

# MICORRIZACIÓN DE VITROPLANTAS DE CAÑA (SACHARUM HIBRIDUM) EN FASE DE ACLIMATACIÓN Y CAMPO

AYDILOIDE BERNAL VILLEGAS

*INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE LA CAÑA DE AZÚCAR, MINAZ*

## **Introducción.**

El factor primario para la obtención de elevados y sostenidos rendimientos en la agricultura es el empleo de semilla de alta calidad. En ausencia de variedades resistentes, el método más efectivo y eficiente de reducir las enfermedades es obtener el material inicial sano. De ahí la importancia de poder contar con métodos rápidos y seguros de propagación que permitan multiplicar en períodos cortos plantas libres de enfermedades en variedades en explotación o introducidas.

Dentro de las etapas de la micropropagación en la fase de climatización o "endurecimiento" las vitroplantas desarrollan un sistema radicular importante; y durante el proceso, la planta va adaptando su estructura y fisiología, pasando a ser de un individuo heterótrofo a totalmente autótrofo. Lo más importante en esta fase según criterios de Carrazana (1995) y otros autores es que las plantas formen un buen sistema radicular, lo cual le permitiría sobrepasar el "estrés" a que son sometidos en tan brusco cambio. El uso de los fertilizantes minerales en esta fase ha dado buenos resultados, también se reportan que los biofertilizantes pueden tener efectos positivos en el desarrollo de las vitroplantas, ejerciendo además un efecto no agresivo al medioambiente por su carácter orgánico.

Entre los biofertilizantes que pueden tener efectos positivos en el desarrollo radicular de

las plantas se encuentran las micorrizas (MVA), las cuales se reportan como mejoradoras de la calidad de la semilla en vitroplantas de diferentes cultivos, incluyendo la Caña de Azúcar (*Sacharum hybridum*), (Soria et. al. 1997, Roque et. al. 1997 y Noda et. al. 1997).

El presente trabajo tiene el objetivo de evaluar el efecto de la micorrización en vitroplantas de cañas tanto en la fase de aclimatación como en la fase de campo, en dos variedades determinando la mejor dosis para mezclar con el sustrato y la efectividad de la colonización por las MVA.

## **Materiales y Métodos.**

### **Fase de adaptación**

El trabajo se desarrolló de Noviembre de 1997 a Enero de 1998 en la fase de adaptación de vitroplantas de la Biofábrica asociada a la Estación Provincial de Investigaciones de la Caña de Azúcar de Villa Clara. Se estableció un diseño totalmente aleatorizado.

Para el mismo se utilizaron vitroplantas de caña de azúcar de la variedad C323-68, clasificados de la siguiente forma:

Vitroplantas tipo A: Plantas bien desarrolladas con altura mayor de 5 cm.

Vitroplantas tipo B: Plantas con tamaño entre 3 y 5 cm de altura.

Vitroplantas tipo C: Plantas con poco desarrollo menor de 3cm de altura

Estas vitroplantas fueron sembradas en bandejas de poliespuma de 247 alvéolo

Previo a la siembra el sustrato se mezcló con 3 dosis del biofertilizante (MVA) el cual se produjo por el laboratorio Provincial de Suelos de Villa Clara perteneciente al MINAGRI. Las dosis utilizadas fueron:

Dosis I: (1g / alvéolo).

Dosis II: (2g / alvéolo).

Dosis III (4g / alvéolo).

1 g / alvéolo es equivalente a 47 kg. de Micorriza /m<sup>3</sup> de sustrato.

El Biofertilizante utilizado se preparó con la cepa *Glomus* sp. Recomendada por el Instituto de Ecología y Sistemática del CITMA.

Las vitroplantas se mantuvieron en la fase de adaptación 45 días con las atenciones culturales recomendadas para dicha etapa.

Se evaluaron los siguientes parámetros.

Supervivencia de las vitroplantas a los 15 días de sembrada.

A los 45 días de la siembra se tomaron 30 plantas al azar por tratamiento y se evaluaron:

Número de hojas

Altura de la planta.

Peso fresco y seco del follaje.

Peso fresco y seco de la raíz.

Incidencia de plagas y enfermedades.

Los datos obtenidos se procesaron estadísticamente por el sistema SPSS/PC para Windows.

La colonización de la raíz por las MVA se determinó por la técnica de azul de Tripan de Phillips y Hayman, 1970 (Citado por De la Noval, et al 1997). Para ello se realizaron tinciones de la raíz con 4 tiempos de digestión con vista a determinar la posibilidad del uso de esta técnica en vitroplantas de caña. Se determinó la presencia de MVA por observación microscópica de 30 campos.

### **Fase de campo**

Esta fase se desarrolló desde Enero de 1998 hasta Diciembre del mismo año.

Se evaluaron los siguientes parámetros:

Número de tallos a los 6 y 10 meses de edad.

Altura de los tallos a los 6 y 10 meses de edad.

Diámetro del tallo a los 10 meses.

Número de entrenudos a los 10 meses.

Análisis de la calidad de los jugos a los 9 y 10 meses de edad.

Colonización Micorrízica a los 10 meses de edad.

La colonización de la raíz por las MVA se determinó por la técnica de azul de Tripan de Phillips y Hayman, 1970 (Citado por De la Noval, et al 1997), evaluándose el % de infección, la densidad visual (DV), Endófitos Vesiculos Arbusculares, Razón de dependencia Micorrízica (RDM).

### **Resultados y Discusión.**

En la tabla 1 se muestran los porcentajes de pérdidas alcanzados por las vitroplantas tipo A y B a los 15 días de sembradas en la fase de aclimatación. En las vitroplantas tipo A y B se observan la influencia positiva de la micorrización en el proceso de adaptación manifestándose la tendencia a un mayor número de plantas vivas cuando estas son biofertilizadas superando al testigo, sin embargo, las vitroplantas tipo C presentaron un pobre desarrollo vegetativo y radicular confirmando lo reportado por Barea y Resquema (1994) y Pliego y Barceló (1994) sobre el efecto de las micorrizas como agentes bióticos que contrarrestan el estrés en diferentes especies de plantas.

Las tablas 2, 3, 4 y 5 muestran el efecto de la biofertilización en los tres tipos de vitroplantas estudiados. Como se puede observar en los resultados la dosis III influyó positivamente en

el desarrollo de las vitroplantas, lográndose plantas de mayor altura, muy superiores al testigo y al resto de las dosis con diferencias estadísticamente significativas entre ellos, de igual forma se produjo este efecto en el peso fresco y seco de las raíces, no así en el número de hojas y peso fresco y seco del follaje, aunque, en estos últimos parámetros los valores numéricos son superiores siempre en la dosis III. La altura de las vitroplantas fue superior al testigo con todas las dosis aplicadas.

Al analizar estos resultados se observa que la dosis III se mantiene como el mejor tratamiento, existiendo diferencias estadísticas con el testigo y con el resto de las dosis en todos los parámetros evaluados, lo que confirma que en la medida que la planta está en una situación desventajosa el efecto de este biofertilizante es mayor, semejantes resultados se obtuvieron para las vitroplantas tipo C (Tabla 4.).

Los resultados obtenidos en cuanto a la metodología de aplicación del biofertilizante son adaptables al trabajo práctico de producción en una biofábrica, pues el biofertilizante se aplica mezclado con el sustrato y no de forma dosificada como se ha reportado en otros trabajos. Esta metodología facilita el uso del biofertilizante.

Partiendo de esta modificación del método de inoculación, se realizó una valoración del establecimiento de las micorrizas en las raíces de las vitroplantas comprobándose que las mismas se establecieron con las diferentes dosis estudiadas y que existe una micorrización natural de las MVA en las raíces de las vitroplantas (Tabla 6), Coincidiendo con los resultados planteados por De la Noval et al (1997) en vitroplantas de plátano.

Este resultado nos permite asegurar que las MVA pasan al campo cuando se produce el trasplante de las vitroplantas.

El método de determinación del establecimiento de las MVA en las raíces que se utilizó en el trabajo fue recomendado por Phillips y Hayman, 1970 (citado por De la Noval, et al 1997) estableciéndose modificaciones del mismo teniendo en cuenta las características de las raíces de las vitroplantas. Como se observa en la tabla se puede determinar la presencia de MVA en las raíces aun cuando éstas se sometieron al proceso de digestión durante 15 minutos, comparado con el planteado por el método que es de una hora.

Desde el punto de vista fitosanitario no se observó influencia de la micorrización en la incidencia de plagas y enfermedades. No hubo presencia de plagas y la enfermedad que incidió con altos grados de ataque en todas las variantes (Tabla 7), fue la raya parda producida por el hongo *Helminthosporium stenospilum* Drechsler, reportada por Herrera et al (1994) como la de mayor afectación para la caña de azúcar en fase de adaptación.

Las ventajas del método radican en obtener posturas de mayor calidad por ser más altas, con mayor sistema radicular y mayor cantidad de materia seca así como con la presencia del microorganismo en sus raíces lo que garantiza un establecimiento más efectivo en el campo.

Los resultados del experimento en fase de campo se reflejan en las tablas 8, 9 en lo que se refiere a parámetros morfológicos y la 10 plantea los resultados del análisis azucarero.

Como se observa en las tablas el número de tallos en el testigo sin aplicación de MVA es mayor que en los tratamientos influyendo en este aspecto factores ajenos a la micorrización, ya que por problemas de nivelación del campo el testigo se sembró en un área en la cual las condiciones de humedad del suelo le favorecieron su desarrollo comparado con el resto de los tratamientos que sufrieron un

"estrés" debido a la anaerobiosis por inundación del área; no siendo así en lo referente a la altura de los tallos donde la dosis III supera al resto de los tratamientos existiendo diferencias estadísticas entre el testigo y los tratamientos II y III, este aspecto corrobora lo planteado por varios autores con respecto a la influencia positiva del uso de las MVA en el desarrollo de las plantas, ya que se ha demostrado que estos microorganismos influyen en la absorción de nutrientes tales como el Nitrógeno, Fósforo Potasio, Calcio y Magnesio debido al extenso desarrollo radical que promueven en la planta. En lo referente a estos parámetros a los 10 meses de edad se valora que el efecto de la micorrización influye positivamente en la calidad de la semilla que se produce (Tabla 9); 10 meses es la edad óptima de corte para semilla y en esta fase las plantas inoculadas superan al testigo en todos los parámetros evaluados; se produce mayor número de tallos promedio por plantón (68,50 vs 49,56), y estos tienen una altura promedio mayor cuando existe la micorrización (2,57 vs 2,34). Uno de los aspectos más importantes en la producción de semillas de caña es cantidad de entrenudos, porque al existir mayor cantidad de los mismos hay mayor producción de semillas (sea de tres yemas por tallo o de una yema por tallo), así el tratamiento III y el II aportan mayor cantidad de semillas que el testigo estos resultados coinciden con los obtenidos en otros cultivos en fase de plantación, donde se reporta una correlación positiva entre el crecimiento de la planta y el % de infección de las raíces; en el cultivo de la caña se han encontrado efectos positivos de las MVA del género *Glomus*.

La calidad de la semilla producida en cuanto a los contenidos de azúcares reductores el Brix y el Pol se representan en las Tablas No. 10 y 11; estos resultados se valoran en los meses de Noviembre y Diciembre, en ninguno de los casos se produjo diferencias estadísticas entre el testigo y las dosis de MVA estudiadas. Las

micorrizas aumentan la absorción de nutrientes de la planta, sin llegar a un exceso de asimilación del nitrógeno, nutriente que aplicado en elevadas dosis o tardíamente con los fertilizantes minerales, suele afectar la calidad del jugo de la caña de azúcar. (Arzola y Mujica 1999 comunicación personal). Esto explica los resultados que se obtienen no obstante se observa una tendencia a mejorar la calidad del jugo, quizás porque no conducen a ese exceso de nitrógeno sino que originan un balance nutricional más adecuado del nitrógeno con otros elementos como el potasio que en caso de insuficiencia suele perjudicar la calidad del jugo

Al finalizar el período de estancia en el campo se evaluó el nivel de infección de las MVA en las raíces de las plantas mediante la técnica de Phillips y Hayman. Se encontró que todos los parámetros evaluados como indicadores de establecimiento de las MVA (%de infección, DV, EVA y RDM) se encontraban al máximo de sus expresiones lo cual indica un establecimiento de la cepa en el campo en cuestión, garantizándose así un inoculo permanente en el mismo, Ruiz (1999) encontró que el establecimiento de las MVA está correlacionada positivamente con el contenido de materia orgánica del suelo y el pH del mismo siendo estas las condiciones ecológicas que rigen el establecimiento de las MVA. En el caso del suelo donde se encuentra el experimento estas condiciones son óptimas y ello explica el alto grado de establecimiento de esta cepa en este suelo. Por otra parte, al existir este alto nivel de infección se garantiza un inoculo natural por varios años aspecto demostrado en cultivos de viandas por 30 meses. (Ruiz 1999).

En la tabla No. 14 se presenta un análisis económico a partir del % de pérdidas que se producen en la fase de adaptación, como se puede ver la disminución que se produce de las pérdidas con la aplicación de micorrizas representa una ganancia de 537,495 pesos para

la producción de un millón de vitroplantas cuando se inocula con la dosis I representado esto una relación beneficio costo muy positiva de 27. 56. En general se produce un beneficio en todas las dosis aplicadas siendo la mejor la dosis I.

### Conclusiones.

1. El biofertilizante "Micorrizas" elaborado por el Laboratorio Provincial de Suelos de la Provincia de Villa Clara ejerce un efecto positivo sobre las características morfológicas de la semilla de caña tanto en la fase de adaptación como en la fase de campo. Existiendo una dependencia con respecto a la variedad
2. Las MVA logran establecerse en las raíces de las vitroplantas transmitiéndose al campo al ser trasplantadas dichas vitroplantas inoculadas, mejorando el ecosistema de la planta.
3. El biofertilizante puede utilizarse mezclando el mismo con el sustrato a razón de 47 Kg./m<sup>3</sup> del mismo.
4. La técnica de Phillips y Hayman para la determinación de las MVA es factible de utilizarla en vitroplantas adaptando la misma a una hora de digestión.
5. Económicamente es posible la utilización de este biofertilizante teniendo en cuenta las ventajas que ofrece en la calidad de la semilla la cual está libre de fertilizantes minerales y es utilizable para la producción de azúcar orgánica.

6. La inversión que se produce en el 1er año de uso la cual no es rentable por el precio de

Pliego, F. y Barceló, A. Micropropagación de plantas: estado actual y perspectivas futuras. ITAE. Vol. Extra (15): 72 -82. 1994.

Ruiz, L.; Carvajal, Dinorah y Milián, I. Producción orgánica o biológica de tomate basado en biofertilizantes y bioplaguicidas. Resúmenes de Ponencias. Agronot. 97. Cienfuegos, 1997.

Roque, L.; Perpiñón, A.; Expósito, M.; González, M.; Ménd, V. y Alonso, R. Efecto de la inoculación de dos cepas de hongos Soria, Miguelina; Pineda, Enma y Pereira, C. Bioestimulación de vitroplantas de caña de azúcar en fase de aclimatización. Resúmenes de Ponencias. Agronot. 97. Universidad de Cienfuegos. 1997.

las bolsas de biofertilizante se recupera con el tiempo de duración del inóculo en el campo.

### Bibliografía.

Barea, J M. y Requema N. Recuperación de espacios degradados en ambientes Mediterráneos. Elección de especies, propagación y establecimiento de las plantas. ITEA Vol. Extra (15); 287 -326. 1994.

Carrazana, V. Estudio comparativo de diferentes formulaciones de sustrato para la aclimatación de vitroplantas. Tutor Luis Quesada. T. D. UCLV. IBP. 1995.

De la Nodal, Blanca; Hernández, María; y Menas, Aracelis. Empleo de los microorganismos Fosforina y Azotobacter y dosis crecientes de NPK en minitubérculos de papa para semilla. III Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. Programas y Resúmenes. UCLV, Villa Clara: 72, 1997.

Herrera, L.; Hernández, P. R.; y Grillo, H. Problemas fitosanitarios del banano, la papa, la caña de azúcar y el ajo en la fase de adaptación de las vitroplantas. Centro Agrícola. 21, N° 2:95. 1994.

Noda, Betancourt Claudina; Santana, M.; Orrelly, T.; Moralea, F.; Alburnes, F. y Blanco, F. Localización y evaluación de una cepa nativa de micorriza con semilla botánica y vitroplantas de caña de azúcar. IV Congreso de la ATAC :24. Nov., 1997.

## **Abstract.**

The work was made in the acclimatization phase of sugarcane vitroplants of the Biofactory associated with the Territorial Sugarcane Research Station (ETICA) Centre - South of Villa Clara. Vitroplants of the C323-68 variety were used with three ranges of height which were inoculated with the Micorrhizae biofertilizer prepared in the Provincial Soil Laboratory of Villa Clara's province using the fungus *Glomus* sp, mixing three doses of the biofertilizer with the substrate. Morphophysiological parameters of the vitroplants were evaluated (survival, height, fresh weight and dry weight of the foliage and the root, number of leaves, as well as the incidence of plagues and illnesses). In the moment of the transfer the level of colonization of the MVA was determined in the vitroplant roots. The results obtained in this phase indicate an increment in the growth and integral development of the vitroplants when they are inoculated with MVA being achieved a good colonization of the root, what guarantees the transfer of the microorganism (MVA) until the field. In the field study the positive influence of the micorrhization was demonstrated in the quality of the seed, being obtained a bigger number of stalk, height and general behavior in the grafts developed starting from vitroplant micorrhized in the acclimatization phase. The MVA inoculated in the acclimatization phase stayed and they multiplied in the treatments of the field phase.

## ANEXOS

Tabla N° 1. Porcentaje de pérdidas a los 15 días de sembradas las vitroplantas

Tipo de planta	Tratamientos	Porcentaje de pérdida
Vitroplantas tipo A	Testigo	12.9
	Dosis I	6.8
	Dosis II	4.8
	Dosis III	8.9
Vitroplantas tipo B	Testigo	28.3
	Dosis I	15.3
	Dosis II	27.5
	Dosis III	23.0

**Tabla N° 2. Efecto de la micorrización (MVA) en las vitroplantas tipo A**

Tratamiento	Altura (cm)	Número de hojas	PFF (mg)	PSF (mg)	PFR (mg)	PSR (mg)
Testigo	20.33 d	4.40 a	385.4 a	152 a	382 b	67.7 b
I	26.76 c	4.13 a	356.2 a	126 a	359 b	60.7 b
II	33.81 b	4.23 a	418.0 a	141 a	317 b	50.7 b
III	38.35 a	4.23 a	459.1 a	154 a	443 a	69.3 a
E.S.	0.81	0.065	0.03 a	0.062	0.01	0.036
D.T.	8.93	0.736	0.409 a	0.684	0.207	0.0399

*a, b, c, d: medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren a  $p < 0.05$*

*PFF: Peso fresco del follaje. PSF: Peso seco del follaje. PFR: Peso fresco de las raíces.*

*PSR: Peso seco de las raíces*

**Tabla N° 3. Efecto de la micorrización en vitroplantas tipo B**

Tratamiento	Altura (cm)	Número de hojas	PFF (mg)	PSF (mg)	PFR (mg)	PSR (mg)
Testigo	24.15 b	4.43 b	534.3 b	81.3 b	267.3 b	32.3 b
I	24.15 b	4.23 b	628.0 b	96.0 b	240.7 b	37.7 b
II	23.70 b	4.23 b	562.0 b	91.0 b	282.7 b	52.3 a
III	30.98 a	4.70 a	773.7 a	119.0 a	349.0 a	50.3 a
E.S.	0.6770	0.619	0.0259	0.0047	0.0151	0.003
D.T.	7.08	0.6786	0.28	0.051	0.1649	0.04

*a, b, c, d: medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren a  $p < 0.05$*

**Tabla N°4. Efecto de la micorrización en vitroplantas tipo C**

Tratamiento	Altura (cm)	Número de hojas	PFF (mg)	PSF (mg)	PFR (mg)	PSR (mg)
Testigo	17.44 b	4.60 b	426.5	63.0 b	120.2	3.0 c
I	22.53 a	4.93 a	452.7	96.0 a	141.7	6.7 b
II	18.03 b	4.40 b	399.7	72.0 b	156.1	3.5 c
III	17.16 b	4.73 b	335.0	48.7 c	150.2	9.7 a
E.S.	0.5548	0.0630	0.0196	0.008	0.0140	0.0051
D.T.	6.7	0.6901	0.2145	0.08	0.1538	0.0558

*a, b, c, d: medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren a  $p < 0.05$*



**Tabla N° 5. Evaluación morfológica a los 6 meses de edad**

Tratamiento	Conteo de tallos a los 6 meses	Altura (cm) de los tallos a los 6 meses
Testigo	12,68 a	49,56 c
Dosis I	9,50 b	43,92 c
Dosis II	8,16 b	57,88 b
Dosis III	10,42 b	68,50 a
D. T.	10,14	18,51
E. S.	0,54	2,35

*a, b, c, d: medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren a  $p < 0.05$*

**Tabla N° 6. Efecto de las MVA sobre la calidad de la Semilla a la edad de 10 meses.**

Tratamiento	Conteo de tallos a los 10 meses	Altura (m) de los tallos a los 10 meses	Diámetro del tallo (cm)	No. de entrenudos a los 10 meses
Testigo	13,68 b	2,34 b	2,73	17,66 b
Dosis I	10,28 b	2,35 b	2,81	17,46 b
Dosis II	10,73 b	2,42 b	2,79	19,40 a
Dosis III	14,26 a	2,57 a	2,87	19,86 a
D. T.	4,78	0,27	0,31	2,49
E. S.	0,61	0,35	0,041	0,32

*A, b, c, d: medias con diferentes subíndices en la misma columna difieren a  $p < 0.05$*

**Tabla N° 7. Análisis de la calidad de los jugos (Mes de Noviembre)**

Tratamiento	Brix	Pol	% de azúcares reductores
Testigo	15,09	12,43	1,51
Dosis I	13,92	10,71	1,72
Dosis II	13,72	11,06	1,64
Dosis III	15,32	12,76	1,72
Desviación Típica	1,00	1,23	0,17
Error estándar	0,28	0,35	0,05

**Tabla N8. Análisis de la calidad de los jugos (Mes de Diciembre)**

Tratamiento	Brix	Pol	% de azúcares reductores
Testigo	16,65	14,25	1,58
Dosis I	16,98	15,56	1,53
Dosis II	17,01	15,22	1,48
Dosis III	18,11	15,62	1,49
Desviación Típica	0,91	1,04	0,25

**Tabla No.9. Análisis económico.**

	% de pérdidas	Número de plantas perdidas equivalentes	Reducción de las pérdidas con relación al testigo	Costo de los beneficios	Costo de la aplicación de MVA	Ganancia	Beneficio/Costo
<b>Vitroplantas Tipo "A"</b>							
Testigo	12.9	167700	-	-	-	-	-
Dosis I	6.8	88400	79300	\$566995.00	\$19500.00	\$537495.00	27.56
Dosis II	4.8	62400	105300	\$752895.00	\$39000.00	\$713895	18.31
Dosis III	8.9	115700	52000	\$371800.00	\$78000.00	\$293800.00	3.77
<b>Vitroplantas Tipo "B"</b>							
Testigo	28.3	367900	-	-	-	-	-
Dosis I	15.3	198900	169000	\$1208350.00	\$19500.00	\$11888550.	60.97
Dosis II	27,5	357500	10400	\$74360.00	\$39000.00	\$35360.00	0.91
Dosis III	23.0	299000	68900	\$492635.00	\$78000.00	\$414635.00	5.32