanegas, L. F.; Martínez, M. A.; Noval, Blanca y Rivera, R. (2000). Producto inoculante micorrizógeno. La Habana, Cuba: Oficina Cubana de Propiedad Industrial.

Fernández, K., & Rivera, R. (2003). Bases científico-técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente. En, R., Rivera y K., Fernández, Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: el Caribe. La Habana, Cuba: INCA.

Fernández, F. (2003). "La simbiosis micorrízica arbuscular". En: R, Rivera. y K, Fernández.

Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: el Caribe(p. 166). La Habana, Cuba: INCA.

Finlay, R. D. (2004). Mycorrhizal fungi and their multifunctional roles. *Mycologist*, 18, 91-96.

Friedrich, T. (2014). Producción de alimentos de origen animal. Actualidad y perspectivas. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*; 48(1), 5-6.

Franklin M., Scrase, Fergus L., Sinclair, J. F. Farrar, P. S., Pavinato y Davey, L. J. (2019). Mycorrhizas improve the absorption of non-available phosphorus by the green manure *Tithonia diversifolia* in poor soils. *Rhizosphere* ;9, 27–33.

Gianinazzi-Pearson, V; Branzanti B y Gianinazzi, S. (1984). In vitro enhancement of spore germination and early hyphal growth of a vesicular- arbuscular mycorrhizal fungus by host root exudates and plant flavonoids. *Symbiosis* ,7, 243-255,

Gómez, A. y Rivera, H. (1987). Descripción de malezas en cultivos de café. Centro Nacional de Investigación en café, Chinchiná: Caldas.

Guadarrama, P.; Sánchez-Gallén, I.; Álvarez-Sánchez, J. y Ramos-Zapata, J. (2004). Hongos y plantas, beneficios a diferentes escalas en micorrizas arbusculares. *Ciencias*; 73: 38-45.

García, D.E., Medina, M.G., Cova, L.J., Torres, A., Soca, M., y Pizzani, P. (2008a). Preferencia de vacunos por el follaje de doce especies con potencial para sistemas agrosilvopastoriles en el Estado de Trujillo, Venezuela. *Revista de Pastos y Forrajes*, 31 (3).

García, D.E., Medina, M.G., Cova, L.J., Soca, M., Pizzani, P., y Baldizán, A. (2008b). Aceptabilidad de follajes arbóreos tropicales por vacunos, ovinos y caprinos en el Estado Trujillo, Venezuela. *Zootecnia tropical*; 26 (3), 191-196.

Gualberto, R., O. Souza, N. Costa, C. Braccialli, y L. Gaion. (2010). Influência do espaçamento

e do estágio de desenvolvimento da planta na produção de biomassa e valor nutricional de *Tithonia diversifolia* (hemsl.) Gray. *Nucleus*; 7(2):135-149.

Gallego, L. A; Mahecha, L y Angulo, J. (julio-diciembre, 2014). Potencial Forrajero de *Tithonia diversifolia* Hemsl. A Gray en la producción de vacas lecheras. *Agronomía Mesoamericana*, 25(2),393-403.

González, J.C., Hahn Von-hessberg, C.M. y Narváez, W., (2014). Características botánicas de *Tithonia diversifolia* (Asterales: Asteraceae) y su uso en la alimentación animal. *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. U. de Caldas*, 18 (2), 45-58.

Gallego, L., L. Mahecha, y J. Angulo. (2015). Crecimiento y desarrollo de *Tithonia* Hemsl. A Gray en condiciones de trópico alto. En: P. Pietri, editor, 3° Congreso Nacional de Sistemas Silvopastoriles – VIII Congreso Internacional de Sistemas Agroforestales, Misiones, Argentina. 1ª ed. Santa Cruz Ediciones.

Gutiérrez, D., Borjas-Rojas, E., Rodríguez-Hernández, R., Rodríguez, Z., Stuart, R. y Sarduy, L. (2015). Evaluación de la composición química y degradabilidad ruminal in situ de ensilaje mixto con *Pennisetum purpureum* cv Cuba CT-169: *Moringa oleifera* Avances en Investigación *Agropecuaria*, 19(3), 7-16.

Gallego L. (2016). Evaluación agronómica y análisis productivo del botón de oro (*Tithonia diversifolia* (Hemsl. A Gray) como suplemento alimenticio de vacas lecheras en trópico alto. (Tesis de Maestría). Universidad de Antioquia: Medellín. Recuperado de [:http://bibliotecadigital.udea.edu.co/handle/10495/6113](http://bibliotecadigital.udea.edu.co/handle/10495/6113).

Gallego, L. A; Mahecha, L y Angulo, J.(2017). Calidad nutricional de *Tithonia diversifolia* Hemsl. a Gray bajo tres sistemas de siembra en el Trópico alto. Universidad de Costa Rica, Alajuela, Costa Rica. *Agronomía mesoamericana*, 28(1), 213-222.

Heredia, A. G. (2003). Los hongos microscópicos en la descomposición de las hojas. En: J,

Álvarez- Sánchez., E, Naranjo-García. (eds.). Ecología del suelo en la selva tropical húmeda de México. Xalapa (p316) México: Instituto de Ecología AC, Instituto de Biología.

Hause, B.; Schaarschmid, S. (2009). The role of jasmonates in mutualistic symbioses between plants and soil-born microorganisms. *Phytochem*, 70, 1589-1599.

Heink, U. y I. Kowarik. (2010). What are indicators? On the definition of indicators in ecology and environmental planning. *Ecological Indicators*, 10, 584-593.

Holguín-Castaño, V., Ortiz-Grisalez, S., Velasco-Navia, A. y Mora-Delgado, J. R. (2015). “Evaluación multicriterio de 44 introducciones de *Tithonia diversifolia* (hemsl.) Gray en Candelaria, Valle del Cauca”. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 62(2), 57–72.

Hernández-Jiménez, A.; Pérez-Jiménez, J. M.; Bosch-Infante, D. y Castro-Speck, N. (2015). Clasificación de los suelos de Cuba. Mayabeque, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Instituto de Suelos, Ediciones INCA.

Ibrahim, M., Villanueva, C. y Mora, J. (2005). Traditional and improved silvopastoral systems and their importance in sustainability of livestock farms. En: Mosquera-Losada, M. R. *Silvopastoralism and Sustainable Land Management*.

Inayat, A. y Gordon, O, (2009). Influencia de las fases lunares (Menguante y Luna llena) sobre la propagación vegetativa del botón de oro *Tithonia diversifolia* para la formación de un banco de proteína. (Tesis de Doctorado), Facultad de Ingeniería de Ciencias Agropecuarias, Ecuador.

Ipou, J., Toure, A., Adou, L.M., Kouame, K.F. y Gue, A., (2011). A new invasive species of the agrosystems in the south of Côte d’Ivoire: *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Asteraceae). *African Journal of Food Science and Technology*, 1 (6): 146-150.

- Jama, B., C. Palm, R. Buresh, A. Niang, C. Gachengo, G. Nziguheba, and B. Amadalo. (2000). *Tithonia diversifolia* as a green manure for soil fertility improvement in western Kenya A review. *Agrofor. Syst*;49,201-221.
- Johnson, N. C.; Rowland, D. L.; Corkidi, L.; Egerton, L. M. y Allen, E. B.(2003).Nitrogen enrichment alters mycorrhizal allocation at five mesic to semi-arid grasslands. *Ecology*; 84(7),1895-1908.
- Janos, D. P. (2007) “Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas”. *Mycorrhiza*;17(2),75-91. Recuperado de: DOI 10.1007/ s00572 006-0094-1.
- Jaizme, V. y Rodríguez, A. (2008). Integración de microorganismos benéficos (hongos micorrícicos y bacterias rizosféricas) en agrosistemas de las Islas Canarias. *Agroec*; 3:33 - 39.
- Klironomos, John. (2003). Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology*, 84(9), 2292-2301.
- Koide, R y Mosse, B. (2004). A history of research on arbuscular mycorrhiza . *Mycorrhiza*,14, 145-163.
- Li X, Baskin M, Baskin C. (1999). Physiological Dormancy and Germination Requirements of Seeds of Several North American *Rhus* Species (Anacardiaceae). *Seed Science Research*, 9(3),237–245. Recuperado de: <https://doi.org/10.1017/S0960258599000240>.
- Lok, S. (2005). Determinación y selección de indicadores del sistema suelo-pasto en pastizales dedicados a la producción de ganado vacuno. (Tesis de Doctor). La Habana: Instituto de Ciencia Animal.
- Leigh, J.; Hodge, A. y Fitter, A. H. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. *New Phytologist*; (181), 199-207.

- López, O., Montejó, I.L.y Lamela, L., (2012). Evaluación del potencial nutricional de cuatro plantasforrajeras para la alimentación de reproductoras cunículas (Nota técnica). *Pastos y forrajes*, 35 (3), 293-300.
- Lugo M, Molina F, Gonzáles I, Gonzáles J, Sánchez E. (2012).Efecto de la altura y frecuencia de corte sobre la producción de materia seca y proteína bruta de *Tithonia diversifolia*. *Zootecnia Tropical* , 30(4), 317–325.
- Lezcano, Y., M. Soca, F. Ojeda, E. Roque, D. Fontes, I. Montejó, H. Santana, J. Martínez, y N. Cubillas. (2012a). Caracterización bromatológica de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray en Dos etapas de su ciclo fisiológico. *Rev. Pastos y Forrajes*, 35:275-282.
- Mäder, P., S. Edenhofer, T. Boller, A. Wiemken y U. Niggli. (2000). Arbuscular mycorrhizae in a long term field trial comparing low-input (organic, biological) and high-input (conventional) farming systems in a crop rotation. *Biol Fertil Soils*, 31: 150-156
- Murgueito, E.,y Ospina, S., (2002). Tres especies vegetales promisoras: Nacedero (*Trichanthera gigantea*), Botón de oro (*Tithonia diversifolia*) y Bore (*Alocasia macrorrhiza*). Cali, Colombia: COLCIENCIAS-CAB-CIPAV.
- Murgueito, E., Rosales, M., y Gómez, M.E., 2003. Agroforestería para la producción animal sostenible. 3. Cali, Colombia : Ed. CIPAV.
- Murgueitio, E. y Ibrahim, M. (2004). Ganadería y medio ambiente en América Latina. Seminario ganadería sostenible, avances ambientales y socioeconómicos. Colombia : Ed. CIPAV.
- Murgueitio, E. (2005). Silvopastoral systems in the neotropics. In: Silvopastoralism and sustainable land management (p. 24). Wallingford: CABI Publishing.

- Muoghalu, J., y Chuba, D.(2005). Seed germination and reproductive strategies of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.)Gray and *Tithonia rotundifolia* (p.m) Blake. *Appl. Ecol. Environ.Res*, 3, 39- 46.
- Medina, M., D. García, E. González, L. Cova L, y P. Morantinos. (2009). Variables morfo-estructurales y de calidad de la biomasa de *Tithonia diversifolia* en la etapa inicial de crecimiento.*Zootecnia Trop*, 27, 121-134.
- Maina, I., S. Abdulrazak, C. Muleke, y T. Fujihara. (2012). Potential nutritive value of various parts of wild sunflower (*Tithonia diversifolia*) as source of feed for ruminants in Kenya.*J. Food Agric. Environ*; 10(2), 632-635.
- Mujica Pérez, Y. (2012). Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) por dos vías diferentes en el cultivo del tomate (*Solanun lycopersicum* L. *Cultivos Tropicales*, 33(4), 71-76.
- Mustonen, P. S. J.; Oelbermann, Maren y Kass, D. C. L. (2012).Using *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray in a short fallow system to increase soil phosphorus availability on a Costa Rican Andosol.*Journal of Agricultural Science (Canada)*; 4 (2):91-100.
- Muhammad A.S, Muhibuddin, A y Syamsuddin D.(2013). Arbuscular Mycorrhiza Fungi as an indicator of soil fertility, *AGRIVITA*, 35 (1), 44-53.
- Mauricio, R. M., Ribeiro, R. S., Silveira, S. R., Silva, P. L., Calsavara, L., Pereira, L. G. R. y Paciullo, D. S. (2014). *Tithonia diversifolia* for ruminant nutrition. *Tropical Grasslands*, 2(1), 82–84.
- Murgueitio, E.(2015). Productividad en sistemas silvopastoriles intensivos en América Latina. En: *Sistemas Agroforestales. Funciones productivas, socioeconómicas y ambientales. Serie Técnica Informe Técnico* , 402, 59-101.

- Mejía-Díaz, E; Mahecha-Ledesma, L y Angulo-Arizala, J. (2017). *Tithonia diversifolia* especie para ramoneo en sistemas silvopastoriles y métodos para estimar su consumo. *Agron.Mesoam*, 28(1), 289-302. Recuperado de : <http://doi.org/10.15517/am.v28i1.22673>.
- Nash, D. (1976). Flora de Guatemala EN: Fieldiana: Botany . Field Museum of Natural History (pp 323-325).
- Nieves, D., O. Terán, L. Cruz, M. Mena, F. Gutiérrez, y J. Ly. (2011). Digestibilidad de nutrientes en follaje de árnica (*Tithonia diversifolia*) en conejos de engorde. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14, 309–314.
- Naranjo, J., y C. Cuartas. (2011). Caracterización nutricional y de la cinética de degradación ruminal de algunos de los recursos forrajeros con potencial para la suplementación de rumiantes en el trópico alto de Colombia. *Rev. CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 6(1), 9-19.
- Nurhajati, H, Kiki, A, A, Agustian, Y, Hermansah, H y Yulnafatmawita, Y. (2015). Microbial Inoculants to Increase the Biomass and Nutrient Uptake of *Tithonia* Cultivated as Hedgerow Plants to Control Erosion in Ultisols World Academy of Science, Engineering and Technology International *Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*, 9(1).
- Navas, A., Montaña, V. (2019). Comportamiento de *Tithonia diversifolia* bajo condiciones de bosque húmedo tropical. *Rev Inv Vet Perú*, 30(2), 721-732.
- Oehl F, Sieverding E, Mäder P, Dubois D, Ineichen K, Boller T. y Wiemken A. (2004). Impact of -term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecos. Ecol*, 138(4), 574 - 583.
- Pérez, A., Montejo, I., Iglesias, J.M. (2009). *Tithonia diversifolia* (Helms.) A. Gray. *Pastos y Forrajes*, 32 (1), 10-15.

- Peters, M., Franco, L.H., Schmidt, A., y Hincapié, B., (2002). Especies forrajeras multipropósito: opciones para productores de Centroamérica. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).
- Phiri, S, Rao, I.; Barrios y Singh, B. R. (2003) Plant Growth, Mycorrhizal Association, Nutrient Uptake and Phosphorus Dynamics in a Volcanic-Ash Soil in Colombia as Affected by the Establishment of *Tithonia diversifolia*, *Journal of Sustainable Agriculture*, 21:3, 41-59
Recuperado de: DOI: 10.1300/J064v21n0305.
- Prager, M., Sanclemente, O. E., Sánchez de Prager, M., Gallego, J. M.; y Ángel, D. I. (2012). Abonos verdes: Tecnología para el manejo agroecológico de los cultivos. Murcia España. *Rev. Agroecología*, 7, 53 – 62.
- Pozo, M., López, J., Azcón, C., y García, J. (2015). Phytohormones as integrators of environmental signals in the regulation of mycorrhizal symbioses. *The New Phytologist*, 205, 1431-1436.
- Quilambo, O. (2003). The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *African Journal Biotechnology*, 2(12), 539-546. Recuperado de <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/14884>
- Roig J. T. y Mesa, A. 1974. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana; p 709.
- Ríos, C. I. 1993. Efecto de la densidad de siembra y altura de corte sobre la producción de biomasa del botón de oro *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray, evaluada en cortes sucesivos. Investigación, validación y capacitación en Sistemas Agropecuarios Sostenibles. Cali, México: Convenio CETEC-IMCA.
- Ríos, K.C.I., (1998). *Tithonia diversifolia*, (Hemsl.) Gray una planta con potencial para la producción sostenible en el trópico. Conferencia electrónica de la FAO sobre “Agroforestería para la producción animal en Latinoamérica”.

Rutunga, V.N., Karanja, K.N., Gachene, K.K. y Palm, C., (1999). Biomass production and nutrient accumulation by *Tephrosia vogelii* (Hook F). And *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray, fallows during the six-month growth period at Maseno, Western Kenya. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 3 (4), 237-246.

Ríos, C. I. (2002). Usos, manejo y producción de Botón de Oro, *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray. En: S, Ospina y E, Murgueitio (Eds). Tres especies vegetales promisorias: nacedero (*Trichanthera gigantea*) (H. & B) Nees.), botón de oro (*Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray) y bore (*Alocasia macrorrhiza* (Linneo) Schott). (p211). Cali. Colombia : CIPA

Read, D. J.; Perez-Moreno, J. (2003). Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystem- a journey towards relevance. *New Phytologist*, 157, 657-666.

Rivera, R. y Fernández, K. (2003). Bases científico-técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente. En: R, Rivera y K, Fernández. Eds. Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: el Caribe. (pp 166). La Habana, Cuba: INCA

Rillig, M. C. (2004). Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science*, 84, 355-363.

Ramírez, R., Escobedo, J.G., Lara, P.E. y Chay, E.A., (2005). Efecto de la altura de corte, densidad y tipo de suelo en la producción de *Tithonia diversifolia*. XIX Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Recursos Forrajeros. México.

Rillig, M. y Mummey, D. L. (2007). Mycorrhizae and soil structure. *New Phytologist*, 171, 415.

Richardson, A. E.; Linch, J. P.; Ryan, P. R.; Delhaize, E.; Smith, F. A.; Smith S. E., Harvey, P. R. Ryan, M. H.; Veneklaas, E. J.; Lambers, H.; Oberson, A.; Culvenor, R. A. y Simpson, R. J.

- (2009). Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. *Plant and Soil*, 349, 121-156.
- Rodriguez, N. F. (2009). Pastos y Forrajes. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/2691/269119696001.pdf>.
- Ramírez Rivera, U., Sanginés García, J. R., Guadalupe, J., CenChuc, F., Rivera Lorca, J. A., y Pedro Enrique, L. L. (2010). Effect of diet inclusion of *Tithonia diversifolia* on feed intake, digestibility and nitrogen balance in tropical sheep. *Agroforest Systems*, 297 - 302.
- Ruiz, T. E., Febles, G., Torres, V., González, J., Achang, G., Sarduy, L. y Díaz, H. (2010). “Assessment of collected materials of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray in the center-western region of Cuba”. *Cuban Journal of Agricultural Science*; 44(3), 291–296.
- Roa, M., C. Castillo, y E. Téllez. (2010). Influencia del tiempo de maduración en la calidad de ensilajes con forrajes arbóreos. *Sistemas de Producción Agroecológicos*, 1(1), 63-73.
- Ruiz, E., Febles, G., Galindo, J., Savón, L., Chongo, B., Torres, V., Cino, D., Alonso, J., Martínez, Y., Gutiérrez, D., Crespo, G., Mora, L. M., Scull, I., La O, O., González, J., Lok, S., González, N. y Zanora, A. (2014). *Tithonia diversifolia*, its possibilities in cattle rearing systems. *Cuban J. Agric. Sci.* 48(1), 79–82.
- Romero, M., A. Galindo, E. Murgueitio, y Z. Calle. (2014). Primeras experiencias en la propagación del botón de oro (*Tithonia diversifolia*, Hemsl. Gray) a partir de semillas para la siembra de sistemas silvopastoriles intensivos en Colombia. *Trop. Subtrop. Agroecosyst*, 17, 525-528.
- Ruiz-Lozano, J. M., Aroca, R., Zamarreño, A. M., Molina, S., Andreo-Jiménes, B., Porcel, R. García-Mina, J. M. Ryter-Spira, C. y López-Ráez, J. A. (2016). Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato. *Plant, Cells & Environment*, 39, 441- 452.

- Sieverding, E. (1991). Vesicular Arbuscular Mycorrhiza in Tropical Agrosystem. Deutsche Gesellschaft für technische Zusammenarbeit (GTZ) GMBH, *Republic of Germany*, 371.
- Simon, L. (1996). Phylogeny of the Glomales: Deciphering the Past to Understand the Present. *New Phytologist*, 133(1), 95-101.
- Samasundaram, E.; Srinivasan, G. y Manoharan, M. L. (1996). ‘‘Effect of green manuring *Sesbania rostrata* and fertilizers application on chemical properties of soil and grain yield in rice–rice crop sequences’’. *Agricultural Journal*, 83(12), 758–760.
- Sánchez, M. (1999). Endomicorrizas en agroecosistemas colombianos. 1ra ed. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Sturz, A.V. y Christie, B. R. (2003). Beneficial microbial allelopathies in the root zone: The management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil & Tillage Res*, 72, 107-123.
- Serralde, Ana y Ramírez, Maria. (2004). Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. *Revista Corpoica*, 5(1), 31-40.
- Sao, N.V., Mui, N.T., Binh, D.V., (2010). Biomass production of *Tithonia diversifolia* (Wild Sunflower), soil improvement on sloping land and use as high protein foliage for feeding goats. *Livestock Research for Rural Development*; 22 (8).
- Saavedra, S., J. Cotes, J. Cuartas, y J. Naranjo. (2011). Avances en la caracterización fisiológica de la semilla sexual de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray. *Rev. Colomb. Cienc. Pecu*, 24, 511.
- Schüßler A, Walker C. (2011). Evolution of the ‘Plant-Symbiotic’ Fungal Phylum Glomeromycota. Evolution of fungi and fungal-like organisms. In: S, Pöggeler, J, Wöstemeyer

- editors. The Mycota XIV. Heidelberg, (p. 163-85). Berlin: Springer- Verlag
- Sieverding, E., Alves da Silva, G., Berndt, R. y Oehl, F. (2014). *Rhizoglomus*, a new genus of the Glomeraceae. *Mycotaxon*; 129(2), 373 -386.
- Sanabria, E. y Ávila Y. (2015). Producción de follaje de la especie botón de oro (*Tithonia diversifolia*) utilizando 5 técnicas de siembra con fines de alimentación animal. (Tesis de grado). Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD) Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente. México.
- Simó-González J, Rivera-Espinosa R, Ruiz-Martínez L.A. y Espinosa-Cuellar E. (2016). Necesidad de reinoculación micorrízica en el trasplante del banano en áreas con precedente de canavalia inoculada con HMA. *Centro Agrícola*, 43(2), 28–35.
- Scrase, F. M, Sinclair, F. L, Farrar, J. F, Pavinato, P. S y Jones, D. L. (2019). Mycorrhizas improve the absorption of non-available phosphorus by the green manure *Tithonia diversifolia* in poor soils, *Rhizosphere*, 9 (2019), 27-33.
- Turnhout, E., M. Hisschemoller and H. Eijsackers. (2007). Ecological indicators: Between the two fires of science and policy. *Ecological Indicators*, 7, 215-228.
- Usuaga, C; Castañeda, D y Franco, Ana. (2008). Multiplicación de hongos micorriza arbuscular (H.M.A) y efecto de la micorrización en plantas micropropagadas de banano (Musa AAA cv. Gran enano) (Musaceae). *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*, 61, 4279-4290.
- Vargas, J. E., (1994). Caracterización de recursos forrajeros disponibles en tres agroecosistemas del Valle del Cauca. Memoria. II Seminario Internacional Desarrollo sostenible de Sistemas Agrarios. Cali, Colombia.
- Verdecia, D., J. Ramírez, I. Leonard, Y. Álvarez, Y. Bazán, R. Bodas, S. Andrés, J. Álvarez, F. Giráldez, y S. López. (2011). Calidad de la *Tithonia diversifolia* en una zona del Valle del

Cauto. *Redvet* ,12(5).Recuperado de:

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050511/051113>.

Verbruggen E, van der Heijden MGA, Rillig MC, Kiers E. T. (2013). Mycorrhizal fungal establishment in agricultural soils: determining inoculation. *New Phytologist*,(4),1104–9.

Weaver, R.J., (1987). Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. 5. ed. Editorial Trillas. Maracay, Venezuela.

Wambui, C. C., Abdulrazak, S.A., Noordin, Q., (2006). The effect of supplementing urea treated maize stover with Tithonia, Calliandra and Sesbania to growing goats. *Livestock Research for Rural Development*, 18 (5),64.

Wencomo, H., y R. Ortiz. (2012). Comportamiento de la disponibilidad de biomasa y la composición química en 23 accesiones de *Leucaena* spp. *Pastos y Forrajes*, 35, 43-56.

Zapata, A. y Silva, B. E. 2010. Reconversión ganadera y sistemas silvopastoriles en el Departamento de Risaralda y el Eje Cafetero de Colombia. Cali, Colombia. CARDER, CIPAV.