

RESPUESTA DEL CULTIVO DE TOMATE A LA APLICACIÓN DE DOS INOCULANTES DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES POR VÍAS DIFERENTES DE INOCULACIÓN

TOMATO CROP RESPONSE TO THE APPLICATION OF TWO ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI INOCULANT FOR DIFFERENT ROUTES OF INOCULATION

Yonaisy Mujica P.*, Blanca de la Noval* y José Dell' Amico R.*

*Investigadores. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas. San José de las Lajas. La Habana, Cuba. Correo electrónico: ymujica@inca.edu.cu, amico@inca.edu.cu.

RESUMEN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) representan un grupo de microorganismos edáficos que establecen simbiosis con las plantas influyendo positivamente en su crecimiento y desarrollo. Con el objetivo de evaluar la respuesta productiva del cultivo de tomate, *Solanun lycopersicum* L. var Amalia, a la aplicación de inoculantes del género *Glomus* por dos vías diferentes de inoculación: sólido y líquido; se realizó esta investigación en las áreas experimentales del Departamento de Servicios Agrícolas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Las cepas de HMA empleadas fueron: *G. hoi-like* (INCAM 4) y *G. mosseae* (INCAM 2), a partir de éstas, se obtuvieron cuatro dosis de inoculantes líquidos que se conservaron en refrigeración 15 días antes de su aplicación (DAA). La inoculación se realizó en la etapa de semillero, 7 días después de la germinación (DDG). A los 30 y 55 días después del trasplante (DDT) y en la cosecha fueron evaluadas algunas variables del crecimiento: masa seca foliar, altura de las plantas y rendimiento agrícola y para el caso de los parámetros fúngicos se evaluó el porcentaje de colonización radical. Los resultados mostraron que el inoculante líquido tuvo un efecto positivo sobre los indicadores de crecimiento y el rendimiento del tomate.

Palabras Clave: *Solanun lycopersicum* L. var Amalia; micorrizas; dosis de inoculación; hortaliza.

SUMMARY

Arbuscular mycorrhizal fungi (AHM) are edaphic soil microbial that establish symbiosis with the plants influencing positively its growth and development. An experiment was conducted in experimental areas of the National Institute of Agricultural Sciences to study tomato, *Solanun lycopersicum* L., productive response to *Glomus* strains application for two different inoculants forms, soil and liquid. The mycorrhizal arbuscular fungi (MAF) strains used were: *G. hoi-like* (INCAM 4) and *G. mosseae* (INCAM 2), from which doses four liquid inoculants were obtained. Liquid inoculants were preserved by 15 d before their application in refrigeration. The inoculants were applied 7 d after seed germination. At 30 and 55 d after transplantation and at harvesting, growth (shoot dry weight, plants height yield) and fungal variables (percentage of mycorrhizal colonization) were evaluated. Results showed that liquid inoculants had positive effects on growth and yield indexes for tomato.

Key Words: *Solanun lycopersicum* L. var Amalia; Mycorrhizal; inoculation doses; vegetable.

RECIBIDO: junio 06, 2010

ACEPTADO: junio 28, 2011

INTRODUCCIÓN

El cultivo de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) pasa por un denominador común: la necesidad de una planta hospedera o explante de raicillas para completar su ciclo de vida, debido a su condición de simbiontes obligados (Fernández, 2003). Durante los últimos años, se desarrollaron diversas tecnologías de reproducción, siendo las más utilizadas aquellas que involucran a la planta en un medio o sustrato sólido y las ventajas de su aplicación se fundamentan en una consistente mejora de la nutrición y absorción de agua por las plantas (Giovannetti, 2000; Querejeta *et al.*, 2003).

Por otra parte, con la utilización de estos productos se minimizó considerablemente el impacto ambiental en los sistemas agrícolas. El Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas de Cuba (INCA), desarrolló con éxito biofertilizantes en soporte sólido con base de estos hongos, se conformó la serie EcoMic® y desde el año 2000, se trabaja en el desarrollo de un inoculante en medio líquido, con el objetivo de garantizar su aplicación a través de los sistemas de riego, asegurando su aplicación directa al sistema radical de las plantas e inoculación efectiva (Dell'Amico *et al.*, 2007).

En tal sentido, el objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta productiva del cultivo de tomate, *Solanum lycopersicum* L. var Amalia, a la aplicación de inoculantes basados en *Glomus* por dos vías diferentes de inoculación: sólida y líquida.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en las áreas de producción del Departamento de Servicios Agrícolas (DSA) ubicado en el municipio de San José de las Lajas, provincia La Habana durante dos ciclos productivos (2008-2010). Los experimentos se desarrollaron sobre un suelo Ferralítico Rojo lixiviado, según la Nueva Versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba (MINAG, 1999a), que se correlaciona con un Nitisol ferrálico (éutrico, ródico; IUSS, 2006).

Se utilizaron dos especies de HMA: *Glomus mosseae* (Nicol. y Gerd., enmendado por Gerdeman y Trappe; cepa INCAM 2) y *Glomus hoi-like* (cepa INCAM 4); aisladas de la zona sur de la provincia de La Habana y reproducidas en el Laboratorio de Micorrizas Arbusculares del INCA y cuatro dosis de inoculante líquido de 5, 10, 20 y 40 esporas de HMA por planta de cada

especie, como promedio, las que se conservaron en una solución osmoprotectora por 15 días antes de su aplicación (DAA). La composición de dicha solución está bajo protección por la solicitud de patente (Fernández *et al.*, 2004).

Las semillas de tomate var. Amalia, fueron obtenidas en el Departamento de Genética y Mejoramiento de las Plantas del INCA, se sembraron en semilleros, luego se trasplantaron a los 25-30 d. Durante esta etapa se aplicó fertilizante mineral de la fórmula completa 9-13-17 (NPK) a la dosis de 0,20 kg m⁻² y en esta misma fase se aplicaron los inoculantes de HMA líquido y sólido a los 7 DDG, a razón de 1 ml y 1 g por planta, respectivamente, con un promedio de 20 esporas.

Los experimentos se realizaron entre los meses de noviembre-marzo durante dos ciclos consecutivos del cultivo. En la etapa de trasplante se aplicó el fertilizante mineral NPK (9-13-17) a la dosis de 1 t ha⁻¹, en todas las parcelas experimentales, fraccionada en dos intervalos: al momento del trasplante y 30 d posterior al mismo. Las labores culturales fueron realizadas según lo establecido en el Instructivo Técnico del Cultivo (MINAG, 1999b).

Se siguió un diseño completamente aleatorizado, con arreglo bifactorial (3x2), un testigo de referencia sin inoculación y un tratamiento inoculado con EcoMic® y se realizaron cuatro repeticiones de cada tratamiento (ver Cuadro).

CUADRO. Tratamientos: cepas y dosis aplicadas en el experimento.

Tratamientos	Cepas	Dosis de esporas de HMA promedio por planta
T1	Testigo sin inocular	
T2	EcoMic®	
T3	<i>G. mosseae</i>	5
T4	<i>G. mosseae</i>	10
T5	<i>G. mosseae</i>	20
T6	<i>G. mosseae</i>	40
T7	<i>G. hoi-like</i>	5
T8	<i>G. hoi-like</i>	10
T9	<i>G. hoi-like</i>	20
T10	<i>G. hoi-like</i>	40

Las parcelas experimentales tenían un área total de 28 m², en un marco de plantación de 1,40 m x 0,25 m compuesto por 4 surcos. El área de cálculo fue de 0,35 m² para las variables fúngicas e indicadores de crecimiento de las plantas y de 7 m² para determinar el rendimiento del cultivo.

Evaluaciones

Las variables evaluadas fueron las siguientes:

1. **Parámetros fúngicos (a los 30 y 55 DDT):** las raicillas fueron secadas a 70 °C y teñidas mediante la metodología descrita por Phillips y Hayman (1970). El porcentaje de colonización radical se evaluó según el método de los interceptos descrito por Giovannetti y Mosse (1980).
2. **Índices del crecimiento de las plantas (a los 30 y 55 DDT):** Se determinó la altura de la planta (cm) y para la determinación de la masa seca foliar (g) las muestras permanecieron en la estufa a 70 °C hasta obtener peso constante.
3. **Componentes del rendimiento agrícola:** Se determinó el número de frutos por planta, y el rendimiento del cultivo (t ha⁻¹) al finalizar cada experimento.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante el software SPSS para Windows (SPSS 11.5). Se verificó el cumplimiento de las premisas del ANOVA, como la normalidad y homogeneidad de la varianza y posteriormente los datos fueron procesados estadísticamente mediante análisis de varianza bajo un arreglo bifactorial. Los datos del porcentaje de colonización micorrízica (% Col) fueron transformados por la función $\text{arcsen}\sqrt{x}$. Para la discriminación de medias se realizó la prueba de Duncan con una significación de un 95% en los casos en que el ANOVA resultó significativo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El nivel de predominio de las especies microbianas en las raíces de las plantas está dado por la interacción planta - microorganismo, que repercute en la selección e influencia de los mismos en función de la variabilidad de los exudados radicales de las plantas inoculadas (Azcón, 2000).

El análisis de los datos experimentales no mostró interacción significativa entre los factores en estudio para ambas etapas de muestreo, explicando que en esta variable no influyeron las cepas en estudio ni las dosis de inoculación. En la Figura 1 se observan los resultados de la colonización radical para los momentos de evaluación, encontrándose una respuesta positiva a la inoculación al comparar los tratamientos con el testigo con tendencia similar en ambos muestreos.

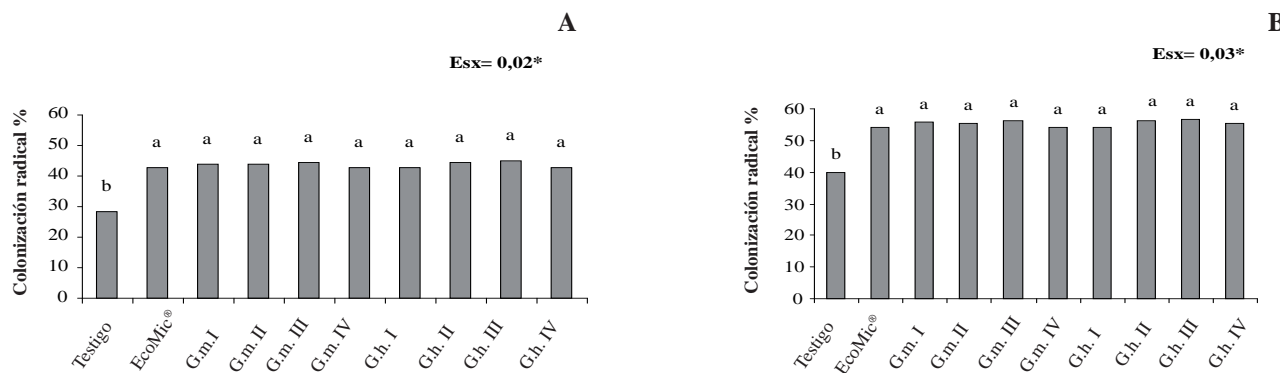
En el testigo se observaron valores de 30-40% de colonización radical, estos porcentajes resultan elevados si se comparan con los informados por Terry (2005), quien reportó niveles de solo 15% en plantas de tomate testigo a los 60 DDT, durante dos años en la misma área experimental. Los resultados alcanzados fueron inclusive más altos que los obtenidos por el autor antes mencionado al evaluar este indicador en plantas inoculadas con diferentes especies HMA.

Estos valores pudieron estar relacionados con la presencia de estructuras fúngicas en dicha área, provenientes de inoculaciones previas y sucesivas con diferentes especies de HMA del INCA (*Glomus clarum*, *Glomus fasciculatum*, *Glomus mosseae* y más recientemente, *Glomus hoi-like*). Lo encontrado, aunado al hecho a que el tomate se siembra anualmente en la misma área, pudo determinar que dichos hongos micorrizógenos se adaptaran a esas condiciones edáficas y al cultivo en cuestión, por lo que poseen alto poder infectivo.

Cuando se analizó la altura de las plantas, se encontró interacción significativa para las dosis de inoculación en los dos momentos de muestreo. En la Figura 2 aparecen los resultados de conjunto para este factor. Se observó una respuesta positiva, a los 30 DDT, al comparar las diferentes formas de inoculación con el tratamiento testigo, siendo las variantes inoculadas con la dosis de 40 esporas por planta las que manifestaron los mejores resultados (Figura 2A).

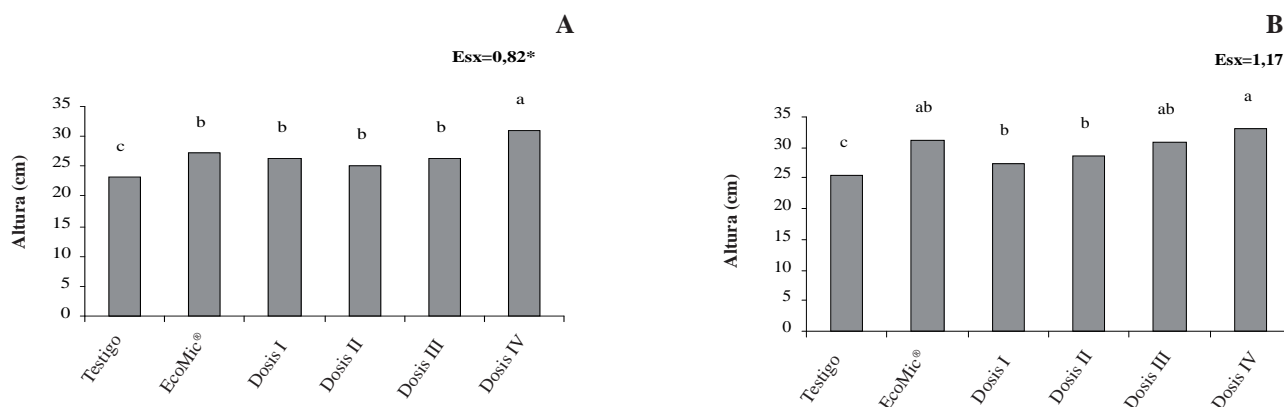
También se pudo apreciar que para el resto de las dosis evaluadas no hubo diferencias al compararlas con el tratamiento inoculado con EcoMic®, señalando que para el indicador crecimiento de las plantas la inoculación con la formulación líquida resultó efectiva.

Por otra parte, a los 55 DDT se observó que los tratamientos donde se aplicó el inóculo sólido y dos dosis de formulación líquida (20 y 40 esporas por planta) manifestaron los mejores resultados para esta etapa de desarrollo del cultivo (Figura 2B).



A: 30 DDT; B: 55 DDT. *G.m.*: *Glomus mosseae*; *G.h.*: *Glomus hoi-like*
Dosis I: 5 esporas por planta. Dosis II: 10 esporas por planta. Dosis III: 20 esporas por planta. Dosis IV: 40 esporas por planta.

FIGURA 1. Influencia de las especies de hongos micorrízicos arbusculares y la dosis de inoculación sobre la colonización radical de plantas de tomate.



A: 30 DDT; B: 55 DDT; EcoMic®: inóculo sólido
Dosis I: 5 esporas por planta. Dosis II: 10 esporas por planta. Dosis III: 20 esporas por planta. Dosis IV: 40 esporas por planta.

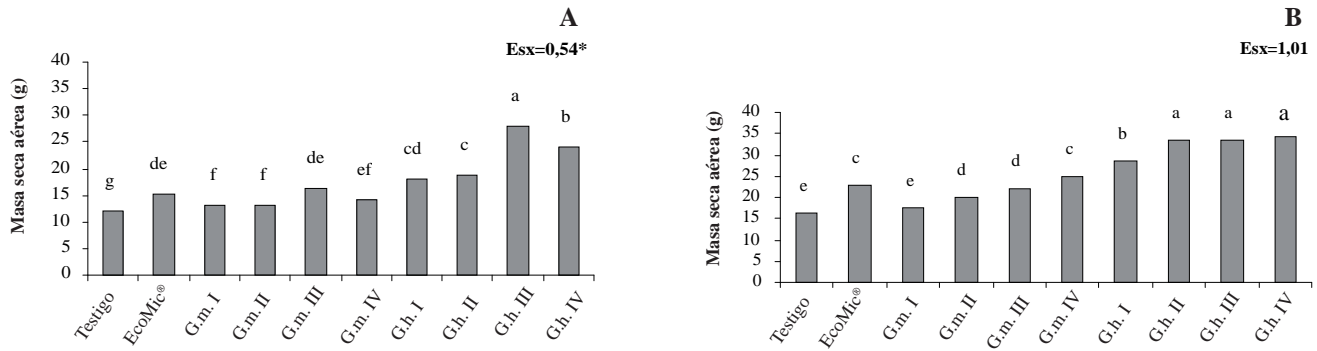
FIGURA 2. Influencia de las especies de hongos micorrízicos arbusculares y la dosis de inoculación sobre la altura de plantas de tomate.

El efecto de la micorrización sobre la altura de las plantas se demostró en investigaciones precedentes, al inocular diferentes especies de HMA (*G. clarum*, *G. fasciculatum* y *G. mosseae*) en los cultivos de tomate y cebolla, donde se encontró que los tratamientos inoculados superaron al testigo para las variables de altura de la planta y longitud radical en suelos Ferralíticos Rojos compactados (Pulido *et al.*, 2003).

Las plantas que mantienen una simbiosis en sus raíces necesitan una gran cantidad de energía metabólica, para lograr un armónico desarrollo aéreo y, a la vez, mantener al hongo en sus raíces. Este proceso implica un elevado flujo de carbono derivado de la fotosíntesis, desde etapas

muy tempranas del desarrollo, que se traduce en un retardo del crecimiento vegetal; motivado a que la planta necesita crecer y lograr una tasa fotosintética adecuada para mantener funcionando la simbiosis (Llonín y Medina, 2002).

Al analizar la masa seca aérea se encontró interacción significativa entre ambos factores en estudio para ambos muestreos realizados (Figura 3), esto indica que el desarrollo del cultivo tuvo dependencia tanto de la especie de HMA como de la dosis de inoculación. Se observó que todas las variantes inoculadas superaron al tratamiento testigo y que la inoculación de la especie *Glomus hoi-like* con la dosis de 20 esporas por planta produjo el mejor resultado para este indicador a los 30 DDT (Figura 3A).



A: 30 DDT; B: 55 DDT. G.m.: *Glomus mosseae*; G.h.: *Glomus hoi-like*
 Dosis I: 5 esporas por planta. Dosis II: 10 esporas por planta. Dosis III: 20 esporas por planta. Dosis IV: 40 esporas por planta.

FIGURA 3. Influencia de las especies de hongos micorrízicos arbusculares y la dosis de inoculación sobre la masa seca aérea de plantas de tomate.

En el segundo muestreo, a los 55 DDT, se encontró que las variantes inoculadas con las dosis de 10, 20 y 40 esporas por planta mostraron valores superiores que el resto de los tratamientos.

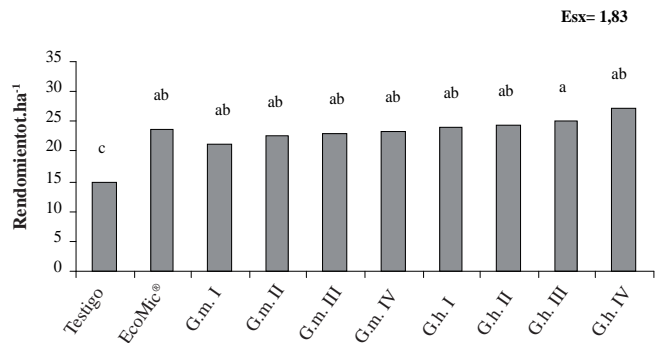
Estudios realizados por otros autores demostraron el beneficio reportado por el uso de las asociaciones micorrízicas en el crecimiento de las plantas, particularmente en suelos tropicales, donde el potencial de explotación de estos hongos es mucho mayor y juegan un importante rol en la nutrición de la mayoría de los cultivos (Posada *et al.*, 2007; Barcenás *et al.*, 2007; Castillo *et al.*, 2008 y Díaz *et al.*, 2008).

El efecto positivo de la inclusión de los HMA en los sistemas agrícolas de producción fue comprobado por varias investigaciones en las que alcanzaron incrementos en los indicadores de crecimiento en viveros de cultivos de aguacate (Barcenás *et al.*, 2007), en la aclimatización de vitropiantas de plátano (Usura *et al.*, 2008), en la producción de posturas de cafeto (Sánchez *et al.*, 2006) y en el cultivo del boniato (Alarcón *et al.*, 2008).

Con relación al rendimiento agrícola del cultivo de tomate (Figura 4), no se encontró significación para los factores evaluados, indicando que incidieron otros elementos que no fueron considerados en este experimento. Se observó un comportamiento similar entre las variantes inoculadas al no existir diferencias significativas, pero sí con relación al testigo no inoculado.

Estos resultados se consideran bajos para el cultivo, si se comparan con los reportados por Moya *et al.* (2004), quienes obtuvieron 25 t ha⁻¹ para dicha variedad en plantaciones no micorrizadas.

Por otra parte, investigaciones realizadas por Agüero *et al.* (2006) demostraron que las plantas micorrizadas incrementan su rendimiento, ya que sus hifas al desarrollarse, aumentan el volumen de suelo total a explorar y permiten la absorción de nutrientes fuera de la zona de agotamiento producida por las raíces.



G.m.: *Glomus mosseae*; G.h.: *Glomus hoi-like*
 Dosis I: 5 esporas por planta. Dosis II: 10 esporas por planta.
 Dosis III: 20 esporas por planta. Dosis IV: 40 esporas por planta.

FIGURA 4. Influencia de las especies de hongos micorrízicos arbusculares y las dosis de inoculación sobre el rendimiento agrícola del cultivo de tomate.

CONCLUSIONES

- Se observó una respuesta positiva del cultivo de tomate (*S. lycopersicum* L. var. Amalia) a la inoculación con HMA en soporte líquido al realizar un análisis integral de todos los parámetros estudiados, permitiendo afirmar que al igual que el portador

sólido, ambas vías de inoculación son efectivas para dicho cultivo en las condiciones evaluadas.

- La respuesta encontrada en el cultivo de tomate para las dosis estudiadas, si bien son preliminares para la inoculación en soporte líquido, exhortan a desarrollar nuevas investigaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Agüero, M. Y., E. Tamayo, R. Novella, M. A. Machado, D. Batista, Y. Álvarez y M. C. Ojeda. 2006. Respuesta del cultivo del tomate a la aplicación de fertilizante mineral y micorrizas arbusculares en condiciones de la provincia de Granma. Prog. y Res. **In:** XV Seminario Científico INCA., La Habana. Cuba.
- Alarcón, A. Z., J. A. Morales, E. J. Oliva, A. B. Vega y T. F. Boicot. 2008. Efecto de la aplicación de *Azotobacter chroococcum* y *Glomus* sp. en el cultivo del boniato (*Ipomea batatas* (L.), Lam). Revista Electrónica Granma Ciencia. 12(2).
- Azcón, R. 2000. Papel de la simbiosis micorrízica y su interacción con otros microorganismos rizosféricos en el crecimiento vegetal y sostenibilidad agrícola. **In:** Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. Mundi-Prensa, México. 15 p.
- Barcenas, A., C. Almaraz, L. Reyes, L. Varela, B. Lara, A. Guillén, Y. Carreón, S. Aguirre y A. Chávez. 2007. Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares en Huertos de aguacate de Michoacán. **In:** Actas VI Congreso Mundial del Aguacate. Viña Del Mar, Chile.
- Castillo, C., I. Astroza, F. Borie y R. Rubio. 2008. Efecto de cultivos hospederos y no hospederos sobre propágulos micorrícicos arbusculares. Revista Ciencias del Suelo y Nutrición Vegetal. 8(1):37-54.
- Dell'Amico, J. M., F. Fernández, E. Nicolás, L. F. López y M. de J. Sánchez-Blanco. 2007. Respuesta fisiológica del tomate a la aplicación de dos inoculantes a base de *Glomus* sp1 (INCAM 4) por dos vías de inoculación diferentes. Cultivos Tropicales. 28(2):51-58.
- Díaz, F. A., C. I. Garza, Q. V. Pecina y G. N. Montes. 2008. Respuesta del sorgo a micorriza arbuscular y *Azospirillum* en estrés hídrico. Revista Fitotecnia Mexicana. 31(1):35-42 p.
- Fernández, F. 2003. Avances en la producción de inoculantes micorrícicos arbusculares. **In:** Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso el Caribe. La Habana, Cuba. INCA. 166 p.
- Fernández, F., J. M. Dell'Amico y Y. Pérez. 2004. Producto Inoculante Líquido. Patente (Solicitada).
- Giovanetti, M. 2000. Spore germination and pre-symbiotic mycelial growth. **In:** Arbuscular mycorrhizas: physiology and function. Eds: Y Kapulnick and DD Douds Jr. Kluwer Academic Press. 47-68 pp.
- Giovanetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol. 489-500 pp.
- International Union of Soil Sciences (IUSS). 2006. Working Group WRB. World Reference Base for soil resources. World Soil Resources Reports, FAO, Rome. nº. 103, 128 p.
- Llonín, D. y N. Medina. 2002. Nutrición mineral con N, P y K en la simbiosis hongos micorrizógenos-tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en Ferralsol. Cultivos Tropicales, Vol.23(4):83-88.
- Ministerio de la Agricultura (MINAG). 1999a. Instituto de Suelos. Nueva Versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba. La Habana, Agrinfor. 64 p.
- Ministerio de la Agricultura (MINAG). 1999b. Instructivo técnico para el cultivo del tomate. La Habana, Cuba. 69 p.
- Phillips, J. M. and D. S. Hayman. 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Brit. Mycol. Soc. 158-161 pp.
- Posada, R. H., C. L. A. Franco, C. A. Cuellar, C. W. Sánchez y F. A. Sánchez. 2007. Inóculo de hongos de micorriza arbuscular en pasturas de brachiaria decumbens (poaceae) en zonas de loma y vega. **In:** Acta biol. Colomb. 12(1):113-120.
- Pulido, L. E., A. Cabrera y N. Medina. 2003. La biofertilización con Rizobacterias y hongos micorrícicos arbusculares en la producción de posturas de tomate (*Lycopersicon sculentus* Mil) y cebolla (*Allium cepa*).

II Colonización radical y estado nutricional. *Cultivos Tropicales*. 24(2):5-13.

Querejeta, J. I., L. M. Egerton-Warburton and M. F. Allen. 2003. Direct nocturnal water transfer from oaks to their mycorrhizal symbionts during severe soil drying. *Oecología*. 55-64 pp.

Sánchez, C., D. Caballero, R. Rivera, R. Cupull, C. González, M. Ferrer e Y. Delgado. 2006. Respuesta de cepas de hongos micorrizógenos sobre el desarrollo de posturas de cafeto. Parte III. Suelo ferralítico rojo de montaña. *Centro Agrícola*. 33(2):17-22.

Terry, A. E. 2005. Microorganismos benéficos y productos Bioactivos como alternativas para la Producción ecológica de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var. "Amalia"). Tesis presentada en opción la grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, INCA. 133 p.

Usuga, C. E., D. A. Castañeda y A. E. Franco. 2008. Multiplicación de hongos micorriza arbuscular (HMA) y efecto de la micorrización en plantas micropropagadas de banano (*Musa aaa* cv. Gran enano). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. Medellín, Colombia. 61(1):4 279-4 290.