



MANEJO INTEGRADO DE LA FERTILIZACIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE FORRAJE DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA*

INTEGRATED MANAGEMENT OF THE FERTILIZATION FOR *TITHONIA DIVERSIFOLIA* FORAGE PRODUCTION

✉ P. J. GONZÁLEZ-CAÑIZARES^{1*}, ✉ S. MÉNDEZ-BONET², ✉ R. REYES-ROUSEAUX³,
✉ R. RIVERA-ESPINOSA¹, ✉ A. HERNÁNDEZ-JIMÉNEZ¹

¹Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal No. 1. San José de las Lajas, Mayabeque. Cuba.

²Universidad Agraria de la Habana Fructuoso Rodríguez Pérez,

Carrera Tapaste y Autopista Nacional km 23 ½. San José de las Lajas, Mayabeque. Cuba.

³Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes, Avenida Independencia km 8 ½. Boyeros, La Habana. Cuba.

* Email: pgonzalez@inca.edu.cu

Se evaluó el efecto del manejo integrado de la fertilización con biofertilizantes, abono orgánico y fertilizante nitrogenado en la producción de forraje de *Tithonia diversifolia*. Se estudiaron nueve tratamientos (aplicaciones de 0, 70 y 100 kg N ha⁻¹; 0, 70 y 100 kg N ha⁻¹ más la coinoculación con *Azospirillum brasilense* y *Rhizoglossum irregulare*, y 0, 70 y 100 kg N ha⁻¹ combinadas con la coinoculación con ambos biofertilizantes más la aplicación de 25 t ha⁻¹ de estiércol vacuno) en un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas. El inóculo con *R. irregulare* se aplicó mediante el uso de *Canavalia ensiformis* como cultivo precedente y vía para la reproducción de propágulos micorrízicos en el suelo para la inoculación de *Tithonia*, y el inóculo con *A. brasilense*, a los 15 d después de la plantación de *Tithonia*, a razón de 20 L ha⁻¹. El estiércol aumentó ($p < 0.01$) los contenidos de MO, P asimilable y K intercambiable del suelo. Su aplicación, combinada con la coinoculación con ambos biofertilizantes, produjo los mayores valores de colonización micorrízica, concentraciones y extracciones de N, P y K en la biomasa aérea y rendimientos superiores ($p < 0.01$) a los alcanzados con la fertilización nitrogenada, sola o acompañada de los biofertilizantes (24 t MS ha⁻¹). Se concluye que un manejo integrado de la fertilización mediante la aplicación de estiércol vacuno y la coinoculación con *A. brasilense* y *R. irregulare* resulta efectivo para incrementar el rendimiento de forraje de *Tithonia*, reducir el uso de fertilizante nitrogenado y mejorar la fertilidad del suelo.

Palabras clave: estado nutricional, micorrizas arbusculares, rendimiento de forraje, rizobacterias

The effect of the integrated management of the fertilization with biofertilizer, organic manure and nitrogen fertilizer on *Tithonia diversifolia* forage production was evaluated. A total of nine treatments (application of 0, 70 and 100 kg N ha⁻¹; 0, 70 and 100 kg N ha⁻¹ plus the coinoculation with *Azospirillum brasilense* and *Rhizoglossum irregulare*, and 0, 70 and 100 kg N ha⁻¹ combine with the coinoculation with both biofertilizer plus the application of 25 t ha⁻¹ cattle manure) were studied in a random block design with four repetitions. The inoculum with *R. irregulare* was applied using the *Canavalia ensiformis* as precedent crop and way for the reproduction of mycorrhizal propagules in the soil for *Tithonia* inoculation, and the inoculum with *A. brasilense*, at 15 d after *Tithonia* planting, at a rate of 20 L ha⁻¹. The manure increased ($p < 0.01$) the contents of OM, assimilable P and k interchangeable of the soil. Their application, combine with the coinoculation with both biofertilizer, caused the higher levels of mycorrhizal colonization, concentrations and extractions of N, P and K in the aerial biomass and yields higher ($p < 0.01$) to those reached with the nitrogen fertilization, alone or with the biofertilizer (24 t DM ha⁻¹). It is concluded that the integrated management of the fertilization by the application of cattle manure and the coinoculation with *A. brasilense* and *R. irregulare* is effective to increase the yield of *Tithonia* forage, reduce the use of nitrogen fertilizer and improve the soil fertility.

Key words: arbuscular mycorrhizas, forage yield, nutritional state, rhizobacteria

Recibido: 15 de enero de 2024

Aceptado: 01 de junio de 2024

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no existe conflicto de intereses para la publicación del artículo.

Declaración de contribución de autoría CRediT: P.J. González-Cañizares: **Conceptualización, Investigación, Metodología, Análisis formal, Redacción documento-original.** S. Méndez-Bonet: **Investigación, Metodología, Curación de datos, Análisis formal.** R. Reyes-Rouseaux: **Investigación, Metodología, Curación de datos, Análisis formal.** R. Rivera-Espinosa: **Curación de datos, Análisis formal.** A. Hernández-Jiménez: **Curación de datos, Análisis formal.**



Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



Introducción

El interés en la utilización de *Tithonia diversifolia* como recurso forrajero ha aumentado en los últimos años, lo que responde a su alta producción de biomasa, rápida recuperación después del corte y elevado valor nutricional que supera al de otras especies forrajeras tropicales (Ramírez 2018 y Villegas et al. 2020). Sin embargo, por su capacidad para extraer cantidades importantes de nutrientes, cuando se somete a cortes frecuentes para la producción de forraje, *Tithonia diversifolia* precisa de una adecuada fertilización para mantener su productividad y conservar la fertilidad del suelo (Botero Londoño et al. 2019).

Los altos precios de los fertilizantes minerales y la necesidad de fomentar una ganadería amigable con el medio ambiente sugieren la búsqueda de estrategias de fertilización que garanticen la nutrición adecuada de los cultivos forrajeros, disminuyan el uso de insumos externos y, a la vez, aseguren la protección de los recursos naturales. El estiércol vacuno es el residuo orgánico más abundante en los agroecosistemas ganaderos, y su uso para la fertilización de estos cultivos constituye una alternativa económica y ecológicamente viable porque contribuye al reciclaje de parte de los nutrientes extraídos con la biomasa consumida por parte del ganado, así como a la reducción de la demanda de fertilizantes minerales y a la mejora de la fertilidad del suelo (Jiang et al. 2021).

Últimamente, también se ha prestado mucha atención a la inclusión de los biofertilizantes en los sistemas de fertilización de las plantas forrajeras por su efecto directo en la mejora de las propiedades biológicas de los suelos, en el aumento de la productividad y en el valor nutritivo de la biomasa, así como en la reducción del uso de los fertilizantes sintéticos (Guimarães et al. 2022). Entre los microorganismos utilizados como biofertilizantes se encuentra la bacteria asociativa *Azospirillum brasilense*, capaz de fijar nitrógeno atmosférico y mejorar la productividad y calidad de las cosechas, además de aportar otros beneficios como la producción de fitohormonas, la solubilización de fosfatos y la protección de las plantas contra estreses abióticos (Leite et al. 2019).

Asimismo, la biofertilización con hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA), cuyas estructuras aumentan el volumen de suelo que exploran las raíces y facilitan la absorción de los nutrientes y el agua, entre otros beneficios, ha mostrado su efectividad en diferentes cultivos agrícolas (Chandrasekaran 2020). De hecho, en las raíces de *Tithonia*

se ha comprobado la presencia de un vasto grupo de especies de HMA y su contribución a la absorción de formas no disponibles de fósforo en el suelo (Scrase et al. 2019).

Aunque se conocen los beneficios de la fertilización orgánica (Reis et al. 2018) y el efecto favorable de la doble inoculación con *A. brasilense* y HMA en el aumento de la productividad y el valor nutritivo de *Tithonia* (Méndez et al. 2022), los estudios dirigidos al diseño de estrategias de fertilización basadas en el manejo integrado de abonos orgánicos, fertilizantes minerales y ambos microorganismos son escasos, a pesar de sus posibles ventajas para mejorar los rendimientos, reducir los insumos externos y conservar la fertilidad del suelo.

Al considerar estas premisas, se realizó este estudio para evaluar los efectos del manejo integrado de la fertilización, basada en biofertilizantes, estiércol vacuno y fertilizante nitrogenado, en indicadores de la fertilidad del suelo y la producción de forraje de *T. diversifolia*.

Materiales y Métodos

Condiciones experimentales. El experimento se realizó en la vaquería típica 23 de la Unidad Básica de Producción Cooperativa (UBPC) "Juan Oramas", ubicada en el municipio de Guanabacoa, provincia La Habana, Cuba, a los 23°08' de latitud norte y a los 82°11' de longitud oeste, sobre un suelo cambisol cálcico, según la Base Referencial Mundial del Recurso Suelo (IUSS 2015). Sus principales características químicas se muestran en la tabla 1.

El suelo del sitio experimental posee altos contenidos de P asimilable, pH alcalino, contenido medio de MO, alta capacidad de intercambio de bases (CIB) y altos contenidos de K intercambiable (Paneque y Calaña 2001).

Durante el período experimental (mayo 2019-junio 2020), la precipitación total fue de 1705 mm, 83 % ocurrió durante los meses correspondientes a las épocas de lluvia (mayo-octubre de 2019 y mayo-junio de 2020), según se muestra en la figura 1.

Tratamientos y diseño experimental. Se evaluaron nueve tratamientos, conformados por las aplicaciones de 0, 70 y 100 kg N ha⁻¹; 0, 70 y 100 kg N ha⁻¹ más la coinoculación con *Azospirillum brasilense* y *Rhizoglobus irregularis*, y 0, 70 y 100 kg N ha⁻¹ más la coinoculación con *A. brasilense* y *R. irregularis* y la aplicación de 25 tha⁻¹ de estiércol vacuno en un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas.

Tabla 1. Características químicas del suelo de los experimentos (profundidad: 0-20 cm)

pH H ₂ O	MO, %	P,	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na, ⁺	K ⁺	CIB
		mg kg ⁻¹			cmol, kg ⁻¹		
7.7	4.50	70	49.5	4.8	0.25	0.57	54.9
(7.5-7.8)	(4.25-4.76)	(65-76)	(47.3-51.7)	(4.1-5.2)	(0.22-0.28)	(0.51-0.63)	(53.7-56.4)

MO: materia orgánica. CIB: capacidad de intercambio de bases. Valores entre paréntesis indican intervalos de confianza de las medias ($\alpha=0.05$).

Las parcelas constituyeron la unidad experimental y tenían superficie total de 24 m² y área de cálculo de 16 m².

Inoculantes utilizados. Para la biofertilización con HMA se utilizó un inoculante que contenía la cepa INCAM-11 de la especie *R. irregularare* (Sieverding *et al.* 2014). El inoculante procedía del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y se multiplicó previamente en un sustrato arcilloso esterilizado en autoclave a 120 °C por una hora durante tres días, con el uso de *Urochloa decumbens* vc. Basilisk como planta hospedera. Contenía 50 esporas por gramo de inoculante sólido, así como abundantes fragmentos de raicillas de la planta hospedera. Para la biofertilización con *A. brasilense*, se utilizó el producto comercial Nitrofix®, procedente del Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), que contenía la cepa 8I, con concentración de 10⁹ UFC mL⁻¹.

Preparación del suelo, siembra, aplicación de los inoculantes y fertilización. El suelo se preparó mediante labores de roturación (arado), grada, cruce (arado) y grada, a intervalos aproximados de 25 d entre cada una. El estiércol vacuno se aplicó sobre la superficie de las parcelas y se incorporó al suelo con la segunda labor de aradura. Este procedía de las áreas estabuladas de la vaquería y tenía un tiempo de tres meses de deposición en el estercolero. Sus características químicas y contenido de humedad al momento de su aplicación se presentan en la [tabla 2](#).

En mayo de 2019 todos los tratamientos se sembraron de canavalia (*Canavalia ensiformis*) como vía para reproducir en el suelo en aquellos que conllevaron la inoculación con *R. irregularare*, cantidades suficientes de propágulos

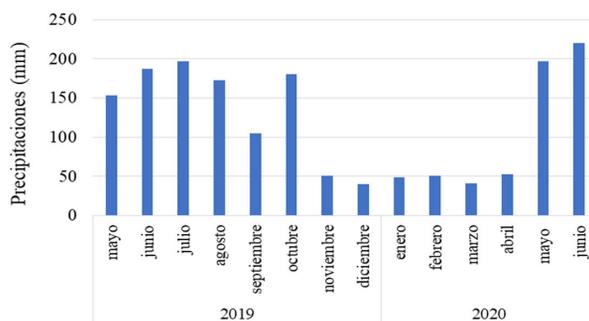


Figura 1. Distribución de las precipitaciones durante el período de ejecución del experimento (datos tomados en el área experimental)

micorrízicos para la posterior inoculación de la *Tithonia*. Se siguió el método de aplicación de inoculantes micorrízicos para este cultivo, utilizado por Méndez *et al.* (2022).

La canavalia se sembró a distancias de 50 cm entre surcos y 25 cm entre plantas, con densidad de 100 kg ha⁻¹ de semillas. En los tratamientos a inocular con *R. irregularare*, las semillas se recubrieron con una cantidad de inoculante micorrízico equivalente al 10 % de su masa. Para el recubrimiento, las semillas se sumergieron en una pasta fluida, elaborada mediante la mezcla del inoculante micorrízico sólido y agua, en proporción 1:0.6 m/v. Posteriormente, se secaron a la sombra y se sembraron.

La canavalia se cortó a los 60 d después de la siembra y su biomasa aérea se retiró del campo para la alimentación de los animales. La [tabla 3](#) muestra la cantidad de esporas de HMA que quedaron en el suelo después del corte de la canavalia y al momento de la plantación de *Tithonia*.

Tabla 2. Características químicas (base seca) y contenido de humedad del estiércol vacuno como abono orgánico en el experimento

MO, %	N, %	Relación C/N	P, %	K, %	Ca, %	Mg, %	pH	Humedad, %
61.7	2.25	16.6	0.65	1.83	2.92	0.71	7.2	52.7
(61.2-62.2)	(2.22-2.28)	(14.7-18.5)	(0.63-0.67)	(1.80-1.86)	(2.87-2.97)	0.69-0.73)	(7.0-7.4)	(52.1-53.3)

Promedio de diez muestras tomadas en el momento de la aplicación del estiércol. Valores entre paréntesis muestran el intervalo de confianza de las medias ($\alpha = 0.05$)

Tabla 3. Cantidades de esporas de HMA que quedaron en el suelo en cada tratamiento después del corte de la canavalia.

No	N, kg ha ⁻¹	Estiércol vacuno, t ha ⁻¹	Biofertilización	Número de esporas/50g
1	0	0	NB	133 (118-148)
2	70	0	NB	145 (128-162)
3	100	0	NB	138 (125-151)
4	0	0	B	520 (501-539)
5	70	0	B	492 (459-525)
6	100	0	B	518 (483-553)
7	0	25	B	526 (494-558)
8	0	25	B	499 (472-523)
9	70	25	B	519 (486-552)

NB: no biofertilizado. B: biofertilizado con *Azospirillum brasilense* y *Rhizoglyphus irregularare*. Valores entre paréntesis indican intervalos de confianza ($\alpha=0.05$)

Después del corte de la canavalia, se surcó nuevamente y se procedió a la plantación de la *Tithonia* mediante el uso de propágulos vegetativos de aproximadamente 30 cm de longitud. Se tomaron de la parte superior y media de los tallos de un campo cultivado de esta especie, muy próximo al área experimental. Los propágulos se plantaron a 1.0 m entre surcos y 0.5 m entre plantas, para una densidad de 20000 propágulos ha⁻¹.

La inoculación con *A. brasilense* se realizó a los 15 d después de la brotación de la *Tithonia*. Para ello se preparó una mezcla de inóculo líquido y agua (1:10 v/v) y se aplicó al suelo muy próximo a los surcos mediante una mochila manual, a razón de 20 L ha⁻¹ del producto comercial.

El fertilizante nitrogenado se usó según las dosis descritas en los tratamientos, fraccionado en dos momentos: 50 % a los 30 d después de la plantación y el resto, después del tercer corte, ambos coincidieron con períodos lluviosos. Para la aplicación, se abrieron con una azada pequeños surcos de 10 cm de profundidad, a 10 cm de las hileras de las plantas y se taparon después de colocado el fertilizante. Como portador del fertilizante nitrogenado se utilizó la urea. No se aplicó fertilizante fosfórico ni potásico porque se consideró que los altos contenidos de ambos nutrientes en el suelo (tabla 1) eran suficientes para el cultivo. El experimento se condujo en condiciones de secano.

Muestras y evaluaciones. Se realizaron cuatro cortes. El primero a los 120 d después de la plantación (noviembre de 2019), y el resto en febrero, mayo y julio de 2020 a altura de 30 cm de la superficie del suelo. En cada corte se pesó la masa fresca de la parte aérea correspondiente al área de cálculo de las parcelas. De cada tratamiento se tomaron tres submuestras de la masa fresca de la parte aérea y se homogeneizaron para formar una muestra compuesta de 200 g. Las submuestras se llevaron a una estufa de circulación de aire a 70 °C durante 72 h para determinar el porcentaje de masa seca (MS) y estimar el rendimiento de MS. En el segundo y cuarto corte, se determinaron las concentraciones (g kg⁻¹ de MS) de N, P y K en la biomasa de la parte aérea, según el manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos (Paneque et al. 2011).

Se calculó la extracción de N, P y K en la biomasa de la parte aérea. Para ello se tomaron los valores promedio de las concentraciones de estos nutrientes en el momento del segundo y cuarto corte y el rendimiento acumulado de la biomasa aérea (suma de los cuatro cortes). Se utilizó la fórmula siguiente:

Extracción de N, P y K (kg ha⁻¹) = [rendimiento acumulado de MS, kg ha⁻¹ x concentración del elemento en la MS de la parte aérea, g kg⁻¹] / 1000

En el momento de segundo y cuarto corte, enmarcados en el período lluvioso y poco lluvioso, respectivamente,

se tomaron de cada parcela tres submuestras de raíces y de suelo de la rizosfera, a profundidad de 0–20 cm mediante la utilización de un cilindro metálico de 5 cm de diámetro y 20 cm de altura. Los puntos de muestreo se distribuyeron equidistantes y separados a 10 cm de los surcos. Las submuestras se homogeneizaron para formar una muestra compuesta por parcela, y se extrajo 1 g de raicillas para su tinción y clarificación (Rodríguez et al. 2015). Se evaluó la frecuencia de colonización micorrízica mediante el método de los interceptos (Giovanetti y Mosse 1980), la densidad visual o intensidad de la colonización, de acuerdo con Trouvelot et al. (1986) y el número de esporas en la rizosfera a partir del tamizado y decantado por vía húmeda de dichas estructuras y su observación en microscopio (Herrera et al. 1995).

En el área donde se ejecutó el experimento, previo a la siembra de la canavalia, se tomaron con una barrena 10 muestras de suelo por el método del zigzag, a profundidad de 0-20 cm para su caracterización química. Después del segundo corte, se tomaron tres submuestras de suelo por parcela a profundidad de 0-20 cm para formar una muestra compuesta y determinar sus contenidos de MO, P asimilable y K intercambiable (Paneque et al. 2011).

Análisis estadístico. Los datos, una vez comprobados la normalidad y homogeneidad de varianzas, se procesaron mediante el análisis de varianzas y la prueba de Tukey (P<0.05). En las variables correspondientes a la caracterización química inicial del suelo, y al conteo de esporas HMA (número de esporas/50 g) que quedaron en el suelo después del corte de la canavalia, se utilizó el intervalo de confianza ($\alpha=0.05$) como estadígrafo de dispersión (Payton et al. 2000). En todos los casos se utilizó el programa estadístico SPSS 25 (2017).

Resultados y Discusión

Se encontró efecto significativo de la adición del estiércol vacuno en los contenidos de MO, P asimilable y K intercambiable del suelo (tabla 4), lo que estuvo en correspondencia con las cantidades de estos elementos aportados por el abono orgánico. De acuerdo con su composición, con cada tonelada de estiércol (en base húmeda) se incorporaron al suelo aproximadamente 290 kg de MO, 3 kg de P y 9 kg de K, y ello repercutió, sin dudas, en el incremento de sus contenidos en el suelo. El estiércol no tuvo efectos en el pH, debido probablemente a la reacción alcalina del suelo y al pH neutral del abono.

Aunque se conocen los beneficios de las aplicaciones del estiércol vacuno en la fertilidad del suelo, su inclusión en los sistemas de fertilización de los cultivos forrajeros continúa hoy siendo una estrategia acertada por los numerosos servicios ambientales que genera en los agroecosistemas ganaderos por su contribución al reciclaje de los nutrientes que se extraen del suelo con la biomasa que

consumen los animales, así como por su impacto directo en la reducción del efecto contaminante que origina su disposición incorrecta (Sileshi *et al.* 2019).

En la **tabla 5** se presenta el efecto de los tratamientos en las variables fúngicas en el momento del segundo y cuarto cortes. En el segundo, la aplicación conjunta de ambos biofertilizantes, sola o acompañada de N, incrementó la frecuencia e intensidad de la colonización, así como el número de esporas en la rizosfera en relación con los tratamientos no biofertilizados. Sin embargo, estas variables alcanzaron los valores más altos con la aplicación de los biofertilizantes combinados con el estiércol vacuno, excepto donde se adicionó la mayor dosis de N.

En el momento del cuarto corte, a diferencia del segundo, entre los tratamientos biofertilizados sin la adición de estiércol, la frecuencia e intensidad de la colonización y el número de esporas en la rizosfera, fueron significativamente mayores con las aplicaciones de 70 y 100 kg ha⁻¹ por año de N, que con la dosis de 0 kg ha⁻¹ de N. No obstante, los mayores valores de estas variables se alcanzaron también en los tratamientos donde se combinó la biofertilización y la adición de estiércol vacuno, solas o acompañadas de la fertilización nitrogenada, excepto donde se aplicó la mayor dosis de N.

Hay que señalar que, durante este ciclo, las plantas crecieron en el período lluvioso y, por tanto, se aplicó fertilizante nitrogenado, lo que no ocurrió durante el

Tabla 4. Efecto de la fertilización nitrogenada, la biofertilización y la aplicación de estiércol vacuno en los contenidos de MO, pH, P asimilable y K intercambiable del suelo

Tratamientos			MO, %	pH, H ₂ O	P, mg kg ⁻¹	K, cmol kg ⁻¹
N, kg ha ⁻¹ año	Estiércol vacuno, t ha ⁻¹	Biofertilización				
0	0	NB	4.40 ^b	7.5	62 ^b	0.57 ^b
70	0	NB	4.50 ^b	7.7	65 ^b	0.62 ^b
100	0	NB	4.36 ^b	7.5	61 ^b	0.52 ^b
0	0	B	4.62 ^b	7.6	70 ^b	0.58 ^b
70	0	B	4.35 ^b	7.4	63 ^b	0.61 ^b
100	0	B	4.39 ^b	7.6	67 ^b	0.53 ^b
0	25	B	5.46 ^a	7.7	116 ^a	1.28 ^a
70	25	B	5.54 ^a	7.8	121 ^a	1.31 ^a
100	25	B	5.49 ^a	7.6	118 ^a	1.26 ^a
	ES±		0.216	0.193	6.211	0.1531
	P		0.0001	0.332	0.0001	0.0002

NB: no biofertilizado. B: biofertilizado con *Azospirillum brasilense* + *Rhizoglyphus irregularis*. Promedios con letras comunes en la misma columna no difieren significativamente, según prueba de Tukey (P<0.05)

Tabla 5. Efecto de la fertilización nitrogenada, la biofertilización y la aplicación de estiércol vacuno en las estructuras fúngicas de tithonia en el momento del segundo y cuarto corte

Tratamientos			Segundo corte, febrero 2019			Cuarto corte, julio 2020		
N, kg ha ⁻¹ año	Estiércol vacuno, t ha ⁻¹	Bio-fertilización	Frecuencia colonización, %	Intensidad colonización, %	Esporas/50 g	Frecuencia colonización, %	Intensidad colonización, %	Esporas/ 50 g
0	0	NB	23.9 ^c	3.15 ^c	87 ^c	33.7 ^d	3.27 ^d	125 ^d
70	0	NB	22.8 ^c	2.89 ^c	92 ^c	34.3 ^d	2.93 ^d	132 ^d
100	0	NB	21.3 ^c	3.19 ^c	89 ^c	33.9 ^d	3.19 ^d	129 ^d
0	0	B	34.7 ^b	4.63 ^b	223 ^b	41.4 ^e	4.53 ^c	313 ^c
70	0	B	33.9 ^b	4.61 ^b	225 ^b	52.7 ^b	5.55 ^b	473 ^b
100	0	B	33.5 ^b	4.57 ^b	237 ^b	51.9 ^b	5.38 ^b	451 ^b
0	25	B	38.3 ^a	5.91 ^a	393 ^a	64.2 ^a	6.75 ^a	613 ^a
70	25	B	39.5 ^a	6.22 ^a	418 ^a	63.8 ^a	6.97 ^a	587 ^a
100	25	B	34.9 ^b	4.59 ^b	242 ^b	40.5 ^c	4.39 ^c	309 ^c
	ES±		1.625	0.280	23.51	1.812	0.261	32.55
	P		0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

NB: no biofertilizado. B: biofertilizado con *Azospirillum brasilense* + *Rhizoglyphus irregularis*. Promedios con letras comunes en la misma columna no difieren significativamente, según prueba de Tukey (P<0.05)

segundo corte, cuyas plantas crecieron en el período poco lluvioso y no fue posible la aplicación de N. Ello pudiera explicar el efecto directo que tuvo la fertilización nitrogenada, combinada con la aplicación de los biofertilizantes en el incremento de las estructuras fúngicas.

Se ha demostrado que la disponibilidad de nutrientes en el suelo controla el crecimiento de las hifas intra y extrarradicales de los HMA. De este modo, cuando las plantas se inoculan con cepas HMA efectivas, las estructuras fúngicas pueden aumentar en presencia de cantidades moderadas de nutrientes y se reducen con la aplicación de dosis que superan las necesidades de los cultivos inoculados, ya que la entrega de recursos del suelo a la planta hospedera a través de los HMA pierde importancia (Liu et al. 2020). Esto pudiera explicar el aumento de la frecuencia e intensidad de la colonización y el número de esporas en la rizosfera que se observó en ambos cortes con la aplicación de los biofertilizantes y el estiércol, así como su disminución en el tratamiento donde se combinaron los biofertilizantes y el abono orgánico con la dosis más alta de nitrógeno.

Los resultados también corroboran la efectividad del uso de la canavalia como cultivo precedente y vía para la producción de propágulos micorrízicos en el suelo para la inoculación de cultivos sucesores (Rivera et al. 2020, Simó et al. 2020 y Méndez et al. 2022) y la efectividad de la coinoculación con *R. irregulare* y *A. brasilense* en el aumento de las estructuras micorrízicas de tironia (Méndez et al. 2022).

En el momento del segundo como en el cuarto corte se encontró efecto significativo de los tratamientos en las concentraciones de N en la biomasa de la parte aérea (tabla 6). En el segundo, entre los tratamientos no inoculados no se observaron diferencias entre sí y mostraron los valores más bajos en relación con el resto. Con los

biofertilizantes se alcanzaron mayores concentraciones de N, pero los valores más altos se obtuvieron cuando se combinaron con la aplicación de estiércol y las dosis de 0 y 70 kg ha⁻¹ de N.

En momento del cuarto corte, a diferencia del anterior, entre los tratamientos no biofertilizados hubo aumento creciente de las concentraciones de N en la biomasa de la parte aérea con el incremento de las dosis del nutriente, como consecuencia directa de la fertilización nitrogenada aplicada durante ese ciclo. Sin embargo, con la biofertilización acompañada de las aplicaciones de 70 y 100 kg ha⁻¹ de N se alcanzaron valores más altos. No obstante, las mayores concentraciones de N se obtuvieron con la aplicación del estiércol y los biofertilizantes, excepto donde se aplicó la dosis más alta de este nutriente.

Los tratamientos no tuvieron efectos en las concentraciones de P y K de la biomasa aérea, lo que corroboró que los altos contenidos de ambos elementos en el suelo al inicio del experimento fueron suficientes para el cultivo. De hecho, este criterio se tuvo en cuenta para no introducir fertilizantes fosfórico ni potásico en los esquemas de fertilización.

El efecto de la fertilización nitrogenada en el aumento de las concentraciones de N en la biomasa de la parte aérea de *Tithonia* ha sido abordado por Botero Londoño et al. (2019) y Astúa et al. (2020), quienes lo atribuyen a la alta demanda de este nutriente, que generalmente no puede ser cubierta a partir de sus contenidos en el suelo, cuando se pretende alcanzar una alta producción de forraje.

No obstante, los resultados de este trabajo evidenciaron que con la biofertilización conjunta con *R. irregulare* y *A. brasilense* más el estiércol vacuno, sin aplicaciones adicionales de N, las plantas quedan mejor abastecidas de este elemento que con la aplicación del fertilizante nitrogenado. De hecho, la adición de 100 kg ha⁻¹ de N,

Tabla 6. Efecto de la fertilización nitrogenada, la biofertilización y el estiércol vacuno en las concentraciones de N, P y K en la biomasa de la parte aérea de *Tithonia*

Tratamientos			Segundo corte, febrero 2019			Cuarto corte, julio 2020		
N, kg ha ⁻¹	Estiércol vacuno, t ha ⁻¹	Biofertilización	N	P	K	N	P	K
			g kg ⁻¹					
0	0	NB	23.1 ^c	2.6	21.5	22.1 ^c	2.1	17.9
70	0	NB	22.8 ^c	2.4	22.1	24.5 ^d	2.3	18.3
100	0	NB	23.5 ^c	2.6	21.7	26.9 ^e	2.1	17.5
0	0	B	27.8 ^b	2.5	22.3	26.7 ^c	2.0	18.1
70	0	B	28.2 ^b	2.4	22.8	30.3 ^b	2.3	16.9
100	0	B	29.3 ^b	2.6	21.9	29.5 ^b	2.1	18.1
0	25	B	31.2 ^a	2.4	22.7	33.3 ^a	2.3	17.9
70	25	B	31.3 ^a	2.5	22.3	32.9 ^a	2.0	16.3
100	25	B	27.5 ^b	2.6	21.8	30.1 ^b	2.3	18.7
	ES±		0.411	0.221	0.302	0.418	0.218	0.315
	P		0.0001	0.335	0.418	0.0001	0.382	0.402

NB: no biofertilizado. B: biofertilizado con *Azospirillum brasilense* + *Rhizoglyphus irregulare*. Promedios con letras comunes en la misma columna no difieren significativamente, según prueba de Tukey (P<0.05).

combinada con los biofertilizantes y la adición de estiércol, disminuyó las concentraciones de N. Esto pudo ser consecuencia de la disminución de la efectividad de la biofertilización, tal como se demostró al evaluar el efecto de los tratamientos en las variables fúngicas. Es decir, al efecto positivo de los biofertilizantes en la nutrición nitrogenada, se sumó la mejora de su efectividad por la adición de estiércol y el aporte de N del abono orgánico. Ello garantizó que las plantas quedaran mejor abastecidas con este nutriente que con las dosis aplicadas de fertilizante nitrogenado.

Los tratamientos tuvieron un efecto significativo en la producción de forraje (tabla 7). En los cortes realizados en noviembre de 2019 y julio de 2020, cuyas plantas crecieron en el período lluvioso y recibieron los efectos directos de la fertilización nitrogenada, entre los tratamientos que sólo recibieron N se registró aumento creciente de los rendimientos de MS con el incremento de las dosis, hasta alcanzar los mayores valores con la aplicación anual de 100 kg ha⁻¹ de N durante el año (50 kg ha⁻¹ en uno y otro corte).

En ambos cortes, en los tratamientos que fueron biofertilizados con *A. brasilense* y *R. irregulare* sin la adición de estiércol, sólo fue necesario aplicar 70 kg ha⁻¹ de N por año para alcanzar rendimientos de biomasa, incluso superiores a los obtenidos con la dosis mayor de N sin biofertilizantes. No obstante, en el resto de los cortes, los rendimientos alcanzados con la aplicación conjunta de los biofertilizantes fueron mayores con respecto a los tratamientos que sólo recibieron N. Pero cuando los biofertilizantes se aplicaron conjuntamente con el estiércol, las aplicaciones de N no solo resultaron innecesarias, sino que alcanzaron rendimientos superiores a los registrados con los biofertilizantes, solos o acompañados de la fertilización nitrogenada.

Una percepción más clara del efecto de los tratamientos en la producción de biomasa se observó en el rendimiento acumulado, donde se pudo constatar que cuando se aplicó solamente fertilizante nitrogenado, la mayor respuesta se obtuvo con 100 kg ha⁻¹ de N. En tanto, con la biofertilización, sin la adición de N, la producción de biomasa alcanzó valores similares a los que se obtuvieron con la dosis mayor de este nutriente. Sin embargo, en presencia de los biofertilizantes, los mayores rendimientos se alcanzaron con las aplicaciones de 70 y 100 kg ha⁻¹ de N. Al combinar los biofertilizantes con el estiércol se obtuvieron los máximos rendimientos de forraje sin necesidad de aplicar N, más bien se observó disminución con la adición de 100 kg ha⁻¹ de este nutriente.

El efecto de la fertilización en la producción de forraje de *Tithonia* ha sido abordado por varios investigadores. Todos coinciden al plantear que los mayores rendimientos se alcanzan con un suministro de dosis altas de nutrientes (Ramírez 2018 y Dos Santos *et al.* 2021). En relación con la biofertilización, distintos autores han registrado incrementos en la producción de forraje. Hakim *et al.* (2014) los informaron con la aplicación combinada de bacterias solubilizadoras de fósforo y *Azospirillum*. Murillo *et al.* (2020) dan cuenta de ello con la inoculación de las cepas de HMA *Claroideoglossum etunicatum* y *Scutellospora calospora*.

Resultó interesante que con la aplicación combinada de los biofertilizantes y el estiércol vacuno se haya alcanzado los mayores rendimientos de forraje, sin necesidad de aplicar fertilizante nitrogenado. Varios aspectos parecen explicar este comportamiento. El primero puede estar relacionado con el aumento de la efectividad de la biofertilización en presencia del estiércol vacuno. Se ha demostrado que la fijación biológica del nitrógeno a través

Tabla 7. Efecto de la fertilización nitrogenada, la biofertilización y el estiércol vacuno en el rendimiento (t ha⁻¹ MS) de forraje de *Tithonia* por corte y el acumulado durante el año

Tratamientos			t MS/ha				
N, kg ha ⁻¹ año	Estiércol vacuno, t ha ⁻¹	Biofertilización	Primer corte, noviembre 2019	Segundo corte, febrero 2020	Tercer corte, mayo 2020	Cuarto corte, julio 2020	Acumulado, noviembre 2019-julio 2020
0	0	NB	3.89 ^e	3.25 ^e	2.97 ^e	4.13 ^e	14.24 ^e
70	0	NB	4.64 ^d	3.33 ^e	3.11 ^e	4.83 ^d	15.91 ^d
100	0	NB	5.38 ^c	3.41 ^e	3.07 ^e	5.67 ^c	17.53 ^c
0	0	B	4.55 ^d	4.15 ^b	3.93 ^b	4.92 ^d	17.61 ^c
70	0	B	6.52 ^b	4.31 ^b	3.89 ^b	6.45 ^b	21.22 ^b
100	0	B	6.41 ^b	4.23 ^b	3.78 ^b	6.51 ^b	20.93 ^b
0	25	B	7.13 ^a	4.89 ^a	4.51 ^a	7.63 ^a	23.83 ^a
70	25	B	7.21 ^a	4.83 ^a	4.63 ^a	7.23 ^a	23.90 ^a
100	25	B	6.37 ^b	4.10 ^b	3.46 ^b	6.31 ^b	20.24 ^b
	ES±		0.202	0.181	0.194	0.221	0.415
	P		0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0000

NB: no biofertilizado. B: biofertilizado con *Azospirillum brasilense* + *Rhizoglossum irregulare*. Promedios con letras comunes en la misma columna no difieren significativamente, según prueba de Tukey (P<0.05)

de la inoculación simple con *A. brasilense* puede aportar hasta 54 kg de N ha⁻¹ año⁻¹ (Hungria et al. 2016 y Aguirre et al. 2020). Además, la fijación biológica de N como la efectividad de la inoculación con HMA, se pueden potenciar a través del aporte de C y otros nutrientes y del incremento de la actividad microbiana en el suelo, que provocan las adiciones de abonos orgánicos (Ren et al. 2021). De hecho, Aguirre et al. (2020) encontraron en millo perla aumento de la colonización micorrízica y disminución del 50 % de la dosis de estiércol vacuno, cuando su aplicación se combinó con la inoculación con *A. brasilense* y *G. mosseae*.

También se debe señalar el efecto positivo que ejercen los HMA en cooperación con otros microorganismos del suelo, en cuanto a la mineralización de la MO y consecuentemente, la absorción del N y otros nutrientes derivados de este proceso (Jiang et al. 2021). Si a ello se suma el aporte de nutrientes del estiércol y sus posibles efectos en la mejora de las propiedades físicas del suelo (Sisouvanh et al. 2021), se puede comprender el mayor efecto de la adición conjunta del abono orgánico y los biofertilizantes en los rendimientos de *Tithonia* con respecto a la biofertilización sola, así como en la reducción de la necesidad de aplicar dosis complementarias de fertilizante nitrogenado, al menos durante el primer año de su cultivo. La disminución de los rendimientos obtenida con la aplicación de 100 kg ha⁻¹ de N en presencia de los biofertilizantes y el estiércol y la reducción de las variables fúngicas observada en este tratamiento reafirman la disminución de la actividad de la biofertilización ante una dosis de N que, en este caso, resultó excesiva para la tironia biofertilizada y abonada con estiércol durante el período en que se realizó el experimento.

Al evaluar el efecto de los tratamientos en las extracciones de los macronutrientes primarios (N, P y K)

con la biomasa de la parte aérea durante el período en que se ejecutó el experimento (tabla 8), se observó aumento creciente de los tres elementos con el incremento de la fertilización nitrogenada sin biofertilizantes ni estiércol. En los tratamientos biofertilizados, las extracciones fueron mayores, sobre todo cuando se combinaron con las dosis de 70 y 100 kg ha⁻¹ de N. Pero los valores más altos se obtuvieron con la aplicación combinada de los biofertilizantes y el estiércol, excepto cuando se adicionó N a razón de 100 kg ha⁻¹.

Cuantitativamente, las extracciones siguieron el orden N>K>P y concuerdan con lo encontrado por Botero Londoño et al. (2019) y Astúa et al. (2020). Los primeros autores también encontraron niveles de extracción de hasta 800, 140 y 462 kg ha⁻¹ de N, P y K con densidades de plantación de 1 m² por planta y aplicaciones de 25, 12 y 11 kg por planta de N, P₂O₅ y K₂O.

Si bien los niveles de exportación de nutrientes con la biomasa de *Tithonia* dependen de la fertilidad del suelo, la aplicación de fertilizantes, la distancia de plantación y las variedades, entre otros factores. Los resultados obtenidos por los autores citados y también los de este trabajo reafirman que el cultivo es altamente extractor de nutrientes del suelo. Además, a pesar de su rusticidad y pocos requerimientos edáficos, la fertilización resulta vital, no sólo para elevar y sostener los rendimientos de forraje en el tiempo, sino para mantener la fertilidad del suelo. Ello implica, sobre todo cuando se somete a cortes frecuentes para la producción de forraje, la necesidad de monitorear la dinámica de los nutrientes en el suelo y las exportaciones de estos con la biomasa y los rendimientos, con el propósito de hacer las correcciones pertinentes para mantener los rendimientos y evitar el agotamiento del suelo.

Tabla 8. Efectos de la fertilización nitrogenada, la biofertilización y la aplicación de estiércol vacuno en las extracciones de N, P y K con la biomasa de la parte aérea de *Tithonia*

Tratamientos						
N, kg ha ⁻¹	Estiércol vacuno, t ha ⁻¹	Biofertilización	N, kg ha ⁻¹	P, kg ha ⁻¹	K, kg ha ⁻¹	
0	0	NB	321.8 ^f	32.8 ^d	280.5 ^c	
70	0	NB	376.3 ^e	36.6 ^e	321.4 ^d	
100	0	NB	441.8 ^d	40.3 ^b	343.7 ^e	
0	0	B	479.6 ^c	38.7 ^e	355.5 ^c	
70	0	B	619.0 ^b	48.8 ^b	420.7 ^b	
100	0	B	615.3 ^b	47.4 ^b	418.6 ^b	
0	25	B	768.5 ^a	54.8 ^a	483.7 ^a	
70	25	B	767.9 ^a	52.6 ^a	471.3 ^a	
100	25	B	579.1 ^b	50.0 ^{ab}	421.8 ^b	
	ES±		6.925	1.233	5.720	
	P		0.0001	0.0001	0.0001	

NB: no biofertilizado. B: biofertilizado con *Azospirillum brasilense* + *Rhizogloium irregulare*. Promedios con letras comunes en la misma columna no difieren significativamente, según prueba de Tukey (0.05)

Conclusiones

El manejo integrado de la fertilización basado en estiércol vacuno y la coinoculación con *A. brasilense* y *R. irregulare* resulta efectiva para incrementar el rendimiento de forraje de tithonia, reducir el uso de fertilizante nitrogenado y mejorar la fertilidad del suelo.

Agradecimientos

Se agradece al Fondo Financiero de Ciencia e Innovación (FONCI) por el financiamiento para la ejecución del trabajo. También se expresa gratitud a las M. Sc. Ana N. San Juan Rodríguez y Daisy Dopico Ramírez, especialistas del ICIDCA, por la donación del biofertilizante Nitrofix para la ejecución del experimento.

Referencias

- Aguirre, P.F., Giacomini, S.J., Olivo, C.J., Bratz, V.F., Quatrin, M.P. & Schaefer, G.L. 2020. Biological nitrogen fixation and urea-N recovery in 'Coastcross-1' pasture treated with *Azospirillum brasilense*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 55: e01242, ISSN: 1678-3921. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2020.v55.01242>.
- Astúa M., Rojas, A. & Campos C.M. 2020. Extracción de nutrientes del botón de oro (*Tithonia diversifolia*) ecotipo INTA-Quepos a tres edades de rebrote con tres niveles de fertilización nitrogenada. *Nutrición Animal Tropical*, 14(2): 113-130, ISSN: 2215-3527. <https://doi.org/10.15517/nat.v14i2.44682>.
- Botero Londoño, J.M., Gómez Carabali, M. & Botero Londoño, M.A. 2019. Nutrient absorption in *Tithonia diversifolia*. *Universitas Scientiarum*, 24(1): 33-48, ISSN: 2027-1352. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC24-1.nait>.
- Chandrasekaran, A. 2020. A meta-analytical approach on arbuscular mycorrhizal fungi inoculation efficiency on plant growth and nutrient uptake. *Agriculture*, 10: 370, ISSN: 2077-0472. <https://doi.org/10.3390/agriculture10090370>.
- Dos Santos, A., Santos, M., da Silva, L.D., dos Santos, J.B., Ferreira, E.A. & Tuffi, L.D. 2021. Effects of irrigation and nitrogen fertilization rates on yield, agronomic efficiency and morphophysiology in *Tithonia diversifolia*. *Agricultural Water Management*, 248: 106782, ISSN: 1873-2283. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.106782>.
- Guimarães, G.S., Rondina, A.B.L., Santos, M.S., Nogueira, M.A. & Hungria, M. 2022. Pointing Out Opportunities to Increase Grassland Pastures Productivity via Microbial Inoculants: Attending the Society's Demands for Meat Production with Sustainability. *Agronomy*, 12: 1748, ISSN: 2073-4395. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081748>.
- Giovanetti, M. & Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84: 489-500, ISSN: 1469-8137. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x>.
- Hakim, N., Alfina, R., Agustian, Hermansah & Yulnafatmawita. 2014. Bacterial inoculants to increase the biomass and nutrient uptake of *Tithonia* cultivated as hedgerow plants in Ultisols. *Malaysian Journal of Soil Science*, 18: 115-123, ISSN: 1394-7990.
- Herrera, A., Ferrer, L., Furrázola, E. & Orozco, M.O. 1995. Estrategia de funcionamiento de las micorrizas VA en un bosque tropical. Biodiversidad en Iberoamérica. Ecosistemas, evolución y procesos sociales. En: M. Monasterio, ed. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Subprograma XII, *Diversidad Biológica*. Mérida, México, 1995.
- Hungria, M., Nogueira, M.A. & Araujo, R.S. 2016. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 221: 125-131, ISSN: 1873-2305. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2016.01.024>.
- IUSS Working Group WRB, 2015. Base referencial mundial del recurso suelo 2014, Actualización 2015. Sistema internacional de clasificación de suelos para la nomenclatura de suelos y la creación de leyendas de mapas de suelos. Informes sobre recursos mundiales de suelos 106. FAO, Roma.
- Jiang, Sh., An, X., Shao, Y., Kang, Y., Chen, T., Mei, X., Dong, C., Xu, Y. & Shen, Q. 2021. Responses of arbuscular mycorrhizal fungi occurrence to organic fertilizer: A meta-analysis of field studies. *Plant and Soil*, 469(1-2): 89-105, ISSN: 1573-5036. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05153-y>.
- Leite, R.C., Santos A.C., Santos, J.G.D., Leite, R.C., Oliveira, L.B.T. & Hungria M. 2019. Mitigation of mombasa grass (*Megathyrsus maximus*) dependence on nitrogen fertilization as a function of inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 43: e0180234, ISSN: 1806-9657. <https://doi.org/10.1590/18069657rbc20180234>.
- Liu, J., Zhang, J., Li, D., Xu, C. & Xiang, X. 2020. Differential responses of arbuscular mycorrhizal fungal communities to mineral and organic fertilization. *Microbiology Open*, 9(1): e00920, ISSN: 2045-8827. <https://doi.org/10.1002/mbo3.920>.
- Méndez, S., González, P.J., Reyes, R. & Ramírez, J.F. 2022. Biofertilization with *Azospirillum brasilense* and *Rhizoglossum irregulare* in *Tithonia diversifolia* (Hemsl.). *Pastos y Forrajes*, 45: 1-8, ISSN: 2078-8452.

- Murillo, F., Vivas, W.F., González, C.E., Bonilla, M.J., Moreira, H. O. & Solórzano, L.J. 2020. Eficiencia simbiótica de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el botón de oro (*Tithonia diversifolia*). *Pro Sciences: Revista de Producción, Ciencias e Investigación*, 4(33): 12-19, ISSN: 2588-1000. <https://doi.org/10.29018/issn.2588-1000vol4iss33.2020pp12-19>.
- Paneque, V.M. & Calaña, J.M. 2001. La fertilización de los cultivos. Aspectos teórico prácticos para su recomendación. San José de las Lajas, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. p. 28.
- Paneque, V.M., Calaña, J. M., Calderón, M., Borges, Y., Hernández, T. & Caruncho, M. 2011. *Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos*. Mayabeque, Cuba: Ediciones INCA, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas.
- Payton, M.E., Miller, A.E. & Raun, W.R. 2000. Testing statistical hypotheses using standard error bars and confidence intervals. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 31(5-6): 547-551, ISSN: 1532-2416. <https://doi.org/10.1080/00103620009370458>.
- Ramírez, R.C. 2018. Extracción de nutrientes y productividad del botón de oro (*Tithonia diversifolia*) con varias dosis de fertilización nitrogenada. *Inter Sedes*, 19(39): 172-187, ISSN: 2215-2458. <http://dx.doi.org/10.15517/isucr.v19i39.34076>.
- Reis, M.M., Tuffi, L.D., Pegoraro, R.F., Santos, M.V., Colen, F., Colen, F., Montes, W.G., Moura, R.R., da Cruz, L. R. & Oliveira, F. 2018. Productive and nutritional aspects of *Tithonia diversifolia* fertilized with biofertilizer and irrigated. *Journal of Agricultural Science*, 10(11): 367-379, ISSN: 1916-9760. <https://doi.org/10.5539/jas.v10n11p367>.
- Ren, J., Liu, X., Yang, W., Yang, X., Li, W., Xia, Q., Li, J., Gao, Z. & Yang, Z. 2021. Rhizosphere soil properties, microbial community, and enzyme activities: Short-term responses to partial substitution of chemical fertilizer with organic manure. *Journal of Environmental Management*, 299: 113650, ISSN: 1095-8630. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113650>.
- Rivera, R., Martín, G.M., Simó, J., Pentón, G., García, M., Ramírez, J., González, P.J., Joao, J.P., Ojeda, L.J., Tamayo, Y. & Bustamante, C. 2020. Benefits of joint management of green manure and mycorrhizal inoculants in crop production. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23: 97, ISSN: 1870-0462. <https://doi.org/10.56369/tsaes.3294>.
- Rodríguez, Y., Arias, L., Medina, A., Mujica, Y., Medina, L. Fernández, K. & Mena, A. 2015. Alternativa de la técnica de tinción para determinar la colonización micorrizica. *Cultivos Tropicales*, 36(2): 18-21, ISSN: 1819-4087.
- Scrase, F.M., Sinclair, F.L., Farrar, J.F., Pavinato, F.P. & Jones, D.L. 2019. Mycorrhizas improve the absorption of non-available phosphorus by the green manure *Tithonia diversifolia* in poor soils. *Rhizosphere*, 9: 27-33, ISSN: 2452-2198. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.11.001>.
- Sieverding, E., Silva, G.A. da, Berndt, R. & Oehl, F. 2014. *Rhizoglossus*, a new genus of the Glomeraceae. *Mycotaxon*, 129 (2): 373-386, ISSN: 2154-8889. <https://doi.org/10.5248/129.373>.
- Sileshi, G.W., Jama, B., Vanlauwe, B., Negassa, W., Harawa, R., Kiwia, A. & Kimani, D. 2019. Nutrient use efficiency and crop yield response to the combined application of cattle manure and inorganic fertilizer in sub-Saharan Africa. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 113: 181-199, ISSN: 1385-1314. <https://doi.org/10.1007/s10705-019-09974-3>.
- Simó, J., Rivera, R., Ruiz, L. & Martín, G. 2020. The integration of AMF inoculants, green manure and organo-mineral fertilization, in banana plantations on Calcic Haplic Phaeozems. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23(1): 08, ISSN: 1870-0462. <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.2882>.
- Sisouvanh, P., Trelo-ges, V., Isarangkool Na Ayutthaya, S., Pierret, A., Nunan, N., Silvera, N., Xayyathip, K. & Hartmann, C. 2021. Can organic amendments improve soil physical characteristics and increase maize performances in contrasting soil water regimes?. *Agriculture*, 11: 132, ISSN: 2077-0472. <https://doi.org/10.3390/agriculture11020132>.
- SPSS. 2017. Statistical Software, Version 25. SPSS Institute, Chicago, Illinois, U.S.A.
- Trouvelot, A., Kough, J.L. & Gianinazzi-Pearson, V. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthode d'estimation ayant une signification fonctionnelle. *Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. Proceedings of the 1st Symposium Européen sur les Mycorrhizes*. Paris: INRA. p. 217-221, 1986.
- Villegas, S., Maldonado, H.G., Montes, E., Pedroza, S.I., Salinas, T., Santiago, E.J. & Alejos, J.I. 2020. Use of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray in the diet of growing lambs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 72 (5): 1929-1935, ISSN: 1678-4162.