

**ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
INGENIERIA EN BIOTECNOLOGÍA**

**“EFECTO DE LA INTERACCIÓN DE HONGOS MICORRÍDICOS
ARBUSCULARES (HMA) Y LA FERTILIZACIÓN, SOBRE EL
CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE PLANTAS
MICROPROPAGADAS DE BANANO (*Musa paradisiaca*) DURANTE
LA FASE DE ACLIMATACIÓN”**

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

ELABORADO POR:

ADRIANA CAROLINA TUFÍÑO COLOMA

SANGOLQUI, 14 DE JUNIO DEL 2011

HOJA DE LEGALIZACIÓN DE FIRMAS

ELABORADO POR

Srta. Adriana Carolina Tufiño Coloma

COORDINADOR DE LA CARRERA

Ing. Rafael Vargas

SECRETARIO ACADÉMICO

Dr. Mario Lozada

Sangolqui, 14 de Junio del 2011

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue realizado en su totalidad por la Srta. ADRIANA CAROLINA TUFÍÑO COLOMA como requerimiento parcial a la obtención del título de INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA.

Fecha

Dra. María Emilia Medina

Proaño

DIRECTORA

Dra. Karina

COORDIRECTORA

REVISADO POR

Dr. Mario Lozada

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis Padres, porque este es el fruto de su esfuerzo hacia la realización de un sueño, por su amor incondicional y paciencia.

A mis hermanos: Liseth, Soledad, Mauricio y Anael, por su amor y compañía durante todo este tiempo.

A mis sobrinos: Camila, Mariano, Emiliana y Matías, por su cariño y travesuras.

Adriana Carolina Tufiño Coloma

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a Dios porque es el pilar fundamental de mi vida y Él permitió que conociera personas maravillosas durante este proceso.

Agradezco a la Dra. María Emilia Medina por sus consejos y enseñanzas, principalmente por poner su confianza en mí para la realización de este proyecto.

A la Dra. Karina Proaño por su tiempo y conocimiento compartido para la elaboración de este trabajo.

A la Ing. Estefanía Espín e Ing. Isabel Baroja por enseñarme las técnicas del laboratorio y primordialmente por formar un grupo de trabajo unido. A Tania Villareal por su colaboración en la elaboración del ensayo.

A mi mejor amiga Ing. Michelle Yépez por su valiosa amistad y apoyo incondicional durante todos estos ocho años.

A la Ing. Silvia Pachacama por su amistad y apoyo. A las personas que forman parte del laboratorio: Adrián, Santiago, Elsitá, Daniel e Ibeth gracias por su apreciable compañía. Al Ing. Pablo Araujo por su cariño y principalmente por todo el respaldo brindado.

A mis amigos: Andrea, Cristina y Pablo, por su cariño, alegría y compañía durante la etapa estudiantil.

A mis Abuelitos: Maruja, Hildita y Guillito por su afecto y total apoyo para la culminación de mi carrera. A mis tíos y primos por compartir conmigo esta felicidad.

Adriana Carolina Tufiño Coloma

INDICE DE CONTENIDOS

HOJA DE LEGALIZACIÓN DE FIRMAS	II
CERTIFICACIÓN	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTO	V
LISTADO DE TABLAS	IX
LISTADO DE FIGURAS	XI
LISTADO DE ANEXOS	XIV
RESUMEN	XV
ABSTRACT.....	XVI
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1. Formulación del problema	1
1.2. Justificación del problema	2
1.3. Objetivos de la investigación	3
1.3.1. Objetivo General	3
1.3.2. Objetivo Específicos	3
1.4. Marco Teórico.....	4
1.4.1. El cultivo de banano (<i>Musa paradisiaca</i>)	4
1.4.1.1. Características generales del cultivo de banano	4
1.4.1.2. Necesidades nutricionales del cultivo de banano	6
1.4.1.3. Importancia del cultivo de banano	7
1.4.2. Hongos Micorrícicos	8
1.4.2.1. Crecimiento de los Hongos Micorrícicos Arbusculares.....	9
1.4.2.2. Colonización de los Hongos Micorrícicos Arbusculares.....	10
1.4.2.3. Propagación de esporas de Hongos Micorrícicos Arbusculares	11

1.4.2.3. Dependencia micorrícica relativa	12
1.4.3. Micorrización en la Fase de Aclimatación de Banano	13
1.4.3.1. Efectos de la Micorrización en la Fase de Aclimatación de Banano (<i>Musa paradisiaca</i>)	14
1.4. Hipótesis	17
CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS	18
2.1. Participantes	18
2.2. Zona de Estudio	18
2.3. Período de investigación	18
2.4. Selección de material vegetal y microbiológico	18
2.5. Diseño Experimental.....	19
2.6. Propagación de esporas de Hongos Micorrícico Arbusculares (HMA) nativas de cultivo de banano	20
2.7. Aplicación de HMA durante la fase de aclimatación de plántulas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>).....	22
2.7.1. Preparación del inóculo	22
2.7.2. Preparación del sustrato.....	23
2.7.3. Aplicación de HMA y trasplante en plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>)	23
2.7.4. Mantenimiento	24
2.7.5. Evaluación de las plantas de banano al finalizar la fase de aclimatación	25
2.7.5.1. Porcentaje de colonización	26
2.7.5.2. Dependencia micorrícica	27
2.7.5.3. Procesamiento de las muestras y conteo de esporas.....	27
CAPÍTULO 3: RESULTADOS.....	28

3.1. Propagación de esporas de Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) nativos de cultivo de banano (<i>Musa paradisiaca</i>)	28
3.2. Aclimatación de plantas micropropagadas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) con Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA)	31
3.2.1. Altura	31
3.2.2. Perímetro	34
3.2.3. Área foliar	36
3.2.4. Biomasa aérea	38
3.2.5. Biomasa radical	42
3.2.6. Porcentaje de colonización y conteo de esporas	45
3.2.7. Supervivencia de las plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) en fase de aclimatación	47
3.2.8. Análisis de nutrientes en la biomasa área.....	47
3.2.8.1. Nitrógeno (N) foliar	47
3.2.8.1. Fósforo (P)	49
3.2.8.1. Potasio (K)	52
3.2.8.1. Magnesio (Mg)	54
3.2.9. Análisis de suelo	56
CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN	57
4.1. Propagación de esporas de Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) nativos de cultivo de banano (<i>Musa paradisiaca</i>)	57
4.2. Aclimatación de plantas micropropagadas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) con Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA)	58
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES	66
CAPÍTULO 6: RECOMENDACIONES	67
CAPÍTULO 7: BIBLIOGRAFÍA	68
ANEXOS	75

INDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Tratamientos del ensayo	20
Tabla 2.2 Programa de fertilización para aclimatación	25
Tabla 3.1 Análisis de varianza para la altura en plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) bajo el efecto de la fertilización y diferentes dosis de micorrizas. Hacienda Central de Machala-El Oro.....	31
Tabla 3.2 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización en la altura de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>), durante la fase de aclimatación.....	33
Tabla 3.4 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización sobre el perímetro del tallo de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) en fase de aclimatación.....	35
Tabla 3.5 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización sobre el área foliar de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) en fase de aclimatación.....	37
Tabla 3.6 Análisis de varianza para el peso fresco y seco de la biomasa aérea de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) bajo el efecto de la fertilización y diferentes dosis de micorrizas. Hacienda Central de Machala-El Oro	39
Tabla 3.7 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización sobre la biomasa aérea de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) en fase de aclimatación	40
Tabla 3.8 Análisis de varianza para el peso fresco y seco de la biomasa radical de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) bajo el efecto de la fertilización y diferentes dosis de micorrizas. Hacienda Central de Machala-El Oro	42
Tabla 3.9 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización en la biomasa radical de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) en fase de aclimatación.....	43
Tabla 3.10 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización en el porcentaje de colonización y conteo de esporas de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) en fase de aclimatación.....	46
Tabla 3.11 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización sobre el porcentaje de Nitrógeno foliar de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) en fase de aclimatación	48

Tabla 3.12 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización en el porcentaje de Fósforo foliar de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) en fase de aclimatación.....	51
Tabla 3.13 Análisis de varianza para el potasio en plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) bajo el efecto de la fertilización y diferentes dosis de micorrizas. Hacienda Central de Machala-El Oro	52
Tabla 3.14 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización en el porcentaje de Potasio foliar de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) en fase de aclimatación	53
Tabla 3.15 Análisis de varianza para el magnesio en plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) bajo el efecto de la fertilización y diferentes dosis de micorrizas. Hacienda Central de Machala-El Oro	54
Tabla 3.16 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización en el porcentaje de Magnesio foliar de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) en fase de aclimatación	55

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Partes de la planta de banano	5
Figura 1.2 Esquema de la colonización micorrícica.....	11
Figura 2.1 Fotografías del montaje de las camas de propagación de esporas de HMA nativas del cultivo de banano (<i>Musa paradisiaca</i>)	21
Figura 2.2 Fotografías de la preparación del inóculo a base de esporas de HMA nativas de cultivo de banano (<i>Musa paradisiaca</i>).....	22
Figura 2.3 Fotografía de la preparación del sustrato para ser utilizado en el trasplante de plantas micropropagadas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>).....	23
Figura 2.4 Fotografía del trasplante de plantas de banano	24
Figura 3.1 Promedio del número de esporas de HMA por gramo de suelo de 43 muestras provenientes de cultivo de banano (<i>Musa paradisiaca</i>), de las 7 haciendas de HDINEAGROS	28
Figura 3.2 Crecimiento de <i>Brachiaria</i> en camas de propagación de esporas de HMA nativas de cultivo de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) a.0 días, b.45 días y c.60 días	29
Figura 3.3 Número de esporas por gramo de suelo en cultivo de banano (<i>Musa paradisiaca</i>), de la cama de propagación. Hacienda Central Machala-El Oro.....	29
Figura 3.4 Porcentaje de colonización de raíces de <i>Brachiaria</i> de la cama de propagación. Hacienda Central Machala-El Oro.....	30
Figura 3.5 Estructuras fúngicas en las raíces de <i>Brachiaria</i> , de las camas de propagación de esporas de HMA	30
Figura 3.6 Efecto del porcentaje de fertilización sobre la altura de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) a los 0, 45 y 90 días, durante la fase de aclimatación	32
Figura 3.7 Comparación entre plantas micorrizas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización sobre la altura de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) a los 0, 45 y 90 días, durante la fase de aclimatación.....	33
Figura 3.8 Efecto del perímetro del tallo de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación	34

Figura 3.9 Efecto del perímetro del tallo de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) sobre el porcentaje de fertilización, en fase de aclimatación.....	34
Figura 3.10 Comparación de plantas micorrizadas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización sobre el perímetro del tallo de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>). Fase de aclimatación	36
Figura 3.11 Efecto del área foliar de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación	36
Figura 3.12 Efecto del área foliar de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) sobre el porcentaje de fertilización, en fase de aclimatación	37
Figura 3.13 Comparación de plantas micorrizadas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización sobre el área foliar de banano (<i>Musa paradisiaca</i>). Fase de aclimatación	38
Figura 3.14 Efecto de la biomasa aérea de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) sobre el porcentaje de fertilización en fase de aclimatación	39
Figura 3.15 Comparación de plantas micorrizadas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización sobre la biomasa aérea de banano (<i>Musa paradisiaca</i>). Fase de aclimatación	41
Figura 3.16 Biomasa aérea de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) con diferentes dosis de micorrizas y 100% de fertilización, en fase de aclimatación.....	41
Figura 3.17 Efecto de la biomasa radical de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) sobre la fertilización en fase de aclimatación	43
Figura 3.18 Comparación de plantas micorrizadas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización sobre la biomasa radical de banano (<i>Musa paradisiaca</i>). Fase de aclimatación	44
Figura 3.19 Biomasa radical de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) a diferentes dosis de micorrizas y bajo 100% de fertilización, en la fase de aclimatación	44
Figura 3.20 Efecto del porcentaje de colonización y conteo de esporas de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación	45
Figura 3.21 Estructuras fúngicas en las raíces colonizadas de plantas de banano en fase de aclimatación	46

Figura 3.22 Supervivencia de las plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) en fase de aclimatación	47
Figura 3.23 Nitrógeno foliar en plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación	48
Figura 3.24 Comparación de nitrógeno foliar en plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) micorrizadas vs. plantas no micorrizadas, durante la fase de aclimatación	49
Figura 3.25 Fósforo foliar en plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación	49
Figura 3.26 Efecto del porcentaje de fertilización sobre el fósforo en plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) en fase de aclimatación	50
Figura 3.27 Comparación de fósforo foliar en plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) micorrizadas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización durante la fase de aclimatación	51
Figura 3.28 Potasio foliar en plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación	53
Figura 3.29 Magnesio foliar en plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación	55
Figura 3.30 Comparación de magnesio foliar en plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) micorrizadas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización durante la fase de aclimatación	56

ANEXOS

Anexo 1 Análisis de nutrientes del sustrato utilizado en aclimatación de plantas de banano (<i>Musa paradisiaca</i>) con HMA	75
---	-----------

RESUMEN

Entre las técnicas biotecnológicas utilizadas para contribuir a la mejora vegetal del banano se encuentra el uso de microorganismos benéficos del suelo, como los hongos micorrícico-arbusculares (HMA) que establecen una asociación mutualista simbiote con la planta, mejoran el desarrollo y nutrición de la misma. Estos hongos también estimulan la producción de hormonas de crecimiento e incrementan la resistencia frente a patógenos y situaciones de estrés. Se sabe que la intervención temprana con micorrizas acentúa los efectos benéficos en las plantas de banano, aprovechando eficientemente los nutrientes proporcionados por la fertilización. Se realizó un muestreo en diferentes lotes de plantaciones de banano en el que se aislaron, identificaron y cuantificaron las esporas de HMA. Se estandarizó un protocolo de propagación de HMA nativos de la zona con un sustrato, compuesto por suelo de cultivo de banano, suelo franco arenoso y turba, con el objeto de asegurar los beneficios que puede presentar su propio biofertilizante. Se realizaron evaluaciones de la población y porcentaje de colonización a los 0, 45, 90 y 200 días, en los cuales se observó un crecimiento progresivo, incrementando de 2,8 a 36,6 esporas de micorrizas por gramo de suelo, alcanzando un porcentaje de colonización del 77%. En ese sentido, se ha estandarizado una técnica eficaz, sencilla y de bajo costo, para la multiplicación de micorrizas propias del cultivo de banano. Posteriormente se realizó un ensayo de aclimatación de plantas cultivadas in vitro cuyo objetivo fue determinar si las diferentes dosis de HMA, en interacción con distintos porcentajes de fertilización, influyen en el crecimiento de las plantas de banano durante la fase de aclimatación. Las plantas se evaluaron después de tres meses y se determinó que las mayores dosis del biofertilizante con micorrizas (400-800g) con la máxima fertilización (100%) contribuyen al aumento de la altura, perímetro, área foliar, biomasa aérea y radical. Los valores foliares de P, K y Mg en plantas micorrizadas fueron significativos en contraste con plantas no micorrizadas. En nuestro ensayo demostramos que la inoculación temprana de micorrizas en plantas micropropagadas de banano, puede ser utilizada como una herramienta biotecnológica para el mejoramiento del desarrollo y nutrición del cultivo de banano.

ABSTRACT

Among the biotechnological techniques used to help improve the banana plant is the use of beneficial soil microorganisms such as arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) which establish a mutualistic symbiotic association with the plant, improve the growth and nutrition of the same. These fungi also stimulate the production of growth hormones and increase resistance to pathogens and stress. It is known that early intervention with mycorrhizal emphasizes the beneficial effects on banana plants, using efficiently the nutrients provided by fertilization. Sampling in different batches of banana plantations that were isolated, identified and quantified AMF spores. We standardized a protocol for propagation of AMF native to the area with a substrate consisting of banana cultivation soil, sterilized sandy loam soil and peat in order to ensure the benefits you can submit your own bio-fertilizer. Evaluations were conducted of the population and colonization percentage at 0, 45, 90 and 200 days, which showed a steady growth, increasing from 2,8 to 36,6 spores per gram of soil mycorrhizae, reaching a percentage colonization of 77%. In this regard, we have standardized an effective, simple and low cost to the multiplication of mycorrhizal own banana crop. Subsequently conducted a trial of acclimation of plants cultivated in vitro whose objective was to determine whether different doses of HMA (using the previously produced biofertilizer) in interaction with different percentages of fertilization affect the growth of banana plants during acclimatization. Plants were evaluated after three months and found that higher doses of mycorrhizal biofertilizer (400-800g) with the maximum fertilization (100%) contribute to increasing the height, circumference, foliar surface, shoot and root biomass. The values of foliar P, K and Mg in mycorrhizal plants were significant in contrast to non-mycorrhizal plants. Early mycorrhizal inoculation of micropropagated banana plants can be used as a biotechnological tool to improve the development of this crop.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1. Formulación del problema

El cultivo de banano es uno de los principales productos de exportación en el Ecuador, ya que cuenta con una superficie cultivada de 215.521 ha en todo el país, ubicándolo en el primer puesto en todo el mundo por exportar 5'270.690 de toneladas al año (FAO, 2008).

La industria bananera es de gran importancia para el desarrollo socioeconómico en la región de América Latina por lo que es necesario revisar y modificar el sistema actual de producción de banano, empleando tecnologías que tiendan a reducir la cantidad de agroquímicos utilizados en la producción (Riveros *et al.*, 2006). Por esta razón, es necesario emplear estrategias que disminuyan estos efectos nocivos como el uso de microorganismos del suelo entre los que se destacan las micorrizas (López *et al.*, 2005).

Los Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) son asociaciones simbióticas mutualistas entre las raíces de la planta y los hongos específicos de la tierra, formándose en el 90% de las plantas terrestres (Smith & Read, 1997). Las micorrizas pueden ofrecer varios beneficios a la planta huésped, incluyendo mejora de la nutrición mineral (sobre todo de fosfato) y el crecimiento vigoroso de la planta. Los HMA crecen no sólo dentro de las raíces de la planta sino también en la tierra circundante (Schnepf *et al.*, 2008).

Las micorrizas al establecerse en la zona cortical del sistema radical de las plantas tienen la característica de formar estructuras internas, como los arbusculos. Estas estructuras fúngicas se generan en el interior de las células corticales y su papel es contribuir incrementando la capacidad de absorción e intercambio de nutrientes entre ambos participantes de la simbiosis. Otro tipo de estructuras características de estos hongos son las vesículas, cuya función es almacenar reservas para el hongo, las cuales se utilizan en situaciones de limitación de energía para el crecimiento de los mismos. Ambas estructuras son originadas por micelio intra e intermatricial, su importancia es la

de translocar los gránulos de polifosfato a los sitios de mayor demanda de fósforo (Alarcón y Ferrera, 2000).

El carácter simbiote obligado por parte de los HMA, implica que su reproducción dependa del uso de plantas huésped, en las que pueda completar su ciclo de vida y, finalmente producir esporas y otros propágulos (conjunto de esporas, raíces micorrizadas e hifas). La planta huésped debe sembrarse en un sustrato adecuado, que presente buena capacidad de intercambio catiónico, aireación y retención de humedad. Además el sustrato, debe permitir una producción abundante de propágulos, ser de fácil manipulación y de bajo costo (Usuga *et al.*, 2008 a).

El cultivo de Banano es ideal para la aplicación de HMA por lo que presenta durante sus primeras fases de desarrollo una buena capacidad micotrófica y una dependencia micorrícica moderada (40-50%) (Jaizme-Vega y Rodríguez-Romero, 2002). Por otra parte, se multiplica *in vitro* de modo rutinario y su fase *ex vitro* es ideal para la aplicación de HMA (Jaizme-Vega y Rodríguez-Romero, 2004). La micorrización en la fase *ex vitro* ha permitido registrar mejoras cuantificables en el crecimiento y nutrición de esta especie, incluso bajo las condiciones de fertilización estándar de los viveros comerciales (Jaizme-Vega, *et al.*, 2002).

1.2. Justificación del problema

El banano comprende uno de los mayores productos de exportación en el país, por ese motivo es necesario aplicar nuevas tecnologías ambientalmente amigables y de producción masiva, que ayuden a cumplir con la demanda de calidad internacional.

El conocimiento de técnicas biotecnológicas en el ámbito ambiental, es en la actualidad una de las herramientas que presenta mayor interés, ya que se están desarrollando biofertilizantes mediante la utilización de microorganismo y estas técnicas implican mejor cuidado del suelo con altos beneficios para la producción agraria.

La micropropagación es una de las técnicas usada fundamentalmente para la propagación comercial en vivero de plantas de interés agronómico, en el que se usan cultivos vegetales estériles en la multiplicación de cultivares. Aunque los beneficios de esta técnica son varios, existen problemas en la transferencia de plántulas *in vitro* a condiciones *ex vitro*. En esta fase se han registrado diferentes grados de mortalidad, dependiendo del cuidado y calidad de los cultivares. Esta mortalidad se debe a las limitaciones para resistir el estrés del transplante, cutícula poco desarrollada, estomas no funcionales, un hábito heterotrófico y un sistema radical débil. Es por esto que la aplicación de micorrizas arbusculares como biofertilizante en la fase de aclimatación (*ex vitro*) tiene un efecto beneficioso en el desarrollo de la planta, ya que produce cambios físicos, bioquímicos y fisiológicos en las raíces, contribuyendo a aliviar el estrés de tipo biótico y abiótico.

El presente trabajo permitirá conocer la interacción de los Hongos Micorrícicos Arbusculares y fertilizantes durante la fase de aclimatación para el desarrollo, crecimiento y adaptabilidad con plantas de banano.

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general del proyecto

Estudiar el efecto de la interacción entre los Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) y la fertilización, sobre el crecimiento y desarrollo de plantas micropropagadas de banano (*Musa paradisiaca*) durante la fase de aclimatación.

1.3.2. Objetivos específicos del proyecto

- Cuantificar el número de esporas de diferentes haciendas de la Plantación HDINEAGROS (Machala).
- Propagar y establecer el número de esporas por gramo de suelo de HMA asociados a plantas de banano, producidas en la cama de propagación.
- Determinar la mejor dosis de inóculo de micorrizas en plántulas micropropagadas de banano (*Musa paradisiaca*) durante la fase de aclimatación.

- Determinar la mejor dosis de fertilizante en plántulas micropropagadas de banano (*Musa paradisiaca*) durante la fase de aclimatación.
- Determinar el porcentaje de supervivencia, tamaño de la planta, biomasa aérea, crecimiento (foliar y radical) y la capacidad de absorción de fósforo en plántulas inoculadas con HMA y sin HMA.
- Identificar y evaluar el grado de colonización micorrícica en las plántulas micropropagadas de banano (*Musa paradisiaca*) mediante tinción de raíces.
- Determinar el porcentaje de dependencia micorrícica en plántulas micropropagadas de banano (*Musa paradisiaca*) durante la fase de aclimatación.

1.4. Marco teórico

1.4.1. El cultivo de banano (*Musa paradisiaca*)

1.4.1.1. Características generales del cultivo de banano

El banano pertenece a la familia Musaceae, al orden de las Zingiberales y género *Musa*. La planta de banano es herbácea de tamaño variable según la especie (2m a 5m) (Carrillo, 2004).

El cormo constituye el verdadero tallo del banano y por medio del cual se producen los hijos o rebrotes. Los rebrotes se originan a través de una yema vegetativa que emerge del cormo (planta madre). La zona externa o cortical del cormo cumple una función de protección, mientras el área central o activa da origen al sistema aéreo, el sistema radical y rebrotes (Cayón, 2004).

El sistema radicular posee raíces superficiales, de color blanco cuando emergen y se tornan amarillentas y duras con el paso del tiempo, su diámetro oscila entre 5mm y 8mm, la longitud varía y puede llegar de 2,5m a 3m en crecimiento lateral y hasta 1,5m de profundidad (Núñez, 1989).

El pseudotallo es la parte aérea de la planta (Figura 1.1), formado por las vainas envolventes de las hojas. Las hojas nuevas son las internas, que deben abrirse

paso para salir y extender las láminas y se presentan como rollos apretados en el centro del pseudotallo (Carrillo, 2004).

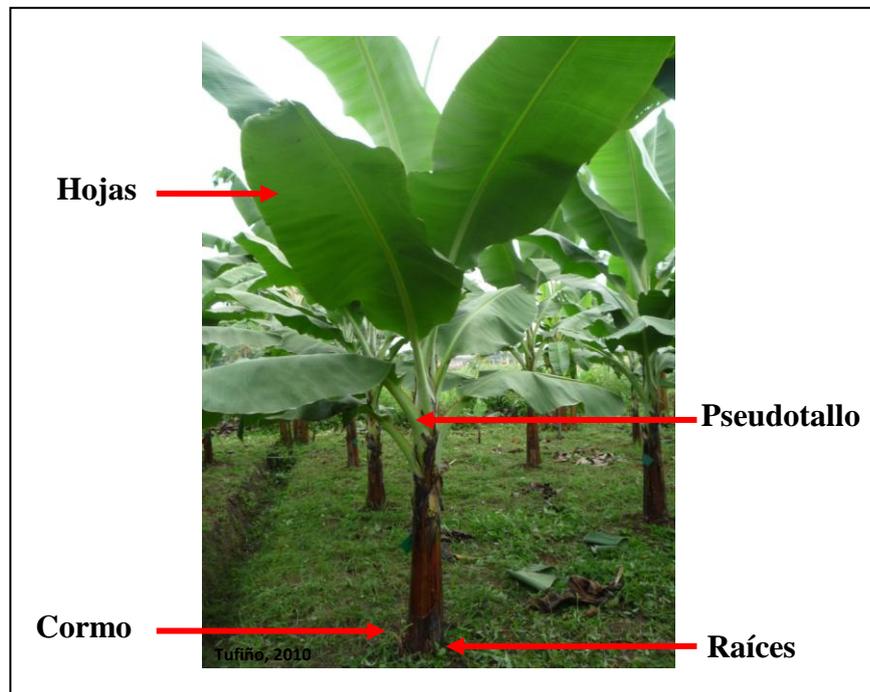


Figura 1.1 Partes de la planta de banano

Durante la etapa inicial de desarrollo, el banano debe construir el sistema de raíces para los procesos de absorción y las hojas para la asimilación fotosintética; una vez formadas estas estructuras, almacena carbohidratos y otras sustancias en los cormos para la emisión de rebrotes, la floración y el llenado posterior de los frutos. La planta debe formar simultáneamente el área foliar y las raíces necesarias para mantener un balance continuo entre el desarrollo de estos órganos (Cayón, 2004).

El cultivo de banano se desarrolla en temperaturas que van desde los 19°C a 35°C, siendo lo óptimo 25°C. Debido a que estas plantas poseen un sistema radical superficial, requieren una alta cantidad de agua y suelos bien provistos de potasio. Presentan tolerancia a la acidez del suelo oscilando en un rango de pH que va de 4,5 a 8,0 (Chinchilla, *et al.*, 2004).

1.4.1.2. Necesidades nutricionales del cultivo de banano

El banano requiere de elementos químicos indispensables para el crecimiento y producción de la planta. Los elementos nitrógeno, potasio, fósforo, azufre, calcio y magnesio son requeridos en mayores cantidades, en cambio el zinc, boro, cobre, hierro, manganeso y molibdeno son requeridos en muy bajas cantidades (Carrillo, 2004).

El *nitrógeno (N)* es considerado uno de los elementos de mayor importancia en la nutrición de banano, por su participación en la estructura de las proteínas y la formación de la molécula de clorofila. Su deficiencia podría marcar un fuerte retraso en el desarrollo de la planta, por ser componente de vitaminas de importancia extraordinaria para el crecimiento del banano (López y Espinosa, 1995).

El *fósforo (P)* es un elemento móvil dentro de la planta por lo que su requerimiento es bajo, este elemento forma parte de los ácidos nucleicos, los fosfolípidos, las coenzimas NAD y NADP y, más importante aún, forma parte del ATP. La etapa de más rápida absorción de P por el banano ocurre en los primeros cinco meses de vida de la planta (López y Espinosa, 1995).

El *potasio (K)* debido a su acumulación en la fruta y el resto de la planta es el nutriente más importante en la producción de banano, además cataliza reacciones dentro de la planta como la respiración, la fotosíntesis, formación de clorofila y la regulación del movimiento del agua. La deficiencia de este elemento produce clorosis en las hojas y deformaciones del racimo, por su función ligada al transporte y acumulación de azúcares dentro de la planta permitiendo el llenado de la fruta (López y Espinosa, 1995).

El *azufre (S)* es otro elemento importante en el cultivo de banano, por su participación en la estructura de las proteínas, como integrante de aminoácidos sulfurados cistina, cisteína y metionina. Los síntomas de deficiencia aparecen en las hojas jóvenes las cuales se tornan de color amarillento, porque una de las funciones del azufre también está ligada con vitaminas sulfuradas como la biotina, la tiamina y la coenzima A (López y Espinosa, 1995).

El *calcio (Ca)* se requiere en el cultivo de banano en cantidades moderadas, este elemento es activador de enzimas y actúa en el importante proceso de división celular, estimulando de esta forma el desarrollo de raíces y hojas (López y Espinosa, 1995).

El *magnesio (Mg)* es requerido en suelos cuyo contenido es bajo, es importante por su presencia en el centro de la molécula de clorofila (sin Mg la fotosíntesis no podría realizarse). Además funciona como activador del metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas e interviene también en el transporte de los fosfatos (López y Espinosa, 1995).

Los microelementos como el zinc, cobre, hierro actúan como activadores de diversas enzimas, mientras que la función del boro en el metabolismo de la planta no es muy claro aún, existe evidencia indirecta de que participa en el transporte de azúcares. Por otro lado el manganeso participa en los procesos de respiración y el metabolismo del nitrógeno. El molibdeno es necesario para la formación de la enzima que se encarga de reducir el nitrato a amonio en la planta (Carrillo, 2004).

1.4.1.3. Importancia del cultivo de banano

El banano es importante por su alto contenido de almidón (80% peso seco de la pulpa), los dos principales componentes de este almidón son la amilosa y la amilopectina. Los azúcares representan sólo el 1,3% del total de peso en seco, pero se eleva hasta alrededor del 17% en la fruta madura. El alto contenido de azúcar en un banano maduro es inusual en una fruta fresca, es casi el doble de la energía suministrada de una manzana y casi tres veces mayor que la de los cítricos (Sharrock & Lusty, 2000).

La pulpa del banano inmaduro tiene un total del 3,5% de fibra en la materia seca y 3,5 % de proteína, el contenido de grasa es de 0,5%. Los bananos son una buena fuente de vitaminas A (betacaroteno), B (tiamina, niacina y riboflavina y B6) y C (ácido ascórbico) (Sharrock & Lusty, 2000).

El Ecuador es el mayor exportador de banano del mundo y su presencia en el comercio mundial va en aumento. Las exportaciones crecieron de un millón de toneladas en 1985 a 3,6 millones de toneladas en el 2000. Este desarrollo se produjo por el crecimiento de la superficie plantada y, en menor medida, por el incremento de los rendimientos por ha (Arias, 2004).

La producción en el Ecuador se concentra en las provincias costeras del Guayas, El Oro y Los Ríos (FAO, 2004), siendo Machala la que posee la mayor extensión de cultivo de banano por lo que es llamada “La capital mundial del banano”.

1.4.2. Hongos Micorrícicos

Micorrizas es una asociación mutualista simbiótica (no patogénica) entre un hongo del suelo y una planta superior; la palabra micorriza proviene del griego *mycos* (hongo) y *rhiza* (raíz) fue reconocido por Frank (1885), para describir la unión de dos organismos diferentes que forman un solo órgano microbiológicamente, donde ambos se benefician (Aguilera *et al.*, 2007; Salamanca y Silva, 1998).

Las micorrizas son tan antiguas como las propias plantas y se conoce su existencia desde hace más de cien años; estimándose que aproximadamente el 95% de las especies vegetales conocidas, establecen de forma natural y constante este tipo de simbiosis con hongos del suelo (Aguilera *et al.*, 2007).

Se conocen dos grupos de Micorrizas de acuerdo a características morfológico funcionales: Endomicorrizas y Ectomicorrizas.

Las Ectomicorrizas forman una simbiosis mutualista extracelular entre el hongo y la raíz de plantas leñosas, y se caracterizan por tener un manto fúngico y una red de Hartig entre las células epiteliales y corticales de la raíz (Varma *et al.*, 1998).

Las Endomicorrizas colonizan intracelularmente el córtex radical por lo que no hay manto externo que pueda verse a simple vista. Las hifas se introducen inicialmente entre las células de la raíz, pero luego penetran en el interior de éstas. Dentro de este

grupo se encuentran otras micorrizas: Monotropoide, Orquidiode y Ericoides (Aguilera *et al.*, 2007).

La micorriza arbuscular es la más antigua y probablemente se originó hace 350 o 460 millones de años (Smith & Read, 1997). Son simbioses obligados perteneciente a la división: Eumycota, subdivisión: Zygomycotina, clase: Zygomycetes, orden: Glomales (Aguilera *et al.*, 2007).

La colonización de este tipo de micorriza es intracelular en la corteza de la raíz por medio de estructuras especializadas denominadas arbusculos, que actúan como órganos de intercambio de nutrientes entre la célula vegetal y el huésped (Aguilera *et al.*, 2007). Algunos géneros de estos hongos forman también estructuras almacenadoras de energía (lípidos y azúcares) llamadas vesículas (Salamanca y Silva, 1998).

El 80% de las especies descritas forman tanto arbusculos como vesículas (Smith & Read, 1997). Por ese motivo se conoció a la simbiosis como vesículo-arbuscular, sin embargo no todas las especies forman vesículas, por lo que en la actualidad la asociación se conoce como Micorriza Arbuscular (MA) (Aguilera *et al.*, 2007).

En la asociación micorrícica arbuscular se transfiere el 20% del carbono fijado fotosintéticamente desde la planta hasta los HMA. Las hifas intrarradicales incorporan hexosa de origen vegetal, que se convierte a las formas de almacenamiento típica, trehalosa y glucógeno, pero el micelio extrarradical es incapaz de absorber estos azúcares (Declerck *et al.*, 2005).

Los HMA ayudan a la planta a obtener nutrientes del suelo (ya que aumenta su capacidad de absorción al explorar mayor volumen de suelo) incrementando también la tolerancia de la planta a estrés biótico (patógenos) y abiótico (hídrico, salino y metales pesados) (Smith & Read, 1997).

1.4.2.1. Crecimiento de los Hongos Micorrícicos Arbusculares

Existen tres fases de crecimiento del hongo horas antes de la colonización de la raíz: Germinación de la espora, crecimiento de la hifa a través del suelo, reconocimiento y formación del apresorio (Podila & Douds, 2000).

a) Germinación de la espora

Las esporas pueden ser germinadas en el suelo o en medios de agar, y producen un micelio. La germinación puede producirse en tres formas diferentes: desarrollo de “escudos de germinación” dentro de las paredes internas de la espora, directamente a través de la pared de las esporas y por medio de rebrote a través de la fijación de hifas (Smith & Read, 1997).

b) Crecimiento de la hifa

Posteriormente a la germinación de la espora, se produce el crecimiento de las hifas a partir de propágulos (conjunto de esporas, raíces micorrizadas e hifas) que se encuentran cerca del sistema radical susceptible. Este puede ser incrementado algunas veces debido a que los exudados de la raíz podrían proporcionar sustratos adecuados para el desarrollo de las hifas (Aguilera *et al.*, 2007).

c) Reconocimiento y formación del apresorio

El contacto entre las micorrizas y la raíz provoca reordenamientos morfológicos en ambos, que se caracterizan por la diferenciación de las hifas en apresorios y la biogénesis en el compartimento intracelular de la epidermis, preparando la penetración del hongo. Los estudios de procesos celulares relacionados con esta etapa de desarrollo, parecen involucrar al calcio en las primeras interacciones entre simbiontes micorrícicos (Azcón-Aguilera *et al.*, 2009).

1.4.2.2. Colonización de los Hongos Micorrícicos Arbusculares

La colonización (Figura 1.2) empieza una vez que haya germinado la espora, desarrollado la hifa y formado el apresorio.

El apresorio alargado se alinea perpendicularmente a los ejes longitudinales de las células epidérmicas, una hifa colonizadora de gran diámetro penetra en las células epidérmicas adyacentes (Smith & Read, 1997).

Cuando la hifa penetra la raíz, generalmente entre las células epidérmicas, se dispersa también intracelularmente a lo largo de la corteza, alcanzando la segunda capa de células corticales (Aguilera *et al.*, 2007).

Como respuesta de las células epidérmicas se desencadena el reposicionamiento del núcleo central en las cercanías del sitio de contacto, seguido por la reorganización del retículo endoplasmático, el citoesqueleto y la polarización de los microfilamentos (Azcón-Aguilera *et al.*, 2009).

Para la formación de la estructura del arbúsculo, la hifa degrada la pared de la célula e invagina la membrana ramificándose luego dicotómicamente muchas veces (Aguilera *et al.*, 2007).

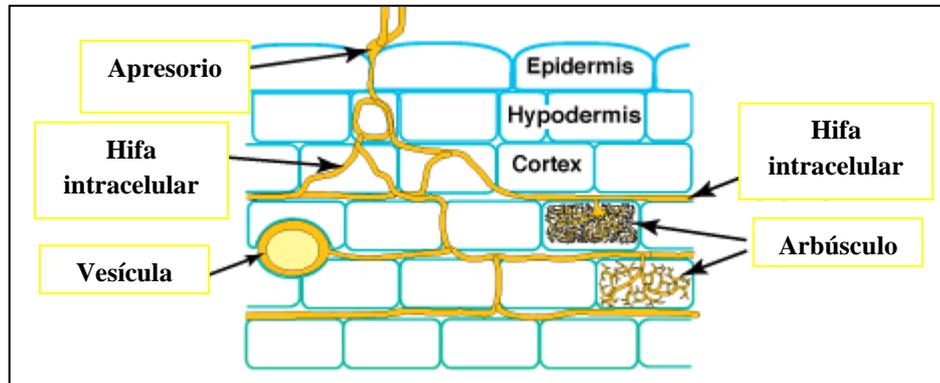


Figura 1.2 Esquema de la colonización micorrízica. Adaptado de: Mark Brundrett, 2008.

1.4.2.3. Propagación de esporas de Hongos Micorrízicos Arbusculares

En la actualidad existen inóculos comerciales formulados con una sola especie de HMA o un consorcio de los mismos, en su mayoría originarios de la multiplicación en maceta. Pero estos productos no actúan de manera óptima cuando se aplican bajo diferentes condiciones agro-climáticas (Declerck *et al.*, 2005).

Los HMA por su carácter de simbioses obligados, es imposible reproducirlos en ausencia de raíces vivas, lo que supone una considerable limitación en la producción de inóculo a gran escala. No obstante, en los últimos años, se han descrito varios sustratos y procedimientos para la producción de inóculos (Rodríguez-Romero y Jaizme-Vega, 2007 b).

La planta huésped debe sembrarse en un sustrato adecuado, que brinde buena capacidad de intercambio, aireación y retención de humedad. El sustrato además, debe permitir producción abundante de propágulos y esporas nativas de cultivo de banano (Usuga *et al.*, 2008 a). Utilizar sustratos estériles con proporciones óptimas de suelo, mezcla de materiales orgánicos e inorgánicos, permite conseguir una mejor estructura del suelo (Salamanca y Cano, 2005). La tecnología es simple, barata y requiere de poca inversión (Varma *et al.*, 1998).

1.4.2.4. Dependencia micorrícica relativa

La dependencia micorrícica relativa (DMR) ha sido definida por Gerdemann (1975) como el grado necesario de micorrización de las plantas para producir mayor crecimiento o rendimiento en determinado nivel de fertilización del suelo (Jaizme-Vega *et al.*, 2002).

La magnitud de la respuesta se sabe que varía entre las diferentes especies vegetales y se atribuye principalmente a la capacidad de las mismas para absorber fósforo de suelos donde su disponibilidad es baja. Las propiedades morfológicas de la raíz como: su geometría, tasa de crecimiento, densidad y la longitud de los pelos radicales a menudo se han utilizado como indicadores de la dependencia micorrícica en las plantas (Declerck *et al.*, 1995; Menge *et al.*, 1978).

La DMR fue establecida según la fórmula propuesta por Plenchette *et al.* (1983) donde se expresa la diferencia entre el peso seco de la planta micorrizada y la no micorrizada sobre el peso seco de la planta micorrizada por cien (Elsen *et al.*, 2003; Menge *et al.*, 1978).

La dependencia micorrícica de plantas tropicales ha sido reportada en banano, aguacate, papaya y piña, estos frutos fueron sensibles a los HMA, cuando el inóculo consistió en especies de *Glomus* (Elsen *et al.*, 2003). La yuca, el frijol y el cacao también demostraron ser altamente dependientes de los hongos micorrícicos (Declerck *et al.*, 1995).

1.4.3. Micorrización en la Fase de Aclimatación de Banano

El banano es uno de los cultivos hortícolas importantes cultivados extensamente en el Ecuador. La utilización de cultivo de tejidos vegetales forma una herramienta importante y ventajosa para la generación rápida de clones de élite (Thaker & Jasrai, 2002). Aunque esta técnica tiene varias aplicaciones con éxito, aún existen ciertos inconvenientes, en su fase post-vitro que limitan su uso generalizado, especialmente con índices de alta mortalidad y limitaciones para resistir el estrés del trasplante, incluyendo pobre desarrollo de la cutícula, estomas no funcionales, hábitos heterotróficos y pobre desarrollo de raíces (Usuga *et al.*, 2008 a).

La inoculación en plantas micropropagadas con HMA durante la fase de aclimatación, ha demostrado beneficios en numerosas especies de plantas tropicales como: papaya, aguacate, piña y banano (Declerck *et al.*, 2002 a). La inoculación con HMA de las plantas micropropagadas mejora el crecimiento y la nutrición, así como también ayuda a acortar el proceso de aclimatación. Los conocimientos recientes y la experiencia que se han acumulado en este campo, han propuesto que la inoculación debe hacerse lo antes posible para obtener los máximos beneficios a un bajo costo (Varma *et al.*, 1998).

La preinoculación de plantas micropropagadas parece ser el manejo más apropiado para introducir HMA en el campo. Las ventajas potenciales son numerosas, en primer lugar, los HMA ya se encuentran en las raíces y, en consecuencia, tendrán una ventaja competitiva sobre los patógenos del suelo. En segundo lugar, un mayor crecimiento de la planta puede dar como resultado una reducción del tiempo de la fase de invernadero. Por último, la cantidad de propágulos de HMA requeridos para inocular

plantas jóvenes (con pocas raíces) es menor que para plantas más viejas, resultando en la reducción de los costos del inóculo (Delvaux *et al.*, 1998).

1.4.3.1. Efectos de la Micorrización en la Fase de Aclimatación de Banano (*Musa paradisiaca*)

La capacidad de los hongos micorrícicos para mejorar la adaptabilidad y desarrollo de las plantas, como se ha mencionado anteriormente no se debe únicamente al beneficio nutricional de la simbiosis, sino a la mejora del sistema fisiológico integral de la planta (Salamanca y Silva, 1998; Smith & Read, 1997).

El banano es una especie micotrófica, que se beneficia de la presencia de los hongos micorrícicos arbusculares (Jaizme-Vega y Rodríguez-Romero, 2004). A continuación se detallan los efectos de la aplicación de HMA en banano:

a) Efecto en el crecimiento de la biomasa aérea

Existen trabajos donde se ha evaluado el efecto de varios HMA sobre el desarrollo y la nutrición de las variedades de banano, durante las fases de enraizamiento y aclimatación de este cultivo (Jaizme-Vega, 1998).

Thaker & Jasrai (2002) observaron el aumento progresivo en los niveles de clorofila de hojas de banano en plantas con micorrizas con respecto a plantas no micorrizadas. Este incremento junto con el mayor desarrollo del área foliar total, fue atribuido a los HMA, que conducen a mejorar la eficiencia fotosintética de la hojas.

Barbosa *et al.* (2002) encontraron que la inoculación con *Glomus clarum* en plantas micropropagadas de banano, presentaban un incremento en la biomasa aérea y aumento en el número de hojas, a los 65 días de aclimatación.

b) Efecto en la biomasa radical

Jaizme-Vega (1998) encontraron que el efecto más importante de la inoculación por HMA en el sistema radicular de las plantas de banano, fue el crecimiento de las raíces adventicias y el mayor número de estas raíces por planta. Estas

transformaciones permiten una raíz más densa, con mayor poder de absorción de nutrientes y aumentan la capacidad de explorar los horizontes fértiles así como de anclar la planta al suelo del cultivo.

La extensión de las hifas extrarradicales de las micorrizas, ocasiona por un lado incremento del área de absorción y por otro, mayor exploración de volumen de suelo que por sí misma no podría alcanzar. Además, que el sistema radical de las plantas responde a condiciones localizadas del suelo y frecuentemente muestra incremento en la proliferación de raicillas en zonas ricas en nutrientes (Aguilera-Gómez *et al.* 2008).

c) Efecto en condiciones de sequía

Los HMA promueven resistencia a deficiencias hídricas en la planta huésped, como consecuencia de diferentes mecanismos, que van desde una respuesta física hasta una respuesta a nivel bioquímico. Las hifas extrarradicales incrementan la zona de captación de agua e incluso pueden tomar agua del suelo (Ramos-Zapata y Guadarrama, 2004).

Se ha observado que las plantas micropropagadas micorrizadas muestran mejor relación con el agua y resisten a condiciones de sequía (Thaker & Jasrai, 2002).

d) Efecto en la rizósfera y la absorción de nutrientes

Los HMA gracias a su micelio extrarradical que crece en la rizósfera, mejoran las propiedades físicas del suelo (como su estructura) produciendo una glicoproteína llamada glomalina, que posee características químicas que favorece la agregación del suelo (Cuenca *et al.*, 2007). Además aumentan la absorción de nutrientes, debido a que el micelio es más pequeño en diámetro y puede penetrar las partículas del suelo, que no son accesibles a los pelos radicales, de este modo los nutrientes se canalizan a la planta (Thaker & Jasrai, 2002).

En plantas micropropagadas los HMA han demostrado mejorar la absorción de nutrientes, particularmente por su mayor superficie de captación de iones de difusión lenta como es el PO_4^{-3} (Stavros *et al.*, 2010; Quilambo 2003; Smith & Read, 1997; Blanco y Salas, 1997), nutrientes inmóviles como el K (Stavros *et al.*, 2010), Ca, Mn,

Fe, Mg (Thaker & Jasrai. 2002), Cu y Zn (Robson *et al.*, 1994); y nutrientes altamente móviles como el NO^{-3} (Quilambo, 2003; Stavros *et al.*, 2010).

Uno de los nutrientes que más se ha estudiado por su absorción mediada por micorrizas, es el fósforo. En plantas de banano micorrizadas hay estudios que muestran mejor asimilación de este elemento poco móvil en el suelo que las plantas no micorrizadas (Barbosa *et al.*, 2002; Declerck *et al.*, 2002 a; Jaizme-Vega, 1998).

Jaizme-Vega & Pinochet (1997), encontraron niveles altos de N en plantas de banano colonizadas con *G. aggregatum* y *G. mosseae*, siendo este elemento muy importante para el desarrollo de plantas de banano micropropagadas. Por otra parte el estudio de la interacción entre micorrizas y rizobacterias (*Bacillus*) aumenta la absorción de N, P y K en plantas de banano en fase de aclimatación (Rodríguez-Romero *et al.*, 2005).

e) Efecto en la resistencia a patógenos

Se ha demostrado que los HMA aumentan la tolerancia del banano a los patógenos del suelo, nematodos y hongos. Una inoculación micorrícica temprana acentuó la tolerancia del banano al nematodo *Radopholus similis* (Delvaux *et al.*, 1998).

Jaizme-Vega & Pinochet (1997) alegan que la micorrización temprana parece aumentar la tolerancia de las plantas estimulando la nutrición y reduciendo el porcentaje de lesiones causadas por el nematodo *Pratylenchus goodeyi*. Por otra parte Elsen *et al.* (2002) sugieren que el mecanismo de supresión de *Glomus* sobre el nematodo nodulador *Meloidogyne javanica* en plantas micropopagadas de banano, se podría deber a cambios bioquímicos en los tejidos de las plantas (aumento de quitinasa, aminoácidos, peroxidasa y fitoalexinas).

En cuanto a patógenos fúngicos de plantas de banano, existen estudios realizados por Jaizme-Vega *et al.* (1998), en relación con el hongo vascular *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* que confirman que la micorrización temprana induce un descenso de la severidad de la enfermedad y un aumento en el desarrollo de la planta. Por otra parte los estudios desarrollados por Declerck *et al.* (2002 b) con otro hongo

productores de podredumbre de raíz (*Cylindrocladium spathiphylli*) demuestran que en presencia de los HMA disminuye la intensidad de los daños que producen.

1.5. Hipótesis

La interacción entre las diferentes dosis de HMA y la fertilización, mejoran el porcentaje de supervivencia, tamaño de la planta, biomasa aérea, crecimiento (foliar y radical) y la capacidad de absorción de fósforo en plantas micropropagadas de banano (*Musa paradisiaca*) durante la fase de aclimatación.

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Participantes

El ensayo de aclimatación de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) con hongos micorrícicos arbusculares (HMA) fue parte del proyecto “Aplicación de hongos micorrícicos arbusculares para el desarrollo, estabilización y productividad del cultivo de Banano (*Musa paradisiaca*)”, cuyo diseño se llevo a cabo en el laboratorio de Microbiología del Suelo (Bioquímica), del Centro de Investigación Científica de la Escuela Politécnica del Ejército y los ensayo de vivero se realizaron en las Haciendas de HDINEAGROS, Machala. La tesis fue dirigida por la Dra. María Emilia Medina y la codirección por la Dra. Karina Proaño. El proyecto contó con la participación de la Ing. Estefanía Espín y la Srta. Tania Villarreal.

2.2. Zona de Estudio

El ensayo fue ejecutado en la hacienda Central de HDINEAGROS, que se encuentra ubicada 00° 20, 695S 078°12, 052O altitud 3952m. La evaluación de las plantas micorrizadas se realizó en el Centro de Investigaciones Científicas de la Escuela Politécnica del Ejército que se encuentra ubicado a una latitud: S 0° 20' / S 0° 10' y Longitud: W 78° 30' / W 78° 15' a 2280 msnm, en Sangolquí-Ecuador.

2.3. Período de investigación

La investigación se realizó en el período de un año, iniciándose el trabajo en el mes de enero del 2010 y finalizando en el mes de diciembre de 2010

2.4. Selección de material vegetal y microbiológico

El material vegetal empleado fueron plantas micropropagadas *in vitro* de banano (*Musa paradisiaca*) variedad Williams, proporcionadas por el laboratorio de cultivo de tejidos de la Escuela Politécnica del Ejército.

Para la propagación de esporas nativas de micorrizas se realizó un muestreo y se seleccionó el que contenía la mayor población micorrícica de diferentes zonas de cultivos de Banano que posee HDINEAGROS. Las Haciendas evaluadas fueron: Brigada, Central, Juana Fernández, Pagua, Rosario, Herrera y Bolívar.

Se extrajeron muestras de suelo cercano a la raíz, hasta una profundidad de 30cm. Cada muestra tenía la cantidad de 1Kg aproximadamente.

2.5. Diseño Experimental

Se estableció un diseño completamente al azar (o Diseño de Bloques Completamente al Azar) con arreglo factorial 4x3, los factores a evaluar fueron:

- Factor 1: dosis de inóculo de micorrizas, en cuatro niveles:
 - 0 gramos de inóculo
 - 200 gramos de inóculo
 - 400 gramos de inóculo
 - 800 gramos de inóculo

- Factor 2: fertilización, en tres niveles:
 - Fertilización mínima (50% de la Fertilización recomendada)
 - Fertilización media (75% de la Fertilización recomendada)
 - Fertilización recomendada (100% de la Fertilización recomendada)

De la interacción de los factores se obtuvieron doce tratamientos a evaluar en el ensayo (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Tratamientos del ensayo

Nº	TRATAMIENTO
1	0 gramos de inóculo × Fertilización mínima (50% de la Fertilización recomendada)
2	0 gramos de inóculo × Fertilización media (75% de la Fertilización recomendada)
3	0 gramos de inóculo × Fertilización recomendada 100%
4	200 gramos de inóculo × Fertilización mínima (50% de la Fertilización recomendada)
5	200 gramos de inóculo × Fertilización media (75% de la Fertilización recomendada)
6	200 gramos de inóculo × Fertilización recomendada 100%
7	400 gramos de inóculo × Fertilización mínima (50% de la Fertilización recomendada)
8	400 gramos de inóculo × Fertilización media (75% de la Fertilización recomendada)
9	400 gramos de inóculo × Fertilización recomendada 100%
10	800 gramos de inóculo × Fertilización mínima (50% de la Fertilización recomendada)
11	800 gramos de inóculo × Fertilización media (75% de la Fertilización recomendada)
12	800 gramos de inóculo × Fertilización recomendada 100%

El tamaño de cada unidad experimental fue de 12 plantas de banano, con tres repeticiones por unidad experimental, con un total de 432 plantas.

Todos los datos fueron analizados por ANOVA y las medias se compararon por test de Duncan ($p < 0,05$), en el programa estadístico InfoStat versión 2010 (Di Rienzo *et al.*).

2.6. Propagación de esporas de Hongos Micorrízico Arbusculares (HMA) nativas de cultivo de banano

La propagación de las especies de HMA, se llevó a cabo en camas de propagación construidas con las siguientes dimensiones: 12m de largo, 1m de ancho y 0.45m de profundidad.

El sustrato consistió de los siguientes componentes:

- 50% de inóculo = 1200L (32 quintales)
- 20% de turba = 480L (7 quintales)
- 30% de suelo franco arenoso= 720L (23 quintales)

El suelo franco arenoso se esterilizó con agua hirviendo, se dejó enfriar durante una hora y posteriormente se homogenizó con los otros dos componentes.

Las micorrizas son simbioses obligados, y para reproducirse se necesitan de plantas huésped. Para ello se utilizaron dos especies: *Brachiaria toledo* y *Brachiaria decumbens*. Las semillas se desinfectaron con alcohol durante cinco minutos y posteriormente se enjuagaron con agua.

El sustrato se colocó en fundas negras de 9x14 pulgadas (con orificios en la parte inferior). En cada funda se aplicaron aproximadamente 60 semillas y se cubrieron con el sustrato.

El tiempo de propagación de las micorrizas es de aproximadamente 3 meses. Se realizaron evaluaciones a los 0, 45, 90 y 200 días, donde se determinaron el número de esporas por gramo de suelo y el porcentaje de colonización.



Figura 2.1 Fotografías del montaje de las camas de propagación de esporas de HMA nativas del cultivo de banano (*Musa paradisiaca*). a) camas de propagación, b) esterilización del suelo franco arenoso, c) siembra de semillas en maceta, d) finalización del montaje.

2.7. Aplicación de HMA durante la fase de aclimatación de plántulas de banano (*Musa paradisiaca*)

2.7.1. Preparación del inóculo

Se podaron las plantas huésped de la cama de propagación de esporas de micorrizas. Posteriormente se extrajeron cuatro costales de suelo, se homogenizaron el suelo y las raíces. Se pesaron diferentes dosis de inóculo (200g, 400g y 800g) y se distribuyeron en fundas previamente etiquetadas de acuerdo al tratamiento correspondiente.



Figura 2.2 Fotografías de la preparación del inóculo a base de esporas de HMA nativas de cultivo de banano (*Musa paradisiaca*). a) cama de propagación, b) suelo y raicillas del inóculo, c) homogenización del inóculo d) pesaje de las dosis de micorrizas.

2.7.2. Preparación del sustrato

Se mezcló tamo de arroz y arena de río en proporción de 5:1, posteriormente se desinfectó el sustrato con una mezcla de 20L de agua y 25cm³ del biopesticida natural (Intercept). El sustrato se distribuyó en fundas negras de 9x14 pulgada, previamente etiquetadas y agujereadas en el fondo.



Figura 2.3 Fotografía de la preparación del sustrato para ser utilizado en el trasplante de plantas micropropagadas de banano (*Musa paradisiaca*). a) mezcla de tamo de arroz y arena de río (5:1), b) desinfección del sustrato, c) distribución del sustrato en las fundas negras de 9x14 pulgada.

2.7.3. Aplicación de HMA y trasplante en plantas de banano (*Musa paradisiaca*)

El inóculo, previamente preparado, se mezcló con el sustrato, se humedeció y posteriormente se realizó un hoyo en el centro de la maceta.

A continuación se extrajeron las plantas del medio de cultivo cuidadosamente (evitando dañar de hojas y raíz). Finalmente se colocó la plántula en la maceta, sin dejar las raíces expuestas al ambiente. Las unidades experimentales fueron distribuidas en tres grupos de acuerdo al porcentaje de fertilización.

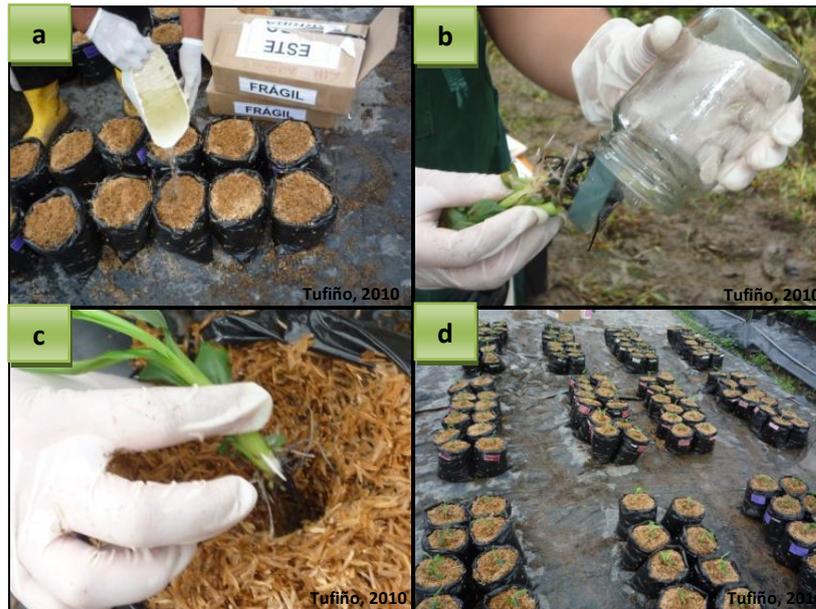


Figura 2.4 Fotografía del trasplante de plantas de banano. a) riego con agua para humedecer el sustrato, b) extracción de la planta del medio de cultivo, c) siembra de las plantas, d) arreglo de acuerdo al porcentaje de fertilización.

2.7.4. Mantenimiento

Las plantas se protegieron bajo un techo de 20% claridad y 80% obscuridad, durante las primeras 24h fueron regadas cada 2h con una solución preparada con 80 g de azúcar en 20 L de agua, para hidratar a las plántulas. Posteriormente continuaron con la fertilización que detalla la Tabla 2.2, de acuerdo a los diferentes porcentajes de fertilización.

Tabla 2.2 Programa de fertilización para aclimatación

FECHA	DETALLE	APLICACIÓN
1era SEMANA	Nitro-ned*	cada 2 horas todos los días
2da SEMANA	Nitro-ned*	cada 2 horas todos los días
3era SEMANA	Nitro-ned*	1 vez al día todos los días
4ta SEMANA	Nitro-ned*	1 vez al día todos los días
5ta SEMANA	Manrock Bioplus** Nitroned*	1 vez al día todos los días
6ta SEMANA	Manrock Bioplus** Nitroned*	1 vez al día todos los días
7ma SEMANA	Manrock Bioplus** Nitroned*	1 vez al día todos los días
8va SEMANA	Manrock Bioplus** Nitroned*	1 vez al día todos los días
9va SEMANA	Manrock Bioplus** Nitroned*	1 vez al día todos los días
10ma SEMANA	Manrock Bioplus** Nitroned*	1 vez al día todos los días
11va SEMANA	Manrock Bioplus** Nitroned*	1 vez al día todos los días
12va SEMANA	Manrock Bioplus** Nitroned*	1 vez al día todos los días

Nitroned* Fertilización 50% = 10g/20L. Fertilización 75% = 20g/20L. Fertilización 100% = 30 g/20L.

Manrock Bioplus** Fertilización 50%=20cm³/20L. Fertilización 75%=30cm³/20L. Fertilización 100%=40 cm³/20L.

2.7.5. Evaluación de las plantas de banano al finalizar la fase de aclimatación

Al finalizar la fase de aclimatación con micorrizas, se evaluaron la altura, el área foliar, el perímetro del tallo, el porcentaje de supervivencia, la biomasa aérea y radical, el porcentaje de colonización, el número de esporas y el porcentaje de nutrientes (foliar y en el suelo).

El crecimiento de la plantas se evaluó, determinando la altura midiendo desde la base del tallo hasta la hoja más baja. El crecimiento foliar se valoró contando el número de puntos contenidos en toda la hoja, que corresponde al área foliar. La biomasa aérea se determinó pesando hojas y tallo en una balanza electrónica constituyendo así el peso fresco. Posteriormente las plantas fueron guardada en fundas de papel etiquetado, para obtener el peso seco de las mismas. La biomasa radical se determinó pesando las raíces de la planta en una balanza electrónica y consecutivamente se realizó el mismo procedimiento para la biomasa aérea.

El contenido de nutrientes foliares fue determinado en el laboratorio de NEMALAB (ciudad de Machala), mientras que el contenido de nutrientes del suelo se analizó en los laboratorios de la Agencia Ecuatoriana de Seguridad de la Calidad del Agro (Agrocalidad).

Para evaluar la presencia de los HMA se utilizaron las siguientes técnicas:

2.7.5.1. Porcentaje de colonización

La tinción de raíces se realizó de acuerdo a la técnica estandarizada por Phillips and Hayman, 1970, modificada para raíces de banano. Las raíces almacenadas se lavaron y cortaron en pedazos de aproximadamente 1 cm de largo, se colocaron los segmentos de raíz en cassetes de tinción. Las raíces se expusieron en peróxido de hidrógeno al 1% durante 2,30 minutos y luego se enjuagaron en agua. Se precalentó agua en un vaso de precipitación hasta alcanzar los 90°C y se colocaron las raíces sumergidas en una solución de KOH al 10% en baño maría, durante 22 minutos. Posteriormente se lavaron las raíces con agua.

Las raíces se colocaron en una solución de HCl al 1% durante 3 minutos, luego (sin realizar un lavado de raíces) se eliminó el ácido, se añadió azul de tripano al 0.05% en lacto glicerol y se sometió al calor durante 20 minutos. Finalizado el tiempo de tinción se dejaron las raíces en lactoglicerol 1:1 durante 24 horas para retirar el exceso de colorante.

Los segmentos de las raíces teñidas, se colocaron en portaobjetos, se cubrieron y analizaron en microscopio (con el lente de 100X de aumento). Se evaluó la presencia de estructuras micorrícicas (hifas, arbusculos, vesículas) en cada campo observado y luego se estimó el porcentaje de colonización mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ colonización} = \frac{\text{NSC}}{\text{NTSO}} \times 100$$

Donde:

NSC = Número de segmentos colonizados;

NTSO = Número total de segmentos observados

2.7.5.2. Dependencia micorrícica

La dependencia micorrícica relativa (DMR), definida por Gerdeman (1975) fue establecida según la fórmula propuesta por Plenchette *et al.* (1983).

$$DMR = \frac{\text{Peso seco planta MA} - \text{Peso seco planta no MA}}{\text{Peso seco planta MA}} \times 100$$

2.7.5.3. Procesamiento de las muestras y conteo de esporas

El procesamiento de las muestras se realizaron de acuerdo a la técnica de tamizado húmedo y decantación propuesta por Gerdeman & Nicholson (1963), modificada por Herrera, *et al.*, 2004.

Se analizaron alícuotas del 10% del peso de la fracción C y otra correspondiente al 20% del peso de la fracción B del procesamiento de suelo y se colocaron en tubos falcon de 50ml. Cada alícuota se centrifugó en un gradiente de sacarosa 2N a 2500rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se tamizó y se recogió en cajas petri cuadrículadas. Se realizó el conteo de las esporas en el estereoscopio.

Finalmente se realizó el promedio del conteo total de esporas, multiplicando el número de esporas encontradas en la fracción B por 10 y el número de esporas de la fracción C por 20, luego se sumaron estos valores para tener el número de esporas en 100g de suelo.

CAPÍTULO 3: RESULTADOS

3.1. Propagación de esporas de Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) nativos de cultivo de banano (*Musa paradisiaca*)

La población inicial de esporas de HMA provenientes de las siete haciendas de cultivo de banano fue muy baja, debido a que los suelos se encontraban desgastados probablemente por el uso intensivo del mismo, e incluso por la aplicación elevada de insumos agrícolas. Este deterioro paulatino conlleva en la disminución de la presencia de micorrizas.

El primero paso para la propagación de esporas de HMA fue la evaluación de los suelos de las Haciendas de Machala, para determinar la mejor muestra de espóra. Los resultados muestran que la Hacienda Central es la que presenta mayor población de esporas 1,07 esporas/g de suelo, seguida de la Hacienda Pagua con 0,99 esporas/g de suelo (Figura 3.1).

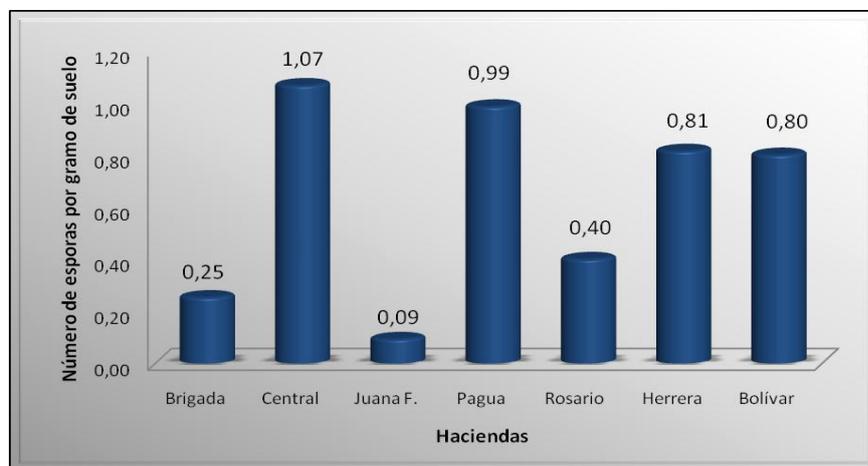


Figura 3.1 Promedio del número de esporas de HMA por gramo de suelo de 43 muestras provenientes de cultivo de banano (*Musa paradisiaca*), de las 7 haciendas de HDINEAGROS.

La Hacienda Central se seleccionó por presentar el mejor inóculo para el establecimiento de las camas de propagación de esporas. Las plantas de *Brachiaria* se utilizaron como cultivo trampa, las cuales lograron desarrollarse correctamente y con un

alto grado de infección por los HMA (sin el uso de fertilizantes o insecticidas) como se observa en la Figura 3.2.



Figura 3.2 Crecimiento de *Brachiaria* en camas de propagación de esporas de HMA nativas de cultivo de banano (*Musa paradisiaca*) a.0 días, b.45 días y c.60 días.

Para evaluar la propagación de esporas e infección de raíces, se realizaron muestreos a los 0, 45, 90 y 200 días. La aplicación de turba y arena en proporción de 20% y 30% respectivamente, favoreció la micorrización. Los resultados mostraron un aumento progresivo, tanto en el número de esporas como en el porcentaje de colonización.

La población micorrícica inicial fue de 2,8 esporas/g de suelo, a los 90 días fue de 18,35 esporas/g de suelo y finalmente a los 200 días se alcanzó una población de 31,35 esporas/g de suelo, como se muestra en la Figura 3.3.



Figura 3.3 Número de esporas por gramo de suelo en cultivo de banano (*Musa paradisiaca*), de la cama de propagación. Hacienda Central Machala-El Oro.

Es importante determinar el porcentaje de colonización con HMA en las raíces de *Brachiaria* a lo largo del tiempo. En la Figura 3.4 se presenta el incremento del porcentaje de colonización en relación a los días transcurridos, alcanzando el 77% de colonización a los 200 días.

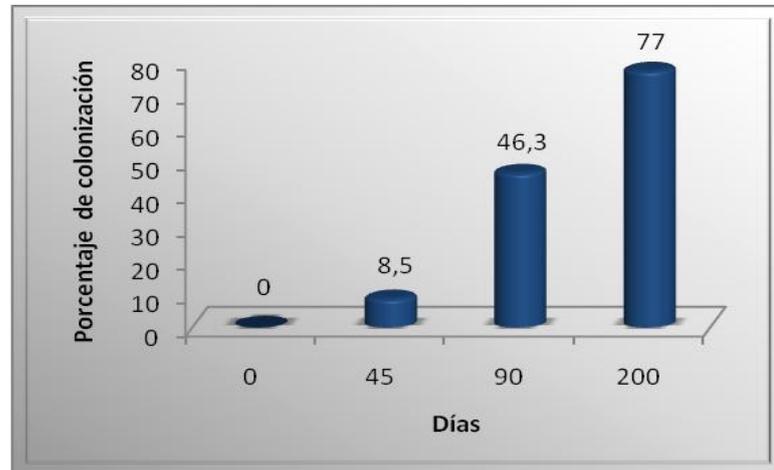


Figura 3.4 Porcentaje de colonización de raíces de *Brachiaria* de la cama de propagación. Hacienda Central Machala-El Oro.

En la Figura 3.5 se observan las raíces de *Brachiaria* teñidas con azul de tripano, provenientes de las camas de propagación, donde se observan estructuras fúngicas como: espora, hifa y vesícula.



Figura 3.5 Estructuras fúngicas en las raíces de *Brachiaria*, de las camas de propagación de esporas de HMA. a. espora, b. hifa c. vesículas.

3.2. Aclimatación de plantas micropropagadas de banano (*Musa paradisiaca*) con Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA)

La fase de aclimatación de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) con HMA abarcó un período de tres meses. El inóculo utilizado poseía las características evaluadas en la cama de propagación a los 200 días: 77% de colonización y 31,35 esporas/g de suelo (Figura 3.3 y 3.4). Los resultados alcanzados al analizar los diferentes parámetros son los siguientes:

3.2.1. Altura

Se realizó un análisis de varianza (Tabla 3.1) para la altura en las plantas de banano (*Musa paradisiaca*), el cual mostró diferencias significativas a nivel del 1% para las repeticiones a los 45 y 90 días, mientras que para el factor tratamientos no hubo diferencias. La fertilización influyó en la altura de las plantas ya que al realizar la prueba de Duncan, se observó diferencias significativas a nivel del 5%, a los 90 días. En la Tabla 3.1 se observa la interacción entre micorrizas y fertilización lo cual no mostró significancia estadística, por lo que posiblemente estos factores actúan de forma independiente en el crecimiento.

Tabla 3.1 Análisis de varianza para la altura en plantas de banano (*Musa paradisiaca*) bajo el efecto de la fertilización y diferentes dosis de micorrizas. Hacienda Central de Machala-El Oro.

FUENTE DE VARIACIÓN	GL	ALTURA	
		45 días	90 días
Total	35		
Repeticiones	2	12,03 ^{**}	5,88 ^{**}
Tratamiento	11	0,28 ^{NS}	0,69 ^{NS}
Micorriza (g)	3	0,07 ^{NS}	0,68 ^{NS}
Fertilización (%)	2	0,50 ^{NS}	2,35 [*]
Micorriza x Fertilización	6	0,31 ^{NS}	0,15 ^{NS}
Error	22	0,19	0,42
Media (cm)		4,77	5,61
CV (%)		9,05	11,61

^{**} altamente significativo con un intervalo de confianza del 99%, ^{*} significativo con un intervalo de confianza del 95%, ^{NS} no significativo.

En la Figura 3.6 se presenta el efecto del porcentaje de fertilización sobre la altura de la planta mostrando diferencias significativas. El valor más alto se presentó a los 90 días con el 100% de fertilización y pertenece al primer rango de significancia según la prueba de Duncan al 5%. Los tratamientos con el 50% y 75% de fertilización se ubican en el segundo nivel de significancia.

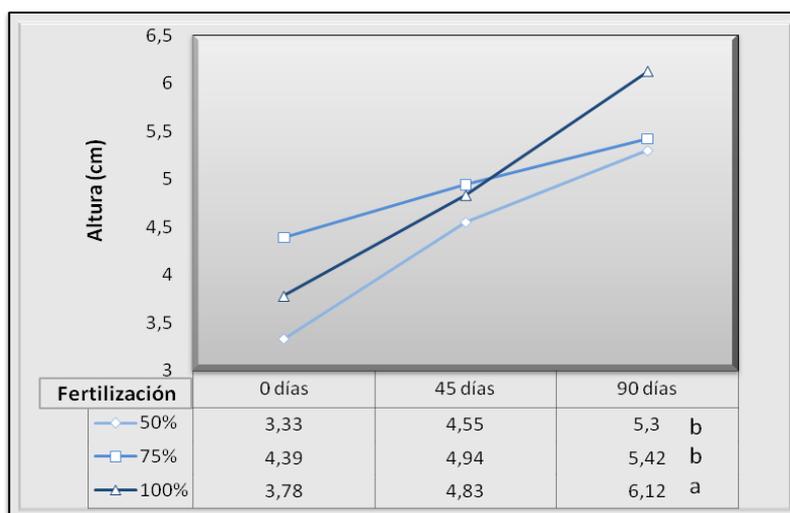


Figura 3.6 Efecto del porcentaje de fertilización sobre la altura de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) a los 0, 45 y 90 días, durante la fase de aclimatación.

Al analizar el efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización sobre la altura de las plantas de banano (Tabla 3.2), se observa que los mayores valores de altura se encuentran en las plantas micorrizadas con la dosis de 800g junto a una fertilización del 100%.

Tabla 3.2 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización en la altura de plantas de banano (*Musa paradisiaca*), durante la fase de aclimatación.

MICORRIZAS	FERTILIZACIÓN	ALTURA		
		0 días	45 días	90 días
0 g	50 %	3,75 abcd	4,90 ab	5,17 bc
0 g	75%	4,32 ab	4,97 ab	5,27 bc
0 g	100%	3,92 abcd	4,56 ab	5,62 abc
200 g	50 %	3,27cd	4,27 b	5,08 c
200 g	75%	4,16 abc	5,06 ab	5,36 abc
200 g	100%	3,53 bcd	4,69 ab	5,91 abc
400 g	50 %	3,15 d	4,72 ab	5,49 abc
400 g	75%	4,54 a	4,66 ab	5,19 bc
400 g	100%	3,91 abcd	4,85 ab	6,40 ab
800 g	50 %	3,16 d	4,29 b	5,48 abc
800 g	75%	4,53 a	5,08 ab	5,86 abc
800 g	100%	3,76 abcd	5,24 a	6,56 a

La Figura 3.7 presenta la interacción de plantas micorrizadas y no micorrizadas con 100% de fertilización. Los mayores valores de altura se presentaron con la dosis de 800g de micorrizas y fertilización al 100% con respecto a las plantas no micorrizadas, lo que sugiere que estos dos factores aunque actúan independiente son necesarios para la aclimatación de las plantas.

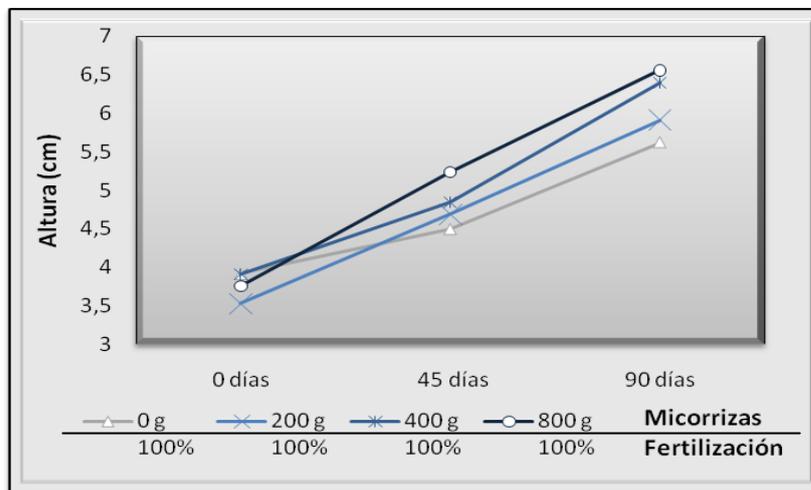


Figura 3.7 Comparación entre plantas micorrizas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización sobre la altura de banano (*Musa paradisiaca*) a los 0, 45 y 90 días, durante la fase de aclimatación.

3.2.2. Perímetro

Al evaluar el efecto de las dosis de micorrizas en relación al perímetro de las plantas (Figura 3.8), se pudo observar que el valor más alto de perímetro obtenido corresponde a las dosis de 800g de inóculo. Este valor corresponde al primer rango de significancia, luego se presenta el rango que pertenece a la dosis de 400g de micorriza y finalmente se encuentra las plantas control (sin micorrizas) las cuales se ubican en el último rango de significancia.

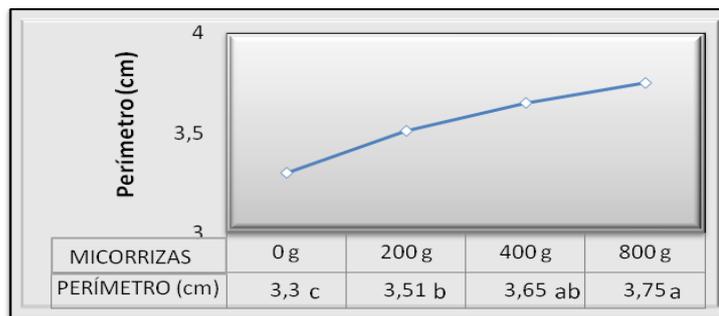


Figura 3.8 Efecto del perímetro del tallo de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación.

En la Figura 3.9 se presenta el efecto del porcentaje de fertilización sobre el perímetro del tallo de las plantas de banano mostrando diferencias significativas. El valor más alto se presentó con el 100% de fertilización, el cual pertenece al primer rango de significancia según la prueba de Duncan al 5%. Finalmente, se ubican en el segundo nivel de significancia el 50% y 75% de fertilización.

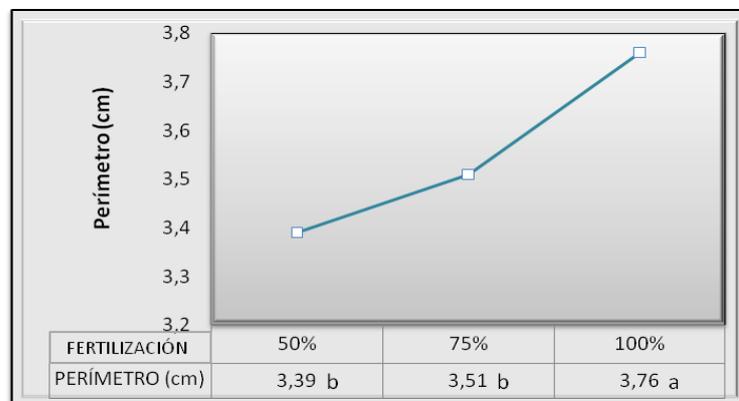


Figura 3.9 Efecto del perímetro del tallo de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) sobre el porcentaje de fertilización, en fase de aclimatación.

El efecto combinado entre micorrizas y fertilización en relación al perímetro del tallo de plantas de banano, fue estadísticamente significativo. En la Tabla 3.4 se puede apreciar que todas las plantas micorrizadas con fertilización al 100% y la mayor dosis de micorrizas con fertilización al 75% obtuvieron los mayores valores de perímetro, ubicándose en el primer rango de significancia, mientras que los demás tratamientos presentaron valores menores, con niveles más bajos de significancia.

Tabla 3.4 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización sobre el perímetro del tallo de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de aclimatación.

MICORRIZAS	FERTILIZACIÓN	PERÍMETRO
0 g	50 %	3,19 d
0 g	75%	3,25 cd
0 g	100%	3,46 cd
200 g	50 %	3,32 cd
200 g	75%	3,43 cd
200 g	100%	3,79 ab
400 g	50 %	3,54 bc
400 g	75%	3,45 cd
400 g	100%	3,94 a
800 g	50 %	3,51 bc
800 g	75%	3,89 a
800 g	100%	3,85 a

En la Figura 3.10 se puede observar el perímetro de plantas micorrizadas y no micorrizadas con 100% de fertilización. Los valores mayores del perímetro se encuentran entre dosis de 400g y 800g de micorrizas. Estos datos sugieren que las micorrizas aportan en el aumento del perímetro del tallo de plantas de banano en la fase de aclimatación.

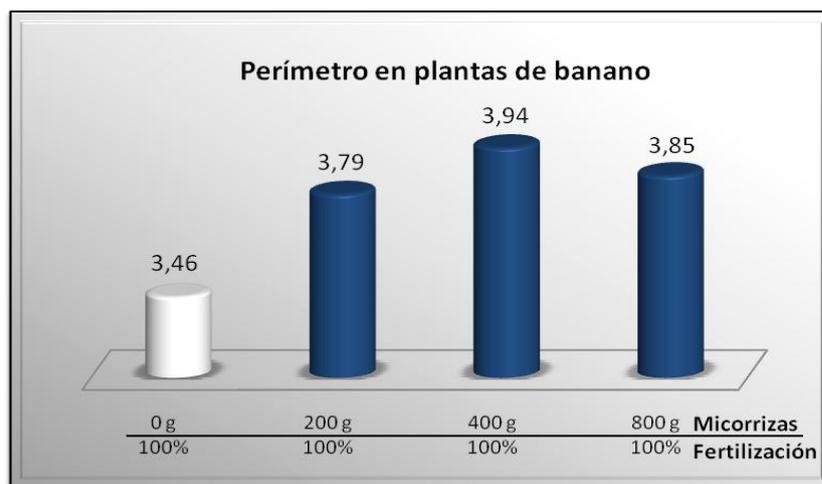


Figura 3.10 Comparación de plantas micorrizadas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización sobre el perímetro del tallo de plantas de banano (*Musa paradisiaca*). Fase de aclimatación.

3.2.3. Área foliar

En la Figura 3.11 se presenta el efecto de las diferentes dosis de micorrizas sobre el área foliar de las plantas de banano, mostrando diferencias significativas. El valor más alto se obtuvo con la inoculación de 800g de micorrizas y se encuentra en el primer rango de significancia en la prueba de Duncan al 5%. Los tratamientos con 200g y 400g de micorrizas incluyendo las plantas control, presentaron valores menores ubicándose en el segundo rango de significancia.

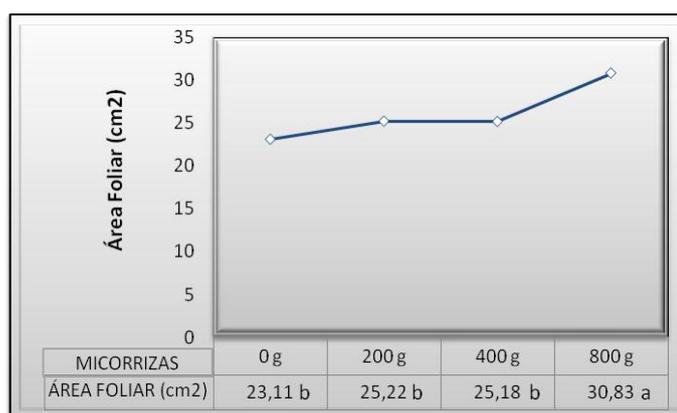


Figura 3.11 Efecto del área foliar de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación.

Al comparar el efecto del porcentaje de fertilización sobre el área foliar de las plantas de banano, se encontraron diferencias estadísticas significativas, como se

muestra en la Figura 3.12. Según la prueba de Duncan la fertilización del 100% se ubicó en el primer rango de significancia y en segundo rango las fertilizaciones al 50% y 75%.

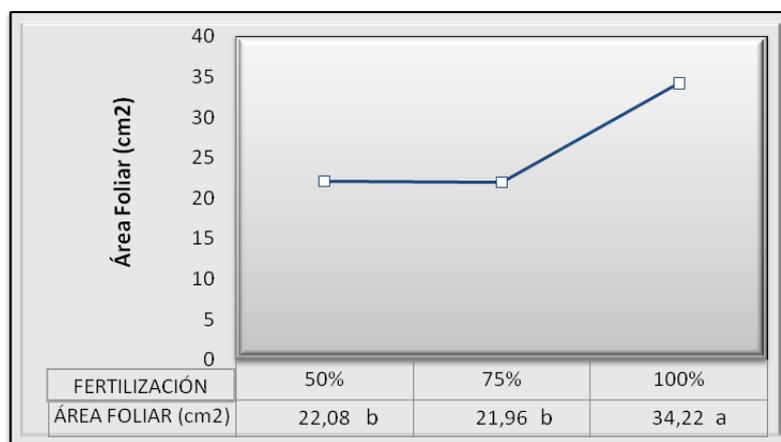


Figura 3.12 Efecto del área foliar de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) sobre el porcentaje de fertilización, en fase de aclimatación.

La interacción entre fertilización y micorrizas para el área foliar de las plantas de banano se presenta en la Tabla 3.5. Se puede observar que todos los tratamientos con micorrizas y fertilización 100%, se situaron en el primer rango de significancia, mientras que las plantas sin micorrizas obtuvieron los últimos niveles de significancia. Esto sugiere que la acción de las micorrizas sobre el área foliar depende de una fertilización del 100% y es independiente de la dosis de micorrizas que coloquemos.

Tabla 3.5 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización sobre el área foliar de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de aclimatación.

MICORRIZAS	FERTILIZACIÓN	ÁREA FOLIAR
0 g	50 %	19,00 d
0 g	75%	21,50 cd
0 g	100%	28,83 bc
200 g	50 %	19,50 d
200 g	75%	18,67 d
200 g	100%	37,50 a
400 g	50 %	23,83 bcd
400 g	75%	19,33 d
400 g	100%	32,38 ab
800 g	50 %	26,00 bcd
800 g	75%	28,33 bc
800 g	100%	38,17 a

En la Figura 3.13 se puede observar el área foliar de plantas micorrizadas y no micorrizadas con 100% de fertilización. El área foliar mayor se presentó en las plantas con dosis de 200g, 400g y 800g de micorrizas diferenciándose con las plantas no micorrizadas en casi 10cm², mostrando el posible beneficio de utilizar un inóculo micorrizado para la aclimatación de plantas de banano.

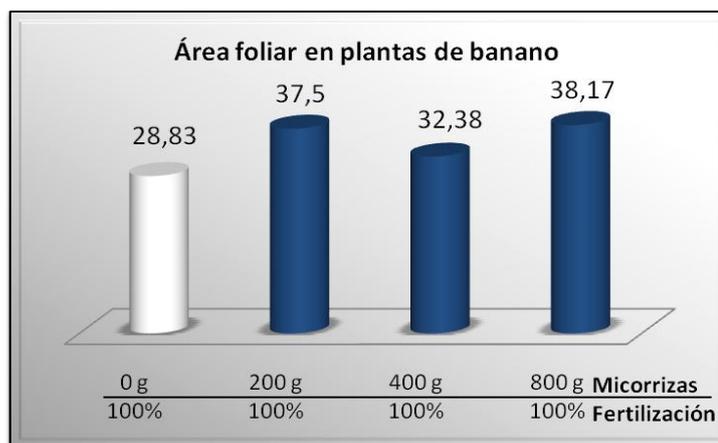


Figura 3.13 Comparación de plantas micorrizadas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización sobre el área foliar de banano (*Musa paradisiaca*). Fase de aclimatación.

3.2.4. Biomasa aérea

Se realizó el análisis de varianza para el peso fresco y peso seco de la biomasa aérea de plantas de banano (*Musa paradisiaca*), como se muestra en la Tabla 3.6. No se encontraron diferencias significativas para las repeticiones, mientras que para los tratamientos hubo diferencias a nivel del 5%. El factor micorrizas no presentó diferencias significativas, mientras que la fertilización influyó en la biomasa aérea de la planta mostrando diferencias estadística a nivel del 1%. La interacción entre micorrizas y fertilización no presentó significancia estadística, por lo que posiblemente los dos factores actúan de forma independiente para la biomasa aérea.

Tabla 3.6 Análisis de varianza para el peso fresco y seco de la biomasa aérea de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) bajo el efecto de la fertilización y diferentes dosis de micorrizas. Hacienda Central de Machala-El Oro.

FUENTE DE VARIACIÓN	GL	BIOMASA AÉREA	
		PESO FRESCO	PESO SECO
Total	35		
Repetición	2	1,31 ^{NS}	0,05 ^{NS}
Tratamiento	11	14,52 [*]	0,22 [*]
Micorriza (g)	3	7,31 ^{NS}	0,11 ^{NS}
Fertilización (%)	2	63,01 ^{**}	0,98 ^{**}
Micorriza x Fertilización	6	1,96 ^{NS}	0,03 ^{NS}
Error	22	6,4	0,10
Media (g)		7,23	0,93
CV (%)		34,97	33,15

** altamente significativo con un intervalo de confianza del 99%, * significativo con un intervalo de confianza del 95%, ^{NS} no significativo.

En la Figura 3.14 se presenta el efecto del porcentaje de fertilización sobre el peso fresco y seco de la biomasa aérea de las plantas de banano. La fertilización al 100% mostró los mayores valores para la biomasa aérea de las plantas, ubicándose en el primer rango de significancia mediante la prueba de Duncan al 5%. En el segundo nivel se encontraron las plantas con fertilización al 50% y 75%.

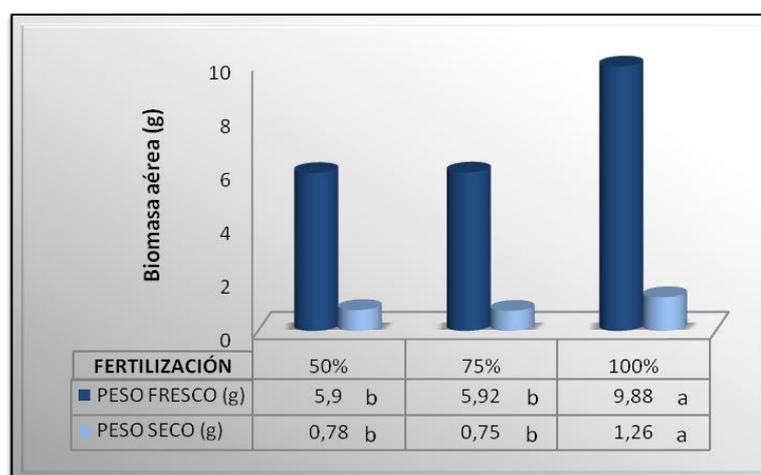


Figura 3.14 Efecto de la biomasa aérea de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) sobre el porcentaje de fertilización en fase de aclimatación.

El efecto combinado entre micorrizas y fertilización sobre la biomasa aérea de plantas de banano no presentó diferencias significativas, como se observa en la Tabla 3.8. Sin embargo, los mayores valores para el peso fresco de la parte aérea se presentaron en las plantas bajo una dosis de 400g con fertilización al 100% y para el peso seco las plantas con dosis de 200g y 800g con fertilización al 100%. Esto sugiere que la efectividad de los HMA en el incremento de la biomasa aérea de plantas de banano, depende del porcentaje de fertilización aplicado durante la fase de aclimatación.

Tabla 3.7 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización sobre la biomasa aérea de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de aclimatación.

BIOMASA AÉREA			
MICORRIZAS	FERTILIZACIÓN	PESO FRESCO	PESO SECO
0 g	50 %	4,35 c	0,59 c
0 g	75%	5,48 bc	0,72 bc
0 g	100%	8,65 abc	1,11 abc
200 g	50 %	5,47 bc	0,71 bc
200 g	75%	5,23 bc	0,66 bc
200 g	100%	10,03 ab	1,33 a
400 g	50 %	6,77 abc	0,89 abc
400 g	75%	5,27 bc	0,67 bc
400 g	100%	10,78 a	1,24 ab
800 g	50 %	7,02 abc	0,93 abc
800 g	75%	7,70 abc	0,95 abc
800 g	100%	10,05 ab	1,36 a

En la Figura 3.15 se puede ver que todas las plantas micorrizadas con 100% de fertilización muestran valores mayores para la biomasa aérea, en comparación con las plantas no micorrizadas. Esto demuestra que la aplicación de micorrizas en plantas de banano aumenta la biomasa aérea.

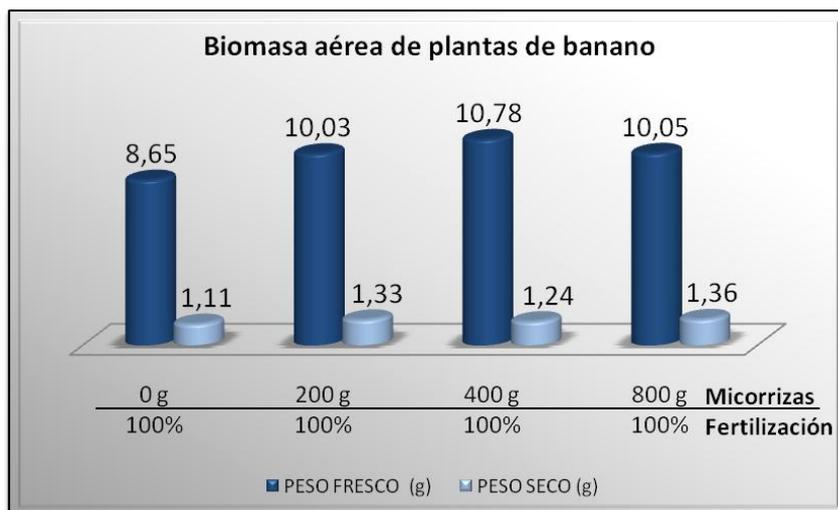


Figura 3.15 Comparación de plantas micorrizadas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización sobre la biomasa aérea de banano (*Musa paradisiaca*). Fase de aclimatación.

Los HMA contribuyeron en el incremento del peso fresco de la biomasa aérea en las plantas de banano, durante la fase de aclimatación, como se observa en la Figura 3.16.

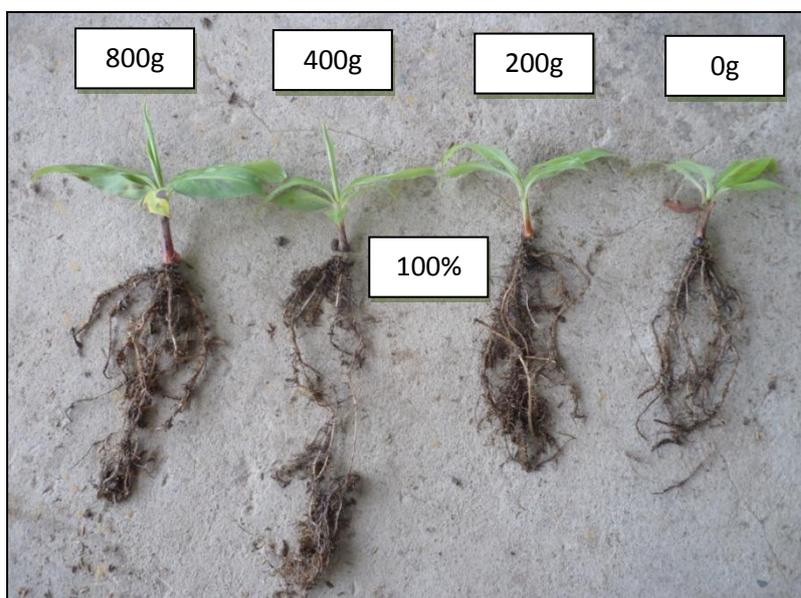


Figura 3.16 Biomasa aérea de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) con diferentes dosis de micorrizas y 100% de fertilización, en fase de aclimatación.

3.2.5. Biomasa radical

El análisis de varianza realizado para la biomasa radical de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) se presenta en la Tabla 3.8. Se mostraron diferencias estadísticas significativas para el peso fresco y peso seco en las repeticiones a nivel del 1%. En los tratamientos y en el factor micorrizas no existen diferencias estadísticas significativas para la biomasa radical. La fertilización obtuvo diferencias estadísticas significativas a nivel del 5% para el peso fresco y el peso seco. La interacción entre micorrizas y fertilización no presentó significancia estadística, por esta razón ambos factores actúan de modo independiente en la biomasa radical.

Tabla 3.8 Análisis de varianza para el peso fresco y seco de la biomasa radical de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) bajo el efecto de la fertilización y diferentes dosis de micorrizas. Hacienda Central de Machala-El Oro.

BIOMASA RADICAL			
FUENTE DE VARIACIÓN	GL	PESO FRESCO	PESO SECO
Total	35		
Repetición	2	183,07 **	6,16 **
Tratamiento	11	43,52 ^{NS}	8,17 ^{NS}
Micorriza (g)	3	15,89 ^{NS}	2,18 ^{NS}
Fertilización (%)	2	149,19 *	22,41 *
Micorriza x Fertilización	6	22,11 ^{NS}	7,41 ^{NS}
Error	22	31,89	5,27
Media (g)		17,22	5,57
CV (%)		32,80	41,19

** altamente significativo con un intervalo de confianza del 99%, * significativo con un intervalo de confianza del 95%, ^{NS} no significativo.

El porcentaje de fertilización influyó significativamente en la biomasa radical de las plantas de banano, cuando se aplicó fertilización al 100% ocupando el primer rango de significancia en la prueba de Duncan al 5%, como se presenta en la Figura 3.17.

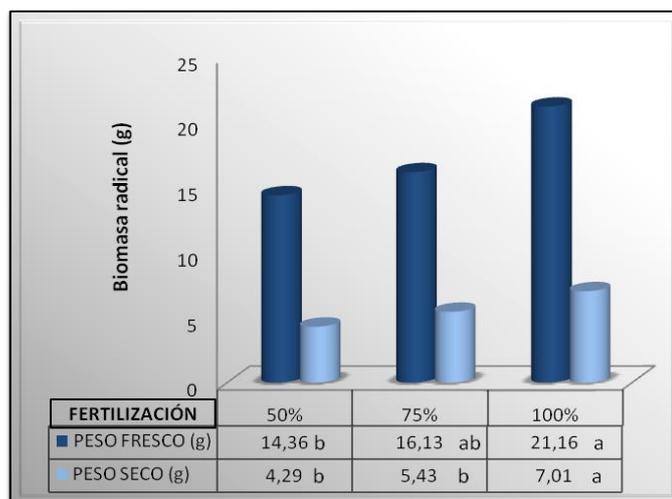


Figura 3.17 Efecto de la biomasa radical de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) sobre la fertilización en fase de aclimatación.

La interacción entre micorrizas y fertilización en la biomasa radical no presentó diferencias estadísticas significativas, como se muestra en la Tabla 3.9. Sin embargo, el mayor peso fresco y seco se presentó con 800g de micorrizas y 100% de fertilización. Esto se debe a la influencia de las micorrizas en el incremento de la densidad de la parte radical.

Tabla 3.9 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización en la biomasa radical de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de aclimatación.

BIOMASA RADICAL			
MICORRIZAS	FERTILIZACIÓN	PESO FRESCO	PESO SECO
0 g	50 %	13,33 b	3,67 b
0 g	75%	16,17 ab	5,42 ab
0 g	100%	16,77 ab	5,73 ab
200 g	50 %	14,40 b	4,45 b
200 g	75%	14,13 b	3,97 b
200 g	100%	22,77 ab	8,17 ab
400 g	50 %	15,72 ab	5,05 ab
400 g	75%	18,50 ab	7,02 ab
400 g	100%	19,27 ab	5,03 ab
800 g	50 %	14,00 b	3,98 b
800 g	75%	15,72 ab	5,30 ab
800 g	100%	25,83 a	9,10 a

En la Figura 3.18 se muestra el efecto entre plantas micorrizadas y no micorrizadas con 100% de fertilización en la biomasa radical de plantas de banano. A pesar de que estos valores no presentan diferencias estadísticamente significativas, se

observa un incremento importante en las plantas micorrizadas con respecto a las plantas control.

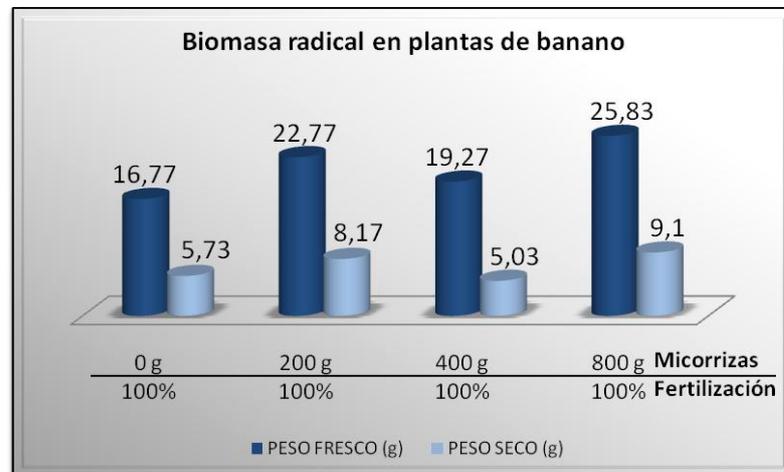


Figura 3.18 Comparación de plantas micorrizadas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización sobre la biomasa radical de banano (*Musa paradisiaca*). Fase de aclimatación.

La biomasa radical de las plantas de banano incrementó en su peso fresco, por la aplicación de micorrizas durante la fase de aclimatación, como se puede observar en la Figura 3.19.

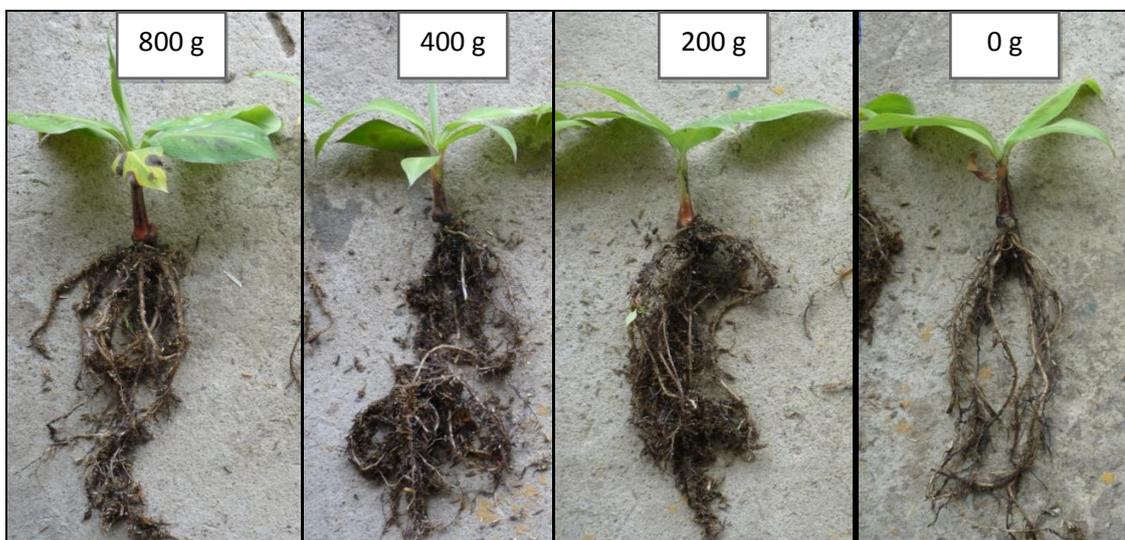


Figura 3.19 Biomasa radical de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) a diferentes dosis de micorrizas y bajo 100% de fertilización, en la fase de aclimatación.

3.2.6. Porcentaje de colonización y conteo de esporas

El efecto de las dosis de micorrizas sobre el porcentaje de colonización y conteo de esporas de plantas de banano, presentó diferencias significativas (Figura 3.20). Las plantas micorrizadas se ubicaron en el primer rango de significancia para el porcentaje de colonización. En el conteo de esporas las plantas con dosis de 800g obtuvieron el primer rango de significancia mostrando diferencias con respecto a las dosis de 400g, 200g y 0g de micorrizas.

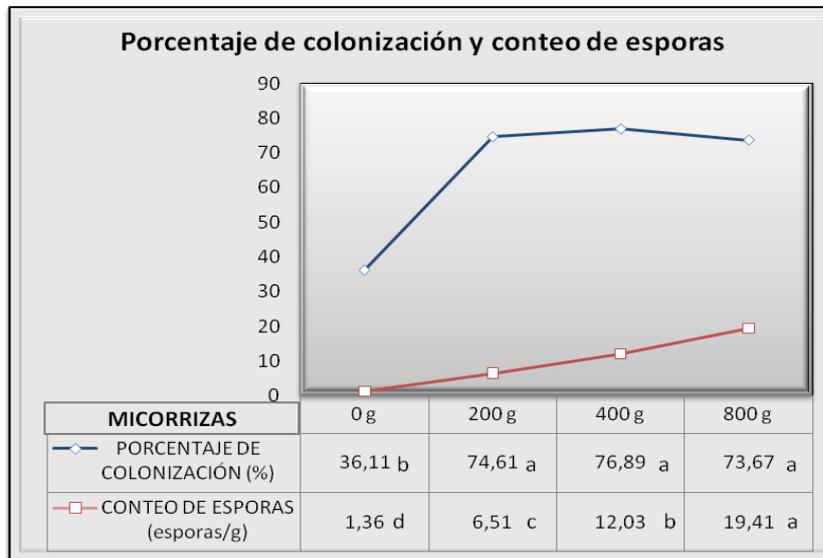


Figura 3.20 Efecto del porcentaje de colonización y conteo de esporas de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación.

La Tabla 3.10 presenta la interacción entre micorrizas y fertilización al evaluar la presencia de las micorrizas mediante el porcentaje de colonización y conteo de esporas. En el porcentaje de colonización el primer rango de significancia corresponde a las plantas micorrizadas, las plantas no micorrizadas ocuparon el segundo lugar de significancia (prueba de Duncan al 5%). En el conteo de esporas los menores valores se obtuvieron en las plantas sin micorrizas, mientras que los mayores valores se observaron cuando la dosis aumento entre 400g y 800g de micorrizas.

Tabla 3.10 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización en el porcentaje de colonización y conteo de esporas de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de aclimatación.

MICORRIZAS	FERTILIZACIÓN	PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN	CONTEO DE ESPORAS
0 g	50 %	37,00 b	1,92 g
0 g	75%	37,83 b	1,20 g
0 g	100%	33,50 b	0,95 g
200 g	50 %	65,00 a	4,45 f
200 g	75%	79,50 a	7,66 ef
200 g	100%	79,33 a	7,42 ef
400 g	50 %	79,33 a	12,84 cd
400 g	75%	79,67 a	9,29 de
400 g	100%	71,67 a	13,94 c
800 g	50 %	75,83 a	23,03 a
800 g	75%	70,67 a	16,53 bc
800 g	100%	74,50 a	18,68 b

En la Figura 3.21 se presentan fotografías de las raíces de las plantas de banano teñidas, donde se pueden apreciar estructuras fúngicas como: hifas, esporas, vesículas y arbusculos. Evidenciando la presencia de los HMA en las raíces de banano.

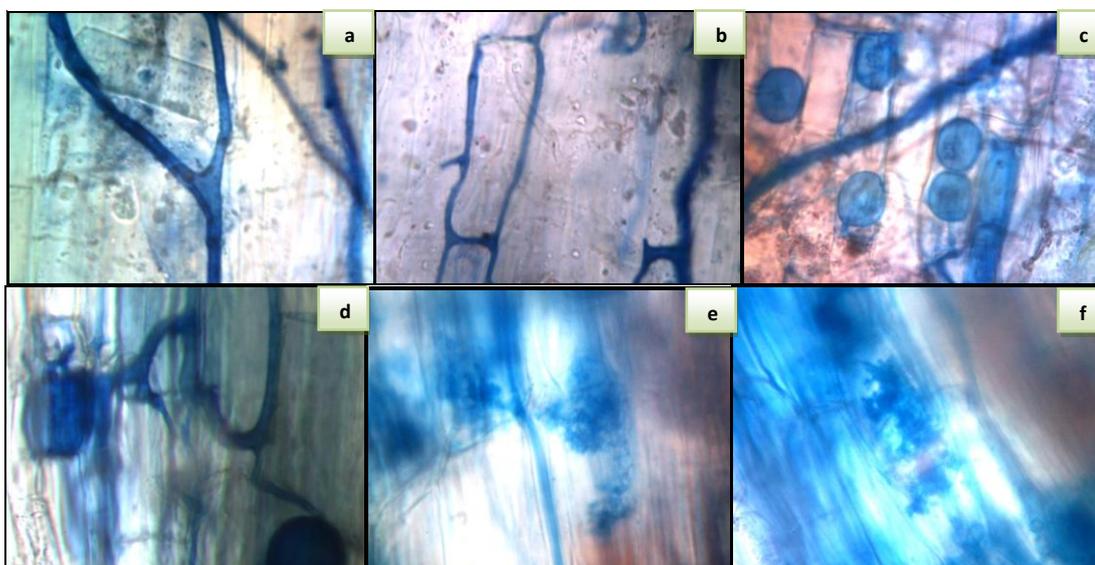


Figura 3.21 Estructuras fúngicas en las raíces colonizadas de plantas de banano en fase de aclimatación. a. hifa intercelular, b. hifa intracelular, c. vesículas, d. espora e hifa, e. arbusculo e hifa y f. arbusculo.

3.2.7. Supervivencia de las plantas de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de aclimatación

La supervivencia de las plantas de banano micorrizadas fue del 100% durante los tres meses de invernadero (Figura 3.22). Las plantas control (sin micorrizas) presentaron 99,54% de supervivencia, esta pérdida se presentó durante el primer mes de aclimatación.

En el presente trabajo, se comprobó la ventaja que los HMA otorgan a las plantas micropropagadas de banano, al resistir el estrés causado por el transplante de cultivo *in vitro* a fase *ex vitro*.



Figura 3.22 Supervivencia de las plantas de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de aclimatación.

3.2.8. Análisis de nutrientes en la biomasa aérea

3.2.8.1. Nitrógeno (N) foliar

En la Figura 3.23 se presenta el efecto de la dosis de micorrizas sobre el nitrógeno de plantas de banano. Las plantas micorrizadas obtuvieron el primero y segundo rango de significancia para la prueba de Duncan al 5%. Las plantas no micorrizadas presentaron valores menores. Las diferentes dosis utilizadas muestran niveles bajos de nitrógeno frente a los rangos foliares normales en banano los cuales están entre 2,6% y 3,5%. Probablemente, esto se debe a que no se realizaron los tratamientos adecuados de nutrición, sin embargo, las diferencias presentadas sugieren que las micorrizas contribuyeron a la absorción de nitrógeno.

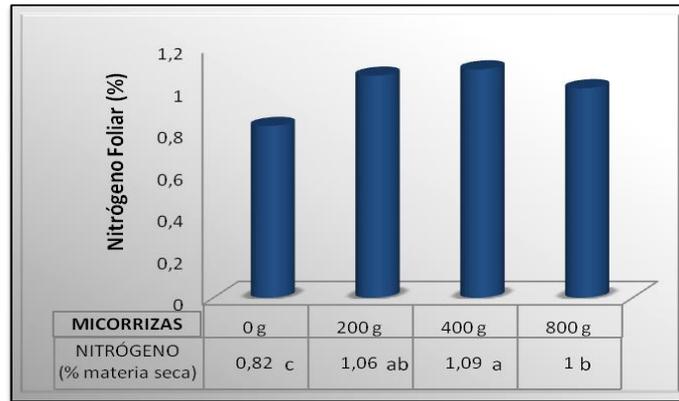


Figura 3.23 Nitrógeno foliar en plantas de banano (*Musa paradisiaca*) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación.

La interacción entre micorrizas y fertilización en el porcentaje de nitrógeno foliar se presenta en la Tabla 3.11. Los mayores porcentajes de nitrógeno se presentaron en plantas micorrizadas en las diferentes fertilizaciones. Esto nuevamente sugiere que el efecto de la micorrización en plantas de banano ayuda en la absorción de nitrógeno.

Tabla 3.11 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización sobre el porcentaje de Nitrógeno foliar de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de aclimatación.

MICORRIZAS	FERTILIZACIÓN	NITRÓGENO
0 g	50 %	0,77 d
0 g	75%	0,82 d
0 g	100%	0,87 cd
200 g	50 %	1,07 ab
200 g	75%	1,06 ab
200 g	100%	1,07 ab
400 g	50 %	1,14 a
400 g	75%	1,09 ab
400 g	100%	1,05 ab
800 g	50 %	1,04 ab
800 g	75%	0,97 bc
800 g	100%	0,99 bc

En la Figura 3.24 podemos comparar a plantas micorrizadas y no micorrizadas en la contribución de nitrógeno foliar, demostrando el aumento de este porcentaje por la aplicación de las micorrizas en banano en su fase de aclimatación.

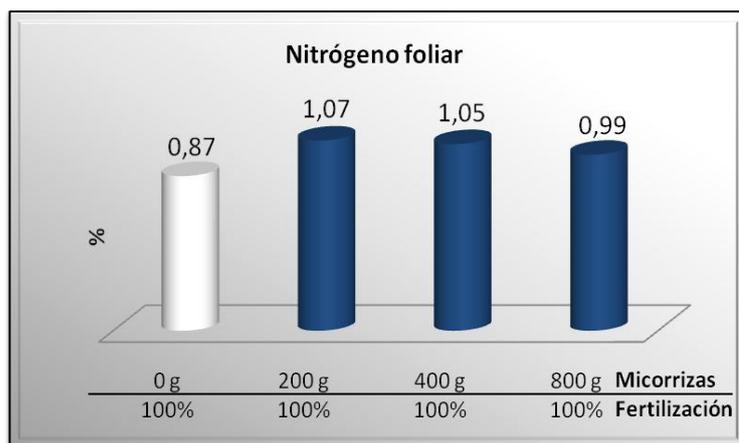


Figura 3.24 Comparación de nitrógeno foliar en plantas de banano (*Musa paradisiaca*) micorrizadas vs. plantas no micorrizadas, durante la fase de aclimatación.

*Valores normales de nitrógeno foliar: 2,6 y 3,5%.

3.2.8.2. Fósforo (P)

El efecto de la dosis de micorrizas sobre el fósforo en hojas de banano obtuvo diferencias significativas. En la Figura 3.25 se observan que las plantas micorrizadas se encuentran en el primer rango de significancia de la prueba de Duncan al 5%, quedando las plantas sin micorrizas en el segundo rango. Las plantas micorrizadas presentan valores altos de fósforo y las plantas no micorrizadas tienen valores bajos de acuerdo a los rangos foliares de banano.

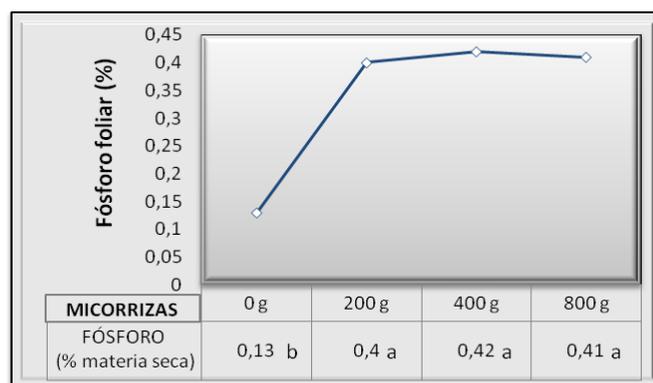


Figura 3.25 Fósforo foliar en plantas de banano (*Musa paradisiaca*) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación.

*Valores normales de fósforo foliar: 0,18-0,29%

El efecto del porcentaje de fertilización sobre el fósforo en las plantas de banano obtuvo diferencias significativas, como se presenta en la Figura 3.26. Las fertilizaciones de 75% y 50% se ubican en el primer rango de significancia y la fertilización al 100% ocupa el segundo rango de significancia para la prueba de Duncan al 5%. Los datos muestran valores altos de fósforo foliar en plantas de banano.

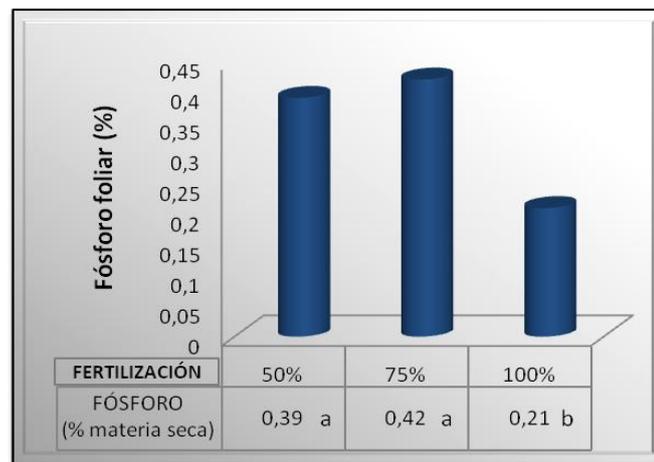


Figura 3.26 Efecto del porcentaje de fertilización sobre el fósforo en plantas de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de aclimatación.

*Valores normales de fósforo foliar: 0,18-0,29%

El efecto combinado entre dosis de micorrizas y fertilización sobre el porcentaje de fósforo foliar en plantas de banano, se presenta en la Tabla 3.12. Los primeros rangos de significancia en la prueba de Duncan al 5% se encontraron en todas las plantas micorrizadas, mientras que las plantas no micorrizadas obtuvieron niveles menores de significancia. Esto evidencia la efectividad de los HMA para mejorar la absorción de fósforo en las plantas de banano durante la fase de aclimatación.

Tabla 3.12 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización en el porcentaje de Fósforo foliar de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de aclimatación.

MICORRIZAS	FERTILIZACIÓN	FOSFÓRO
0 g	50 %	0,16 def
0 g	75%	0,14 ef
0 g	100%	0,10 f
200 g	50 %	0,43 b
200 g	75%	0,54 a
200 g	100%	0,23 cde
400 g	50 %	0,49 ab
400 g	75%	0,53 ab
400 g	100%	0,25 cd
800 g	50 %	0,48 ab
800 g	75%	0,47 ab
800 g	100%	0,26 c

En la Figura 3.27 se muestra la relación entre plantas micorrizadas y no micorrizadas con 100% de fertilización. Las plantas micorrizadas presentan valores normales de fósforo foliar, en contraste con las plantas no micorrizadas que alcanzaron valores por debajo del nivel normal. Esto sugiere que existe una contribución mayoritaria de las micorrizas en la absorción de fósforo.

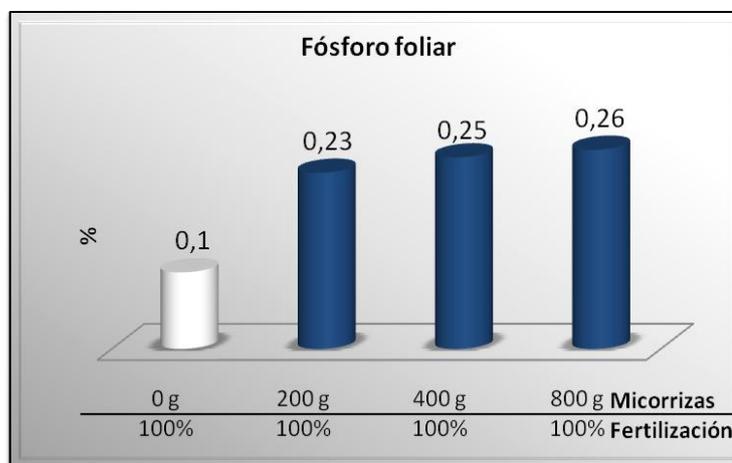


Figura 3.27 Comparación de fósforo foliar en plantas de banano (*Musa paradisiaca*) micorrizadas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización durante la fase de aclimatación.

*Valores normales de fósforo foliar: 0,18-0,29%

3.2.8.3. Potasio (K)

El análisis de varianza para el potasio en plantas de banano (*Musa paradisiaca*) se presenta en la Tabla 3.13. No se encontraron diferencias estadísticas significativas en las repeticiones, ni para el factor fertilización. Los tratamientos y el factor micorrizas presentaron diferencias significativas, a nivel del 5% y del 1% respectivamente, en la prueba de Duncan. La interacción entre micorrizas y fertilización no mostró un grado de significancia estadística, por lo que posiblemente los dos factores actúan de forma independiente.

Tabla 3.13 Análisis de varianza para el potasio en plantas de banano (*Musa paradisiaca*) bajo el efecto de la fertilización y diferentes dosis de micorrizas. Hacienda Central de Machala-El Oro.

FUENTE DE VARIACIÓN	GL	POTASIO
Total	35	
Repetición	2	0,04 ^{NS}
Tratamiento	11	0,28 [*]
Micorriza (g)	3	0,90 ^{**}
Fertilización (%)	2	0,04 ^{NS}
Micorriza x Fertilización	6	0,05 ^{NS}
Error	22	0,12
Media (% en materia seca)		4,61
CV (%)		7,45

** altamente significativo con un intervalo de confianza del 99%, * significativo con un intervalo de confianza del 95%, ^{NS} no significativo.

En la Figura 3.28 se presenta el efecto de las dosis de micorrizas sobre el potasio en las plantas de banano. Las plantas con dosis de 400g de micorrizas se agruparon en el primer rango de significancia en la prueba de Duncan. Las plantas sin micorrizas se ubican en el tercer rango de significación, presentando el valor más bajo de potasio.

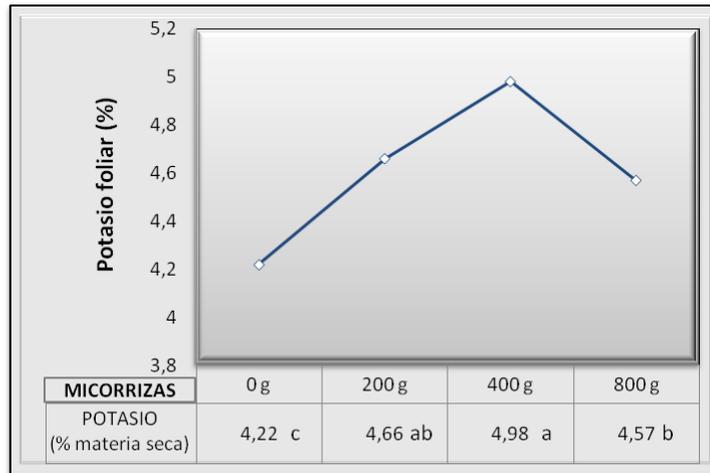


Figura 3.28 Potasio foliar en plantas de banano (*Musa paradisiaca*) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación.

*Valores normales de potasio foliar: 3,5-5%.

La interacción entre las dosis de micorrizas y porcentaje de fertilización en el potasio foliar de banano no presentó diferencias estadísticas, como se muestra en la Tabla 3.14. Sin embargo, las plantas micorrizadas presentaron una ligera tendencia para incrementar la absorción de potasio, aunque las diferencias no sean marcadamente visibles. Todos los tratamientos muestran valores normales de potasio foliar en banano.

Tabla 3.14 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización en el porcentaje de Potasio foliar de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de aclimatación.

MICORRIZAS	FERTILIZACIÓN	POTASIO
0 g	50 %	4,38 ab
0 g	75%	4,13 b
0 g	100%	4,14 b
200 g	50 %	4,58 ab
200 g	75%	4,90 a
200 g	100%	4,51 ab
400 g	50 %	4,95 a
400 g	75%	5,03 a
400 g	100%	4,97 a
800 g	50 %	4,55 ab
800 g	75%	4,58 ab
800 g	100%	4,58 ab

3.2.8.4. Magnesio (Mg)

El análisis de varianza realizado para el magnesio en plantas de banano (*Musa paradisiaca*) se presenta en la Tabla 3.15. No se encontraron diferencias estadísticas significativas para las repeticiones ni para el factor de fertilización. Los tratamientos presentaron diferencias significativas a nivel del 5% y para el factor de micorrizas al 1% en la prueba de Duncan. La interacción entre micorrizas y fertilización no mostró significancia estadística, por lo tanto los dos factores actúan de forma independiente.

Tabla 3.15 Análisis de varianza para el magnesio en plantas de banano (*Musa paradisiaca*) bajo el efecto de la fertilización y diferentes dosis de micorrizas. Hacienda Central de Machala-El Oro.

FUENTE DE VARIACIÓN	GL	MAGNESIO
Total	35	
Repetición	2	0,00 ^{NS}
Tratamiento	11	0,00 [*]
Micorriza (g)	3	0,01 ^{**}
Fertilización (%)	2	0,00 ^{NS}
Micorriza x Fertilización	6	0,00 ^{NS}
Error	22	0,00
Media (% en materia seca)		0,28
CV (%)		9,67

^{**} altamente significativo con un intervalo de confianza del 99%, ^{*} significativo con un intervalo de confianza del 95%, ^{NS} no significativo.

En la Figura 3.29 se presenta el efecto de las dosis de micorrizas sobre el magnesio foliar en las plantas de banano. Los mayores porcentajes de magnesio foliar se presentaron para todas las plantas micorrizadas, en contraste con las plantas no micorrizadas. Las plantas micorrizadas muestran niveles foliares normales de magnesio para banano, mientras que las plantas sin micorrizas muestran valores bajos.

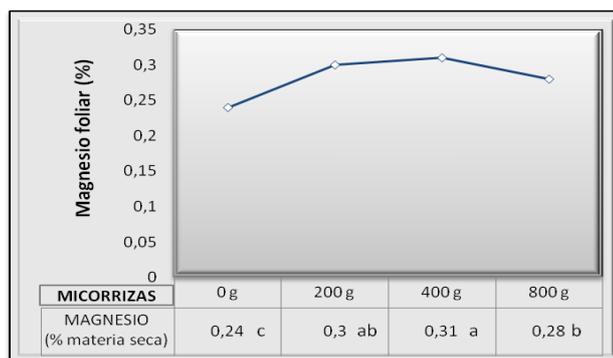


Figura 3.29 Magnesio foliar en plantas de banano (*Musa paradisiaca*) con diferentes dosis de micorrizas, en fase de aclimatación.

*Valores normales de magnesio foliar: 0,25-0,3%.

El efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización en el porcentaje de magnesio foliar en plantas de banano se presenta en la Tabla 3.16. Todas las plantas micorrizadas con fertilización del 50, 75 y 100%, se sitúan en los primeros rangos de significancia para la prueba de Duncan al 5%. Las plantas no micorrizadas y con fertilización del 50 y 75% se ubicaron en menores rangos de significancia. Esto sugiere que la inoculación de micorrizas en banano durante la fase de aclimatación, también aumenta la absorción de magnesio.

Tabla 3.16 Efecto de la interacción entre micorrizas y fertilización en el porcentaje de Magnesio foliar de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de aclimatación.

MICORRIZAS	FERTILIZACIÓN	MAGNESIO
0 g	50 %	0,24 c
0 g	75%	0,24 c
0 g	100%	0,25 bc
200 g	50 %	0,30 a
200 g	75%	0,29 abc
200 g	100%	0,30 ab
400 g	50 %	0,32 a
400 g	75%	0,30 a
400 g	100%	0,31 a
800 g	50 %	0,27 abc
800 g	75%	0,28 abc
800 g	100%	0,29 abc

En la Figura 3.30 se muestra la relación entre plantas micorrizadas y plantas no micorrizadas con 100% de fertilización. Las plantas micorrizadas ayudaron a mantener

valores normales de magnesio foliar, en contraste con plantas no micorrizadas que se encontraron en el límite.

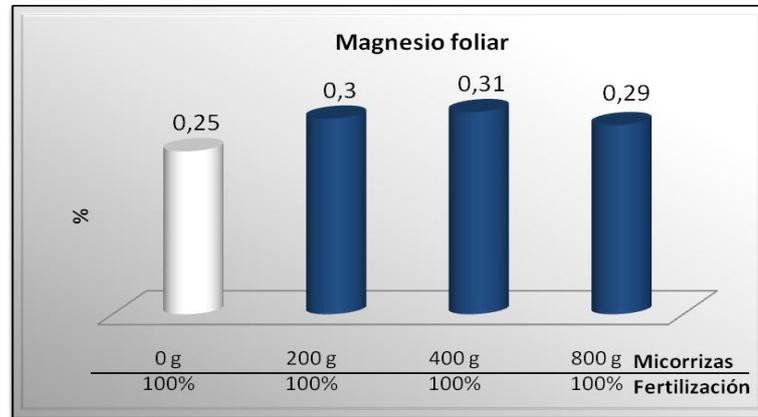


Figura 3.30 Comparación de magnesio foliar en plantas de banano (*Musa paradisiaca*) micorrizadas vs. plantas no micorrizadas con 100% de fertilización durante la fase de aclimatación.

*Valores normales de magnesio foliar: 0,25-0,3%

3.2.9. Análisis de suelo

En el Anexo 1 se muestra el análisis de macro y micronutrientes del suelo de los diferentes tratamientos. Los valores de pH se presentaron similares entre los tratamientos, los cuales se encontraban en un rango de 6,41 a 6,98 ubicándose en un pH aproximadamente neutro.

El nitrógeno del suelo alcanzó niveles entre 0,39 y 1,09% superando los valores normales para cultivo de banano que van de 0,16 a 0,3%. Probablemente este aumento de nitrógeno se debe a la interacción de las micorrizas y la descomposición de la materia orgánica.

En el análisis de fósforo se observó que las plantas con dosis de 200 y 800g de micorrizas y fertilización del 50 y 75% consiguieron niveles normales de fósforo, mientras que plantas no micorrizadas registraron valores bajos. Esto es de especial importancia para las micorrizas, por lo que ellas actúan de mejor manera en suelos con cantidades limitadas de fósforo. El análisis de potasio para todos los tratamientos presentó valores similares, mientras que el magnesio mostró valores altos en casi todos los tratamientos.

CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN

4.1. Propagación de esporas de Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) nativos de cultivo de banano (*Musa paradisiaca*)

En la actualidad el creciente número de empresas productoras de inóculos de HMA demuestra la alta demanda de este tipo de insumos (Rodríguez-Romero y Jaizme-Vega, 2007). La utilización de estos inóculos comerciales implica el aumento del costo de producción, por lo que una de las alternativas para reducir estos costos sería la elaboración de camas de propagación de esporas de HMA, aprovechando de este modo el uso de poblaciones nativas del cultivo.

El método más conveniente para la propagación de esporas y su producción de grandes cantidades de inóculo, es el cultivo trampa. En esta técnica se usa un sustrato esterilizado (mezcla de tierra, arena o materiales inorgánicos), suelo con esporas y una especie vegetal de rápido crecimiento, como es el pasto.

Usuga y sus colaboradores (2008 a) evidenciaron una alta colonización en las raíces por los HMA utilizando como cultivo trampa *Brachiaria*, un pasto de zonas tropicales de América Central y del Sur. En la presente investigación se utilizaron *Brachiaria toledo* y *Brachiaria decumbens* obteniendo buenos resultados, inclusive la mezcla de turba y arena utilizada para el sustrato demostró ser adecuada para la micorrización, consiguiendo proporcionar aireación y bajo contenido de nutrientes, como se sugiere en la investigación realizada por Jaizme-Vega (1998).

La técnica empleada para la propagación de esporas fue práctica y de bajo costo, pudiendo obtener un inóculo con alto grado de colonización (ver Figura 3.2 del Capítulo 3) y elevado número de esporas por gramo de suelo (ver Figura 3.3 del Capítulo 3). Estos resultados demuestran la eficiencia en la elaboración de un inóculo micorrizado, adecuado para su empleo como biofertilizante. Si comparamos nuestros resultados con los obtenidos por Usuga *et al.* (2008 a), se observa que nuestro ensayo logró un mayor número de esporas y un elevado porcentaje de colonización.

Para este estudio se propagaron esporas de HMA provenientes de suelos bananeros. El utilizar esporas nativas presentó ventajas para su empleo como inóculo, debido a su efectiva acción bajo condiciones agro-climáticas propias del cultivo (Declerck *et al.*, 2005). Por otro lado, el inóculo consistió en una mezcla de especies de micorrizas (consorcio), donde algunas esporas suelen encontrarse en latencia lo que puede incidir en la variabilidad de la germinación (Robson *et al.*, 1994). Las raíces pueden ser colonizadas por más de una especie, por lo que se ha sugerido que el uso de un consorcio de HMA, es eficaz en distintas condiciones ambientales y para el crecimiento de la planta (Declerck *et al.*, 2005).

4.2. Aclimatación de plantas micropropagadas de banano (*Musa paradisiaca*) con Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA)

Las plantas producidas con la técnica de cultivo *in vitro* requieren un período de aclimatación (*ex vitro*) que les permita crecer y adquirir las características morfológicas y fisiológicas necesarias para sobrevivir en el campo.

Varma *et al.* (1998) sugiere que la inoculación con HMA a plantas micropropagadas por cultivo *in vitro* mejora el crecimiento y la nutrición en la fase de aclimatación. Este proceso ha demostrado ser beneficioso en numerosas especies de plantas tropicales como: papaya, aguacate, piña y banano (Declerck *et al.*, 2002 a). Jaizme-Vega (1998) propone que la inoculación de micorrizas en plantas de banano se debe hacer en la fase *ex vitro*, la cual puede ser una técnica fácil y satisfactoria para esta etapa de crecimiento.

La preinoculación de los HMA en plantas micropropagadas, puede exhibir beneficios en su traspaso a campo, entre los que se encuentran: competitividad sobre los patógenos del suelo y el incremento de las poblaciones naturales de HMA del cultivo (Delvaux, et al. 1998). Es por esto, que la inoculación durante la fase de aclimatación en los viveros comerciales, podría favorecer la supervivencia de las plantas para adaptarse mejor a condiciones en la fase de campo.

El banano al ser una especie que aprovecha la presencia de los hongos micorrícicos arbusculares (ya que es una especie micotrófica) (Jaizme-Vega y Rodríguez-Romero, 2004), presenta numerosos beneficios especialmente en la fase de aclimatación como ha sido reportado por: Jaizme-Vega y Rodríguez-Romero, 2002; Jaizme-Vega *et al.*, 2002; Barbosa *et al.*, 2002 y Thaker & Jasrai, 2002. En el presente trabajo, se puede comprobar que las plantas micorrizadas de banano provenientes de cultivo *in vitro* se desarrollaron de mejor manera en su parte fisiológica y sobrevivieron en la fase de aclimatación.

En el análisis de la altura de las plantas de banano, la interacción entre 100% de fertilización y 800g de micorrizas mostró ser el mejor tratamiento en este estudio, con un ligero aumento del tamaño de las plantas a los 90 días (Tabla 3.2 del Capítulo 3), posiblemente por la baja temperatura a que las plantas estuvieron expuestas durante el proceso de la investigación. La temperatura es un factor importante para la aclimatación de banano, mientras que Declerck *et al.* (2002 a) y Rodríguez-Romero *et al.* (2005) trabajaron en condiciones de invernadero con temperaturas que oscilan entre 27°C a 32°C, en nuestro estudio la temperatura fluctuó entre 21°C a 24°C. Esta diferenciación en el clima pudo retrasar el crecimiento en la altura de las plantas, sin embargo, la contribución de los HMA se pudo evidenciar en el análisis con las plantas control (no inoculadas) y las plantas micorrizadas con 100% de fertilización (ver Figura 3.7 del Capítulo 3), donde las plantas inoculadas presentan mayor altura.

El perímetro del tallo de banano es una variable que demuestra el desarrollo de las plantas, el cual es utilizado por los agricultores para poder predecir cuál sería su producción, al parecer conforme aumenta el perímetro existe un incremento en el número de manos de banano. Es necesario conocer este valor para evaluar el efecto que la simbiosis micorrícica alcanza en las plantas de banano micropropagadas. En el ensayo, las plantas con dosis de 800g de inóculo micorrícico presentaron mayor contorno del tallo, mostrando diferencias significativas frente a las plantas no inoculadas (ver Figura 3.8 del Capítulo 3). En cuanto a la fertilización, el 100% aplicado logró aumentar el perímetro de las plantas de banano en comparación con dosis de 50% y 75% (ver Figura 3.9 del Capítulo 3). La interacción entre los factores mostró que cuando se aplica 400g de micorrizas y 100% de fertilización el perímetro del tallo

se incrementa, presentando diferencias significativas con respecto a plantas no inoculadas (con 100% de fertilización) (ver Figura 3.10 del Capítulo 3). Es evidente, que el aumento del perímetro del tallo de las plantas de banano, se vio favorecido por la presencia de los HMA, siendo esto muy importante para el desarrollo de la planta en la fase de aclimatación.

Los resultados de nuestro estudio coinciden con la investigación realizada por Barbosa *et al.* (2002), en donde la acción benéfica de los HMA incrementó el perímetro del tallo en los tratamientos inoculados con micorrizas, con respecto a los no inoculados.

Las plantas producidas *in vitro* necesitan incrementar su área foliar en su fase *ex vitro*, debido a que su aparato fotosintético está pobremente desarrollado. Los Hongos Micorrícicos Arbusculares han demostrado producir un impacto positivo sobre el área foliar de las hojas de banano (Declerck *et al.*, 2002 a). En nuestro estudio, las plantas de banano inoculadas con 800g de micorrizas presentaron la mayor área foliar en contraste con las plantas control (ver Figura 3.11 del Capítulo 3). La fertilización aplicada al 100% permitió que las plantas aumentaran su área foliar, con respecto a la fertilización de 50% y 75% (ver Figura 3.12 del Capítulo 3). En el efecto combinado entre micorrizas y fertilización, las plantas con una dosis de 800g y 100% de fertilización mostraron una mayor área foliar comparada con plantas no inoculadas (ver Figura 3.13 del Capítulo 3). Estos resultados confirman que los HMA intervinieron en el incremento de esta variable, permitiendo que las plantas aprovechen de mejor manera los rayos solares, debido a su mayor superficie foliar.

Thaker & Jasrai (2002) aseguran que el aumento progresivo en el área foliar de banano en la fase de aclimatación, es atribuido a la contribución de los HMA, lo que conduce a mejorar la eficiencia fotosintética de las hojas. En este estudio se evidenció este hecho, ya que la presencia de las micorrizas ayudó a incrementar el desarrollo del área foliar, y además aporta protección a las plantas del estrés en su fase *ex vitro*.

El crecimiento de las plantas puede ser evidenciado también por el peso de la biomasa aérea. Para nuestro estudio los distintos porcentajes de fertilización presentaron

diferencias significativas, mostrando un mayor aumento en las plantas bajo una fertilización del 100% (ver Figura 3.14 del Capítulo 3), esto nos indica que este factor no puede ser menor a la dosis óptima (100%), posiblemente porque las micorrizas incrementan la absorción de nutrientes aprovechando totalmente la fertilización aplicada. La interacción de micorrizas y fertilización nos revela que no es representativa la dosis de inóculo micorrícico que se coloque, este puede ser desde 200g a 800g, mientras que el porcentaje de fertilización se mantenga en un 100%. Los resultados de nuestra investigación se asemejan a los reportados por Jaizme-Vega y Rodríguez-Romero (2004) en plantas de banano micropropagadas, en donde la inoculación con *Glomus mosseae* (cepa nativa de banano), incrementó el peso fresco de la parte aérea de las plantas, mostrando mejor capacidad para la micorrización. Las plantas de banano en nuestro estudio evidenciaron el aumento del peso fresco y seco de la biomasa aérea en contraste con plantas no micorrizadas (ver Figura 3.15 del Capítulo 3).

El efecto más importante de la infección por HMA en la raíz es el incremento en tamaño y número de raíces adventicias, resultando un sistema de raíz más densa (Jaizme-Vega *et al.*, 2005). Las plantas de banano bajo una fertilización del 100% presentaron el mayor peso radical (ver Figura 3.17 del Capítulo 3), lo que sugiere que la fertilización es muy importante y no podría ser menor en la fase de aclimatación. En la interacción entre las dosis de micorrizas y el porcentaje de fertilización se pudo observar un incremento en el peso de la biomasa radical cuando se aplicaron diferentes dosis de HMA. El incremento fue aun más notorio con la máxima dosis de micorrizas (800g) y fertilización del 100% en contraste a las plantas no inoculadas (ver Tabla 3.9 del Capítulo 3). Al parecer el aporte de micorrizas aumenta el peso de la biomasa radical en plantas de banano (fase de aclimatación).

Jaizme-Vega *et al.* (2005) encontraron que plantas de banano inoculadas con *Glomus intraradices* mostraron un sistema radical más frondoso, esto concuerda con el aumento de las raíces adventicias que las plantas presentaron con el tiempo en nuestro estudio (ver Figura 3.18 y 3.19 del Capítulo 3).

Para evaluar la presencia de los HMA en el presente ensayo, se cuantificó el número de esporas por gramo de suelo y el porcentaje de colonización en las raíces de

banano. Se observó que el conteo de esporas aumentó proporcionalmente con la dosis de micorrizas (ver Figura 3.20 del Capítulo de 3), las plantas no inoculadas presentaron un bajo número de esporas, debido posiblemente a que el sustrato no fue esterilizado o se contaminó, ya que el ensayo se realizó en campo y no se pudo controlar estas condiciones. El porcentaje de colonización fue superior para las plantas inoculadas con micorrizas (ver Figura 3.20 del Capítulo 3), mostrando diferencias significativas frente a las plantas no inoculadas. El efecto conjunto entre el porcentaje de fertilización y las dosis de micorrizas mostró diferencias significativas entre plantas micorrizadas y no micorrizadas (ver Tabla 3.10 del Capítulo 3). Resulta peculiar que la cantidad de fertilización no influyó sobre la infección y esporulación de los HMA, es decir, las plantas evidenciaron la presencia de las micorrizas con 50%, 75% y 100% de fertilización. El porcentaje de colonización que las raíces de banano adquirieron es elevado, esto se debe a que el banano es considerado una especie micotrófica, es decir que es dependiente de la inoculación micorrícica.

La Dependencia Micorrícica Relativa (DMR) en este estudio no pudo ser calculada mediante la fórmula propuesta por Plenchette *et al.* (1983), ya que las plantas control se micorrizaron, pero el porcentaje de colonización fue menor que el de las plantas inoculadas. Sin embargo, los resultados indican la dependencia de las plantas de banano a la simbiosis micorrícica, porque con pocas esporas alcanzaron un porcentaje de colonización considerable.

En los resultados de Jaizme-Vega *et al.* (2004) y Declerck *et al.* (2002 b) sobre la dependencia micorrícica y porcentaje de colonización, se observa que probablemente existe una relación directamente proporcional entre ambos es decir, que al aumentar el porcentaje de colonización, la dependencia micorrícica relativa es mayor. Es por esta razón, que en nuestro estudio se podría sugerir que existe una alta dependencia micorrícica relativa atribuida a un elevado porcentaje de colonización, a pesar de que no es posible obtener un valor cuantitativo.

Usuga *et al.* (2008 a) utilizaron inóculos preparados a base de suelo de cultivo de banano y evidenciaron un importante porcentaje de colonización comparado con un inóculo comercial, esto se debe al empleo de un consorcio de especies nativas de HMA,

como ya se mencionó anteriormente, esto presenta ventajas como inóculo por su efectiva acción bajo diferentes condiciones agro-climáticas, donde más de una especie coloniza las raíces. En nuestro estudio la utilización de un inóculo con HMA nativo de la zona, presentó un alto porcentaje de colonización en las plantas de banano. Rodríguez-Romero *et al.* (2007) al evaluar la efectividad de productos comerciales formulados a base de micorrizas, observó que estos inóculos presentaron un bajo porcentaje de colonización. Lo que contrasta con los resultados de la presente investigación.

La transferencia de las plántulas *in vitro* a condiciones *ex vitro* presenta desventajas en la utilización de plantas micropropagadas de banano, debido al alto grado de mortalidad proporcionado por el estrés del trasplante (Jaizme-Vega, 1998). En nuestro ensayo la micorrización temprana alcanzó el 100% de supervivencia en las plantas de banano (ver Figura 3.21 del Capítulo 3), como se ha visto en otros estudios de Jaizme-Vega *et al.* (2002), Declerck *et al.* (2002 b) y Usuga *et al.* (2008 b).

Los HMA intervienen de manera especial en la absorción de nutrientes, aumentando la capacidad de exploración del suelo y la captación de iones de difusión lenta (Smith & Read, 1997; Quilambo, 2003). En el caso del nitrógeno el mayor porcentaje foliar se presentó en las plantas micorrizadas en comparación con plantas no inoculadas, sin embargo estos valores no alcanzaron los rangos normales (ver Figura 3.22 del Capítulo 3). Estos resultados revelan la necesidad de incrementar la fertilización foliar con nitrógeno, debido a que el nitrógeno es uno de los elementos importantes para el desarrollo de la planta. En este ensayo resulta interesante comparar el análisis de nitrógeno foliar con el del suelo. En el primero se obtuvieron niveles bajos (ver Tabla 3.11 del Capítulo 3) y en el segundo valores altos de este nutriente (ver Anexo 1). Al parecer el contenido alto de nitrógeno del suelo provino de la descomposición de la materia orgánica, ocasionada por la presencia de las micorrizas (Bending *et al.*, 2006), este nitrógeno orgánico no es inmediatamente disponible para la planta.

El fósforo es un elemento necesario para el desarrollo de las plantas de banano en sus primeras etapas, nuestro ensayo muestra que la biomasa aérea presenta niveles

mayores de fósforo en plantas micorrizadas, favoreciendo a la planta con valores altos en foliares de banano (ver Figura 3.25 del Capítulo 3). Se sabe que en plantas de banano micorrizadas se obtienen valores altos de fósforo contrariamente a lo que sucede con las no micorrizadas (Jaizme-Vega, 1998). El efecto de la fertilización sobre el fósforo obtuvo diferencias significativas siendo las dosis de 50% y 75% las que obtuvieron mayor contenido de fósforo (ver Figura 3.26 del Capítulo 3).

En este estudio el contenido de fósforo foliar se vio favorecido por las plantas micorrizadas con dosis de 800g y fertilización del 100% (ver Tabla 3.12 del Capítulo 3), permitiendo que las plantas se mantuvieran en rangos normales a nivel foliar en plantas de banano, por lo que la eficiencia de las micorrizas se presenta directamente en este elemento ayudando a las plantas en su absorción (Smith & Read, 1997).

El análisis del fósforo en el suelo (Anexo 1) muestra que las plantas no inoculadas poseen menor cantidad de este elemento en comparación con plantas micorrizadas, por lo que se demuestra el aporte de los HMA en la descomposición de la materia orgánica proveniente del sustrato empleado (tamo de arroz) incrementando el valor del fósforo.

El potasio es el elemento más importante en la producción de banano, debido a su acumulación en la fruta y en el resto de la planta (López y Espinosa, 1995). El efecto de las diferentes dosis de micorrizas logró la asimilación del potasio, obteniendo valores altos en comparación a plantas no micorrizadas (ver Figura 3.28 del Capítulo 3). La interacción entre dosis de micorrizas y fertilización no mostró diferencias significativas, esto nos sugiere que la fertilización puede estar entre 50% y 100%, siempre que las plantas sean inoculadas con los HMA (ver Tabla 3.14 del Capítulo 3). En esta investigación los resultados indican que la contribución de micorrizas ayuda a la absorción de potasio, algunas veces este nutriente se encuentra inmovilizado en el suelo y su deficiencia produce clorosis en las hojas y deformaciones del racimo.

El magnesio es importante por su presencia en el centro de la molécula de clorofila, en nuestro estudio el análisis foliar presentó mayores niveles en el contenido de magnesio en las plantas micorrizadas, en contraste con plantas no micorrizadas (ver

Figura 3.29 del Capítulo 3), demostrando la contribución que tienen las hifas extraradicales en la absorción de este elemento. En los análisis de suelo se observan niveles altos de magnesio (Anexo 1), Robson *et al.* (1994) asegura que el magnesio no interfiere en la micorrización, cuando este elemento se encuentra en cantidades mayores a los normales, este hecho asegura que el alto contenido de magnesio no fue tóxico para los HMA.

En esta investigación se evidenció la absorción de nutrientes por la aplicación del inóculo micorrícico (en las plantas de banano durante la fase de aclimatación). Este poder de asimilación de nutrientes, es ocasionado por la ramificación de las hifas extraradicales de las micorrizas, en el entorno de la rizósfera (Aguilera-Gómez *et al.* 2008).

La mayoría de las variables evaluadas mostraron los mejores resultados cuando se encontraban bajo una fertilización del 100%, esto sugiere que es posible utilizar el plan de fertilización de un vivero comercial y conseguir el efecto de la micorrización mejorando el crecimiento y nutrición de las plantas micropropagadas, como lo afirma Jaizme-Vega y Rodríguez-Romero (2004).

En el presente trabajo la contribución de los hongos micorrícicos arbusculares en plantas micropropagadas de banano durante la fase de aclimatación, demostró la mejor respuesta al crecimiento y desarrollo de la plantas, evidenciado por el aumento de la altura, perímetro, área foliar, peso de la biomasa aérea, biomasa radical y absorción de nutrientes.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES

1. La cuantificación del número de esporas de las siete haciendas de HDINEAGROS (Machala), permitió conocer que la Hacienda Central es la que posee la mayor población de esporas de HMA.
2. La técnica empleada para la propagación de esporas de HMA nativas de cultivo de banano, constituyó la formación de un inóculo micorrícico con alto grado de infección, poniendo de manifiesto la posibilidad de usar esta tecnología en los sistemas de producción.
3. La micorrización temprana benefició el desarrollo de plantas de banano micropropagadas, incrementando la tolerancia de este cultivo a situaciones de estrés, lo que constituye una medida de aplicación práctica para la adaptación de las plantas durante la fase *ex vitro*.
4. La inoculación de Hongos Micorrícicos Arbusculares en plántulas de banano micropropagadas aportó beneficios significativos para el crecimiento de las plantas, aumentando la altura, perímetro, área foliar, biomasa aérea y radical, cuando se aplicaron 800g de micorrizas y fertilización al 100%. Esto comprobó la hipótesis planteada, demostrando que la utilización de micorrizas ayuda al desarrollo de las plantas de banano (*Musa paradisiaca*) en la fase de aclimatación.
5. La dependencia micorrícica relativa no pudo ser visible con la aplicación de la fórmula propuesta, a pesar de esto, se comprobó la dependencia de las plantas de banano a la simbiosis micorrícica por los altos porcentajes de colonización y por evidenciar su desarrollo y supervivencia en el ensayo.
6. Las plantas micorrizadas evidenciaron una mayor absorción de fósforo, nitrógeno, potasio y magnesio, en contraste con las plantas no inoculadas, debido a la capacidad que presentan los HMA en la asimilación de nutrientes y descomposición de la materia orgánica, logrando la movilidad de los mismos.

CAPÍTULO 6: RECOMENDACIONES

1. Se sugiere realizar estudios sobre la evaluación en campo del efecto de los diferentes tratamientos químicos (fertilizantes, herbicidas y pesticidas) sobre plantas micorrizadas de cultivo de Banano (*Musa paradisiaca*), para conocer cómo influye estos factores sobre el desarrollo de las poblaciones micorrícicas en el campo.
2. Sería importante medir variables de producción como: el tamaño del racimo, número de manos, color de la fruta y el rendimiento en el campo sobre plantas micorrizadas en la fase de aclimatación, para determinar los beneficios que los HMA otorga a este tipo de cultivo.
3. Se recomienda evaluar en plantas de banano durante su fase de aclimatación, la contribución de los HMA como control biológico de patógenos de raíz (nematodo) y establecer cuál es el mecanismo involucrado en este proceso de protección a la plantas.

CAPÍTULO 7: BIBLIOGRAFÍA

Aguilera, L., Olalde, V., Arriaga, R. y Contreras, R. (2007). Micorrizas Arbusculares. Ciencia Ergo Sum, 14 (3), 300-306.

Alarcón, A. y Ferrera, R. (2000). Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas, Terra 17 (3), 179-191.

Arias P., Dankers C., Liu P. y Pilkauskas P. (2004). La Economía Mundial del Banano 1985-2002. Food and agriculture organization of the United Nations. Roma.

Azcón-Aguilera, C., Barea, J., Gianinazzi S. & Gianinazzi-Pearson, V. (Eds). (2009). Mycorrhizas Functional Processes and Ecological Impact. Berlin-Alemania: Springer. 23-56.

Barbosa R., Ribeibbro E. e Da Silva F. (2002). Micorriza Arbuscular e materia orgánica na aclimatização de mudas de bananeira, cultivar nanicao. Bragantia, Campinas, v. 61. 3, 277-283.

Bending G., Aspray T. & Whipps J. (2006). Significance of Microbial Interactions in the Mycorrhizosphere. Elsevier 60: 97-132.

Blanco F. A. y Salas E. A. 1997. Micorrizas en la Agricultura: Contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. Agronomía Costarricense. 21(1): 55-67.

Brundrett MC. 2008. Ectomycorrhizas. In: Mycorrhizal Associations: The Web Resource. Version 2.0. Date accessed. <mycorrhizas.info>.

Carrillo M. (2004). Evaluación de diferentes sustratos en la aclimatación de *vitro*-plantas de banano (*Musa* spp.) en la fase de vivero, bajo condiciones de sombreador. (Tesis de Pregrado- Universidad de San Carlos Guatemala), [En línea].

Disponible en http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2094.pdf [Consulta: 7 febrero 2011].

Cayón S.G. (2004). Ecofisiología y productividad del plátano (Musa AAB Simmonds) XVI Reunión Internacional ACORBAT 2004. 172-181p.

Chinchilla E., Rojas D. y Forastieri V. (2004). Estudio del proceso de trabajo y operaciones, perfil de riesgos y exigencias laborales en el cultivo y empaque del banano. Programa de la OIT en seguridad, salud y medio ambiente. 10-11.

Cuenca G., Cáceres A., Oirdobro G., Hasmy Z. y Urdaneta C. (2007). Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. Interciencia 32(1):23-29.

Declerck S., C. Plenchette & D.G. Strullu. (1995). Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. Plant and Soil 176(1): 183-187.

Declerck S., Risede J. M. & Delvaux B. (2002 a). Greenhouse response of micropropagated bananas inoculated with *in vitro* monoxenically produced Arbuscular mycorrhizal fungi. Elsevier Scientia Horticulturae 93: 301-309.

Declerck S., Risede J. M. Ruffykiri G. & Delvaux B. (2002 b). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on severity of root rot of bananas caused by *Cylindrocladium spathiphylli*. Plant Pathology 51, 109–115.

Declerck, S., Strullu, D. & Fortin, J. (Eds). (2005). In vitro cultured of Mycorrhizas. Soil Biology. Berlin-Alemania: Springer. 67-84.

Delvaux B., Declerck S. y Schadeck S. (1998). Propiedades y manejo de suelos en relación con la producción sostenible de banano ambientalmente amigable. Memorias del taller internacional sobre producción de banano orgánico y, o, ambientalmente amigable. INIBAP. 123-137.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2010. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Elsen A., Declerck S. y De Waele D. (2002). Efecto de tres hongos micorrizas arbusculares sobre la infección de *Musa* con el nematodo nodulador de las raíces (*Meloidogyne* spp.). INFOMUSA 11(1): 21-22.

Elsen A., Baimey H., Swennen R. and De Waele D. (2003). Relative mycorrhizal dependency and mycorrhiza-nematode interaction in banana cultivars (*Musa* spp) differing in nematode susceptibility. Plant and soil 256: 303-313.

Food and agriculture organization of the United Nations. (2008). FAOSTAT. En línea: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>

Food and agriculture organization of the United Nations. (2007). FAOSTAT. En línea: <http://faostat.fao.org/desktopdefault.aspx?pageid=342&lang=es&country=58>

Gerdeman, J. & Nicholson, H. (1963). Spores of mycorrhizal endogone species stracted for soil by wet sieving and decanting. Transnational British Mycological Society 46. 235-244.

Gerdeman, J. (1975). Vesicular-arbuscular mycorrhizae. The development and Function of Roots. (J.G. Torrey and D.T. Clarkson, eds). New York and London: Academic Press. 575-591.

Herrera R., Furrázola E., Ferrer R., Fernández R. & Torres Y. 2004. Functional estrategias of root hairs and Arbuscular micorrhizhae in an evergreen tropical forest, Sierra del Rosario-Cuba. Revista CENIC Ciencias Biológicas. 35: 113-123.

Jaizme-Vega M. C. & Pinochet A. S. 1997. Growth response of banana to three mycorrhizal fungi in *Pratylenchus goodeyi* infested soil. Nematopica 27 (1):69-76.

Jaizme-Vega, M. (1998). Aplicaciones de las Micorrizas Arbusculares (MA) sobre plataneras micropropagadas. Memorias del taller internacional sobre producción de banano orgánico y, o, ambientalmente amigable. INIBAP. 106-122.

Jaizme-Vega MC, Sosa Hernández B y Hernández Hernández JM (1998) Interaction of arbuscular mycorrhizal fungi and the soil pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* on the first stages of 'Grande Naine' banana. Acta Horticulturae 490: 285-295.

Jaizme-Vega, M. y Rodríguez-Romero, A. (2002). Aplicación de micorrizas sobre el cultivo de platanera. Avances de la investigación en las Canarias. En: Actividades del ICIA en platanera. Ed. Fernández Galván D y Hernández Delgado P. Publicado por ICIA. Gobierno de Canarias.

Jaizme-Vega, M., Esquivel, M., Tenoury, P. y Rodríguez, A. (2002). Efectos de la micorrización sobre el desarrollo de dos cultivares de platanera micropropagada. INFOMUSA 11(1), 25-28.

Jaizme-Vega, M. y Rodríguez-Romero, A. (2004). Uso de micorrizas en banano: logros y perspectivas. En: Publicación Especial. XVI Reunión Internacional Acrobat.x 143-157.

Jaizme-Vega, M., Rodríguez-Romero A. & Piñero M. (2005). Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) and other rhizosphere microorganisms on development of the banana root system. Banana root system. INIBAP. 180-192.

López, A., and J. Espinosa. 1995. Manual de Nutrición y Fertilización del Banano, Quito - Ecuador.

López, H., Ferrera, R., Farias, J., Aguilar, S., Bello, M. y López, J. (2005). Micorriza arbuscular, *Bacillus* y sustrato enriquecido con vermicomposta en el desarrollo de plantas de papayo TERRA Latinoamericana, 23(4), 523-531.

Menge J., Johnson E. and Platt R. (1978). Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. *NewPhytol.* (1978)81,553-559.

Mukergi K. Manoharachary C. & Chamola B. (2002). Techniques in Mycorrhizal Studies. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 51-59; 285-303.

Núñez R. (1989). El Cultivo del Banano. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Programa Nacional del Banano. Sección Cooperativas.

Phillips, J. & Hayman, D. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55, 158-160.

Plenchette, C., Fortin, J. & Furlan, V. (1983). Growth responses of several plant species to mycorrhiza in a soil of moderate P fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. Plant and Soil 70, 191-209.

Podila, G. & Douds, D. (Eds). (2000). Current Advances in Mycorrhizae Research. St. Paul, Minnesota: APS Press. 11-16.

Quilambo O. A. (2003). The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. African Journal of Biotechnology 2 (12): 539-546.

Ramos-Zapata J. y Guadarrama P. (2004). Los Hongos micorrizógenos arbusculares en la restauración de comunidades tropicales. Universidad y ciencia 1:59-65.

Riveros A., Rosales F., Romero J., Romero C., Jiménez M., Jiménez R., Acuña O., Tabora P., Segura R., Pocasangre L., y Villalobos M. (2006). Estandarización de enmiendas orgánicas para banano en América Latina y el Caribe. En: Publicación Especial. XVII Reunión Internacional Acrobat. 567-570.

Robson A., Abbott L. & Malajczuk N. 1994. Management of Mycorrhizas in Agriculture, Horticulture and Forestry. Australia: Kluwer Academic Publishers.

Rodríguez-Romero A., Piñero M. y Jaizme-Vega M. (2005). Effect of Arbuscular Mycorrhizal fungi and rhizobacteria on banana growth and nutrition. Agron. Sustain. Dev. 25: 395-399.

Rodríguez-Romero, A. y Jaizme-Vega, M. (2007). Evaluación de productos formulados en base a hongos formadores de micorrizas sobre el desarrollo de bananera en vivero. INFOMUSA 16 (1), 23-27.

Rufyikiri G., Declerck S., Dufey J. & Delvaux B. (2000). Arbuscular mycorrhizal fungi might alleviate aluminium toxicity in banana plants. New Phytol 148, 343-352.

Salamanca, C. y Silva, M. (1998). Las micorrizas como alternativa para el manejo sostenible de los agroecosistemas tropicales. Corpoica Regional Ocho Programa Métodos de Transferencia de Tecnología. 7-8.

Salamanca, C. y Cano, C. (2005). Efecto de las micorrizas y el sustrato en el crecimiento vegetativo y nutrición de cuatro especies frutales y una forestal, en la fase de vivero, en el municipio de Restrepo-Meta, Colombia. Encuentro Nacional de la Ciencia del Suelo “Materia orgánica y microorganismos en la agricultura Colombiana. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. Medellín.

Schnepf A., Roose T. & Schweiger P. (2008). Growth model for arbuscular mycorrhizal fungi. J. R. Soc. Interface 5, 773–784.

Sharrock S. & Lusty C. 2000. Nutritive value of banana. INIBAP annual report. Montpellier. Pág. 28-31.

Smith, S. E. & Read, D. J. (1997). Mycorrhizal symbiosis. San Diego: Academic Press. 89-95.

Stavros D. V., Liz J. S. & Robin S. 2010. *Glomus intraradices* and *Gigaspora margarita* Arbuscular mycorrhizal associations differentially affect nitrogen and potassium nutrition of *Plantago lanceolata* in a low fertility dune soil. *Plant Soil* DOI 10.1007/s11104-010-0619-4

Thaker, M. & Jasrai, Y. (2002). Increased Growth of Micropropagated Banana (*Musa paradisiaca*) with VAM Symbiont. *Plant Tissue Cult.* 12(2), 147-154.

Usuga, C. Castañeda, D. y Franco, A. (2008 a). 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(1), 4279-4290.

Usuga, C. Castañeda, D. Franco, A., Gómez F. y Lopera C. (2008 b). Efecto de la micorrización y la fertilización en la acumulación de biomasa en plantas de banano (*Musa* AAA cv. Gran Enano) (Musaceae). *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín* 61(1), 4269-4278.

Varma, A & Hock, B. (1998). *Mycorrhiza structure, function, molecular biology and biotechnology.* New York: Springer. 3-7; 177-187; 229-247.

ANEXOS

Anexo 1 Análisis de nutrientes del sustrato utilizado en aclimatación de plantas de banano (*Musa paradisiaca*) con HMA.

MICO. (g)	FERTL. (%)	pH	MO (%)	N total (%)	P (ppm)	K (cmol/kg)	Ca (cmol/kg)	Mg (cmol/kg)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	B (ppm)
0	50	6,85	8,73	0,44	1	0,51	6,8	2,72	14	8	1	2	0,63
0	75	6,41	14,26	0,71	5	0,71	4,85	2,63	27	14	1	3	0,4
0	100	6,73	15,1	0,75	5	0,66	4,9	2,8	19	12	1	3	0,65
200	50	6,98	20,77	1,04	14	0,71	8	3,45	33	12	2	4	0,4
200	75	6,68	13,85	0,69	11	0,71	9,15	3,54	31	13	2	3	0,65
200	100	6,51	10,57	0,53	8	0,66	7,45	3,29	31	12	1	3	0,45
400	50	6,89	11,8	0,59	6	0,61	12,4	4,03	34	10	2	3	0,4
400	75	6,95	10,1	0,5	7	0,71	9,6	3,86	38	9	2	3	0,37
400	100	6,73	9,2	0,46	9	0,61	10,75	3,95	38	11	2	3	0,63
800	50	6,59	9,78	0,49	11	0,71	12,6	3,87	37	8	2	3	0,45
800	75	6,47	7,87	0,39	11	0,81	2,55	1,32	42	7	2	3	0,63
800	100	6,76	12,13	0,61	9	0,66	12,5	3,95	33	7	2	2	0,4
VALORES NORMALES		Neutro	3,1-5	0,16-0,3	11-20	0,2-0,38	5-9	1,6-2.3	21-40	6-15	1.1-4	3.1-6	1-2