

# UTILIZACIÓN DE LOS HONGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES EN FASE DE GERMINADOR Y SIEMBRA DIRECTA PARA LA OBTENCIÓN DE PORTAINJERTOS DE SEMILLAS DE AGUACATE (*PERSEA AMERICANA* MILL).

Email: [lroberto@inca.edu.cu](mailto:lroberto@inca.edu.cu)

**Autores:** Luis R. Fundora Sánchez<sup>1</sup>, Ramón Rivera Espinosa<sup>1</sup>, José Víctor Martín<sup>1</sup>, Alfredo Calderón Puig<sup>1</sup>, Llayma Espinosa<sup>1</sup> y Ariel Torres Hernández.<sup>2</sup>

**1. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Cuba.**

**2. CCS Fortalecida "Pedro González" (ANAP), Cuba.**

## Introducción.

En el proceso de propagación, 5 factores son fundamentales en el desarrollo de plantas: luz, agua, temperatura, aireación y nutrición (Hartmann *et al.* 1990). Los materiales más utilizados como sustrato de vivero han sido; suelo, arena, vermiculita, turba, perlita, aserrín, corteza de árbol y compostas.

Algunas mezclas de sustratos se han desarrollado eficientemente en otros países, como la UC # 2 de la Universidad de California que consiste en ½ arena, ¼ peat moss, ¼ composta de madera nitrogenada, mas la adición de nutrimentos (Whitsell *et al.* 1989). Esta mezcla es utilizada para la germinación y desarrollo inicial de plantas de aguacate, luego son transplantadas en una mezcla de suelo, posteriormente son injertadas para su desarrollo final.

Los hongos micorrizicos-arbusculares en la propagación de frutales son una práctica ecológica eficiente. Los hongos establecen una asociación natural que favorece la nutrición de planta al inocularse en vivero (Alarcón, 1997; Ferrera- Cerrato, 1995) aunque también se encuentra en forma natural en plantaciones de aguacate (Hass y Menge, 1990), donde son eliminados comúnmente por las prácticas agrícolas.

El objetivo de este trabajo se centro en estudiar la utilización del biofertilizante EcoMic®, compuesto por cepas eficientes de HMA, como una alternativa nutricional que le permita a los productores optimizar la calidad de las plántulas de aguacate mejorando su estado nutricional.

## Materiales y métodos

El trabajo se realizo en un vivero perteneciente a la CCS Fortalecida "Pedro Gonzáles" en el Municipio Madruga, Provincia La Habana; con el objetivo de evaluar agronómicamente la obtención de portainjertos de aguacate (*Persea Americana* Mill). Se utilizaron dos métodos de propagación en condiciones de vivero: germinador y siembra directa. En el germinador las semillas fueron recubiertas con una pasta semifluida compuesta por el Biofertilizante EcoMic® mediante el método de recubrimiento de semillas; en la siembra directa se aplico la dosis de 10g de EcoMic®, en cada bolsa; el biofertilizante estaba compuesto por las cepas eficientes de HMA *Glomus hoi-like* y *Glomus mosse*. Los materiales utilizados fueron; cachaza (1 a 2 mm de diámetro), suelo agrícola Ferralítico Rojo compactado, que se corresponde con un suelo Nitisol Ródico Eútrico, [Nueva Versión de Clasificación Hernández *et al.*, (1999) (World Reference Base, Driesen *et al.*, (2001)] provenientes de áreas de pastoreo de la Empresa Genética del Este perteneciente al municipio Madruga. La cachaza se obtuvo como resultado del proceso de clarificación

de los jugos de caña de azúcar, en la Empresa Azucarera “Boris Luis Santa Coloma, por medio la alcalinización con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ; y la aplicación de calor, lográndose coagular y precipitar los sólidos del jugo separándolos después por decantación; este abono orgánico es rico en materia orgánica, fósforo y calcio. Sus características químicas aparecen en la (tabla 1)

**Tabla 1: Análisis químicos del sustrato (suelo: cachaza 3:1)**

Componentes	Na	K	Ca	Mg	P (ppm)	M.O (%)
	cmol.Kg					
Suelo+Cachaza	0.12	0.50	14.9	2.0	1397	5.37

Las cepas utilizadas es un complejo de especies del género *Glomus* sp integrado por *Glomus mosseae* (Nicolson & Gerdeman) y *Glomus hoi-like* (Gerdemann & Trappe, emend. Walter & Koske). Las 2 cepas de HMA estudiadas corresponden al inóculo certificado perteneciente al Cepario del Dpto. Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas del INCA. Ambas cepas contenían más de 20 esporas por gramo de sustrato como título de calidad.

El portainjerto provino de semilla de árboles criollos Raza Mexicana (*Persea americana* Mill.) de 25 años de edad localizado en los predios de Raúl Torres “La Concordia” CCS Pedro González, Municipio Madrugá.

Las semillas fueron seleccionadas para lograr la mayor uniformidad en cuanto a su tamaño, sin lecciones físicas o daños mecánicos, libres de afectaciones de patógenos, estas se trataron previamente con Mancozeb 80%, por imbibición durante 24 horas. En la elaboración de las mezclas para el recubrimiento se utiliza la metodología establecida por el INCA en base al 10% del peso de la semilla, estas se recubrieron desde la base hasta el tercer tercio empleando 1000gr de inóculo certificado para 250 semillas. Después de recubiertas se colocaron en el germinador de forma sentada sobre su parte ancha (base) con el ápice o parte aguda hacia arriba, enterrada de tal forma que quedara sin tierra una porción del ápice de 2 a 3 cm. Se arropo para evitar los daños del sol y preservar la humedad. A partir de los 25 o 30 días de inicio de la germinación fueron sacadas y llevadas a las bolsas de polytínelo negro que contenían la mezcla de suelo – cachaza relación 3/1v/v. La aplicación de agua, se realizó de forma manual de acuerdo a las necesidades del cultivo.

#### **Tratamientos y evaluaciones realizadas:**

Los tratamientos en estudio fueron los siguientes

- T1: Semillas no inoculadas en el germinador
- T2: Semillas no inoculadas en la siembra directa
- T3: Semillas inoculadas con la cepa *Glomus mosseae* en el germinador
- T4: Semillas inoculadas con la cepa *Glomus mosseae* en la siembra directa
- T5: Semillas inoculadas con la cepa *Glomus hoi-like* en el germinador
- T6: Semillas inoculadas con la cepa *Glomus hoi-like* en la siembra directa

Las evaluaciones agronómicas realizadas se efectuaron a los 200 días después de germinadas las plantas y fueron las siguientes:

**Altura:** Con una regla graduada en cm, midiendo desde el cuello de la raíz hasta el ápice.

**Diámetro del tallo:** Empleando un pie de rey, a 2 cm del cuello del tallo.

**Numero de hojas:** Por conteo.

**Longitud de las hojas y ancho de las hojas:** Con una regla graduada en cm, la primera desde la unión del pecíolo con la laminar foliar y la segunda de borde a borde de dicha superficie por el centro de la parte más ancha.

#### **Variables micorrízicas:**

La colonización radical por los hongos micorrízicos arbusculares se determinó a través del número de esporas y porcentaje de Colonización (%Col) por tratamiento, procedente de cinco plantas.

**Porcentaje de colonización (%Col):** Para la determinación de esta variable se usó la metodología de tinción descrita por Phillips y Hayman (1970). La cuantificación se realizó a través del método de los interceptos descrito por Giovannetti y Mosse (1980), los resultados fueron transformados utilizando la función  $2\arcsen\sqrt{x}$  de acuerdo con (Lerch, 1977).

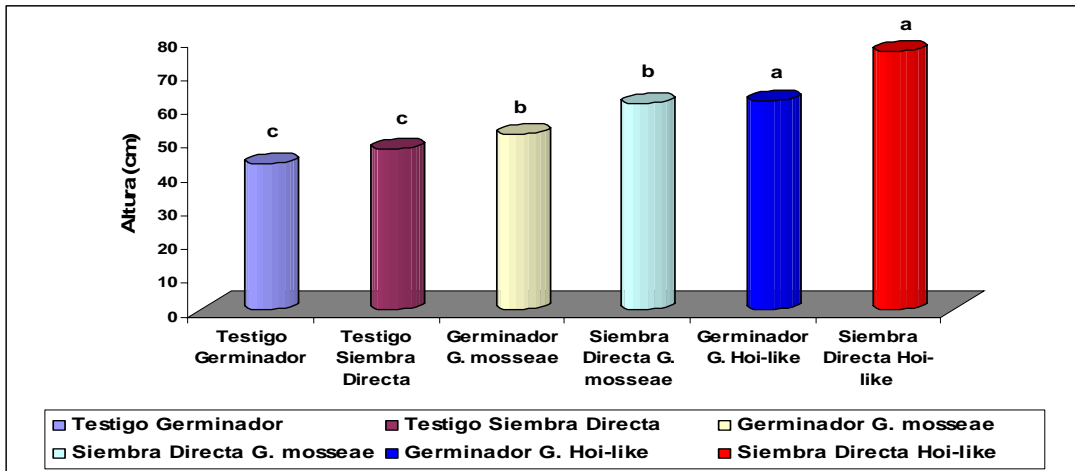
#### **Análisis estadísticos y diseño experimental:**

En todos los casos los resultados experimentales fueron sometidos al análisis estadístico correspondiente (Anova), aplicándose la prueba de comparación de rangos múltiples de Duncan referidos por Cochran y Cox (1990) con  $P < 0.001\%$  como criterio comparativo entre los distintos tratamientos en los casos donde se encontró diferencias significativas. Se empleo un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones, conformado por 5 plantas cada una.

#### **Resultados y discusión**

##### **Altura y diámetro del tallo**

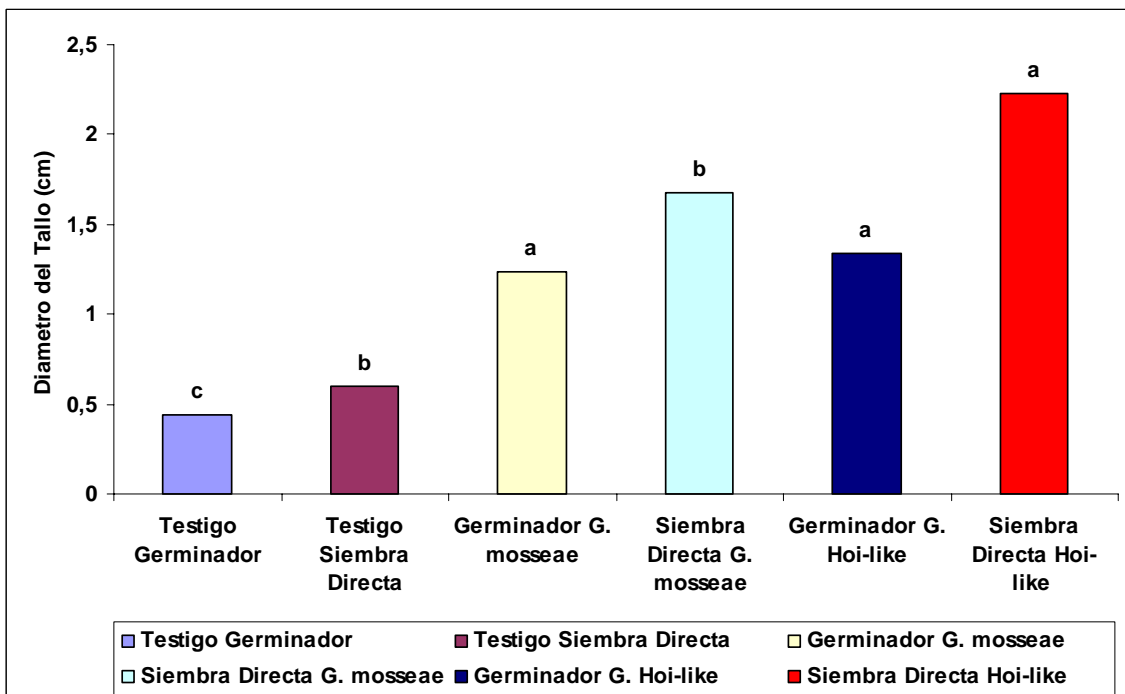
La altura es uno de los parámetros de crecimiento que tienen mayor valor para evaluar la calidad de las posturas en la fase de vivero. En la Figura 1 se muestra la influencia de los tratamientos estudiados sobre la variable altura de las plántulas a los 6 meses después de germinadas las semillas, observándose diferencias significativas con relación al incremento en la altura a favor de los tratamientos inoculados por ambos métodos y el no inoculado siendo los tratamientos donde se aplicó la cepa (*Glomus hoi-like*) T5 y T6 los que presentaron los valores mas significativos T5 61.9cm y T6 76,4.



**Fig1. Altura de las plántulas alcanzado a los 6 meses de germinadas las semillas.**

El diámetro del tallo es uno de los parámetros del vigor de las plántulas que se considera importante en el momento del trasplante ya que muestra la fortaleza y la resistencia que estas plantas puedan presentar al ser llevadas al campo.

Con relación a la variable diámetro del tallo Figura 2, observamos que hubo un efecto positivo superior en los tratamientos donde se inocularon las semillas con relación a los no tratados al igual que en la altura mostrándose su mayor efecto tanto para la cepa (*Glomus hoi-like*) T5 y T6 y (*Glomus mosseae*) para los cuales no hubo diferencias significativas, en ambos métodos en comparación con el tratamiento T1 y T2 testigo sin inocular.



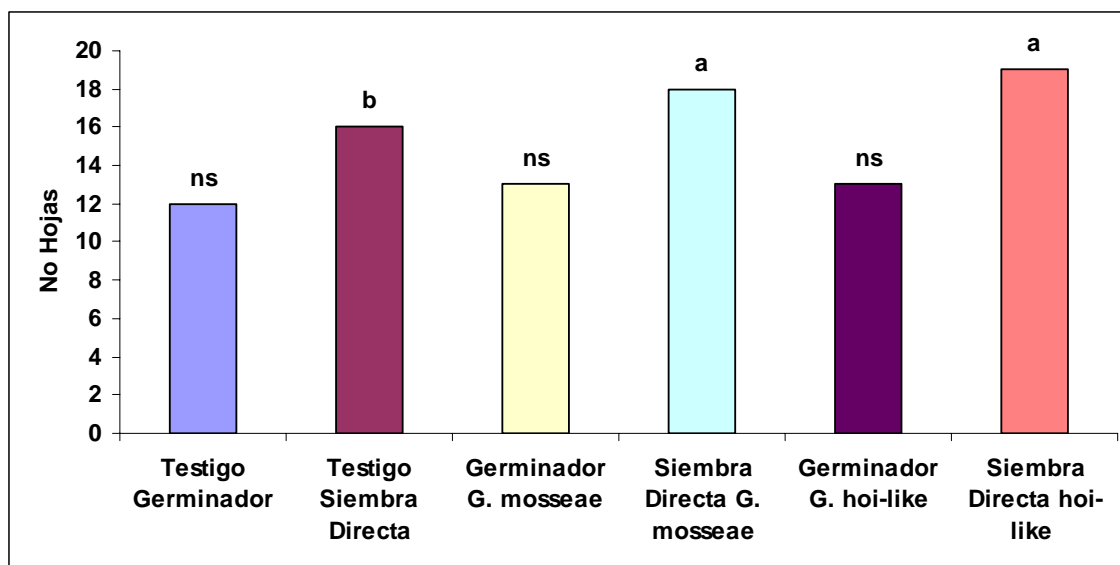
**Fig2. Diámetro del tallo de las plántulas.**

El crecimiento en altura y diámetro de las plantas fue afectado de forma positiva en los tratamientos donde se inoculó la semilla con las cepas de hongos micorrízicos arbusculares en ambos métodos; efectos similares fueron reportados por Ginsburg y Avizhoar - Hershenson (1965) y Hall y Finch, (1974) 200 días después de que las plantas fueron sometidas al efecto de la micorriza, la altura aumentó 12.6 cm. y el diámetro de tallo 0.07 cm. con respecto a los tratamientos no inoculados.

La adaptación de los hongos micorrízicos pudo haberse desarrollado en forma lenta, muchas veces la colonización se limita cuando el sustrato de crecimiento de la planta es rico, o posiblemente que algunas especies tengan mayor facilidad de respuesta que otras como es el caso de papaya, piña y banana, en aguacate el efecto no fue inmediato pero se demostró el carácter micotrófico de la planta (Jaizme-Vega y Azcón, 1995).

### No de hojas.

El número de hojas emitidas también es un parámetro importante del desarrollo biológico del cultivo. En la Figura 3 se muestra el número de hojas que produjeron las plantas en el período analizado, observándose que no hubo diferencias significativas provocadas por los tratamientos en las plántulas obtenidas inicialmente en el germinador (Testigo germinador, Germinador *G. mosseae* y Germinador *G. hoi-like*), esto puede haberse sido como consecuencia a la presencia de cepas nativas en el sustrato que las cuales manifiesten su eficiencia en este parámetro evaluado. Sin embargo en las plántulas obtenidas en por siembra directa si difirieron estadísticamente (Testigo Siembra directa, Siembra directa *G. mosseae* y Germinador *G. hoi-like*) , manifestándose su mayor efecto en las inoculadas.

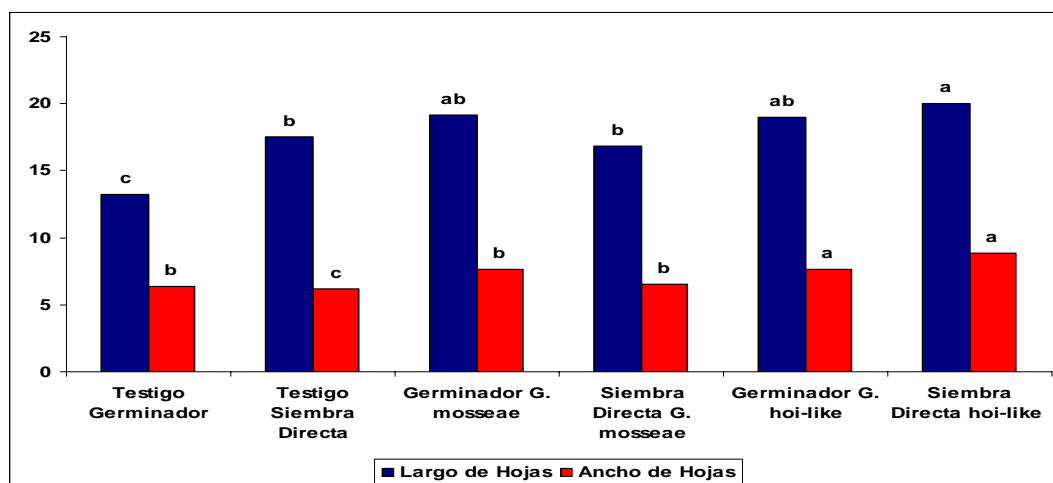


**Fig3. Numero de hojas.**

### Largo, ancho, largo x ancho de las hojas.

Otros de los indicadores agronómicos evaluados fueron, el largo, ancho y el largo x ancho de las hojas Figura 4; si bien estas se toman como elemento parcial para ayudar a los trabajos de identificación de variedades clonales, también juegan un papel muy importante en la actividad fotosintética de la planta. En este trabajo se observó un consistente efecto positivo y significativo a la inoculación con estas especies de HMA,

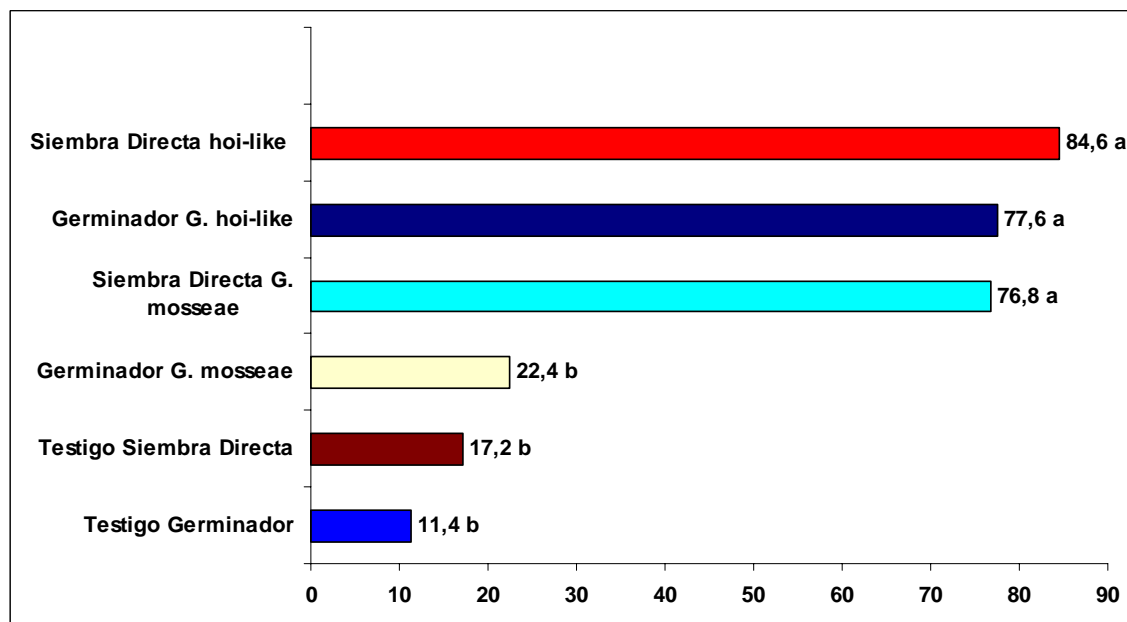
donde de forma general los mayores valores se obtuvieron en los tratamientos inoculados y los menores en los no inoculados.



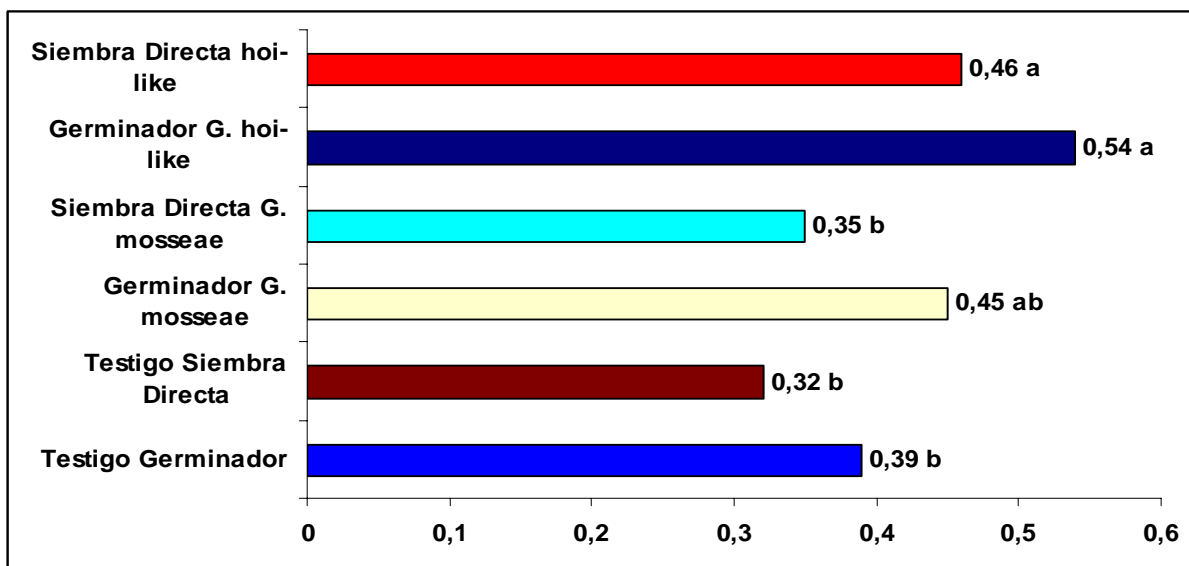
**Figura 4. Largo y ancho de las hojas**

#### Parámetros micorrízicos

A los 6 meses después de la inoculación se observó mayor presencia de esporas, en las plántulas inoculadas con las cepas de micorrízicas utilizadas Figura 5. Los resultados de la colonización micorrízica (Figura 6) manifestaron una colonización mayor en las plantas inoculadas para ambos métodos; aunque existieron diferencias significativas con las plántulas no tratadas, sus valores de colonización no fueron tan bajos; por lo que atribuimos esta respuesta a la presencia de especies nativas del género *Glomus* las cuales no fueron identificadas, y pueden haber tenido algún efecto sobre este indicador.



**Fig5. Esporas en 50g de sustrato.**



**Figura 6. % Colonización.**

Los resultados obtenidos en la colonización de las micorrizas nativas, corroboran lo señalado por Chacón y Cuenca (1998), quienes encontraron una efectiva colonización de las cepas nativas en el cultivo de la guayaba en la fase de vivero. La infección se inicia por el crecimiento de la hifa del hongo a partir de algún propágulo en el suelo, después sucede una serie de eventos de reconocimiento entre las dos especies que conduce a cambios anatómicos y fisiológicos en ambos simbios (Koide y Schreiner, 1992), el primer signo visible es la formación de la apresoria en la superficie de la raíz (Smith y Gianinazzi-Pearson, 1988).

#### Referencias:

Hartmann, H.T., D.E. Kester and F.D. Davies. 1990. Plant propagation. Principles and practices. Fifth edition. ed. Prentice Hall. Printed U.S.A. 647 p.

Whitsell, R.H., G.E. Martin, B.O. Bergh, A.V. Lypps and W.H. Brokaw. 1989. Propagating avocados, Principles and techniques of nursery and field grafting. University of California. Publication 21461. 30 p. Alarcón, A. 1997. Capacidad fotosintética del portainjerto *Citrus volkameriana* inoculado con micorriza arbuscular. Tesis de Maestría en Ciencias. Especialidad de Edafología. Montecillo, México. pp. 117.

Hass, J.H. and J.A. Menge. 1990. VA-mycorrhizal fungi and soil characteristics in avocado (*Persea americana* Mill) orchard soils. Plant and Soil. 127: 207-212. Hernández *et al.*, (1999)

Driesen, P, Deckens, J; Spaargaren, Oand Nachtergaele, F.: Lecturas Notes on the Major Soils of the World. World Soil Resousces Report, 94. Rome, 2001. 334p.

Phillips, J.M.; Hayman, D.E. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br Mycol. Soc. 55: 158-161, 1970.

Giovanetti, M.; Mosse, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. *New Phytologist* 84: 489-500, 1980.

Lerch, G. La experimentación en las ciencias biológicas y agrícolas. Editorial Científico técnico, 1977, 452 p.

Cochran, W and G. Cox. Diseños experimentales. México Editorial Trellas.132,135.— 1990.

Ginsburg, O., and Avizohar-Hershenson. 1965. Observations on Vesicular arbuscular mycorrhiza associated with avocado roots in Israel. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 48: 101-104.

Hall, J.B. and H.C. Finch. 1974. Mycorrhiza in roots of avocado: effect upon chemotaxis of *Phytophthora cinnamomi* zoospores. *Proc. Amer. Phytopathol. Soc.* 1:86. (Jaizme-Vega y Azcón, 1995)

Chacón, A. M y Cuenca, G. Efecto de las micorrizas arbusculares y de la fertilización con fósforo, sobre el crecimiento de la guayaba en condiciones de vivero. *Agronomía Tropical*, 1998, 48(4):425-440.

Koide, R.T. y R. P. Schreiner. 1992. Regulation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43:557-81.