



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

**EFFECTIVIDAD DE LA INOCULACIÓN  
LÍQUIDA CON HMA EN LA  
NUTRICIÓN DEL TOMATE (*Solanum  
lycopersicum L.*) EN SUELO  
FERRALÍTICO ROJO LIXIVIADO**

*Tesis presentada en opción al grado de Máster en  
Nutrición de las Plantas y Biofertilizantes*

Aspirante: Yonaisy Mujica Pérez  
Tutores: Dr.C. Nicolás L. Medina Basso  
Dra.C. Blanca M. de la Noval Pons

La Habana  
2009

*A mis padres*

## **AGRADECIMIENTOS**

*Al Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas por contribuir a mi formación profesional.*

*A los doctores Blanca M. de la Noval Pons y Nicolás Medina Basso por su dedicación y apoyo incondicional en la tutoría de esta tesis.*

*Al colectivo de investigadores, especialistas y técnicos del Laboratorio de Micorrizas Arbusculares del INCA por su colaboración en el diseño y desarrollo de los experimentos.*

*A los técnicos del Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas: Kirenia, Hilda, Herminio, Yasley y Reynerio.*

*A los compañeros Jorge Cartaya y José Víctor por colaborar en el desarrollo de los experimentos de campo.*

*Al Dr. Carlos Moya por su apoyo y contribución.*

*En especial a mi familia.*

*A todos.....Muchas Gracias*

## RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la efectividad de la inoculación líquida de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y su relación con la eficiencia en la utilización de los nutrientes minerales (NPK), se desarrolló la presente investigación en las áreas experimentales del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), en San José de las Lajas, La Habana, empleando el tomate (*Solanum lycopersicon* L.) como planta indicadora. En el primer ensayo se evaluó la efectividad sobre el cultivo de tres especies de HMA (*Glomus mosseae*, *Glomus hoi-like* y *Glomus intraradices*), procedentes del cepario del INCA, inoculados en formulación líquida, a dosis promedio de 20 y 40 esporas por planta, siguiendo un diseño completamente aleatorizado con arreglo bifactorial y un testigo sin inocular con 3. La inoculación fue aplicada en el semillero 7 días después de la germinación (ddg) y el trasplante se realizó a los 30 ddg, En el segundo ensayo, se estudió la influencia de la inoculación con HMA (utilizando la cepa que mostró mejor comportamiento en el ensayo anterior) sobre la efectividad de la fertilización mineral, mediante los siguientes tratamientos: 3 niveles de NPK (50, 75 y 100% de la dosis recomendada para el cultivo), inoculación con HMA sin NPK y un testigo absoluto (sin inocular y sin NPK), empleando un diseño completamente aleatorizado. En ambos ensayos, las determinaciones se ejecutaron en tres momentos del ciclo del cultivo (30, 55 y 70 días después del trasplante –ddt) y se evaluaron parámetros de la colonización fúngica, variables de crecimiento de la planta, y componentes del rendimiento agrícola del cultivo, procesando los datos mediante el paquete estadístico SPSS 11.5. Los resultados mostraron que la inoculación con HMA en formulación líquida resultó funcional en el cultivo del tomate, donde se destacaron las especies *Glomus mosseae* y *Glomus hoi-like* como las más promisorias para las condiciones experimentales evaluadas, siendo la dosis de 20 esporas por planta la más efectiva. La mejor combinación de fertilización mineral y HMA resultó ser 75% NPK + *Glomus hoi-like*.

## INDICE

	Página	
I	Introducción	1
II	Revisión Bibliográfica	4
2.1	Las micorrizas	4
2.1.1	Hongos Micorrízicos Arbusculares	4
2.1.2	Desarrollo y establecimiento de la simbiosis micorrízica	6
2.1.3	Efecto de factores abióticos, biótico y físico en el establecimiento y desarrollo de la simbiosis	8
2.1.4	Relación de los HMA y la nutrición de las plantas	9
2.1.4.1	Los HMA: su papel en la nutrición fosfórica	9
2.1.5	Biofertilizantes: importancia para la agricultura	11
2.1.5.1	Producción de inoculantes: formulados sólidos y líquidos. Métodos de aplicación	12
2.1.6	Sistemas agrícolas micorrizados eficientemente	13
2.2	El cultivo del tomate	15
2.2.1	Composición nutricional	16
2.2.2	Exigencias climáticas y edafológicas	17
2.2.3	Respuesta del cultivo a la biofertilización con los HMA	19
III	Materiales y Métodos	21
3.1	Condiciones experimentales generales	21
3.2	Experimento 1: Determinación de la especie y dosis de inoculación más eficiente para el cultivo del tomate	23
3.3	Experimento 2: Determinación de la dosis de NPK para el cultivo a partir de la biofertilización con HMA	24
3.4	Evaluaciones	25
3.5	Análisis estadístico	26
IV	Resultados y Discusión	27
4.1	Experimento 1: Determinación de la especie y dosis de inoculación más eficiente para el cultivo del tomate	27
4.1.1	Influencia de la inoculación sobre las variables fúngicas	27
4.1.2	Influencia de la inoculación sobre los indicadores de crecimiento	33
4.1.3	Influencia de la inoculación sobre el rendimiento y sus componentes	38
4.2	Experimento 2: Determinación de la dosis de NPK para el cultivo a partir de la biofertilización con HMA	41
4.2.1	Influencia de la inoculación sobre las variables fúngicas	41
4.2.2	Influencia de la inoculación sobre las variables de crecimiento	45
4.2.3	Influencia de la inoculación sobre el rendimiento y sus componentes	51
V	Conclusiones	54
VI	Recomendaciones	55
VII	Referencias Bibliográficas	56

## I. INTRODUCCIÓN

La Agricultura Sostenible constituye una nueva concepción basada en conceptos agroecológicos, siendo el ecosistema la base fundamental del estudio. Para su implementación se requiere de acciones que conduzcan a la sostenibilidad mediante el uso óptimo de los recursos y el incremento en la potencialidad y, por ende, en la productividad, evitando al máximo daños irreversibles en los componentes del sistema de producción (Leyva, 2007).

Uno de los elementos más valiosos a considerar en la Agricultura Sostenible lo constituye el uso de biofertilizantes, los cuales son una alternativa viable e importante para lograr un desarrollo agrícola que permita la producción a bajo costo, sin contaminar el ambiente y conservando la fertilidad y biodiversidad del suelo (Terry, 2004).

El proceso de biofertilización comprende la inoculación de microorganismos al suelo con el objetivo de favorecer funciones específicas que benefician los índices de productividad de las plantas, tales como el aumento en la toma de agua y nutrientes, la fijación del nitrógeno, la solubilización de minerales, la producción de estimuladores del crecimiento vegetal y el biocontrol de patógenos (Alfonso y Monedero, 2004), donde se destacan, como elementos imprescindibles, los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) que actúan de forma coordinada en la interfase suelo-raíz (Adholeya *et al.*, 2005).

La utilización de estos hongos debe ser considerada en el diseño de cualquier sistema de producción agrícola, ya que, además de ser componentes inseparables de los agroecosistemas, realizan diversas e importantes funciones en su asociación con las plantas (Tompson, 1991 citado por González *et al.*, 2005). Entre ellas se destacan: aprovechamiento más eficiente de los nutrientes en la zona radical a partir de un aumento en el volumen de suelo explorado, mayor resistencia a las toxinas, incremento de la traslocación y solubilización de elementos esenciales, aumento de la tolerancia a condiciones abióticas adversas (sequía, salinidad, etc.), así como cierta protección contra patógenos radicales (Fernández, 2003).

Investigaciones precedentes muestran el efecto positivo de los HMA como biofertilizantes en una amplia gama de cultivos, donde se ha empleado el biopreparado EcoMic<sup>®</sup>, con alto grado de pureza, y estabilidad biológica, en raíces y tubérculos (Ruiz, 2001), café (Rivera *et al.*, 2003) y hortalizas (Hernández, 2000).

Estos hongos son biótrofos obligados, lo que hace necesaria la presencia de una planta para su establecimiento, siendo el tomate un cultivo idóneo por su alto grado de dependencia micorrízica y fácil manejo en nuestras condiciones edafoclimáticas.

Por otra parte, los inoculantes líquidos son fáciles de aplicar e ideales para utilizar en aquellos sistemas en que se pueda asegurar su aplicación por fertiriego (Lett *et al.*, 2008), además de requerir menos mano de obra y disminuyen el tiempo operativo (Ventimiglia y Carta, 2008).

Estas formulaciones pueden contener concentraciones de esporas y propágulos micorrízicos variables y, además, estimulan la secreción de glomalina, proteína que se encuentra presente en altas concentraciones en este inoculante y que acelera los procesos de formación de microagregados estables en el suelo, favorece la estructura física del mismo, lo cual facilita una mejor colonización del HMA, y garantiza un desarrollo eficiente de la simbiosis micorrízica (Fernández *et al.*, 2006).

A partir de las consideraciones precedentes, se planteó la siguiente **hipótesis**:

*La biofertilización con inoculantes líquidos de HMA es efectiva e incrementa la eficiencia en la utilización de los nutrientes minerales por el tomate, sin afectar los niveles y la calidad de la producción.*

Y para confirmar la misma, se desarrolló un plan experimental con los siguientes objetivos:

**Objetivo General:**

Evaluar la efectividad de la inoculación líquida de HMA y su relación con la eficiencia en la utilización de los nutrientes minerales (NPK) por el tomate.

**Objetivos Específicos:**

1. Evaluar la respuesta del cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L. var. *Mara*) a la aplicación de inoculantes en formulación líquida a partir de tres especies de HMA del género *Glomus*.
2. Determinar la cepa y dosis de inoculación con HMA en formulación líquida más efectiva para el desarrollo del tomate.
3. Determinar la dosis de NPK más eficiente para el desarrollo del tomate, a partir de la inoculación líquida con una especie de HMA efectiva.



## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Las micorrizas

El término micorriza se aplicó por primera vez a las asociaciones que se establecen entre plantas terrestres y determinados hongos del suelo y su significado literal es hongo - raíz, el que fue descrito por el patólogo alemán A. B. Frank en 1885 (Frank, 1885). Él estableció que dicha asociación era mutualista dados los beneficios que reporta la misma para ambos participantes, y comprende la penetración radical por parte del hongo y la carencia de respuesta perjudicial hacia éste por parte de la planta hospedera.

Se estima que aproximadamente el 90 % de las especies vegetales existentes pueden formar micorrizas y que unas 6000 especies de hongos son capaces de colonizar la raíz de la planta para establecer la simbiosis. Esta gran diversidad de los organismos implicados da lugar a numerosos tipos de micorrizas, que han sido clasificadas, según criterios morfológicos, fisiológicos y taxonómicos (Peyronel *et al.*, 1969), en: *ectomicorrizas*, *ectendomicorrizas* y *endomicorrizas*.

#### 2.1.1. Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA).

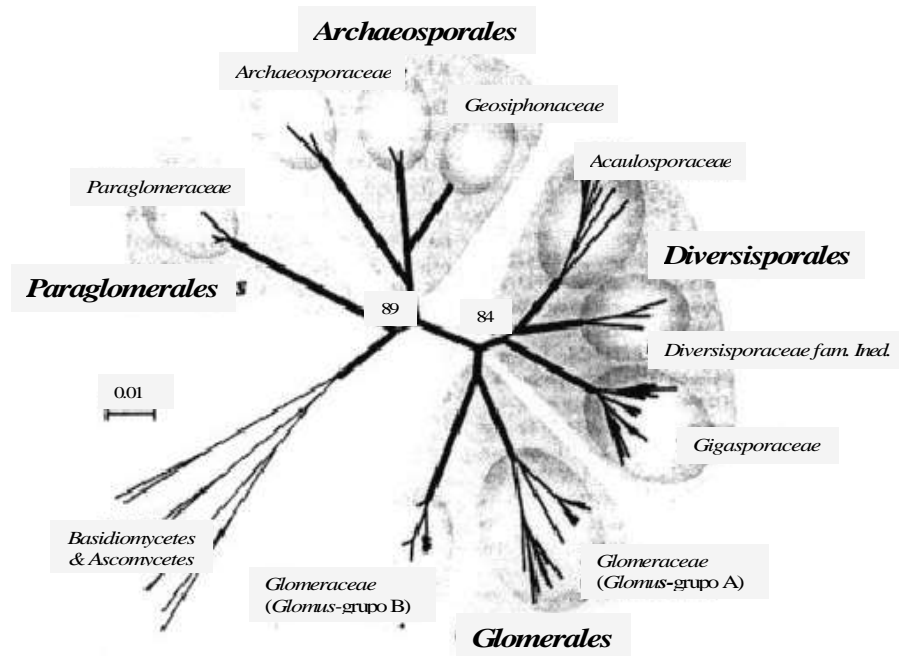
Las micorrizas arbusculares (MA) constituyen la simbiosis de más amplia distribución geográfica y las más abundantes en la naturaleza, ya que se establece entre el 80 y el 90 % de las especies vegetales estudiadas hasta la fecha, entre ellas la mayoría de las que presentan interés agronómico (Harley y Smith, 1983). Se encuentran tanto en ecosistemas naturales como en los modificados. En contraste con el alto número de especies botánicas que forman este tipo de simbiosis, se estima que la pueden originar solamente unas 150 especies de hongos, los que han sido agrupados, según Schübler *et al.* (2001), en el esquema que se muestra en la figura 1.

La simbiosis MA es la más antigua que se conoce, ya que los hongos que la forman han coexistido con las plantas terrestres y evolucionado junto con ellas durante el proceso evolutivo. Estructuras características de los HMA como hifas y arbusculos han sido encontradas en fósiles de *Aglaophyton*, aislados de plantas pertenecientes al género *Rhynia*, lo cual evidencia su existencia en los inicios del

Periodo Devónico (Taylor *et al.*, 1995). Estudios moleculares basados en divergencia de la secuencia nucleotídica de ADN ribosomal 18s sugieren que los Glomales surgieron hace 350 - 460 millones de años y contribuyeron a la exitosa colonización de la tierra por las plantas (Simon *et al.*, 1993).

Es importante destacar que la asociación MA no es específica puesto que una misma especie de HMA puede colonizar a varias de las plantas susceptibles de formar la simbiosis. Sin embargo, algunos hongos benefician en mayor grado a un determinado hospedero en comparación con otros y, fundamentalmente, muestran un cierto grado de adaptación para establecer la simbiosis micorrízica y funcionar bajo determinadas condiciones edafoclimáticas (Pozo, 1999).

En la actualidad, la simbiosis micorrízica tiene gran trascendencia, ya que en diversos estudios se ha demostrado el efecto benéfico de los HMA en el mejoramiento de la nutrición, aprovechamiento del uso del agua, crecimiento y adaptación de las plantas ante diversas condiciones de estrés, producido por factores bióticos y abióticos (Augé, 2001; Jeffries *et al.*, 2004 y Cuenca y Lovera, 2007).



**Figura 1: Clasificación actual de los HMA y sus relaciones filogenéticas.**

### **2.1.2. Desarrollo y establecimiento de la simbiosis micorrízica.**

Investigaciones realizadas demostraron que el desarrollo de los hongos que forman asociaciones del tipo arbuscular necesitaban de una planta, debido a la ausencia de síntesis nuclear propia de ácido desoxirribonucleico (ADN) y, por ende, la necesitan para multiplicarse (Hendrix *et al.*, 1995; Burggraaf y Beringer, 1989 y Calvet *et al.*, 1999). En la actualidad se conoce que estos hongos son capaces de sintetizar material nuclear (Bago *et al.*, 2002). El término simbiosis, representa un proceso sucesivo de intercambios de sustancias nutritivas, metabolitos esenciales y sustancias hormonales, la creación de nuevas estructuras, etc. entre dos partes que resulta beneficioso para ambas (Trappe, 1987).

La formación de la simbiosis MA es un complejo proceso caracterizado por distintos estadios del establecimiento del hongo, donde se distinguen las siguientes fases según Barea *et al.* (1991):

- 1- Germinación de la espora, la cual se ve estimulada por la presencia de los exudados radicales. Está influenciada por determinados microorganismos del suelo y, fundamentalmente, por las condiciones físico - químicas del mismo.
- 2- Formación del apresorio sobre las células epidérmicas, producto del aumento de la presión hidrostática en la zona apical de la hifa infectiva.
- 3- Penetración radical a través de los pelos radicales o de las células epidérmicas, por la combinación de procesos mecánicos y enzimáticos.
- 4- Crecimiento intercelular a partir de la hifa de penetración que se extiende entre las células de la epidermis hacia la corteza de la raíz, sin penetrar el sistema vascular ni los meristemas radicales.
- 5- Desarrollo del micelio extramatricial en el suelo con la formación de las estructuras ramificadas de absorción, las que aumentan considerablemente la superficie de absorción de la planta y su capacidad para captar nutrientes y agua.
- 6- Formación de los arbusculos intracelularmente, con el consiguiente aumento en la superficie de contacto entre el hongo y la planta. También se

pueden formar vesículas y células auxiliares, en dependencia de la especie fúngica;

#### 7- Formación de esporas, cerrándose el ciclo de vida de los HMA.

Este tipo de asociación está regida fundamentalmente por los genomas de la planta y el hongo, modulada a su vez por el medio ambiente (Krishna, 1985; Dehne, 1989 y Gianinazzi, 1989). Durante la penetración y distribución del hongo en las raíces ocurren modificaciones fisiológicas tales como:

- ✚ Incremento de la actividad nuclear, de la masa citoplasmática, generación de nuevos organelos y del grado de vacuolación de las células corticales.
- ✚ Aumento de la diferenciación de los tejidos vasculares.
- ✚ Aumento de la tasa fotosintética.
- ✚ Incremento de la síntesis de proteínas, clorofila, sustancias de crecimiento y metabolitos secundarios.
- ✚ Activación de los sistemas enzimáticos.
- ✚ Favorecimiento de la absorción, traslocación de nutrientes y agua.

Durante el establecimiento de la simbiosis se producen movimientos de fotosintatos en la planta hasta la zona radical, donde de la parte que toma el microsimbionte, la mayoría se utiliza para producir energía metabólica que asegura su mantenimiento y desarrollo, mientras que el resto se moviliza en forma de azúcares y lípidos hasta masa fúngica intra- y extraradical (Bowen, 1987 y Bonfante y Perotto, 1995).

Desde la planta hacia el hongo ocurre la transferencia de carbohidratos, en forma de sacarosa, provenientes de la fotosíntesis vía floema, los que son hidrolizados a través de la enzima invertasa para producir dos monómeros. Estos a su vez se descomponen posteriormente y se fosforilan para convertirse en moléculas de triosa-P, que se transfieren al simbionte vía arbusculos (Letacon y Obaton, 1983).

Estudios desarrollados por Graham (2000, citados por Bago *et al.* 2005), demostraron que con el establecimiento de la simbiosis se incrementó notablemente la biomasa de la planta hospedera, lo que conllevó a un aumento de la tasa fotosintética entre un 4 y un 20%.

### **2.1.3. Efecto de factores abióticos, bióticos y físicos en el establecimiento y desarrollo de la simbiosis.**

Redhead (1975) postuló que la luz juega un papel decisivo en el desarrollo de las micorrizas. Esta relación entre la radiación solar y los niveles de colonización se explica a partir del incremento de la tasa fotosintética en presencia de altos niveles de radiación, lo que implica una mayor producción e intercambio de fotosintatos y mayor posibilidad de mantener un simbiote con altos valores o niveles de colonización.

Según estudios realizados por Harley y Smith (1983) la temperatura tiene una relación directamente proporcional con el porcentaje de colonización micorrízica y establecieron tres rangos que explican el funcionamiento óptimo de la simbiosis: hasta 30°C se incrementa, de 31-39°C decrece y con temperaturas de 40°C se inhibe por completo, así como la germinación de las esporas y el desarrollo de otros propágulos.

Tommerup y Kidby (1980) se refirieron al efecto del contenido de oxígeno del suelo y el pH sobre el desarrollo de la simbiosis y encontraron que con valores extremos de pH y bajos niveles de oxígeno se inhibe el desarrollo del hongo.

Las interacciones entre microorganismos rizosféricos son importantes porque van a influir en la colonización microbiana de la raíz, tanto por parásitos como por simbiotes mutualistas. Estas interacciones pueden llegar a ser críticas ya que no sólo van a intervenir en la formación y el funcionamiento de la simbiosis micorrízicas sino que también el estado micorrízico de la planta puede afectar a las poblaciones microbianas de la rizosfera (Linderman, 1992).

El nivel de fertilidad del suelo y la aplicación excesiva de fertilizantes químicos afectan el proceso de formación y desarrollo de la simbiosis micorrízica (Diederichs y Moawad, 1993). Estudios desarrollados por Buwalda *et al.* (1982) demostraron que la colonización micorrízica disminuye cuando los niveles de fósforo se incrementan. Hayman (1987) demostró que los bajos niveles de fósforo asimilable en el suelo, favorece en la planta la síntesis de la enzima fosfatasa y permite el establecimiento y desarrollo del hongo.

#### **2.1.4. Relación HMA y la nutrición de las plantas.**

La importancia de los HMA en la nutrición de las plantas ha aportado nuevos criterios sobre la esencial contribución de estos simbiontes en la asimilación de nutrientes. Con el establecimiento del hongo y el desarrollo de sus hifas, las plantas aumentan el área de exploración radical y se favorece la absorción de diferentes nutrientes como: N, K, Ca, Mg, B, Fe y en especial el ión fosfato (Barea *et al.*, 1991).

##### **2.1.4.1. Los HMA: su papel en la nutrición fosfórica.**

El fósforo es componente esencial de todos los sistemas vivientes y su disponibilidad, en la mayor parte de los suelos agrícolas del trópico, es limitada (Bhat, 1973). Juega un importante papel en el metabolismo celular, al ser incorporado dentro de los fosfodiéster de las moléculas de ADN y ARN, en forma de nucleótido libre, mono, di y trifosfatos. Por otra parte, participa directamente en la generación de la energía necesaria para impulsar procesos anabólicos en las células y en la fosforilación de proteínas. Por estas razones es clasificado como macronutriente mineral esencial de las plantas junto al nitrógeno y al potasio (Goldstein, 1995).

Las transformaciones biológicas del fósforo no presentan la peculiaridad de transitar por la atmósfera como ocurre en el ciclo del nitrógeno, estando enmarcadas a la circulación suelo – planta – animal – microorganismo - suelo. Su fuente primaria son las rocas fosfatadas y a diferencia de otros nutrientes, el fósforo transita por los sistemas biológicos, tanto en forma orgánica como inorgánica en un solo estado de oxidación. Tanto las plantas como los microorganismos lo absorben de las soluciones del suelo, predominantemente en forma de ión fosfato ( $H_2PO_4$ ); básicamente este ión está sometido a un equilibrio entre las fases sólidas y líquidas del suelo, el cual controla la disponibilidad del mismo (Azcón, 2000).

Una gran porción del fósforo inorgánico aplicado al suelo como fertilizante es rápidamente inmovilizado después de ser aplicado y convertido en una forma no asequible para las plantas (Nautiyal, 1999).

Es conocido que los HMA toman fósforo del suelo y lo transfieren a las plantas, constituyendo este el efecto nutricional más notorio de esta simbiosis (Azcón, 2000). Los mecanismos químicos involucrados en la absorción de este elemento por el hongo se desconocen, sin embargo se sabe que se toma en forma de ión ortofosfato y se transporta a través de las hifas en forma de polifosfato (Sieverding, 1991).

En las plantas micorrizadas se produce el aumento de la absorción de fósforo y aunque este elemento este presente en grandes cantidades, su accesibilidad a las raíces absorbentes es difícil, debido a interacciones con coloides, a reacciones de precipitación con aluminio, hierro, calcio y a su reducida difusión, lo que favorece el desarrollo de zonas de agotamiento alrededor de las raíces (Trimble y Knowles, 1995).

Estrada y Davies (2001) determinaron que el movimiento del fosfato desde la solución del suelo hasta la planta se manifiesta en tres fases:

- 1- El fósforo es captado por las hifas externas del hongo 1000 veces más rápido que por la difusión a través de la solución del suelo.
- 2- El fosfato es trasladado a través de las hifas intrarradicales.
- 3- Es transferido al citoplasma o se acumula en las vacuolas en forma de gránulos de polifosfato que se transportan y se degradan en los arbúsculos.

El efecto de la micorrización de las plantas sobre la absorción del fósforo ha sido demostrado pues las plantas cuando establecen la simbiosis con el hongo incrementan su capacidad y eficiencia en la absorción de este elemento.

Al comparar el desarrollo de las plantas de cítricos micorrizadas en condiciones de bajo contenido de fósforo, con las plantas no micorrizadas y suplementadas con fósforo, Eissenstat *et al.* (1997) obtuvieron que las plantas micorrizadas mostraron mayor tasa fotosintética que las no micorrizadas.

Linderman y Davis (2001) evaluaron el efecto de la especie *G. intrarradices* en la captación del fósforo en plantas de cebolla y encontraron que la micorrización produjo un incremento en el crecimiento del bulbo con relación a las plantas no micorrizadas.

Llonín y Medina (2002) informan que la inoculación en el cultivo del tomate con las especies *G. clarum* y *G. fasciculatum* influyó positivamente en la absorción de nutrientes (NPK) con relación al testigo absoluto y al testigo de producción.

#### **2.1.5. Biofertilizantes: importancia para la agricultura.**

La utilización de los biofertilizantes constituye una alternativa promisoriosa en los sistemas agrícolas sustentables, donde, además de ser un procedimiento de fácil aplicación y bajos costos de producción, se garantiza el suministro de nutrientes a los diferentes cultivos (Medina, 2004).

El término biofertilizantes puede definirse como aquellos preparados que contienen células vivas o latentes de especies microbianas que pueden ser eficientes fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fósforo, potenciadoras de diversos nutrientes o productoras de sustancias activas. Estos productos se utilizan para aplicar a las semillas o al suelo con el objetivo de incrementar su número en el medio y acelerar los procesos microbianos. De esta forma se aumentan las cantidades de nutrientes que pueden ser asimilados por las plantas o se aceleran los procesos fisiológicos que influyen sobre el desarrollo y rendimiento de los cultivos (Alfonso y Monedero, 2004).

Montes (1999) sugiere que esta práctica elimina los efectos nocivos de la fertilización nitrogenada en la absorción, asimilación y disponibilidad de diferentes nutrientes como el fósforo, además de erradicar la contaminación atmosférica, las aguas subterráneas y del manto freático, siendo este impacto más importante que el económico.

Los biofertilizantes permiten poner al alcance de los agricultores, productos con alta efectividad, con los que se sustituye hasta el 50% del fertilizante nitrogenado industrial, en el caso de los fijadores asociativos y hasta el 80% en el caso de los simbióticos y con los microorganismos solubilizadores de fósforo hasta el 70% del fertilizante fosfórico. Por otra parte, los rendimientos en productos agrícolas comerciales se incrementan hasta el 30% por el efecto de las sustancias activas sintetizadas por las bacterias fijadoras asociativas y solubilizadoras de fósforo (Viñals y Villar, 1999).



### **2.1.5.1. Producción de inoculantes: formulados sólidos y líquidos. Métodos de aplicación.**

Durante los últimos años se han desarrollado diversas tecnologías de reproducción, siendo las más utilizadas aquellas que involucran a la planta en un medio o sustrato sólido, empleando materiales que van desde suelo, turba, perlita, vermiculita, arena, arcilla, arcilla calcinada, varios materiales vegetales, forestales, así como las mezclas de algunos de ellos (Morton y Redecker, 2001 y Fernández, 2003).

Los formulados líquidos son la forma más simple de empleo de los biopreparados; sin embargo, (Fernández, 1999) sugiere que esta variante es la menos apropiada cuando se requieren inocular extensas áreas y se necesitan mover grandes volúmenes de líquidos con peligros de contaminación en el transporte y almacenamiento.

Por otra parte, esta forma de aplicación puede ser viable en momentos en que no sea posible tratar a la semilla botánica y que sea necesario aplicar el biofertilizante directamente al suelo. La aplicación de los HMA en formulación líquida más que un hecho es un reto, debido a la baja protección osmótica de los propágulos aplicados en medio acuático y en el sistema de riego (Fernández *et al.*, 2006).

En los últimos años se han desarrollado diversas metodologías para la aplicación de los biofertilizantes, donde se destacan: el recubrimiento de la semilla, la utilización de propágulos, la inoculación en el suelo, las aplicaciones foliares y las tecnologías por fertirriego.

El recubrimiento de la semilla es una forma ampliamente utilizada en las hortalizas, granos y plantas medicinales y varias investigaciones avalan este método para la inoculación de los HMA (Plana *et al.*, 1999; Riera *et al.*, 2003; Pulido *et al.*, 2003 y Sánchez *et al.*, 2005). Estas experiencias mostraron resultados satisfactorios en el desarrollo de las plantas y una influencia marcada sobre las propiedades físicas de los suelos, destacándose la producción de la glicoproteína específica de estos hongos, glomalina, la cual acelera los procesos de formación de microagregados estables en los mismos.

Otra vía de amplia utilización ha sido la incorporación de los biofertilizantes al suelo, específicamente la aplicación superficial, siendo la más común y cuyo objetivo es aumentar la proporción del microorganismo en el suelo. Esta vía de aplicación fue estudiada por Brito *et al.* (2004) quienes incorporaron biofertilizantes, HMA y PGPR (Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal), en el tomate al momento de la siembra para la producción de posturas en cepellón. Por otra parte, Terry *et al.* (2004) obtuvo resultados satisfactorios para este método en suelos Pardos con Carbonatos cuando coinoculó tomate con HMA y *Azospirillum*.

Estudios realizados por González *et al.* (2002) al evaluar la eficiencia del *Rizobac* sobre indicadores de crecimiento de plántulas de cafeto demuestran que el biopreparado fue más efectivo en la formulación líquida que en la sólida.

Youbain, *et al.* (2004), evaluaron la aplicación de los HMA en el momento del trasplante para el cultivo de la lechuga con un portador sólido en el nido de la planta y otro líquido por goteo mediante riego y encontraron que ambas formas propiciaron que las plantas realizaran una mayor extracción de N, P, K, Ca, y Mg e incrementos de los rendimientos.

Dell'Amico *et al.* (2006) demostraron un mayor crecimiento de la biomasa seca del tomate con el inóculo en formulación líquida, independientemente de la dosis y del momento de aplicación.

Por otra parte, investigaciones desarrolladas por Plana *et al.* (2006) reportaron incrementos en los rendimientos del trigo, maíz y sorgo al aplicar los HMA tanto en medio sólido como en la formulación líquida.

#### **2.1.6. Sistemas agrícolas micorrizados eficientemente.**

Varios autores (Harley y Smith, 1983; Siqueira y Franco, 1988) se han referido a uno de los aspectos de mayor repercusión en el manejo de la simbiosis micorrízica, la baja especificidad cepa – cultivo. En este sentido, consideraron que las diferentes especies de HMA no presentaron una especificidad manifiesta frente a diferentes hospederos en condiciones favorables para la simbiosis.

Sieverding (1991) estudió el manejo de las especies nativas en suelos colombianos y destacó que la comunidad de especies de HMA es específica de un sitio y con gran dependencia de las diferentes prácticas agronómicas. Este autor concluyó que el manejo de la simbiosis con fines productivos debía ser mucho menos complicado a través de la inoculación de especies de probada eficiencia que a partir de la manipulación de la población nativa.

Sin embargo, evidencias obtenidas con técnicas moleculares indican que las plantas son colonizadas preferiblemente por ciertas especies de HMA en base a sus efectos diferenciales sobre el crecimiento vegetal. Aunque dicha especificidad no es absoluta, puede influir de un modo importante, no solo en la productividad de las comunidades vegetales sino también en la diversidad, relaciones competitivas y funcionamiento general de los ecosistemas naturales (Van der Heijden *et al.*, 1998).

Jaen (1989) estableció que la eficiencia para el establecimiento de la simbiosis micorrízica está influenciada por cuatro factores:

- 1- El genotipo de la planta hospedera para el reconocimiento bioquímico y la aceptación de la relación entre los genes.
- 2- La efectividad e infectividad de las especies de HMA para inducir efectos morfológicos y fisiológicos en las plantas hospederas.
- 3- El contenido de fósforo asimilable en el suelo.
- 4- Las exigencias nutricionales de la propia planta.

Dado que los HMA son microorganismos edáficos y que una de sus principales funciones es aumentar las posibilidades de absorción del sistema radical (Lovera y Cuenca, 2007), a partir de la década de los 90 en Cuba se comenzaron a realizar un conjunto de investigaciones encaminadas a relacionar el fenómeno de la simbiosis micorrízica con el tipo de suelo y la disponibilidad de nutrientes (Rivera *et al.*, 2003).

Investigaciones desarrolladas por Fernández (1999) demostraron un comportamiento diferenciado entre especies de HMA por tipo de suelo y encontró en el cultivo del cafeto que la efectividad alcanzada por la inoculación de las mejores especies para cada condición edáfica, dependió de la fertilidad del mismo.

Otros estudios desarrollados en el cultivo del tomate evidenciaron un ejemplo de cómo se expresa la especificidad cultivo-especie de HMA, sin variar los criterios de cepa eficiente para la disponibilidad de nutrientes por tipo de suelo, se obtuvo una buena efectividad de la especie *G. mosseae* en Ferralsoles éutricos (Hernández, 2000).

Para el mismo cultivo, Rivera *et al.* (2003) encontraron que *G. fasciculatum* resultó efectiva para la disponibilidad de nutrientes en suelos de fertilidad media y alta, *G. clarum* para suelos de fertilidad baja y media y *Acaulospora scrobiculata* solo en suelos de baja fertilidad.

El beneficio que aporta la simbiosis micorrízica arbuscular a las plantas ha sido bien documentado, dando especial énfasis a la estimulación del crecimiento y la nutrición de las mismas, especialmente en aquellas de interés hortícola, frutícola y forestal (Alarcón y Ferrera, 1999; Davies *et al.*, 2000 y Jeffries *et al.*, 2004).

Los HMA incrementan el crecimiento y desarrollo al mejorar el estado nutricional de las plantas y favorecer su adaptación a condiciones ambientales extremas como: áreas erosionadas, suelos con baja fertilidad, condiciones de salinidad y en áreas contaminadas por diversos agentes orgánicos e inorgánicos (Ferrera y Alarcón, 2004).

## **2.2. El cultivo del tomate**

El tomate (*Solanum lycopersicon* L.) es originario de la región geográfica que actualmente ocupa Perú, Ecuador y Bolivia, en los Andes de Suramérica. El hábitat natural de esta especie es una estrecha franja costera que se extiende desde el Ecuador (0° latitud) hasta el norte de Chile (30° latitud sur) y entre el Pacífico y los Andes y hasta altitudes de 2000 metros sobre el nivel del mar e incluye a las islas Galápagos (Nuez, 1995).

Según Peralta *et al.*, (2005) la clasificación botánica del tomate es la siguiente:

**Clase:** *Dicotyledoneas*

**Orden:** *Solanales*

**Familia:** *Solanaceae*

**Tribu:** *Solaneae*

**Género:** *Solanum*

**Especie:** *Solanum lycopersicum* L.

En Cuba sus frutos gozan de gran aceptación en la población, ya sea para ser consumidos frescos o como condimentos (Castellanos y Muñoz, 2003; Peralta *et al.*, 2005 y Álvarez *et al.*, 2003) y constituye la principal hortaliza, tanto por el área que ocupa (71%) como por el nivel de producción que se obtiene (17,86 t.ha<sup>-1</sup>) (FAOSTAT, 2006).

Sin embargo, su cultivo se limita generalmente a los meses de invierno (sep-dic) debido a los bajos rendimientos y calidad de los frutos que se presentan en periodos no óptimos, lo cual es atribuido fundamentalmente a los efectos negativos que producen las altas temperaturas y humedad relativa sobre la fructificación, unido a la incidencia de plagas y enfermedades que se presentan de forma más intensa en esta época del año (González, 1997). Debe tenerse en cuenta que el desarrollo de la planta depende de la variedad, la nutrición y el suministro de agua, entre otros factores (Chamorro, 1995).

### **2.2.1. Composición nutricional.**

El fruto del tomate esta compuesto por un 94 % de agua, 1,1 g de proteínas; 0,2 g de grasas; 4,7 g de hidratos de carbono y su valor energético es de 22-24 calorías por 100 g de producto (Ruano y Sánchez, 2003), lo cual se detalla en la tabla 1.

**Tabla 1: Composición del fruto de tomate maduro (Nuez, 1995).**

<b>Componente</b>	<b>Peso Fresco (%)</b>
Materia seca	6.50
Carbohidratos totales	4.70
Grasas	0.15
Nitrógeno proteico	0.40
Azúcares reductores	3.00
Sacarosa	0.10
Sólidos solubles totales (Brix)	4.50
Ácido málico	0.10
Ácido cítrico	0.20
Fibra	0.50
Vitamina C	0.02
Potasio	0.25

El valor nutricional del tomate también está determinado por su contenido en vitaminas C, E y licopeno, siendo este último el centro de numerosas investigaciones en los últimos años (Díaz y Nuez, 2008). El licopeno abunda mucho en los frutos rojos y llega a alcanzar el 90% del total de los carotenos. Investigaciones realizadas demuestran el efecto benéfico de este caroteno en la reducción de varios tipos de cáncer e infartos (Clinton, 2005).

### **2.2.2. Exigencias climáticas y edafológicas para el cultivo del tomate.**

En Cuba, el tomate se puede cultivar durante todo el año pero la época óptima para la siembra está comprendida entre el 15 de septiembre y el 20 de diciembre. Existen variedades que se pueden cultivar durante la época de verano pero se obtienen bajos rendimientos por problemas de adaptación a los factores ambientales, principalmente la temperatura, luz y humedad. La interacción de estos factores es de gran importancia ya que determinan el comportamiento de las plantas (Boza, 1991).

✚ **Radiación:** El tomate es un cultivo insensible al fotoperíodo, aunque requiere buena iluminación de forma general. Iluminaciones limitadas producen la reducción de la fotosíntesis neta, lo cual implica mayor competencia por los productos asimilados. Valores totales de radiación diaria en torno a  $0.85 \text{ mJ/m}^2$  son los umbrales considerados mínimos para la floración y cuajado del fruto, siendo recomendable mayor intensidad luminosa en menor período de tiempo que iluminaciones más bajas durante más tiempo. Hoy en día los adelantos en el mejoramiento genético nos permiten disponer de cultivares mejor adaptados a condiciones de baja iluminación sin afectar la floración y el cuajado de los frutos (Cooper y Hurd, 1968; Calvert, 1973; Aung, 1976; Kinet, 1977 y Van de Vooren, *et al.*, 1986).

✚ **Temperatura:** El tomate es una planta termoperiódica y crece mejor con temperatura variable que constante lo cual varía con la edad. La temperatura óptima de desarrollo oscila entre 20 y 30°C durante el día y de 10 a 17°C durante la noche. Temperaturas superiores a los 30-35°C

afectan la fructificación, por mal desarrollo de los óvulos y del desarrollo de la planta en general, con particularidad sobre el sistema radicular. A temperaturas superiores a 25°C e inferiores a 12°C la fecundación es defectuosa o nula. La maduración del fruto está influenciada por la temperatura en lo referente a la precocidad y a la coloración del fruto, de forma que valores cercanos a los 10°C y superiores a los 30°C originan tonalidades amarillentas (Went, 1957; Calvert, 1973; Verkerk, 1975 y Stevens y Rudich, 1979).

- ✚ **Humedad del aire:** Valores de humedad relativa del aire inferior al 90% son deseables para el cultivo del tomate, sin embargo valores superiores son perjudiciales pues favorecen el desarrollo de enfermedades bacterianas (Harper, *et al.*, 1979 y Hurd y Sheard, 1981) y se reportan valores óptimos entre 70 y 80% (Cottery y Walter, 1967 y Winspear *et al.*, 1970).

En condiciones de baja humedad relativa, la tasa de transpiración se incrementa, lo que puede producir estrés hídrico, cierre estomático y reducción de la fotosíntesis, en la fase de fructificación cuando la actividad radicular es menor (Rawson *et al.*, 1997). Valores muy altos de transpiración, especialmente con baja iluminación, reducen la viabilidad del polen (Burns *et al.*, 1979), limita la evapotranspiración, reduce la absorción de agua y nutrientes (Adams, 1980) y genera un déficit de elementos como el calcio (Hurd y Sheard, 1981).

- ✚ **Suelo:** El tomate no es muy exigente en cuanto a suelos, excepto en lo que se refiere al drenaje, aunque su máximo potencial lo expresa en suelos sueltos, profundos, ricos en materia orgánica y con un pH entre 5 y 7. Es un cultivo que tolera bastante las condiciones de salinidad (Ayers y Westcot, 1976 y Moya *et al.*, 2007).

- ✚ **Fertilización:** Las plantas requieren una nutrición adecuada para poder asegurar un desarrollo óptimo por lo que se hace necesario el equilibrio e interacción de las sustancias nutritivas. Un exceso o déficit ocasiona plantas débiles, susceptibles a plagas y enfermedades y cosechas de baja calidad (Moya *et al.*, 2007).

Los fertilizantes se aplican según las extracciones estimadas del cultivo (Nuez, 1995) y el cultivo del tomate es exigente en cuanto a niveles de nutrición mineral, debido al gran volumen de frutos producidos por unidad de superficie (Castilla y Federes, 1990).

Ward (1964) y Bar-Yosef *et al.*, (1980) estimaron aplicaciones de fertilizantes por tonelada de cosecha de 3,8 kg de nitrógeno; 0,7 kg de fósforo; 7,0 kg de potasio; 3,2 kg de calcio y 1,1 kg de magnesio.

La nutrición y fertilización del cultivo del tomate dependen de las condiciones locales específicas. Los mejores rendimientos y calidad se obtienen cuando se aporta la cantidad necesaria de nutrientes, con la fuente de fertilizante adecuada, en forma balanceada, en época oportuna y de acuerdo al ritmo de absorción de la planta (Terry, 2005).

En Cuba, resultados experimentales obtenidos en suelos Ferralíticos Rojos, con contenidos medios y altos de  $P_2O_5$  y  $K_2O$  se han tomado como elemento básico para determinar las dosis de fertilizantes a aplicar, donde se ha establecido la aplicación de 150 kg/ha de N; 75 kg/ha de  $P_2O_5$  y 100 kg/ha de  $K_2O$  (MINAG, 1984 ). De forma general, en el tomate se aplican 0,50-1,86 t/ha de la formulación 8-7.5-12 y 0,07-0,47 t/ha de 33-0-0 que proporcionan al suelo 125-144 kg/ha de N; 42-142 kg/ha de  $P_2O_5$  y 72-232 kg/ha de  $K_2O$  (Huerres y Caraballo, 1991).

En cuanto al fraccionamiento y momentos de aplicación, se ha tratado de ajustar al máximo a los resultados experimentales obtenidos en suelos rojos, donde se plantea aplicar el fósforo y potasio en siembra con 1/3 de nitrógeno y los 2/3 de nitrógeno restantes se aplicarán a los 25-30 días posteriores con respecto a la fertilización anterior (Terry, 2005).

### **2.2.3. Respuesta del tomate a la biofertilización con HMA.**

Desde la década del 90 se comenzó el empleo de este biofertilizante en el cultivo del tomate y un ejemplo lo constituye el trabajo realizado por Caballero y Martínez (1995), quienes analizaron la influencia de diferentes especies de HMA, del género *Glomus*, sobre el crecimiento y desarrollo del tomate y encontraron que los



tratamientos micorrizados superaron al control, en cuanto a rendimiento, en un 29-63.9%, siendo la especie *G. clarum* la de mejor comportamiento.

Al evaluar la respuesta del cultivo a la biofertilización con diferentes especies de HMA, Cuevas *et al.* (2000) encontraron una respuesta favorable en las variantes micorrizadas con relación al testigo en fase de semillero y trasplante, donde se destacó la especie *G. fasciculatum*.

De igual forma, Terry *et al.* (2001) evaluaron el efecto de diferentes combinaciones de los biofertilizantes AZOFERT® (*Azospirillum brasilense*) y EcoMic® (*G. clarum*), con un análogo de brasinoesteroide (Biobras- 16), sobre el crecimiento y el rendimiento del tomate, var. Amalia, en un suelo Ferralítico Rojo compactado. Ellos encontraron que en etapa de semillero (20 días) no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con respecto al testigo de producción. En cuanto a los rendimientos, el tratamiento donde se inoculó AZOFERT® con EcoMic® mostró incrementos considerables y permitió ahorrar 60 kg.ha<sup>-1</sup> de nitrógeno.

Llonín y Medina (2002) estudiaron en el mismo cultivo, la participación de fuentes y dosis de fósforo en un suelo Ferralsol con dos especies de HMA (*G. fasciculatum* y *G. clarum*) y encontraron un marcado efecto de las dosis del fertilizante químico sobre las variables de crecimiento evaluadas y la producción, potenciados por la utilización de las especies de micorrizas. En este caso, el mayor efecto fue obtenido con *G. fasciculatum*.

Dell'Amico *et al.* (2002) determinaron el efecto de la especie *G. clarum* sobre el crecimiento y las relaciones hídricas de las plantas de tomate afectadas por un ciclo de sequía y recuperación. Estos autores observaron que el hongo tuvo un efecto estimulante sobre el crecimiento de las plantas, siendo más efectivo en el desarrollo de la parte aérea que en el de la raíz, lo cual se manifestó a través del aumento del área foliar, así como los incrementos de la apertura estomática, de la actividad fotosintética y de la conductividad hidráulica en las raíces.

### III- MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Condiciones experimentales generales

Los experimentos se desarrollaron en el Departamento de Servicios Agrícolas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), en la finca Las Papas, ubicada en San José de Las Lajas, provincia La Habana. Los mismos se realizaron sobre un suelo Ferralítico Rojo lixiviado según la Nueva Versión de Clasificación de los Suelos de Cuba (MINAG, 1999), que se correlaciona con un Nitisol ferrálico (éutrico, ródico) (IUSS, 2006), algunas de cuyas propiedades se presentan en la tabla 2.

**Tabla 2: Características químicas del suelo Ferralítico Rojo lixiviado a la profundidad de 0-20 cm.**

Variables	pH	MO (%)	P (mg/kg)	Ca	Mg	K	Na	Suma de bases	Esporas HMA/50g
				(cmol/kg)					
<b>Experimento 1</b>									
	6,8	2,42	528	13,1	3,8	0,16	0,08	17,14	ND
<b>Experimento 2</b>									
<b>Semillero</b>	7,9	2,97	173	22,5	3,0	0,75	0,06	26,31	35
<b>Trasplante</b>	7.4	2,21	167	10,9	2,5	0,87	0.08	14,35	43

Determinaciones químicas: pH al H<sub>2</sub>O, Potenciómetro; Materia Orgánica (MO), Walkley Black; Fósforo (P), Oniani; Cationes, Ca, Mg, Na y K, Método de Maslova; esporas de HMA, Gerdemann y Nicholson (1963); ND: No Determinado.

Se observó que el pH osciló de neutro a ligeramente alcalino. El valor de 7,9 presente en el experimento 2 resultó alto para este tipo de suelo y puede haber sido provocado por el manejo intensivo del riego aplicado al mismo con aguas de alto contenido de Ca (Hernández *et al.*, 2006a).

De igual forma se observó alta variabilidad en los contenidos de Ca cambiabile, con valores entre 10,9 y 22,5 cmol/kg, siendo este último alto para el tipo de suelo y coincidente con el valor de pH más alto en la misma área. Los valores de Mg se consideraron normales para este tipo de suelo, pero la relación Ca/Mg resultó deficiente en el área de semillero del experimento 2.

Para el K se obtuvo también alta variabilidad, siendo bajo y alto los valores de 0,16 y 0,87 cmol/kg para las áreas donde se ejecutaron los experimentos 1 y 2, respectivamente, según los criterios evaluativos de la Dirección Nacional de Suelos y Fertilizantes (1984). Los valores de Na intercambiable se mantuvieron dentro de los rangos admisibles para los suelos Ferralíticos.

El contenido de materia orgánica mostró valores medios, lo que indica la necesidad de la mejora de estos suelos, pues no solo está relacionada con la fertilidad sino con otras propiedades edáficas como son la densidad aparente, el coeficiente de dispersión y la porosidad total (Hernández *et al.*, 2006b).

Con relación al P los valores presentados son altos en todas las áreas experimentales, lo que está relacionado con aplicaciones intensivas del mismo durante largos periodos.

En cuanto al cultivo empleado en los estudios, se utilizó el tomate (*Solanum lycopersicum* L. var. *Mara*) como planta modelo, cuya semillas fueron obtenidas en el Departamento de Genética y Mejoramiento de las Plantas del INCA (Moya *et al.*, 2004) y las mismas permanecieron en el semillero tradicional durante 25-30 días. En las tablas 3 y 4 se muestran los datos de las condiciones climáticas para ambos experimentos, los que se consideran adecuados para el cultivo del tomate.

**Tabla 3: Medias mensuales de las variables climáticas registradas durante el ciclo del experimento 1. (Estación Meteorológica de Tapaste).**

Período 2006/2007	Temperatura (°C)			Humedad relativa (%)			Precipitaciones (mm)
	Máx.	Mín.	Prom.	Máx.	Mín.	Prom.	
Noviembre	27,2	16,6	21,9	96	57	81	50,5
Diciembre	27,6	19,3	23,3	96	62	83	43,9
Enero	28,2	17,3	22,4	94	48	77	3,4
Febrero	27,6	16,3	21,7	96	52	78	61,3
Marzo	28,3	17,9	22,7	95	45	70	15,4

**Tabla 4: Medias mensuales de las variables climáticas durante el ciclo del experimento 2. (Estación Meteorológica de Tapaste).**

Período 2008	Temperatura (°C)			Humedad relativa (%)			Precipitaciones (mm)
	Máx.	Mín.	Prom.	Máx.	Mín.	Prom.	
Enero	27.1	14.9	21	94	52	73	28.3
Febrero	29	17	23	95	50	72.5	27.1
Marzo	30.3	17.6	23.9	94	48	71	115.3
Abril	29.2	16.9	23.05	94	48	71	145.6

### **3.2. Experimento 1: Determinación de la cepa de HMA y dosis de inoculación más efectiva para el tomate**

Para estudiar la respuesta del tomate a la aplicación de diferentes especies de HMA en formulación líquida y determinar la dosis de inoculación más efectiva durante el ciclo experimental, se desarrolló un experimento en condiciones de campo.

Se estudiaron tres especies de HMA: *Glomus hoi-like*; *Glomus intrarradices* (Shenck y Smith) y *Glomus mosseae* (Nicol. y Gerd., enmendado por Gerdeman y Trappe), pertenecientes al cepario del Laboratorio de Micorrizas Arbusculares del INCA, y dos dosis de inoculante líquido (20 y 40 esporas de HMA por planta para cada especie, como promedio), las que se conservaron en una solución osmoprotectora por 15 días antes de su aplicación.

Este experimento se realizó entre los meses de noviembre 2006 y marzo 2007. En el semillero se aplicó fertilizante mineral NPK de la fórmula completa 9-13-17 a la dosis de 0,20 kg/m<sup>2</sup> y en esta misma etapa se inoculó la formulación líquida de HMA a los 7 días después de la germinación (ddg).

En la tabla 5 se muestra la descripción de los tratamientos empleados en el experimento 1.

**Tabla 5: Descripción de los tratamientos del experimento 1.**

<b>Tratamientos</b>	<b>Cepas</b>	<b>Dosis de esporas de HMA por planta</b>
T1	Testigo sin inocular	
T2	<i>G. mosseae</i>	20
T3	<i>G. hoi- like</i>	20
T4	<i>G. intrarradices</i>	20
T5	<i>G. mosseae</i>	40
T6	<i>G. hoi- like</i>	40
T7	<i>G. intrarradices</i>	40

En diciembre 2006 se continuó con la etapa de trasplante donde se aplicó el fertilizante mineral NPK (9-13-17) a la dosis de 1 t/ha, en todas las parcelas experimentales y fraccionado en dos períodos, en el momento del trasplante y 30 días posterior al mismo. Las atenciones culturales fueron realizadas según lo establecido en el Instructivo Técnico del Cultivo (MINAG, 1992).

Se siguió un diseño completamente aleatorizado, con arreglo bifactorial (3x2) y un testigo de referencia sin inoculación y se realizaron tres repeticiones de cada tratamiento.

Las parcelas experimentales tenían un área total de 28 m<sup>2</sup>, en un marco de plantación de 1,40 m x 0,25 m (4 surcos). El área de cálculo fue de 0,35 m<sup>2</sup> y se dejaron dos surcos de área de borde.

Para las determinaciones se evaluaron dos plantas por parcela, para un total de 6 plantas por tratamiento y 42 en cada muestreo.

### **3.3. Experimento 2: Determinación de la dosis de NPK más eficiente para el desarrollo del tomate a partir de la inoculación líquida con una especie efectiva de HMA**

Con el objetivo de determinar la dosis de fertilizante mineral NPK más eficiente para el desarrollo del cultivo del tomate inoculado mediante una formulación líquida de HMA, se desarrolló un experimento en condiciones de campo.

Este experimento se llevó a cabo en el período enero - abril del 2008 y se mantuvo el mismo protocolo del experimento 1 para la etapa de semillero.

En la tabla 6 se muestra la descripción de los tratamientos empleados en el experimento 2.

**Tabla 6: Descripción de los tratamientos del experimento 2.**

Tratamientos	Descripción
T1	Testigo
T2	HMA
T3	HMA + 50% NPK
T4	HMA + 75% NPK
T5	HMA + 100 % NPK

HMA: especie HMA y dosis de inoculación más efectivas en el experimento1.

En febrero 2008 se prosiguió con la etapa de trasplante, en la que se aplicó el fertilizante mineral NPK (9-13-17), fraccionado en iguales períodos que en el experimento 1. La dosis aplicada fue de 1 t/ha en el caso del tratamiento 100 % NPK (T5) y en los tratamientos T3 y T4 se aplicó 50 % y 75 % de esta dosis, respectivamente.

Se empleó un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones por tratamiento, en parcelas con las mismas características descritas para el experimento 1. El área de cálculo fue de 7,00 m<sup>2</sup> y se dejaron dos surcos de área de borde.

Las evaluaciones se realizaron tomando dos plantas por parcela, para un total de 8 plantas por tratamiento y 160 en cada muestreo.

### **3.4. Evaluaciones**

Las variables evaluadas fueron las siguientes:

- ✚ **Parámetros fúngicos (a los 30, 55 y 70 ddt):** Se realizó el conteo de esporas de HMA en 50 g de suelo siguiendo la metodología descrita por Gerderman y Nicholson (1963) modificado por Herrera *et al.*, (1995). Para la

estimación de los indicadores fúngicos 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) y la densidad visual se calculó según Trouvelot *et al.* (1986).

- ✚ **Índices del crecimiento de las plantas (a los 30 y 55 ddt):** Se determinó la longitud de la raíz, la altura de la planta y el número de hojas por planta. Para la determinación de la masa seca de las raíces y foliar las muestras permanecieron en la estufa a 70°C hasta obtener peso constante.
- ✚ **Componentes del rendimiento agrícola:** Se determinó el número de frutos por planta, el diámetro ecuatorial y polar de los mismos (mm) y el rendimiento del cultivo (t/ha) al finalizar cada experimento, mediante cosecha en el experimento 1 y por estimación a los 55 ddt en el experimento 2

### **3.5. 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 y ANOVA simple según los experimentos. Los datos del porcentaje de colonización micorrízica (% Col) fueron transformados por la función  $\arcsen\sqrt{x}$ . Para la discriminación de medias se utilizó el procedimiento de Tukey con una significación de un 95% en los casos en que el ANOVA resultó significativo.

## **IV- RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1. Experimento 1: Determinación de la cepa de HMA y dosis de inoculación más efectiva para el cultivo del tomate**

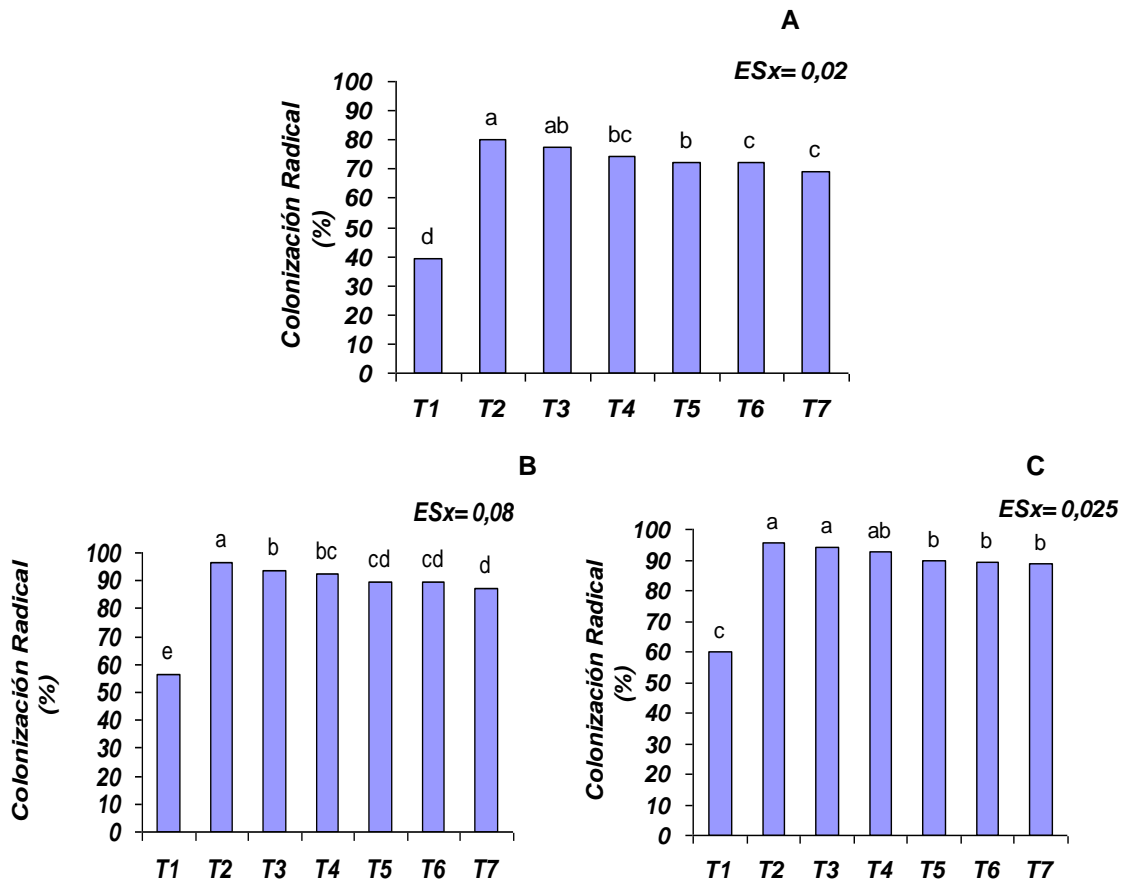
#### **4.1.1. Influencia sobre los parámetros fúngicos**

El grado de predominio de las especies microbianas en las raíces de las plantas está dado por el nivel de interacción planta - microorganismo, lo cual 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 mostró la existencia de interacción significativa entre las especies de HMA y las dosis de inoculación estudiadas a los 30 y 55 ddt, no siendo así para los 70 ddt. En la figura 2 aparecen los resultados de la colonización radical para estos momentos de evaluación, donde puede observarse que se encontró una respuesta positiva a la inoculación al comparar los tratamientos micorrizados con el testigo, siendo las especies *G. mosseae* y *G. hoi-like* a la dosis de 20 esporas por planta las que mostraron los mayores porcentajes de colonización a los 30 ddt (figura 2A). De igual forma, la especie *G. mosseae* mantuvo el mismo comportamiento a los 55 ddt (figura 2B), mientras que a los 70 ddt las 3 especies en estudio no difirieron en su comportamiento (figura 2C).

Los resultados encontrados para las dos primeras etapas coinciden con el período de máximo establecimiento del hongo dentro de la raíz, donde el cultivo incrementa su desarrollo debido a un aumento del volumen radical y, por lo tanto, ocurre una mayor exploración del suelo. Adicionalmente, aumenta la capacidad y eficiencia en la absorción de nutrientes por el incremento de la presencia de hifas externas e internas del hongo y el desarrollo de los arbusculos. En este período, el tomate se encuentra en la etapa de floración – fructificación, por lo que sus demandas nutricionales se incrementan al igual que la traslocación de fotosintatos, y se establecen relaciones fisiológicas positivas entre la planta hospedera y el endófito bajo condiciones ambientales adecuadas (Bonfante y Perotto, 1995).





**Figura 2: Influencia de las especies de HMA y la dosis de inoculación sobre la colonización radical. A: 30 ddt; B: 55 ddt; C: 70 ddt**

T1: Testigo, T2: *G. mosseae* 20 esporas por planta, T3: *G. hoi-like* 20 esporas por planta, T4 : *G. intrarradices* 20 esporas por planta, T5 : *G. mosseae* 40 esporas por planta, T6 : *G. hoi-like* 40 esporas por planta, T7: *G. intrarradices* 40 esporas por planta. Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

Al comparar los resultados a los 55 (figura 2B) y 70 ddt (figura 2C) se encontró que en ambos momentos se alcanzaron niveles similares de colonización radical, para cada tratamiento. Este efecto puede deberse a que se inicia la etapa de senescencia del cultivo, durante la cual se presentan diferentes fenómenos como la muerte y lignificación radical, disminución de los recursos nutricionales de las plantas y, por lo tanto, no se estimula la formación de nuevas estructuras fúngicas. En el testigo, para los tres momentos evaluados, se observaron valores de 39-60% de colonización radical, los que resultan elevados si se comparan con los informados por Terry (2005), quien encontró niveles de solo 15% en plantas testigo de tomate a los 60 ddt, durante dos años en la misma área experimental.

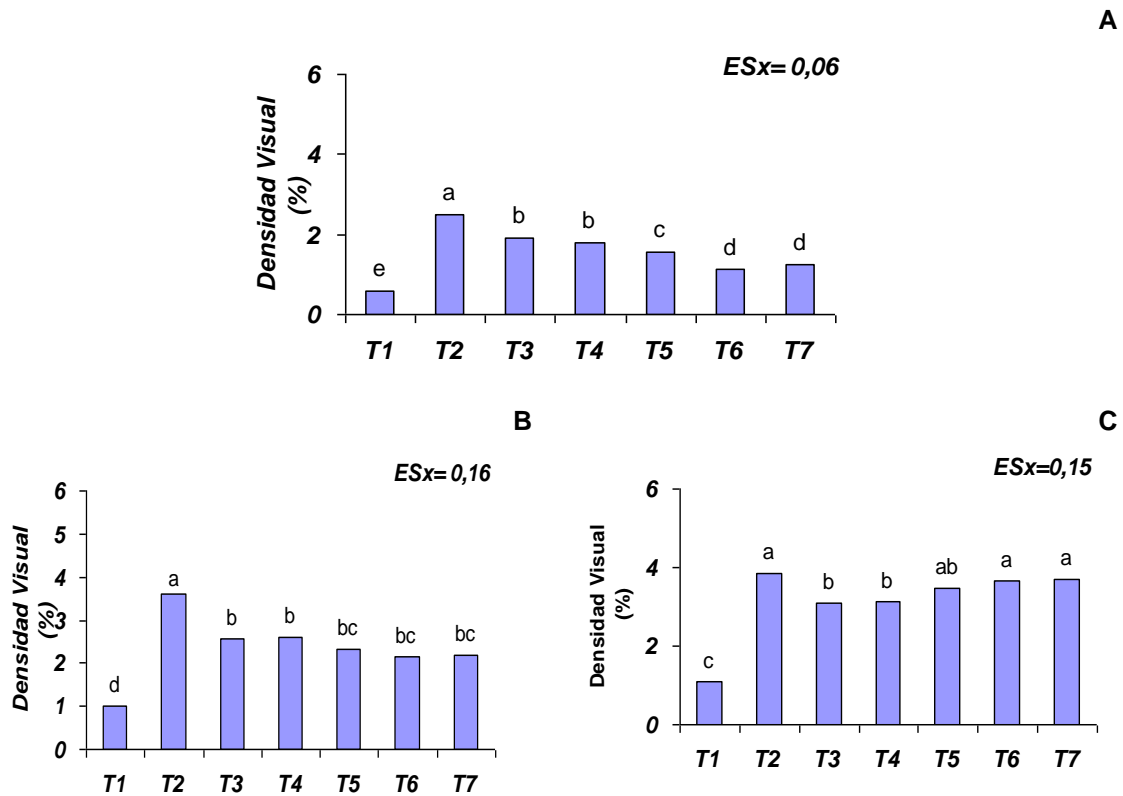
Los resultados alcanzados en el presente experimento fueron inclusive más altos que los obtenidos por el autor antes mencionado al evaluar este indicador en plantas inoculadas con diferentes especies HMA.

El resultado anterior pudo estar relacionado con la presencia de estructuras fúngicas en dicha área provenientes de inoculaciones previas y sucesivas con diferentes especies de HMA del INCA (*G. clarum*, *G. fasciculatum*, *G. mosseae* y, más recientemente, *G. hoi-like*). Este fenómeno, unido al hecho que el tomate se siembra anualmente en la misma área, puede haber determinado que dichos hongos micorrizógenos se hayan adaptado a esas condiciones edáficas y al cultivo en cuestión, por lo que poseen alto poder infectivo.

Al analizar la densidad visual (DV), indicador que refleja la intensidad de la colonización micorrízica, pues expresa la cantidad porcentual de estructuras fúngicas en el interior de la raíz, se apreció (figura 3) la existencia de interacciones significativas entre los factores en estudio (especies de HMA y dosis de inoculación) en todas las evaluaciones.

Se encontró que los tratamientos inoculados mostraron diferencias significativas con relación al testigo en los tres momentos evaluados, donde, a los 30 ddt, los valores de DV en todas las variantes micorrizadas con la dosis de 20 esporas por planta superaron a aquellos inoculados con 40 esporas por planta (figura 3A). Para los restantes momentos evaluados se encontró que la especie *Glomus mosseae* mostró los mayores valores para este indicador, alcanzando valores entre 3,61 y 4,12, que al compararlos con los informados por Terry (2005) resultaron altos, pues esta autora solo obtuvo niveles de 2.7% en plantas inoculadas con *G. mosseae*, a los 60 ddt.

Destaca el hecho que el tratamiento donde se inoculó la especie *G. mosseae* con la dosis de 20 esporas por planta mostró los mayores niveles de densidad visual en los tres muestreos, lo que indica que esta especie resultó la más infectiva para el tomate en las condiciones en que se realizó el ensayo. Este comportamiento pudo estar determinado por la especificidad que se estableció entre la especie vegetal y el HMA, bajo las condiciones de estudio, lo que produjo un mayor grado de compatibilidad entre los simbiosistas.



**Figura 3: Influencia de las especies de HMA y la dosis de inoculación sobre la densidad visual. A: 30 ddt; B: 55 ddt; C: 70 ddt**

T1: Testigo, T2: *G. mosseae* 20 esporas por planta, T3: *G. hoi-like* 20 esporas por planta, T4: *G. intrarradices* 20 esporas por planta, T5: *G. mosseae* 40 esporas por planta, T6: *G. hoi-like* 40 esporas por planta, T7: *G. intrarradices* 40 esporas por planta.

Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

En estudios previos, LLonín y Medina (2002) y Pérez *et al.* (2004) encontraron resultados promisorios para el cultivo al estudiar la especie *G. fasciculatum* en diferentes condiciones edafoclimáticas al ser comparada con otras especies de del género *Glomus*.

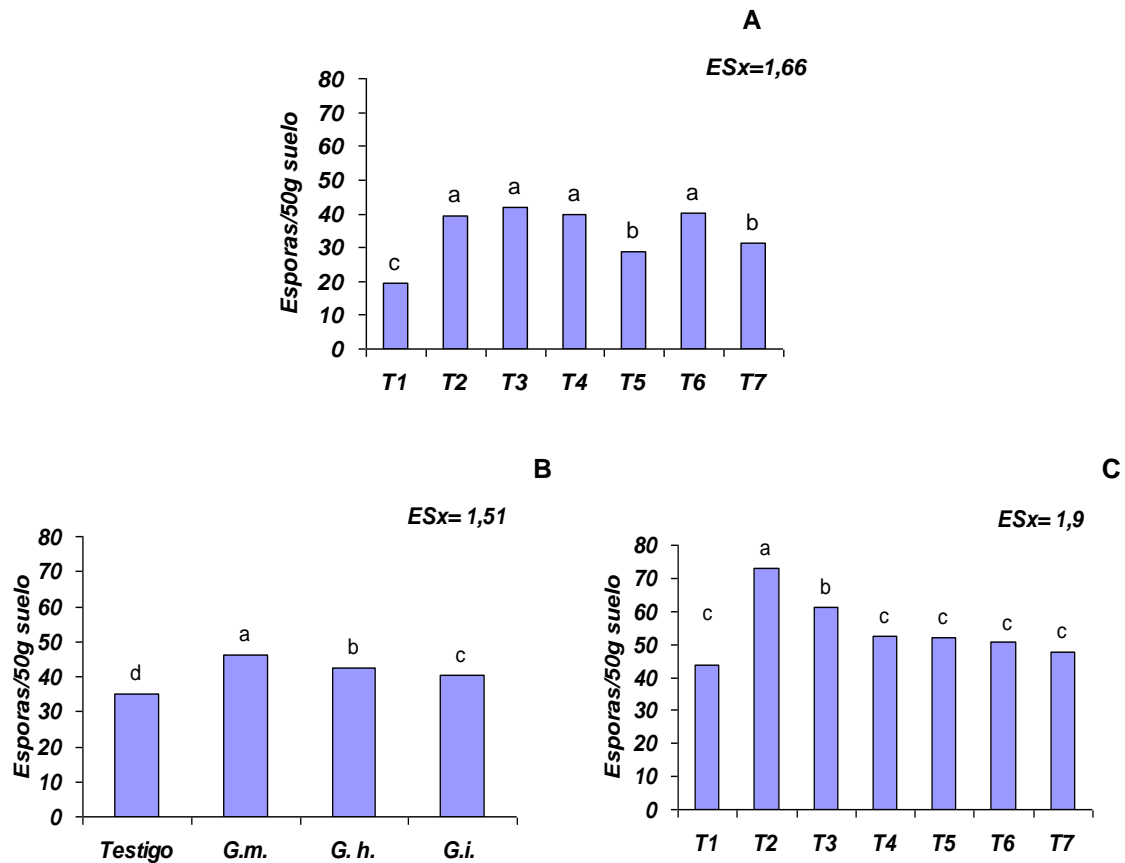
Al analizar el contenido de esporas en el suelo se observó la existencia de interacciones significativas entre las especies de HMA y las dosis a los 30 y 70 ddt (figuras 4A y 4C), así como que los valores en las variantes micorrizadas superaron casi siempre a aquellos correspondientes al testigo, siendo los tratamientos conformados por las tres especies de HMA inoculadas a la dosis de 20 esporas por planta y *G. hoi-like* inoculada a 40 esporas por planta los que mostraron los mayores valores, con similitud estadística entre ellos.

El análisis a los 55 ddt (figura 4B) mostró efecto significativo solo entre especies de HMA, lo que indica que en ese momento no hubo influencia de la dosis de inoculación sobre este indicador, siendo la variante inoculada con *G. mosseae* la que alcanzó el mayor valor (46,16 esporas en 50g de suelo).

Con relación a esta especificidad Rivera *et al.* (2003) plantearon que el comportamiento de las especies de HMA tiene dependencia del ambiente edáfico en el cual se establece la simbiosis. Por esta razón, resulta de gran importancia el conocimiento de las condiciones en las cuales se va a desarrollar el cultivo para seleccionar la especie que resulte más eficiente en función del desarrollo de la planta. También estos estudios destacan el efecto positivo de la especie *G. mosseae* en suelos Ferralíticos Rojos de fertilidad baja y media para tubérculos y hortalizas.

El efecto diferencial de las dosis de inoculación estudiadas sobre los valores de los tres parámetros fúngicos evaluados (colonización radical, densidad visual y contenido de esporas) pudo estar relacionado con el hecho, bien documentado, que el establecimiento de la simbiosis micorrízica transcurre por una etapa inicial, parasítica, caracterizada por la no existencia de intercambio de metabolitos y nutrientes entre la planta y el hongo, donde este último actúa solo como un consumidor neto de fotosintatos (Marschner y Dell, 1994).

Otros estudios desarrollados por Azcón *et al.* (2002) y Rodríguez *et al.* (2004) demuestran que los HMA inducen reacciones de defensa en la planta, que implican la producción de metabolitos o la síntesis de compuestos (enzimas como las quitinasas), respuestas que pueden ser localizadas en los tejidos colonizados y que limitan el desarrollo del micelio fúngico.



**Figura 4: Influencia de las especies de HMA y la dosis de inoculación sobre el contenido de esporas del hongo. A: 30 ddt; B: 55 ddt; C: 70 ddt**

T1: Testigo, T2: *G. mosseae* 20 esporas por planta, T3: *G. hoi-like* 20 esporas por planta, T4 : *G. intrarradices* 20 esporas por planta, T5 : *G. mosseae* 40 esporas por planta, T6 : *G. hoi-like* 40 esporas por planta, T7: *G. intrarradices* 40 esporas por planta. G.m. : *G. mosseae*, G.h. : *G. hoi-like* y G.i.: *G. intrarradices*.

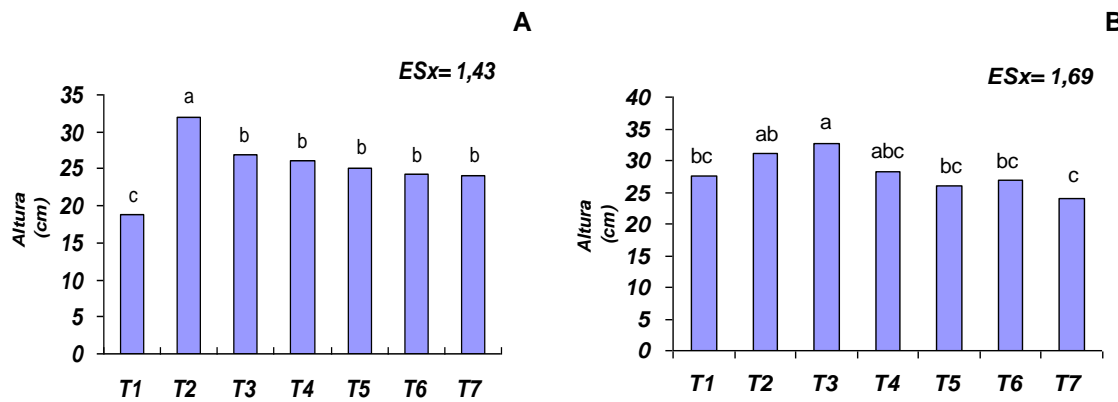
Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

Estos procesos, propios del metabolismo secundario, además de limitar el metabolismo primario (crecimiento y desarrollo) por economía metabólica, también pueden restringir la micorrización.

#### **4.1.2. Influencia sobre algunos indicadores del crecimiento del tomate.**

Cuando se analizó la altura de las plantas se observó interacción significativa de los factores evaluados a los 30 y 55 ddt (figura 5). A los 30 ddt (figura 5A) se encontró una respuesta positiva del cultivo a las inoculaciones, donde todas las variantes en estudio superaron al testigo. En ese sentido, el tratamiento inoculado con la especie *G. mosseae* a la dosis de 20 esporas por planta superó al resto de los variantes micorrizadas, las que no difirieron entre si.

Por otra parte, a los 55 ddt (figura 5B) se encontró que las tres especies de HMA estudiadas respondieron de igual forma entre si para cada dosis de inoculación (tratamientos T2-T4 y T5-T7), así como ocurrió para dos de las especies a ambos niveles de inoculación evaluados (tratamientos T2 con T5 y T4 con T7) con similitud estadística entre ellas. El único efecto destacable se manifestó para la especie *G. hoi-like* inoculada a 20 esporas por planta (T3) que difirió positiva y significativamente de la misma especie inoculada a 40 esporas por planta (T6) y del testigo sin inocular (T1).



**Figura 5: Influencia de las especies de HMA y la dosis de inoculación sobre la altura de las plantas. A: 30 ddt; B: 55 ddt**

T1: Testigo, T2: *G. mosseae* 20 esporas por planta, T3: *G. hoi-like* 20 esporas por planta, T4 : *G. intrarradices* 20 esporas por planta, T5 : *G. mosseae* 40 esporas por planta, T6 : *G. hoi-like* 40 esporas por planta, T7: *G. intrarradices* 40 esporas por planta.

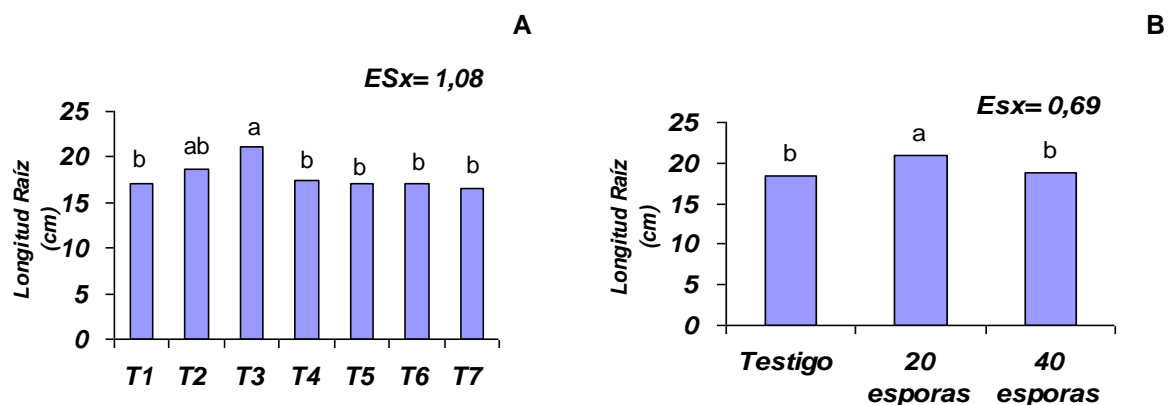
Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

Pulido *et al.*, (2003), al inocular diferentes especies de HMA (*G. clarum*, *G. fasciculatum* y *G. mosseae*) en tomate y cebolla, obtuvieron que los tratamientos inoculados superaron al testigo para las variables altura de la planta y longitud radical en suelos Ferralíticos Rojos compactados.

En el análisis del indicador longitud de la raíz a los 30 ddt (figura 6A) se encontró interacción entre los factores evaluados. Se observó que el tratamiento inoculado con la especie *G. hoi-like* a la dosis de 20 esporas por planta (T3) mostró diferencias significativas con todas las variantes en estudio, excepto con *G. mosseae* al mismo nivel de inoculación (T2), la que a su vez presentó un

comportamiento intermedio, con similitud estadística en relación al resto de los tratamientos.

A los 55 ddt se obtuvo diferencia significativa entre las dosis de inoculación pero no así entre las especies en estudio. En la figura 6B se muestra el resultado del análisis para las dosis donde la variante con 20 esporas por planta mostró una mejor respuesta con relación a la dosis de 40 esporas por planta y al testigo sin inocular, siendo estos dos últimos similares estadísticamente.



**Figura 6: Influencia de las especies de HMA y la dosis de inoculación sobre la longitud de la raíz. A: 30 ddt; B: 55 ddt**

T1: Testigo, T2: *G. mosseae* 20 esporas por planta, T3: *G. hoi-like* 20 esporas por planta, T4 : *G. intrarradices* 20 esporas por planta, T5 : *G. mosseae* 40 esporas por planta, T6 : *G. hoi-like* 40 esporas por planta, T7: *G. intrarradices* 40 esporas por planta.

Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

Por otra parte, para el indicador número de hojas no se encontraron diferencias significativas entre los factores en estudio en ninguno de los momentos evaluados, tal como se muestra en la tabla 7.

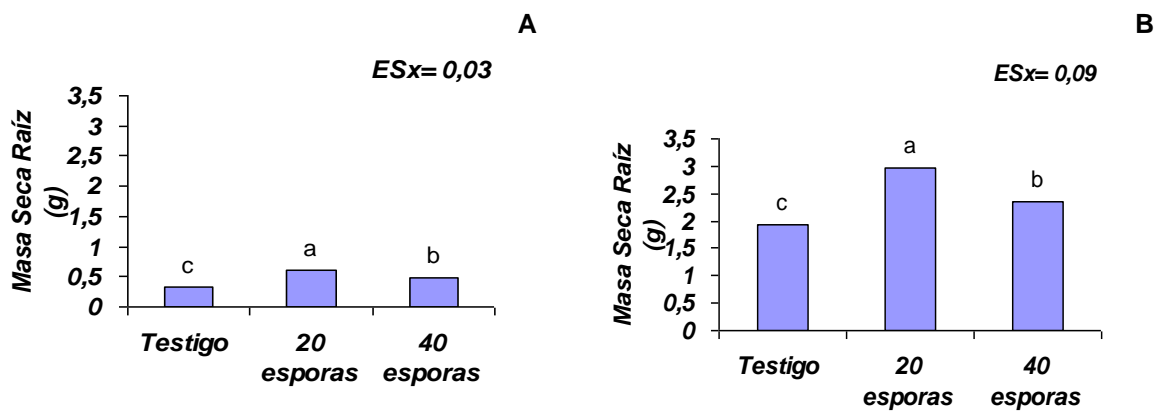
**Tabla 7: Influencia de las especies de HMA y la dosis de inoculación sobre el número de hojas a los 30 y 55 ddt.**

Tratamientos		30 ddt	55 ddt
20 esporas por planta	<i>G. mosseae</i>	10.16	15.50
	<i>G. hoi-like</i>	10.16	15.50
	<i>G. intrarradices</i>	9.16	14.66
40 esporas por planta	<i>G. mosseae</i>	8.83	14.66
	<i>G. hoi-like</i>	8.66	12.66
	<i>G. intrarradices</i>	8.33	12.50

Testigo	7.66	13.66
ESx	0.67 n.s.	1.2 n.s.

ddt: días después del trasplante.

El resultado del análisis para la masa seca de la raíz solo evidenció diferencias significativas entre las dosis de inoculación en ambos muestreos. En los dos momentos se destacó la variante inoculada con 20 esporas por plantas (figura 7), con valores significativamente superiores al de las otras dos variantes (testigo sin inocular e inoculada con 40 esporas por plantas).



**Figura 7: Influencia de las especies de HMA y la dosis de inoculación sobre la masa seca de la raíz. A: 30 ddt; B: 55 ddt**

Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

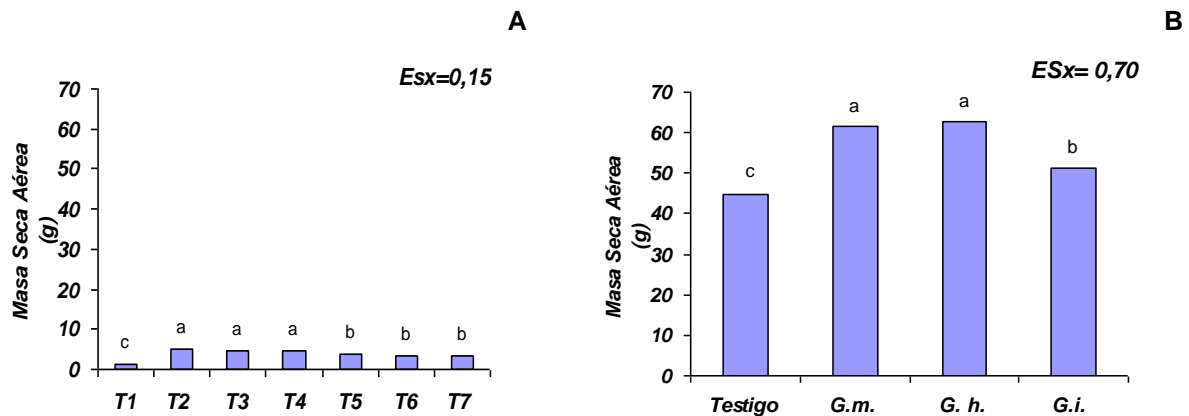
Se observó que a los 55 ddt se alcanzaron valores muy superiores a los obtenidos a los 30 ddt, con 385% de incremento.

Un análisis integral del comportamiento mostrado por los indicadores longitud (figura 6) y masa seca de la raíz (figura 7) y porcentaje de colonización (figura 2) permite apreciar que las variantes inoculadas con la dosis de 20 esporas por planta siempre superaron a las inoculadas con 40 esporas por planta, lo que parece estar relacionado con las consideraciones que se plantearon al concluir el epígrafe anterior (pag. 31).

Por otra parte, la masa seca aérea es uno de los índices que mejor caracteriza el desarrollo vegetativo. En el análisis del mismo se encontró interacción significativa entre ambos factores en estudio en el muestreo a los 30 ddt (figura 8A), indicando



que el desarrollo del cultivo tuvo dependencia tanto de la especie de HMA como de la dosis de inoculación. También se observa que la inoculación con la dosis de 40 esporas por planta produjo una reducción de la masa seca aérea con relación tanto a la dosis de 20 esporas por planta y al testigo sin inocular.



**Figura 8: Influencia de las especies de HMA y la dosis de inoculación sobre la masa seca foliar. A: 30 ddt; B: 55 ddt**

T1: Testigo, T2: *G. mosseae* 20 esporas por planta, T3: *G. hoi-like* 20 esporas por planta, T4 : *G. intrarradices* 20 esporas por planta, T5 : *G. mosseae* 40 esporas por planta, T6 : *G. hoi-like* 40 esporas por planta, T7: *G. intrarradices* 40 esporas por planta.

Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

Esta respuesta puede deberse a que las plantas micorrizadas no lograron mostrar su potencial sobre la estimulación del crecimiento vegetativo con relación al testigo para superar el estrés post- trasplante. Las plantas en este momento manifestaron altos porcentajes de colonización (40 - 80%) pero con bajos niveles de intensidad (0,58 – 2,50 % de densidad visual -DV), lo que sugiere que las mismas se encuentran en fases primarias de establecimiento de la simbiosis, la cual estuvo limitada de forma más aguda por el estrés post-trasplante.

El resultado del análisis de la producción de masa seca aérea a los 55 ddt mostró significación solo para el factor especies de HMA. Así, los tratamientos inoculados con *G. mosseae* y *G. hoi-like* mostraron las mejores respuestas con similitud estadística entre ellas, mientras que las variantes inoculadas con *G. intrarradices* alcanzaron niveles intermedios entre las especies anteriores y el testigo.

Al hacer un análisis integral de la respuesta de los indicadores de crecimiento evaluados se puede observar que las especies de HMA más efectivas bajo

nuestras condiciones experimentales fueron *G. mosseae* y *G. hoi-like* cuando se inocularon con dosis de 20 esporas por planta.

Estudios realizados por otros autores han demostrado 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 (Cuenca *et al.*, 2003; Koide y Mosse, 2004; 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 ha sido comprobado también por varias investigaciones donde se han alcanzado incrementos en los indicadores de crecimiento en cultivos como la uva (Aguin *et al.*, 2006), en viveros de aguacate (Barcenás *et al.*, 2007), en la aclimatización de vitroplantas 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).

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 retardamiento del crecimiento vegetal; por lo tanto, la planta necesita crecer y lograr una tasa fotosintética adecuada para mantener funcionando la simbiosis (Llonín y Medina, 2002).

El metabolismo del carbono por los HMA ha sido explicado en varias ocasiones y consiste en que las hexosas (glucosa o fructosa) provenientes de la planta, una vez incorporadas, van a ser utilizadas por el hongo para obtener energía metabólica y poder reductor con los que funciona su maquinaria celular. Se estima que entre 4 y 20% de estos compuestos carbonados son utilizados por el simbionte (Baggo *et al.*, 2005).

Por otra parte, no todas las combinaciones HMA-planta son compatibles, donde algunas especies de hongos benefician en mayor grado a un hospedero y se adaptan a determinadas condiciones edafoclimáticas, lo que provoca marcadas

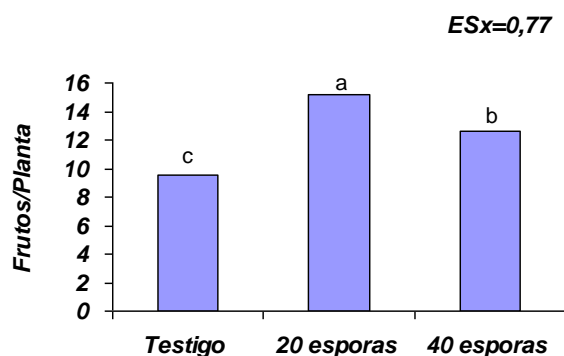
diferencias, no sólo estructurales, sino también funcionales, entre especies e incluso morfotipos de una misma especie (Linderman y Davis, 2004). Para lograr una inoculación efectiva es necesario conocer la compatibilidad entre un determinado hospedero y las especies de HMA, para seleccionar la mas adecuada para un cultivo específico (Rodríguez *et al.*, 2004).

#### **4.1.3 Influencia sobre algunos componentes del rendimiento agrícola.**

Para el indicador número de frutos por planta solo se encontró significación entre las dosis de inoculación evaluadas donde la variante con 20 esporas por planta mostró un valor significativamente superior a los correspondientes al resto de las variantes, resultados que se muestran en la figura 9.

Puede observarse que en esta mejor variante se alcanzaron valores promedios de 15 frutos por planta, valor similar al obtenido por Terry (2005) cuando inoculó tomate con *G. clarum* y aplicó 120 kg de N/ha.

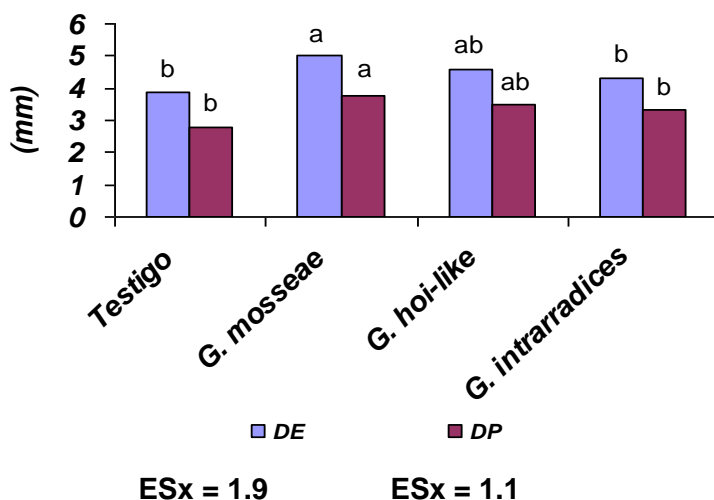
Al comparar los resultados obtenidos para los parámetros fúngicos con los obtenidos por dicho autor, se observó que los mismos fueron superiores y se obtuvo igual promedio de frutos por planta. Esta respuesta puede deberse a que Terry empleó en sus experimentos la variedad Amalia, y estudios desarrollados por Linderman y Davis (2004) informan que la micorrización responde de forma diferente entre genotipos de una misma especie vegetal.



**Figura 9: Influencia de las dosis de inoculación sobre el número de frutos por planta.**

Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

Por otra parte, para los indicadores diámetro ecuatorial y polar de los frutos, solo se obtuvo respuesta significativa para el factor especies de HMA, siendo *G. mosseae* y *G. hoi-like* las que mostraron mejores resultados, aunque los valores para *G. intrarradices* no difirieron estadísticamente de los de esta última (figura 10).

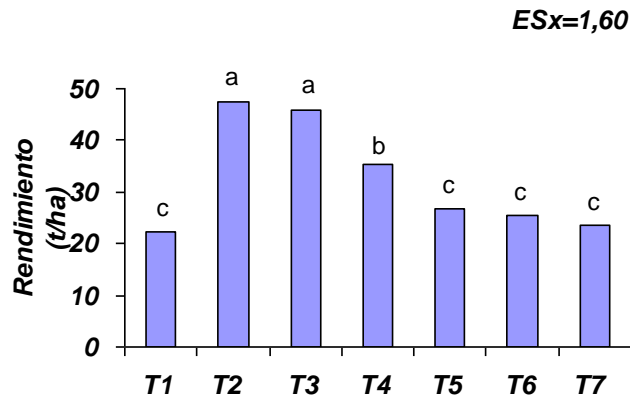


**Figura 10: Influencia de las dosis de inoculación sobre el diámetro ecuatorial (DE) y polar (DP) de los frutos.**

Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

Los valores obtenidos pueden ser considerados bajos si se compararan con los reportados por Dueñas *et al.* (2006) quienes al evaluar diferentes genotipos de tomate frente al virus del encrespamiento amarillo (TYLCV) en campo abierto encontraron valores de 6,16 (DE) y 4,78 (DP) para esta variedad.

Con relación al rendimiento agrícola del cultivo (figura 11), se encontró significación para la interacción entre los factores estudiados, donde los tratamientos inoculados con 20 esporas por planta (T2 – T4) superaron tanto al testigo sin inocular (T1) como a los tratamientos inoculados con 40 esporas por planta (T5 – T7).



**Figura 11: Influencia de las especies de HMA y las dosis de inoculación sobre el rendimiento agrícola del tomate.**

T1: Testigo, T2: *G. mosseae* 20 esporas por planta, T3: *G. hoi-like* 20 esporas por planta, T4 : *G. intrarradices* 20 esporas por planta, T5 : *G. mosseae* 40 esporas por planta, T6 : *G. hoi-like* 40 esporas por planta, T7: *G. intrarradices* 40 esporas por planta.

Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

Se destaca que los tratamientos donde se inocularon las especies *G. mosseae* y *G. hoi-like* a la dosis de 20 esporas por planta permitieron alcanzar los mayores rendimientos, entre 45 y 50 t/ha, aunque sin deferencias estadísticas entre ellos. Estos resultados son muy superiores a los reportados por Moya *et al.*, (2004) quienes obtuvieron de 25 t/ha para dicha variedad, aunque en plantaciones no micorrizadas. Además, la respuesta del cultivo se vio favorecida durante todo el ciclo del experimento por las condiciones climáticas las cuales incidieron positivamente en el mismo (tabla 3).

Investigaciones realizadas por Agüero *et al.* (2006) demuestran 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.

El análisis global de los resultados de este experimento evidencia que la inoculación con HMA en formulación líquida para ambas dosis evaluadas produjo respuestas satisfactorias y consistentes para todas las variables evaluadas (fúngicas, de crecimiento y de rendimiento) y superiores, en general, a los mostrados por el testigo no inoculado.

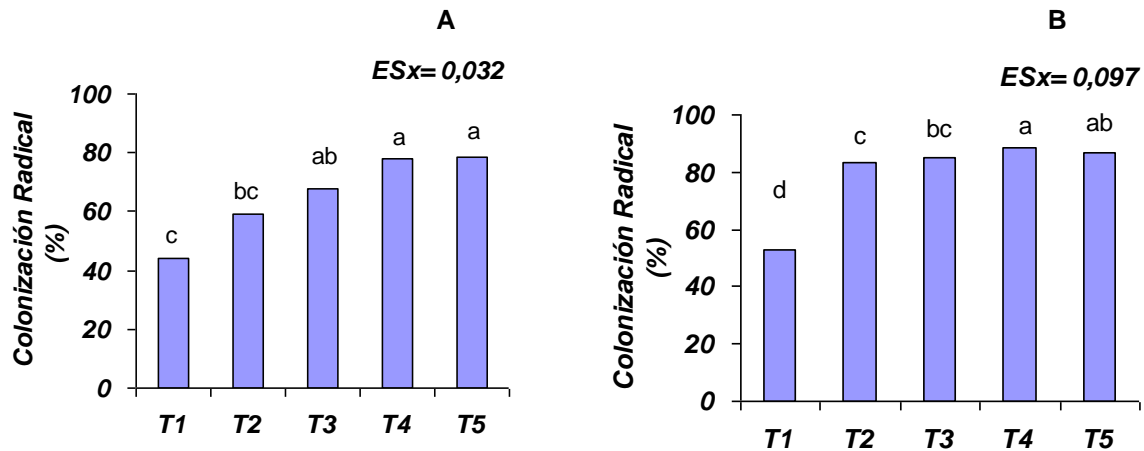
De acuerdo con los resultados obtenidos puede plantearse que el tomate respondió positivamente a la aplicación del inoculante líquido durante todo el ciclo experimental, siendo las especies *G. mosseae* y *G. hoi-like* las que mostraron una respuesta más efectiva del cultivo al influir positivamente sobre todas las variables evaluadas. De igual forma, la inoculación con la dosis de 20 esporas por planta fue más eficiente, integralmente, que la dosis de 40 esporas por planta

#### **4.2. Experimento 2: Determinación la dosis de NPK más eficiente para el desarrollo del tomate a partir de la inoculación líquida con una especie efectiva de HMA**

A partir de los resultados obtenidos en el experimento anterior, se seleccionó la especie *Glomus hoi-like* y la dosis de inoculación líquida de 20 esporas por planta como la combinación más efectiva para evaluar la eficiencia en la utilización de la fertilización con NPK por el tomate.

##### **4.2.1. Influencia sobre los parámetros fúngicos.**

Se obtuvo una respuesta positiva de la colonización radical a los 30 ddt (figura 12A) al existir diferencias con respecto al tratamiento testigo donde los mayores valores fueron alcanzados en las variantes inoculadas y con aplicación de fertilización mineral (NPK) en un 50 (T3), 75 (T4) y 100% (T5). También se observa que el tratamiento inoculado con HMA sin fertilizante (T2) no difirió del tratamiento inoculado y fertilizado con NPK al 50 % (T3).



**Figura 12: Influencia de las dosis de fertilización sobre la colonización radical. A: 30 ddt; B: 55 ddt**

T1: Testigo, T2: HMA, T3: HMA + 50% NPK, T4 : HMA + 75% NPK y T5 : HMA + 100% NPK .

Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

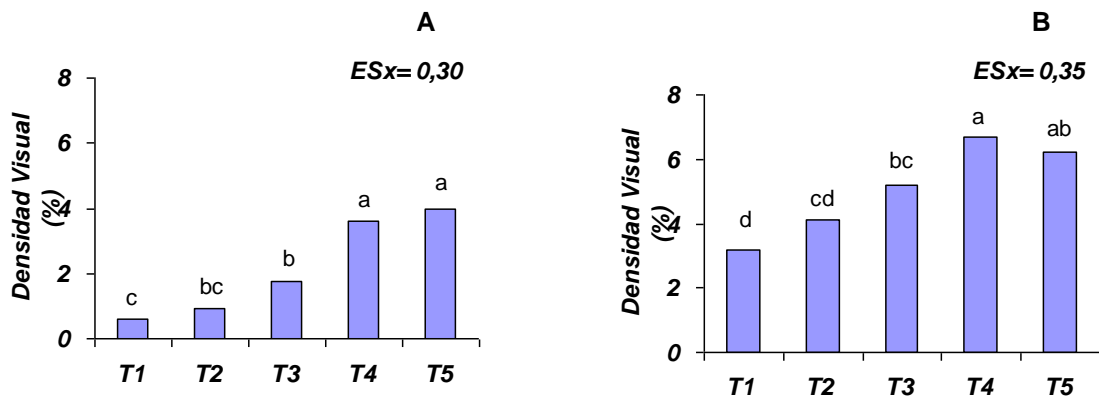
El mismo efecto se obtuvo a los 55 ddt (figura 12B), donde los tratamientos inoculados y con dosis de NPK de 75 y 100% (T4 y T5) mantuvieron los mejores resultados, alcanzando más de un 80% de colonización radical, aunque este último (T5) tuvo un comportamiento similar al fertilizado con 50 % NPK.

Los resultados obtenidos para esta variable a los 30 ddt (figura 12A) fueron altos si se comparan con los obtenidos por Dell'Amico *et al.* (2007). Estos autores, al evaluar la respuesta fisiológica del cultivo del tomate a la aplicación de dos inoculantes a base de HMA por dos vías de inoculación, encontraron valores de colonización radical de un 80% a los 40 días después de la germinación de las plantas en el tratamiento inoculado con 75 esporas por planta con la formulación líquida.

Resultados similares se alcanzaron a los 55 ddt, que también fueron altos si se comparan con los reportados por Terry (2005), quien al evaluar el comportamiento de diferentes especies de HMA y dosis de fertilización nitrogenada obtuvo que a los 60 ddt el porcentaje de colonización radical aumentó en un 37% en los tratamientos donde se aplicó 120 kg N/ha, mientras que en las variantes con 90 kg N/ha este valor se mantuvo en un 27%.

Además, los valores para el tratamiento testigo en ambos momentos de muestreo (> 40%) fueron elevados si se comparan con los reportados por Hernández y Chailloux (2004), quienes informaron valores de 33%.

Para la densidad visual (DV) se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos micorrizados con respecto al testigo en los dos momentos evaluados (figuras 13A y B), siendo las variantes inoculadas con el HMA y fertilizadas con 75 y 100% NPK las que alcanzaron los mayores valores, lo que demuestra que la especie *Glomus hoi-like* funciona bien en condiciones edáficas de mediana a alta fertilidad.



**Figura 13: Influencia de las dosis de fertilización sobre la densidad visual. A: 30 ddt; B: 55 ddt**

T1: Testigo, T2: HMA, T3: HMA + 50% NPK, T4 : HMA + 75% NPK y T5 : HMA + 100% NPK .

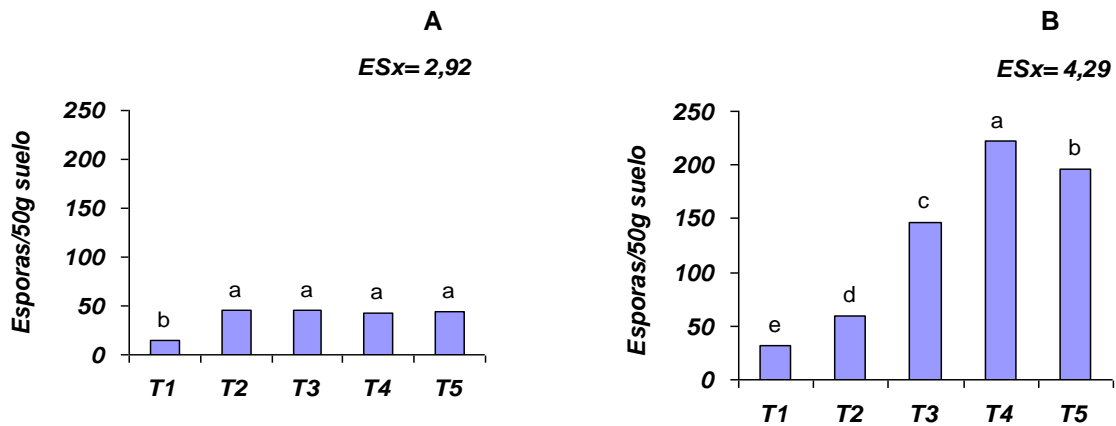
Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

El análisis conjunto de los indicadores porcentaje de colonización radical y densidad visual a los 30 ddt (figuras 12A y 13A) permite comprobar la existencia de altos porcentajes de colonización con bajos valores de DV, lo que debe estar relacionado con el hecho que el cultivo se encuentra en una etapa de crecimiento y desarrollo activo.

La densidad visual a los 30 ddt fue de 4%, que se considera alta cuando se compara con valores reportados por Fernández *et al.* (2006), los que al evaluar la efectividad de algunos tipos de inoculantes micorrizicos a partir de la especie *G. hoi-like* reportaron valores de DV de 3.20 % a los 45 ddt.



Por su parte, los resultados del contenido de esporas de HMA en suelo para los dos momentos evaluados se muestran en la figura 14, encontrándose que a los 30 ddt no se existieron diferencias significativas entre los tratamientos inoculados, aunque si de todos ellos con el testigo. Sin embargo a los 55 ddt se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos, siendo la variante micorrizada y fertilizada en un 75% NPK la que mostró los mejores niveles para este indicador.



**Figura 14: Influencia de las dosis de fertilización sobre el contenido de esporas del hongo. A: 30 ddt: B: 55 ddt**

T1: Testigo, T2: HMA, T3: HMA + 50% NPK, T4 : HMA + 75% NPK y T5 : HMA + 100% NPK  
Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

De acuerdo con algunos investigadores (Mosse y Bowen 1968, Dhillion y Anderson, 1993, Dhillion *et al.* 1994, Jacobson, 1997), las grandes variaciones en el número de esporas de HMA en el tiempo pueden estar ligadas a patrones estacionales de la esporulación, la cual puede variar de acuerdo a la especie de HMA o de la planta. En otros estudios se ha determinado que la distribución, actividad y supervivencia de las esporas de HMA pueden ser influenciadas por varios factores y procesos físicos, químicos y biológicos del suelo como son la fertilidad y la humedad (Anderson *et al.*, 1984), la compactación (Nadian *et al.*, 1998), la profundidad (Virginia *et al.*, 1986), el movimiento físico y la saturación de agua (Cooke *et al.*, 1993 y Miller, 2000), el pH (Green *et al.*, 1976), la temperatura (Koske, 1987) y de la actividad propia de la micro y mesofauna del suelo (Hayman 1982).

Asimismo, McGee (1989) y Allen (1991) señalan que las diferencias en el número de esporas de HMA del suelo podrían también estar relacionadas con diferentes estrategias de supervivencia de las especies de HMA al habitar en un ecosistema determinado; de esta forma, el ciclo de vida de los HMA presenta una alta adaptación al ambiente que los rodea, sobre todo durante la etapa de formación de esporas (Camargo, 2002).

De acuerdo a Hayman y Stovold (1979), existen diferentes criterios al relacionar el número de esporas de HMA y la colonización micorrízica de la raíz, según los cuales el número de esporas de HMA del suelo no necesariamente refleja la capacidad de colonización de estos hongos. Camargo *et al.* (2003), en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán demostraron que 45 de 50 especies de plantas vasculares estudiadas formaban micorrizas, aunque el porcentaje de colonización de las raíces fuera bajo. Con anterioridad, Hayman (1982) ya había demostrado que las esporas de HMA pueden sobrevivir por un año y que, además, su contenido en el suelo estaba relacionado con el estado de dormancia de dichas estructuras.

#### **4.2.2 Influencia sobre algunos indicadores del crecimiento del tomate.**

Al evaluar el efecto de la inoculación con la especie *G. hoi-like*, para el indicador altura de la planta, se observó que ninguna de las variantes en estudio mostraron diferencias en ambos momentos de muestreo (tabla 8).

**Tabla 8: Influencia de los tratamientos sobre la altura de las plantas.**

Tratamientos		30 ddt	55 ddt
Testigo		17,51	20,85
<i>Glomus hoi-like</i> 20 esporas por planta	0 % NPK	19,03	24,24
	50% NPK	19,24	24,70
	75% NPK	20,78	25,59
	100% NPK	21,11	26,02
<b>ESx</b>		<b>1.31 n. s.</b>	<b>1.83 n. s.</b>

ddt: días después del trasplante.

Para el indicador longitud de la raíz (tabla 9), se encontró que a los 30 ddt el tratamiento inoculado con HMA y fertilizado con 75% NPK mostró el mejor valor, aunque no difirió estadísticamente del inoculado y fertilizado con 100% de la dosis

de fertilizante mineral. También se observó que el resto de las variantes en estudio no difirieron entre si. Por otra parte, a los 55 ddt no se encontraron diferencias entre los distintos tratamientos evaluados.

**Tabla 9: Influencia de los tratamientos sobre la longitud de la raíz.**

Tratamientos		30 ddt	55 ddt
Testigo		18,18 b	24,26
<i>Glomus hoi-like</i> 20 esporas por planta	0 % NPK	19,10 b	25,61
	50% NPK	20,02 b	25,95
	75% NPK	21,95 a	26,18
	100% NPK	25,83 ab	27,43
<b>ESx</b>		<b>1,36</b>	<b>1,52 n.s.</b>

Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$   
ddt: días después del trasplante.

González (1997) refiere que el desarrollo del tomate se afecta cuando no se establece en la época adecuada, debido a la influencia de las temperaturas y la humedad relativa. Así, el tomate requiere un régimen alternante de temperatura para un óptimo crecimiento vegetativo y también para otros procesos fisiológicos como la formación del fruto (Páez y López, 2000).

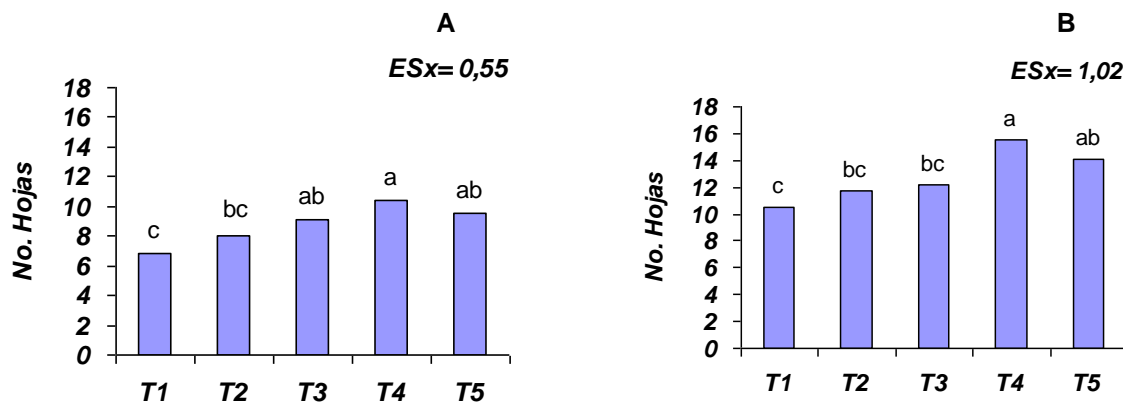
En este mismo sentido, se ha informado que si las plantas son iluminadas continuamente desarrollan una clorosis fuerte y se afecta la floración, por lo que la luz es uno de los factores más importantes en la regulación de la diferenciación floral. Aunque el tomate está clasificado como una planta indiferente al fotoperíodo para la floración, se ha demostrado una reducción en su crecimiento a temperatura constante.

Cuando las condiciones ambientales no son favorables para el desarrollo del tomate, se producen en las plantas condiciones de estrés que influyen activamente sobre el rendimiento y funcionamiento de las plantas (Sinsawat *et al.*, 2004), y se han reportado inhibición del crecimiento (Ajayi y Olofayo, 2004) y de la división celular, lo que influye en la síntesis proteica (Schoffl *et al.*, 2004) y de otros compuestos, que afectan la morfología y ultraestructura (Rao *et al.*, 2004).

Los resultados obtenidos para la variable número de hojas en los dos momentos evaluados se muestran en la figura 15, donde se observó que a los 30 ddt (figura 16A) las variantes donde se inoculó con HMA y se fertilizó con 50, 75 y 100% NPK

mostraron igual significación entre si, aunque los tratamiento donde se aplicó la fertilización al 50 y 100% NPK (T3 y T5) no difirieron del inoculado sin fertilizar (T2).

Por otra parte, a los 55 ddt (figura 15b), también se obtuvieron diferencias significativas entre variantes, siendo los tratamientos inoculados y fertilizados con 75 y 100% NPK (T4 y T5) los que mostraron los mejores resultados, sin diferencia entre si. Asimismo, el tratamiento testigo (T1) no difirió de los inoculados sin fertilizar (T2) ni del que se fertilizó con 50% NPK (T3).



**Figura 15: Influencia de las dosis de fertilización sobre el número de hojas. A: 30 ddt; B: 55 ddt**

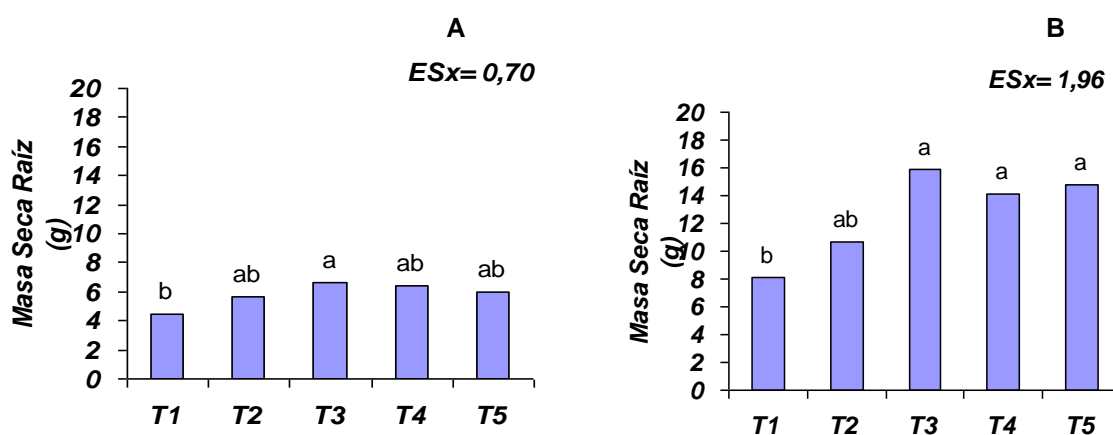
T1: Testigo, T2: HMA, T3: HMA + 50% NPK, T4 : HMA + 75% NPK y T5 : HMA + 100% NPK  
Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

Se ha señalado que la variable número de hojas es un indicador de bajo peso para determinar la influencia de la micorrización entre tratamientos inoculados. Estudios desarrollados por De la Noval *et al.* (1997) informaron para la fase *ex vitro* en de plátano diferencias para la masa seca de las vitroplantas y no indicaron significación para el número de hojas ni la altura de las mismas.

Otros estudios demostraron que el número de hojas fue superior en las plantas inoculadas con respecto al testigo sin inocular. Así, Román (2003) demostró que, en las plantas de chile, la micorrización juega un papel importante porque en función del número de hojas se pudo determinar la futura producción del cultivo.

Al evaluar la influencia de las variantes sobre la masa seca de la raíz, se observó que a los 30 ddt no se encontró diferencia entre los tratamientos inoculados y fertilizados (T2 a T5), y se alcanzaron valores promedios de 6 g (figura 16A).

Este comportamiento se mantuvo igual a los 55 ddt para los mismos tratamientos con valores promedio de 16 g, mientras que la variante inoculada sin fertilizar (T2) alcanzó un valor de 10 g, que no difirió del correspondiente al tratamiento testigo (figura 16B).



**Figura 16: Influencia de las dosis de fertilización sobre la masa seca de la raíz. A: 30 ddt; B: 55 ddt**

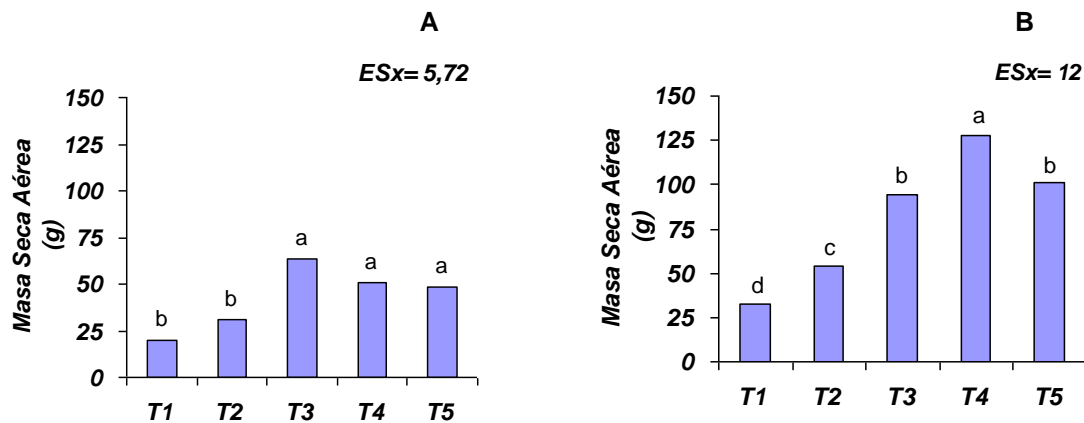
T1: Testigo, T2: HMA, T3: HMA + 50% NPK, T4 : HMA + 75% NPK y T5 : HMA + 100% NPK

Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

A pesar de no haber encontrado significación para el indicador longitud de la raíz a los 55 ddt (tabla 9), las diferencias obtenidas para la masa seca de la misma en este momento de muestreo pudo estar relacionada a que la simbiosis micorrízica favoreció el desarrollo de las hifas externas del HMA, lo que le permitió al cultivo aumentar la extracción de agua y nutrientes minerales.

Con relación al indicador masa seca aérea (figura 17), se obtuvo que, para ambos momentos de muestreo, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos inoculados y fertilizados con las tres dosis de NPK (50, 75 y 100%). Esta misma respuesta se apreció entre el testigo (T1) y el tratamiento inoculado sin fertilizar (T2). En tal sentido, Halbrooks y Wilcox (1980) señalaron que la

acumulación de materia seca en el cultivo del tomate es relativamente lenta, la que aumenta a partir de los 45 días después de la plantación.



**Figura 17: Influencia de las dosis de fertilización sobre la masa seca aérea. A: 30 ddt; B: 55 ddt**

T1: Testigo, T2: HMA, T3: HMA + 50% NPK, T4 : HMA + 75% NPK y T5 : HMA + 100% NPK

Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

Por su parte, Pedraza *et al.* (2001), al evaluar la influencia de diferentes especies de HMA (*G. mosseae* y *Acaulospora scrobiculata*) sobre el crecimiento y nutrición en plantas de gerbera, encontraron que para esta variable los mejores resultados se obtuvieron en los tratamientos inoculados, donde se destacó *G. mosseae*. Además demostraron que la respuesta se favoreció al fertilizar los tratamientos con dosis de 32 mg/kg NPK.

González y Rodríguez (2004), al evaluar el efecto de la micorrización sobre indicadores morfológicos en plantas de cafeto encontraron que los tratamientos inoculados con las especies *G. clarum* y *G. fasciculatum* superaron los valores para la variable masa seca aérea al compararlos con el testigo no inoculado, donde este efecto coincidió con los resultados obtenidos en este ensayo.

De igual forma, al evaluar al influencia de esporas nativas de HMA en el cultivo de la mora para reducir la aplicación de fertilizantes minerales, Roveda *et al.* (2007) obtuvieron que las variantes inoculadas con el hongo mostraron los mejores valores de masa seca aérea al compararlas con el testigo no inoculado y testigo de producción y se logró reducir la dosis de fertilización en un 50%.

Los resultados de estas investigaciones demuestran el efecto beneficioso de los HMA al estimular el desarrollo aéreo y radical de los cultivos de interés agrícola, pues con el establecimiento de la simbiosis micorrízica se favorece una mayor exploración del volumen de suelo, así como la absorción de agua y nutrientes minerales.

En este mismo sentido, otro criterio importante que se debe considerar al evaluar el crecimiento del tomate es el contenido de NPK foliar, pues como ya se señaló, una de las principales funciones de los microorganismos inoculados es la estimulación del desarrollo radical de las plantas, lo que posibilita una mayor exploración del sistema radical para una mayor absorción de nutrientes.

En la tabla 10 se muestran los contenidos de NPK foliares alcanzados a los 30 ddt, encontrándose que para el fósforo y el potasio no existieron diferencias entre tratamientos en ese momento. En ambos casos era lógico esperar este comportamiento pues sus contenidos iniciales en el suelo eran altos (tabla 2), efecto propiciado por frecuentes fertilizaciones previas en dicha área experimental (ver pag. 22).

Respecto al nitrógeno, se obtuvieron valores estadísticamente iguales en todas las variantes donde se inoculó y fertilizó, aunque la mejor respuesta se observó en el tratamiento donde se inoculó y fertilizó con 75% NPK.

Estudios realizados por Hodge *et al.*, (2001) citados por Varma (2008) muestran la participación de los HMA en la descomposición de la materia orgánica de suelos cultivados de pastos. En este trabajo dichos autores encontraron que las hifas externas de los HMA colonizaron raíces que fueron abastecidas con  $N^{15}/C^{13}$  y los resultados demostraron la relación lineal entre el contenido de nitrógeno en las plantas y la densidad de hifas en la materia orgánica, lo que permitió concluir que las hifas de los HMA incrementaron la traslocación de carbono del suelo a la planta huésped y la actividad de los microorganismos, los que a su vez se encargaron de descomponer y liberar los nutrientes.

Los resultados obtenidos para estos indicadores coinciden con los informados por Bennett (1996), citado por Terry (2005), para el tomate en condiciones de campo

abierto, donde se alcanzaron valores dentro de los rangos: 3,0 – 5,0% de nitrógeno; 0,70 – 1,30% de fósforo y 2,16- 6,00% de potasio.

**Tabla 10: Influencia de los tratamientos sobre los contenidos de nitrógeno, fósforo y potasio foliares a los 30 ddt.**

Tratamientos		Contenidos foliares		
		N (%)	P (%)	K (%)
Testigo		3,03 b	0,52	3,55
Glomus hoi-like 20 esporas por planta	0% NPK	4,00 ab	0,55	3,35
	50 % NPK	3,66 ab	0,50	3,75
	75 % NPK	5,26 a	0,52	4,16
	100 % NPK	4,50 ab	0,45	3,60
<b>Esx</b>		<b>0,40</b>	<b>0,05 n.s.</b>	<b>0,58 n.s.</b>

Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$   
ddt: Días después del trasplante.

#### 4.2.3 Influencia sobre algunos componentes del rendimiento agrícola.

En la figura 18A se refleja la respuesta del tomate a la inoculación con HMA y fertilización con NPK para la variable número de frutos por planta. Se encontró que el tratamiento testigo (T1) no difirió del inoculado sin fertilizar (T2), mientras que el resto de las variantes en estudio tampoco mostraron diferencias entre ellas (T3, T4 y T5), aunque si con relación a las primeras.

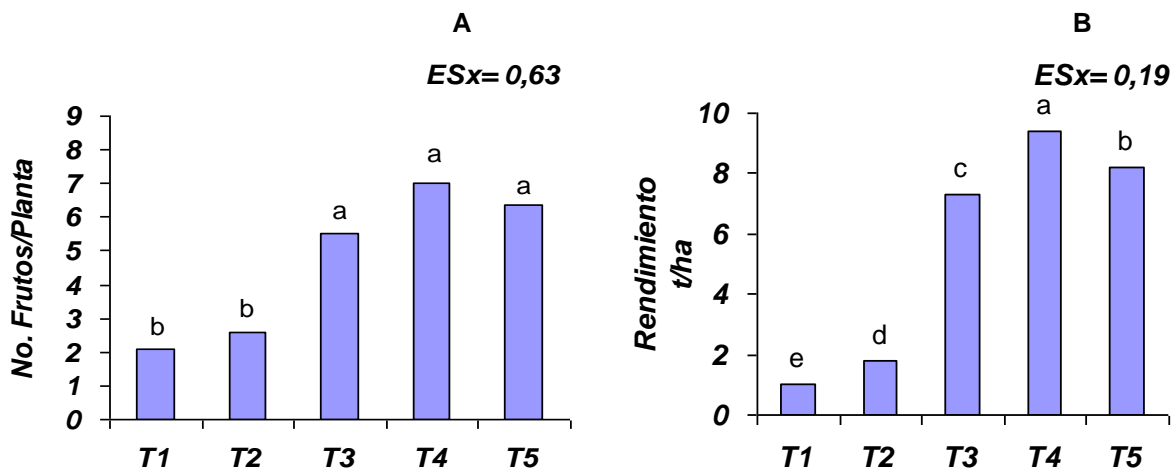
Estudios desarrollados por Hernández y Chailloux (2004), en condiciones de campo, mostraron un comportamiento beneficioso de los HMA para esta variable, efecto que se potencia cuando se coinocularon con bacterias promotoras del crecimiento vegetal.

La estimación del rendimiento del cultivo a los 55 ddt (figura 18B) arrojó un comportamiento diferenciado entre todos los tratamientos, alcanzándose los mayores valores en las variantes con fertilizante mineral, especialmente en el tratamiento inoculado y fertilizado con 75% NPK (T4), que alcanzó el más alto rendimiento.

A partir del resultado obtenido para el tratamiento inoculado sin fertilizar (T2), se evidencia la necesidad del suministro adicional de nutrientes para lograr una respuesta positiva a la inoculación, y que permita garantizar rendimientos



satisfactorios en plantas micorrizadas, aún cuando se utilicen especies de HMA de alta efectividad.



**Figura 18: Influencia de las dosis de fertilización sobre el número de frutos por planta (A) y el rendimiento agrícola (B).**

T1: Testigo, T2: HMA, T3: HMA + 50% NPK, T4 : HMA + 75% NPK y T5 : HMA + 100% NPK  
Medias con letras iguales no difieren significativamente para  $p < 0.05$

Estudios realizados por Sánchez (2002), Irizar *et al.* (2003), Aguirre (2006) y Díaz *et al.*, (2008) demostraron el efecto positivo de los HMA en la reducción del consumo de fertilizantes químicos sin afectar el rendimiento en varios cultivos, mientras que Ruíz (2001) indicó, para el cultivo del boniato, que las distintas especies de HMA variaban en su respuesta a la fertilización; en este caso, las dosis de fertilizante nitrogenado aplicadas, permitieron que se lograra una adecuada simbiosis planta – hongo micorrizógeno, lo que se manifestó en el rendimiento obtenido.

Los resultados alcanzados con la inoculación en formulación líquida de la especie *G. hoi-like* a la dosis de 20 esporas por planta demostraron una respuesta satisfactoria del tomate en las condiciones experimentales estudiadas con solo un 75% de la dosis de fertilizante mineral (NPK), en comparación con el resto de las variantes en estudio.

La ventaja de las formulaciones líquidas de los hongos micorrízicos arbusculares estriba en su inclusión en los sistemas agroproductivos con técnicas de fertiriego, donde se destacan las casas de cultivo protegido. En la actualidad, para la

obtención de estas formulaciones líquidas a partir de los HMA y su vinculación a dichos sistemas de producción, se requiere de una infraestructura que permita la obtención del inoculante, además de incrementar la producción del EcoMic<sup>®</sup> con el que se garantiza obtener los propágulos infectivos del hongo.

Estas consideraciones demuestran que la producción de esta formulación líquida es costosa, lo que justifica su aplicación solo en condiciones de tecnologías de cultivo intensivo donde se pueden lograr rendimientos agrícolas muy elevados, como ocurre en las casas de cultivo protegido. Así, la biofertilización con los hongos micorrízicos arbusculares en formulación líquida puede ser incluida como un complemento importante en los programas de fertilización del tomate en aras de potenciar el rendimiento del mismo.

## V- CONCLUSIONES

1. La inoculación de hongos micorrízicos arbusculares mediante el empleo de una formulación líquida resultó efectiva para el establecimiento de la simbiosis micorrízica en el cultivo del tomate var. "Mara", la que alcanzó niveles elevados de porcentajes de colonización y densidad visual.
2. Las especies de HMA *Glomus mosseae* y *Glomus hoi-like* fueron las que se comportaron con mayor efectividad para los diferentes indicadores evaluados, variables fúngicas, desarrollo vegetativo y rendimiento del cultivo del tomate.
3. El estudio de las dosis de inoculación determinó el efecto positivo de las formulaciones líquidas aplicadas a la dosis de 20 esporas por planta según los indicadores evaluados.
4. La combinación de la especie *Glomus hoi-like* inoculada a la dosis de 20 esporas por planta con 75% NPK fue la más promisoría para el cultivo del tomate al alcanzar valores satisfactorios para los indicadores de crecimiento y rendimiento agrícola evaluados.

## **VI- RECOMENDACIONES**

1. Realizar nuevos estudios que permitan explicar las diferencias obtenidas entre los efectos de las dosis de inoculación evaluadas y, de ser posible, precisar qué mecanismos fisiológico-bioquímicos pudieran estar implicados en este sentido.
2. Evaluar el empleo de formulaciones líquidas de HMA para la biofertilización del tomate en condiciones de sistemas de cultivo protegido.
3. Emplear esta tesis como material de consulta para la enseñanza pre y posgraduada.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adholeya A, Tiwari P, Singh R. Large scale inoculum production of Arbuscular Mycorrhizal fungi. In: *In vitro* culture of mycorrhizas. Eds: Declerck S, Strullu DG. Springer, Alemania. 2005.
2. Agüero, M.Y., Tamayo, E., Novella, R., Machado, M.A., Batista, D., Alvarez, Y. y Ojeda, M.C. Respuesta del cultivo del tomate a la aplicación de fertilizante mineral y micorrizas arbusculares en condiciones de la provincia de Granma. Prog. y Res. XV Seminario Científico INCA. La Habana, 2006.
3. Aguin, O.; Montenegro, D. y Mansilla, J.P. Protección de la vid frente a *Armillaria mellea* mediante la aplicación de hongos micorrízicos. *Nutri-Fitos*, 2006, no. 163, p. 27-33
4. Aguirre, J. L. Biofertilizantes Microbianos: Experiencias Agronómicas del Programa Nacional del INIFAP en México. Campo Experimental Rosario Izapa, INIFAP. Libro Técnico No 2. México, 2006, 206 p.
5. Ajayi, A. E. y Olofayo, A. A. Evaluation of two temperature stress indices to estimate grain sorghum yield and evapotranspiration. *Agron. J.*, 2004, vol. 96, p. 1282-1287.
6. Alarcón, A. y Ferrera, C. R. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra*, 1999, vol. 17, n. 4, p.171-191.
7. Alarcón, A. Z.; Morales, J.A.; Oliva, E.J; Vega, A.B. y Boicot, T.F. Efecto de la aplicación de *Azotobacter chroococcum* y *Glomus sp* en el cultivo del boniato (*Ipomea batatas* (L), Lam). *Revista Electrónica Granma Ciencia. Vol.12, No.2, Mayo - Agosto 2008, ISSN 1027-975X*
8. Alfonso, C.A. y Monedero, G.M. Uso, Manejo y Conservación de los suelos. La Habana, Cuba, 2004, 67p
9. Allen, M.F. 1991. The ecology of Mycorrhizae. Cambridge University. Nueva York. 184 p.
10. Álvarez, M.; Moya, C.; Florido. M. y Plana, D. Resultados de la mejora genética del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y su incidencia en la producción hortícola en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 2003, vol. 24, no.2, p. 63-70.
11. Anderson, R.C., A.E. Liberta & L.A. Dickman. 1984. Interaction of vascular plants and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi across a soil moisture-nutrient gradient. *Oecologia* 64: 111-117.
12. Augé, R.M. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 2001, vol. 11, n.1, p.3-42
13. Aung, L.H. Effect of photoperiod and temperature on vegetative and reproductive response of (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Soc. Hort. Sci.* 1976, n°101, p. 358-360
14. Ayers, R.S. and Westcot, D.W. Calidad del agua para la agricultura. FAO, Riego y Drenaje, 1976
15. Azcón, R. Papel de la simbiosis micorrízica y su interacción con otros microorganismos rizosféricos en el crecimiento vegetal y sostenibilidad agrícola. En: *Ecofisiología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular*. A. Alarcón y R. Ferrera-Cerrato (eds.). IRENAT-Colegio de Postgraduados. Montecillo. Mundi Prensa, México, 2000, p. 1-15

16. Bago, B.; Philip E.; Pfeffer, W.; Lammers, P. and Shachar-Hill, Yair. Tracking metabolism and imaging transport in arbuscular mycorrhizal fungi. *Metabolism and transport in AM fungi. Plant and Soil*, 2002, vol. 244, no 1-2
17. Bago, B.; Pfeffer, P. y Shachar-Hill, Y. Metabolismo del carbono y su regulación en Hongos formadores de Micorrizas Arbusculares. *En: Frías, J.T.; Olarde, V. y Ferrera, R. Avances en el conocimiento de la Biología de las Micorrizas. Universidad de Guanajuato, México, 2005, p.29-43*
18. Barcenas, A.; Almaraz, C.; Reyes, L.; Varela, L.; Lara, B.; Guillén, A.; Carreón, Y.; Aguirre, S. y Chávez, A. Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares en Huertos de aguacate de Michoacán. *Proceedings VI World Avocado Congress (Actas VI Congreso Mundial del Aguacate) 2007, Viña Del Mar, Chile. 12 – 16 Nov. 2007. ISBN No 978-956-17-0413-8.*
19. Barea, J.M.; Azcón-Aguilar, C.; Ocampo, J.A.; Azcón, R. Morfología, anatomía y citología de las micorrizas vesículo-arbusculares. *En: Fijación y Movilización Biológica de Nutrientes. II. Fijación de N y Micorrizas. (J. Olivares y J.M. Barea, eds.). CSIC, Madrid, 1991, p. 149-173*
20. Bar-Yosef, B.; Sagin, B. and Eliah, E. Fertilization and irrigation of winter tomatoes grown in a glasshouse in the Besor area. *Preliminary Report. Edi: Volcani Center, 1980. 775p*
21. Bhat, K.S. and Nye, P.H. Diffusion of phosphate to plant roots in soil, i. Quantitative autoradiography on the depletion zone. *Plant and soil*, 1973, no. 38. p.161-175.
22. Bonfante, F. P y Perotto, S. Strategy of arbuscular mycorrhizal fungus when infecting host plant. *New Phytology* 1995, vol. 130, no. 3, p. 13-21
23. Bowen, G.D. The Biology and Physiology of infection and its development. *In: Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants. EEUU: Ed Safir, 1987, p. 27-57*
24. Boza, F.M. Efecto de algunos factores ambientales sobre el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) INCA. La Habana, 1991, Boletín N° 13.
25. Brito, A.L.; Arozarena, N.; Dibut, B. Ríos, Yoania; Croche, Grisel; Ortega, Maricel y Fey, L. 2004 Evaluación de la aplicación conjunta de biofertilizantes en el cultivo del tomate (*Lycopersicum esculentum*. Mill) *En: "Taller de fertilidad de suelo y nutrición de las plantas". Congreso Científico del INCA (14: 2004, nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.*
26. Burggraaf, A.J. y Beringer, J.E. Absence of nuclear DNA synthesis in vesicular arbuscular mycorrhizal during in vitro development. *New Phytology*, 1989, vol. 111, no. 1, p. 25-33
27. Burns, E.R.; Carter, J.; Rile, R.S. and Roetheli, J.C. Crop production in humid greenhouses heated with direct contact heat exchangers and power plant waste heat. *Greenhouse Vegetable and Energy Conference, Sept, 1979, p. 49-69*
28. Buwalda, J.G. Ross, G.J.S.; Stribley, D.B. y Tinker, P.B. The development of endomycorrhizal root systems: IV. The mathematical analysis of effects of phosphorus on the spread of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in root systems. *New Phytologist*, 1982, 92: 391-399
29. Caballero, D.; Martínez, F. Influence of biofertilization of VMA on growth of *Lycopersicon esculentum*. *Ann. Applied Biol.* 1995, n°74, p. 379-385

30. Calvert, A. Environmental responses. *In: Tomato*. Edi. Kingham H.G. London, 1973, p.23-24
31. Calvet, C.; Estaún, V. y Camprubi, A. Perspectivas futuras para la micorrización de los frutales. *Phytoma España*, 1999, vol. 114, no.12, p. 52- 57
32. Camargo, R.S.L. Dispersal, distribution and establishment of arbuscular mycorrhizal fungi: a review. *Bol. Soc. Bot. México*, 2002, no.71, p. 33-44
33. Camargo, R.S.L.; Dhillon, S.S. and Jiménez, G C.. Mycorrhizal perennials of the "matorral xerófilo" and the "selva baja caducifolia" communities in the semiarid Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Mycorrhiza*, 2003, no.13, p. 77-83
34. Castellanos, J. Z. y Muñoz, R. La industria de la horticultura protegida en México. *En: Manual de Producción Hortícola en Invernadero*. INCAPA. México. 2003, p.1-17
35. Castilla, N. y Fereres, E. Evapotranspiración de los cultivos hortícolas en invernadero en Almería. *Investigación Agraria. Producción y Protección Vegetal*, 1990, vol. 5, n° 1, p. 117-125
36. Castillo, C.; Astroza I.; Borie, F. y Rubio, R. Efecto de cultivos hospederos y no hospederos sobre propágulos micorrízicos arbusculares. *Revista Ciencias del Suelo y Nutrición Vegetal*, 2008, vol. 8, no. 1, p. 37-54
37. Chamorro, J.L. Anatomía y fisiología de la planta. *En: El cultivo del tomate*. Cap.2 Edic. Mundi-prensa, 1995, p.45-91
38. Clinton, S.K. Tomatoes or lycopene: a role in prostate carcinogenesis? *J. Nutr.* 2005, Vol.135, n°8, p.2057S-2059S
39. Cooke, J.C.; Butler, R.H. and Madole, G. Some observations on the vertical distribution of vesicular mycorrhizae in roots of salt marsh grasses growing in saturated soil. *Mycologia* 1993, no. 85, p. 574-550
40. Cooper, A.J. and Hurd, B.G. the influence of cultural factors on arrested development of the first inflorescence of glasshouse tomatoes. *Hot. Sci.* 1968, n°43, p. 243-248
41. Cottery, D.J. and Walker, J.N. Occurrences and biological effects of humidity in greenhouses International Horticultural Congress, 1967, p. 353-368
42. Cuenca, G. y Lovera, M. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y potencial micorrízico del suelo de una sabana natural y una sabana perturbada de la gran sabana, Venezuela. *INCI*, Feb. 2007, vol.32 no.2, p. 108-114.
43. Cuenca, G., De Andrade, Z., Lovera, M., Fajardo, L., Meneses, E., Márquez, M. y Machuca, R. Pre-selección de plantas nativas y producción de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) de relevancia en la rehabilitación de áreas degradadas de la gran sabana, Estado Bolívar, Venezuela. *ECOTROPICOS*, 2003, vol. 16, no. 1, p.27-40
44. Cuevas, P. F.; Medina, B.N.; Díaz, L.G. y Morejón, R.R. Efecto de la biofertilización con hongos micorrizogénicos (MA) en el cultivo del tomate. *CIGET*, Pinar del Río, 2000, vol.2, no.4, ISSN 1562-3297
45. Davies, J. F.; Estrada, A.; Finnerty, T.L. y Olalde, V. Aplicación de hongos micorrizogénicos arbusculares en sistemas de propagación de plantas. *En: Ecología*,

fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. Mexico: Ed. Mundi Prensa, 2000, p. 123-140

46. De la Noval, P.; Hernández, M.I. y Hernández, J.C. Utilización de las micorrizas arbusculares en la adaptación de vitroplantas de banano (*Musa sp*): Dosis y cepas de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA). *Cultivos Tropicales*, 1997, vol.18. no. 3, p. 5-9
47. Dehne, H.W. Influence of soil, cultivation and host plant genotype on the occurrence of va mycorrhizal fungi in different crops. *In: Abstracts, Second European Symposium on Mycorrhizae*, Institute of Landscape Ecology, Prague. 1989. p 25-26
48. Dell'Amico, J.M.; Fernández, F.; Nicolás, E.; López, L.F. y Sánchez-Blanco, M.J. Respuesta fisiológica del tomate a la aplicación de dos inoculantes a base de *Glomus sp (INCA 4)* por dos vías de inoculación diferentes. *Cultivos Tropicales*, 2007, vol. 28, no.2, p. 51-58
49. Dell'Amico, J.; Rodríguez, P.; Torrecillas, A.; Morte, A. y Sánchez-Blanco, M. J. Influencia de la micorrización en el crecimiento y las relaciones hídricas de plantas de tomate sometidas a un ciclo de sequía y recuperación. *Cultivos Tropicales*, 2002, vol. 23, no. 1, p. 29-34
50. Dell'Amico, J.A.; Fernández, F.; Nicolás, E.; López, L.F. y Sánchez, M.J. 2006 Respuesta fisiológica del Tomate a la aplicación de dos inoculantes a base de *Glomus sp (INCA)* por dos vías diferentes de inoculación. En: Taller de biofertilización de los Trópicos". Congreso Científico del INCA (14: 2006, nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
51. Dhillion, S.S. and Anderson, R.C. Seasonal dynamics of dominant species of arbuscular mycorrhizae in burned and unburned sand prairies. *Can. J. Bot.* 1993, no.71, p. 1625-1630
52. Dhillion, S.S.; McGinley, M.A.; Friese, C.F. and Zak, J.C. Construction of sand shinnery oak communities of the Llano Estacado: animal disturbances, plant community structure and restoration. *Rest. Ecol.* 1994, no. 2, p. 51-60
53. Díaz, F.A.; Garza, C.I.; Pecina, Q.V. y Montes, G.N. Respuesta del sorgo a micorriza arbuscular y *Azospirillum* en estrés hídrico. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 2008, no. 31, p. 35-42
54. Díaz, J.M. and Nuez, F. Vegetables II Tomato. In: Handbook of plant breeding. Universidad Politecnica de Valencia, 2008, 250-323p.
55. Diederichs, C. y Moawad, A.M. The potential of VA mycorrhizae for plant nutrition in the tropics. *Angew. Bot.* 1993, no. 67, p. 91-96
56. Dirección Nacional de Suelos y Fertilizantes. Manual de Interpretación de los Suelos. Editorial Científico-Técnica, 1984, 136p.
57. Dueñas, F.; Martínez, Y.; Moya, C. y Álvarez, M. Evaluación de genotipos de *Lycopersicon esculentum* Mill. Frente al virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV). *Cultivos Tropicales*, 2006, vol. 27, no.3, p. 63-68
58. Eissenstat, D.M.; Graham, J. H.; Duncan, L.W. Carbohydrate allocation patterns in citrus genotypes as affected by phosphorus nutrition, mycorrhizal colonization and mycorrhizal dependency. *New Phytologist*, 1997, vol.135, p. 335-343



59. Estrada, L.A. y Davies, T.F. Mycorrhizal fungi enhance growth and nutrient uptake of prickly-pear cactus (*Opuntia albicarpa* scheinvar Reyna). Plantlets after ex vitro transplantation. *Journal of Horticultura Science and Biotecnology*, 2001, p. 739-745
60. FAOSTAT 2006. Base de Datos On Line. 2006. Consulta: 21/05/2007. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/340/default.aspx/>
61. Fernández, F. La simbiosis micorrízica arbuscular. En: Rivera, R Fernández, F. Hernández, A. y Martin, J.R. El manejo eficiente de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible Estudio de caso: El Caribe. Ediciones INCA. La Habana, 2003, p. 1-32
62. Fernández, F. Manejo de las asociaciones micorrízicas arbusculares sobre la producción de posturas de cafeto (*C. arabica* L. var. Catuaí) en algunos tipos de suelos. Tesis de grado (Dr. en Ciencias Agrícolas), INCA 102 p., 1999.
63. Fernández, F.; Dell Amico, J.M. y Rodríguez. P. Efectividad de algunos tipos de inoculantes micorrízicos a base de *Glomus hoi-like* en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. Var. Amalia). *Cultivos Tropicales*, 2006, vol.27, no.3, p. 25-30
64. Fernández, L.; Ortega, E.; Grimm, B. y Hainezal, M.R. 2006. Variación en la concentración de aminoácidos y azúcares en plantas de caña de azúcar inoculadas con *Pantoea* sp. Taller de biofertilización de los Trópicos". Congreso Científico del INCA (14: 2006, nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
65. Ferrera, R.y Alarcón, A. The effectiveness of a Mexican endogenous arbuscular mycorrhizal fungi consortium on two cultivars of *Carica papaya* L. depends on the interaction of its own three fungal components. *In. Proceedings of the Fourth International Conference on Mycorrhizae*. México: Ed ICOM4, 2004, 167p
66. Frank, A.B. Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Baume durch unterirdische Pilze. *Berichte der Deutsch Botanische Gesellschaft* 3: 128-145, 1885.
67. Gerdemann, J.W. y Nicholson, T.H. Spore of mycorrhizae endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 1963, p.235-244
68. Gianinazzi, P.V. Cellular and Genetics aspects of interaction between host and fungal symbionts in mycorrhizae. *Genome*, 1989, vol. 31, n.1, p. 336-341.
69. Giovanetti, M, Mosse, B.,. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol*, 1980, no. 84, p. 489-500
70. Goldstein Alan H. Recent progress in understanding the molecular genetics and biochemistry of calcium phosphate solubilization by Gram negative bacteria. *Biological Agriculture and Horticulture*, 1995, no. 12, p. 185-193
71. González, J. R; Iglesias, M. C.; - Chamorro, V. C. Presencia de micorrizas vesiculo-arbusculares en series de suelos con distintas situaciones de uso. Universidad Nacional del Noreste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, 2005. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2005/5-Agrarias/A-062.pdf> Consultada: 4/08/09
72. González, M. E. y Rodríguez, Y. Respuesta de planta de *Coffea canephora* a la inoculación con hongos micorrizógenos arbusculares durante la fase de aclimatización. *Cultivos Tropicales*, 2004, vol. 25, no. 1, p. 13-16

73. González, M.C. INCA-9-1. Nueva variedad de tomate para diferentes épocas de siembra/ Informe de nuevas variedades. *Cultivos Tropicales*, 1997, vol. 18, n° 82
74. González, M.E.; Cabrera, M. y Hernández, A. Efecto del biopreparado Rizobac sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de cafeto. *Coffea canephora* P.var. Robusta) seedlings. *Cultivos Tropicales*, 2002 vol.23. n°2, p. 11-14
75. Green, N.E.; Graham, S.O. and Schenk, N.C. The influence of pH on the germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. *Mycologia* 1976, no, 68, p. 929-934
76. Halbrooks, M.C. and Wilcox, G.E. Tomato plant development and elemental accumulation. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1980, vol. 105, no. 6, p. 826-828
77. Harley, J. L y S. E. Smith. *Mycorrhizal Symbiosis*. Ed Academic Press. New York. 1983, p.483
78. Harper, L.A. Pollas, J.E. and Bruce, R.R. Greenhouse microclimate for tomatoes in the southeast. *Hort. Sci.* 1979, n°104, p. 659-663
79. Hayman, D.S. and Stovold, G.E. Spore populations and infectivity of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in New South Wales. *Aust. J. Bot.* 1979, vol.27, p. 227-233
80. Hayman, D.S. Influence of soil and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology*, 1987, vol. 72, no. 8, p. 119-125
81. Hayman, D.S. Influence of soils and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology*, 1982, no. 72, p. 1119-1125
82. Hendrix, J.W. Divergence of mycorrhizal fungal communities in crop production systems. *Plant and Soil*, 1995, vol. 170, n. 1, p. 131-140
83. Hernández, A., Morell, F., Morales, M., Borges, Y., Ascanio, O. Consideraciones sobre impactos de los cambios globales en los suelos Ferralíticos Rojos Lixiviados (Nitisoles ródicos éutricos) de Cuba. *Cultivos Tropicales*, 2006a vol.27, no.2, p.41-50
84. Hernández, A., O. Ascanio, M. Morales, J.I. Bojórquez, N.E. García y J.D. García: El Suelo: Fundamentos de su formación, cambios globales y su manejo. Editorial Universidad de Nayarit, México, 2006b, ISBN: 968-833-072. 255p.
85. Hernández, M. I. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como complemento de la nutrición mineral del tomate (*Lycopersicum sculentum* Mill.). Tesis de Maestro en Ciencias, INCA, 2000, 65p.
86. Hernández, M. I. y Chailloux, M. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como alternativa a la nutrición mineral del tomate. *Cultivos Tropicales*, 2004, vol. 25, no. 2, p. 5-12
87. Herrera R.A., Ferrer R.L., Furrázola E. y Orozco M.O. 1995. Estrategia de funcionamiento de las micorrizas VA en un bosque tropical. Biodiversidad en Iberoamérica. Ecosistemas, Evolución y Procesos sociales. (Eds. Maximina Monasterio) programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. Subprograma XII, Diversidad Biológica, Mérida.
88. Huerres, Consuelo; Caraballo, Nelia. Hortalizas. Dpto. Ediciones ISCAH. 1991. 165 p

89. Hurd, R.G. and Sheard, G.F. Fuel saving in greenhouses. The biological aspect. Growrs Books, London, 1981
90. Irizar, G. M.; Vargas, P.; Garza, D; Tut, C.; Rojas, M.; Trujillo, A.; García, R.; Aguirre, D.; Martínez, J.; Alvarado, S.; Grageda, O. y Valero, J. Respuesta de cultivos agrícolas a los Biofertilizantes en la región central de México. *Agricultura Técnica Mexicana*, 2003, vol. 29, p. 213-225
91. IUSS Working Group WRB. 2006. World Reference Base for soil resources 2006. World Soil Resources Reports No. 103. FAO, Rome. 128p.
92. Jacobson, K.M. Moisture and substrate stability determine VA-mycorrhizal fungal community distribution and structure in arid grasslands. *J. Arid Environ*, 1997, no. 35, p. 59-75
93. Jaen, C.D. Ecología y aplicación de los hongos endomicorrízicos V-A en la producción agrícola. En: *Ecología de la Raíz*. (Ed) Ferrera Cerrato, R., Sociedad Mexicana de Fitopatología, 1989, p. 22-56
94. Jeffries, P.; Gianinazzi, S.; Perotto, S.; Turnau, K. y Barea, J.M. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility Soils* .2004, vol.37, n.1, p. 1-16
95. Kinet, J.M. Effect of light condition on the development of the inflorescence in tomato. *Hot. Sci.* 1977, n°6, p. 15-26
96. Koide, T. R. and Mosse, B. A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza*, 2004, no. 14, p. 145–163
97. Koske, R.E. Distribution of VA mycorrhizal fungi along a latitudinal temperature gradient. *Mycologia*, 1987, no. 79, p. 55-68.
98. Krishna, K.R. Genotype dependent variation in mycorrhizal colonization and response to inoculation of pearl millet. *Plant and Soil*, 1985, vol. 86, no. 12, p. 113-125.
99. Letacon, L y Obaton, M. Faune et Flore du sol les organismes symbiotiques faune et flores auxiliaires en agriculture. Paris: Ed ACTA, 1983.113p
100. Lett, L., Portela, G., Ressa, J., Mendivil, G., Lazaro, L., Balbuena, R. y Peticari, A. Nodulación y rendimiento de soja en relación a diferentes alternativas de manejo cultural. 2008, Presentado en la II Reunión Científico Técnica de Biología del suelo del NOA, Disponible en: <http://www.fertilizando.com/articulos/Fijacion%20Biologica%20del%20Nitrogeno%20en%20Soja.asp> Consultado: 20\05\08
101. Leyva, G. A. Reflexiones sobre la agroecología en Cuba. Análisis de la Biodiversidad. INCA. MES, 2007, 251p
102. Linderman, R. G. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. En: *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Eds.: Bethlenfalvay, G. J. y R. G. Linderman. Special Publication 54. ASA, Madison, Wise, 1992. p. 45 - 70
103. Linderman, R.G. y Davis, E.A. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth response to soil amendment with composted grape pomace or its water extrac. *Phyton-Annales Rei Botanicae*, 2001, vol. 11, no. 3, p. 446-450

104. Linderman, R.G., and E.A. Davis. Varied response of marigold (*Tagetes* spp.) genotypes to inoculation with different arbuscular mycorrhizal fungi. *Sci. Hortic. (Canterbury, Engl.)* 2004, vol. 99, p. 67-78.
105. Llonín, D. y Medina, N. Nutrición mineral con N, P y K en la simbiosis hongos micorrizógenos-tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en Ferralsol. *Cultivos Tropicales*, 2002, vol. 23, no. 4, p. 83-88
106. Lovera, M. y Cuenca, G. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares (hma) y potencial micorrízico del suelo de una sabana natural y una sabana perturbada de la gran sabana, Venezuela. *INCI*, feb. 2007, vol.32, no.2, p.108-114
107. Marschner, H y Dell, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 1994, vol. 159, p. 89-102
108. McGee, P. Variation in propagule numbers of vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi in a semi-arid soil. *Mycol. Res.* 1989, vol, 92, p. 28-33
109. Medina, N. 2004 La biofertilización como alternativa dentro de la agricultura sostenible. En: II Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14: 20064 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
110. Miller, S.P. Arbuscular mycorrhizal colonization of semi-aquatic grasses along a wide hydrologic gradient. *New Phytol.* 2000, vol, 145, p. 145-155
111. MINAG. Instituto de Suelos. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. La Habana. 1999, Agrinfor. 64 p
112. MINAG. Instructivo técnico para el cultivo del tomate. La Habana, 1992. Cuba.
113. MINAG. Instructivo Técnico para semillero de tomate. Cuba, Folleto. 1984, 48 p.
114. Montes, L. 1999. Efecto del fósforo en la nutrición nitrogenada del frijol común (*P. vulgaris*). En: (<http://www.cartuja.csic.es/SEFV99/abstracts/nutricion/s.3-6.html>). Consultado: 12/3/2006
115. Morton, J. B. y Redecker, D. Two new families of Glomales, *Archaesporaceae* and *Paraglomaceae*, with two new genera *Archaespora* y *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycología*, 2001, vol. 93, no. 1, p. 181-185.
116. Mosse, B. & G.D. Bowen. The distribution of *Endogone* spores in some Australian and New Zeland soils, and in an experimental field soil at Rothamsted. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 1968, no. 51, p. 485-492
117. Moya, C.; Álvarez, M.; Dominí, M.E. y Arzuaga, J. Mara, nueva variedad de tomate de mesa. *Cultivos Tropicales*, 2004, vol. 25, no. 2, p.69
118. Moya, L.C.; Dominí, C. M. E.; Gómez, C. O.; Terry, A.E. y Plana, LI. R. El tomate, *Solanum lycopersicum*: tecnologías para la producción de tomate. Ediciones INCA, La Habana Cuba, 2007, 34 p.
119. Nadian, H.; Smith, S.E.; Alston, A.M.; Murray, R.S. and Siebert, B.D. Effects of soil compaction on phosphorus uptake and growth of *Trifolium subterraneum*

- colonized by four species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 1998, no.139, p. 155-165
120. Nautiyal C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters.* 1999, no.170, p. 265-270
  121. Nuez, F. El cultivo del tomate. Ediciones Mundi-Prensa, España, 1995, 741p
  122. Páez, A.; Paz, V. y López, J. C. Crecimiento y respuestas fisiológicas de plantas de tomate cv. Río Grande en la época mayo-julio. Influencia de la sombra. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 2000, vol. 17, p. 173-184
  123. Pedraza, S.M.; Jaen, C.D.; Gutierrez, E.A.; Colinas, L.T. y López, P.C. Crecimiento y nutrición de microplantas de gerbera inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares. *AgroCinecia, México*, 2001, vol. 35, no. 002, p. 149-158
  124. Peralta, I. E.; Knapp, S. y Spooner, D.M. New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: Solanaceae) from Northern Perú. *Systematic Botany*, 2005, vol. 30, p. 424-434
  125. Pérez, E.; Rodríguez, Y.; Hernández, M.A. y Noval, B.M. Dinámica de inducción de algunos sistemas de defensa en la interacción HMA-tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) var Amalia.I. Inducción de PR2, PR3 y fenilalanina amonio-liasa en raíces de tomate. *Cultivos Tropicales*, 2004, vol.25, no.2, p. 37-44
  126. Peyronel, B.; Fassi, B.; Fontana, A. y Trappe, J.M. Terminology of micorrizae. *Mycologia.* 1969, Vol. 61, no.2, p. 410-413.
  127. Phillips J. M. y Hayman D. S. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 1970, p.158-161
  128. Plana, R.; Fernández, F.; De'll Amico, J.M.; Calderón, A. Y Fundora, L. M. 2006. Respuesta de diferentes granos básicos (*Zea mays* , *Sorghum licotas*, L. Moench, *Tririm*, *durruim* L.) a la aplicación de biofertilizante Licomic. En II Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14: 20064 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
  129. Plana, R.; Medina, N.; Moreno, I. y Ramírez, A. Efectos agronómicos de la biofertilización con dos Rizobacterias en la producción de Trigo (*Triticum aestium* L.) en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 1999.vol. 20, n° 4. p. 5-8
  130. Posada, R. H.; Franco, C.L.A.; Cuellar, C. A.; Sánchez, C.W. y Sánchez, F.A. Inóculo de hongos de micorriza arbuscular en pasturas de *brachiaria decumbens* (*poaceae*) en zonas de loma y vega. *Acta biol. Colomb.*, 2007, vol. 12, no. 1, p. 113 – 120
  131. Pozo, M.J. Inducción de enzimas hidrolíticas en raíces de tomate (*Lycopersicon esculentum*) como respuesta a la formación de MA y su implicación en el control biológico de *Phytophthora parasítica*. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, España. 1999.
  132. Pulido, L. E.; Cabrera, A. y Medina, N. La biofertilización con Rizobacterias y hongos micorrízicos arbusculares en la producción de posturas de tomate

- (*Lycopersicon sculentus*, Mil) y cebolla (*Allium cepa*). II Colonización radical y estado nutricional. *Cultivos tropicales*, 2003, vol. 24 n° 2, p. 5-13
133. Rao, D.; Momclovic, I; Kobayashi, S.; Callenger, E. y Ristic, Z. Chaperone activity of recombinant maize chloroplast protein synthesis, elongation. *Eur. J. Biochem.*, 2004, vol. 271, p. 3684-3692
  134. Rawson, H.M.; Begg, J.E. y Woodward, R.G. The effect of atmospheric humidity on photosynthesis, transpiration and water use efficiency on leaves of several plant species. *Plant*, 1997, p. 5-10
  135. Redhead, J. F. Endotrophic mycorrhizae in Nigeria. Some aspect of the ecology of the endotrophic mycorrhizal association of *Khaya grandifolia* C.D.C. Endomycorrhizas. Academic Press. London. 1975, p. 447 - 459
  136. Riera, M. C. Manejo de la biofertilización con hongos micorrízicos arbusculares y Rizobacterias en secuencias de cultivos sobre suelo Ferralítico rojo. Tesis (opción de Doctor en Ciencias Agrícolas). INCA, 2003, p. 27-73
  137. Rivera, R.; Fernández, F. Hernández, A. y Martín, J.R. El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe. La Habana: INCA. 2003.
  138. Rodríguez, Y., B. de la Noval, F. Fernández, y P. Rodríguez.. Estudio comparativo del comportamiento de seis cepas de hongos micorrízicos arbusculares en su interacción con el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. "Amalia"). *Ecología Aplicada*, 2004, vol.3, no 1 y 2, p. 162-171
  139. Román, G. F. Concentración de reguladores del desarrollo vegetal inducida por hongos endomicorrízicos en dos cultivares de Chile (*Capsium annuum* L.). Tesis de Doctorado, Universidad de Colima, México, 2003, 121p
  140. Roveda, G.; Cabra, L.; Ramírez, M.M. y Peñaranda, A. Efecto de las micorrizas arbusculares sobre la aclimatación y endurecimiento de microplántulas de mora (*Rubus glaucus*). *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 2007, vol. 8, no. 1, p. 28-36
  141. Ruano, B.S. y Sánchez, T.I. Hortalizas aprovechables por sus hojas. En: *Enciclopedia práctica de la Agricultura y la Ganadería*. Editorial ODEANO, Barcelona, España, 2003, p. 632-636
  142. Ruiz, L. Efectividad de las asociaciones micorrízicas en especies vegetales de raíces y tubérculos en suelos pardos y ferralíticos rojos en la región central de Cuba. Tesis de Doctorado en Ciencias Agrícolas. INCA. La Habana, 2001.
  143. Sánchez, C. M. Experiencias en la investigación con los hongos micorrízicos arbusculares en los suelos de Ando. Comité Mexicano de Inoculantes Agrícolas y Forestales. Texcoco, México, 2002, p. 15-25
  144. Sánchez, C., Caballero, D.; Rivera, R.; Cupull, R.; González, C.; Ferrer, M. y Delgado, Y. Respuesta de cepas de hongos micorrizógenos (HMA) sobre el desarrollo de posturas de cafeto. Parte III. Suelo ferralítico rojo de montaña. *Centro Agrícola*, año 33, no. 2, abr.-jun., 2006, p. 17-22
  145. Sánchez, S.S. y Hernández, M. Estudio de la fauna edáfica bajo diferentes sistemas silvopastoriles en suelos ganaderos. En. VI Congreso Sociedad de

Suelo, mar. 8 0- 10 La Habana. 2005. Memorias CD ROM Sociedad Cubana de las Ciencias del Suelo ISBN. 959-7023-35-0.

146. Schoffl, F.; Panikulangara, T. J.; Eggers-Schumacher, G.; Wunderlich, M. y Stransky, H. Galactinol synthase 1, a novel HSF-target gene responsible for heat-induced synthesis of raffinose family oligosaccharides in arabidopsis. *Plant. Physiol.*, 2004, vol. 136, no, 2.
147. Schübler, A; Schwarzott, D. y Christopher, W. A new fungal phylum , the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.*, 2001, vol. 105, no. 12, p. 1413-1421
148. Sieverding, E. Vesicular Arbuscular Mycorrhiza in Tropical Agrosystem. Deutsche Gesellschaft für technische Zusammenarbeit (GTZ) GMBH, federal Republic of Germany. 1991, 371 p.
149. Simon, L.; Bousquet, J.; Lévesque, R.C.; Lalonde, M. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*, 1993, no. 363, p. 67-68
150. Sinsawat, V.; Lepner, J.; Stamp, P. y Fracheboud, Y. Effect of heat stress on the photosynthetic apparatus in maize (*Zea mays* L) grown at control or high temperature. *J. Environ. And Exp. Botany*, 2004, vol. 521, no. 2, p. 56-62
151. Siqueira, J. O. y Franco, A. A. Biotecnología do solo. Fundamentos e Perspectiva. MECESAL- FAEPE-ABEAS. Brasília, D. F. 1988, 235 p
152. Stevens, M.A. and Rudich, J. Genetic potential of overcoming physiological limitations on adaptability yield and quality in the tomato. *Hort. Sci.* 1979, nº13, p. 673-678
153. Taylor, T.N.; Remy, W.; Hass, H.; Kerp, J. Fossil arbuscular mycorrhizae from the early Devonian. *Mycologia* , 1995, no.87, p. 560-573
154. Terry, A.E. 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 2005, 133p
155. Terry, A.E.; Planes, M. y Cairet, T. Efectividad de los abonos microbianos en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill ), en condiciones de casa de cultivo protegidos. En: Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14:2004 nov 9-12, La Habana). 2004. Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.
156. Terry, E.; Núñez, M.; Pino, M.A.; Medina, N. Efectividad de la combinación biofertilizantes-análogo de brasinoesteroides en la nutrición del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Cultivos Tropicales* , 2001, vol.22, nº 2, p. 56-59
157. Tommrup. J.C. y Kidby, D.K. Production of aseptic spores of vesicular-arbuscular endophytes and their viability after chemical and physical stress. *Appl. Environ. Microbio*/, 1980, vol. 39, no. 1, p. 115-119
158. Trappe, J.M. Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint. *In: Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants*. EEUU: Ed Safir, 1987. p. 5-25

159. Trimble M.R y N.R Knowles. Influence of VAM and phosphorus on growth, carbohydrate partitioning and mineral nutrition of greenhouse cucumber (*Cucumis sativus* L.) plant during establishment. *Can. J. Plant Science*, 1995, no. 75, p. 239-250
160. Trouvelot, A.; Kough, J.; Gianinazzi-Pearson, V. Mesure du Taux de Mycorhization VA d'un Systeme Radiculaire. Recherche de Methodes d'Estimation ayant une Signification Fonctionnelle. Proceedings of the 1st European Symposium on Mycorrhizae: Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae, Dijón, 1-5 July, 1985. (V. Gianinazzi-Pearson y S. Gianinazzi, eds.). INRA, Paris. p. 217-222, 1986.
161. Usura, C. E.; Castañeda, D. A. y Franco, A. E. Multiplicación de hongos micorriza arbuscular (hma) y efecto de la micorrización en plantas micropropagadas de banano (*Musa aaa* cv. *Gran enano*). *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*, 2008, vol. 61, no. 1, p. 4279-4290
162. Van de Vooren, J.G.; Welles, W.H. and Hayman, G. Glasshouse crop production. In: *The tomato crop*. Edi. Chapman and Hall. London 1986, p. 581-623
163. Van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Varma, A. Mycorrhiza. In: *The beneficial effect of mycorrhizae on N utilization by the host-plant: Myth or Reality?* Edit: Gobert, A and Plassord, C, Springer, India, 2008, p. 209-240
164. Varma, A. The beneficial effect of mycorrhizae on N utilization by the host-plant: Myth or Reality? *In: Mycorrhiza*. Editor, Varma, 2008, p. 209-240
165. Ventimiglia, L.A. y Carta, H.G. Inoculación en soya. Paraguay, Ediciones: Horizontes A, 2008, 601p.
166. Verkerk, K. Temperature light and the tomato. *Landbouwhogeschool Wageningen* 1975, n°55, p. 175-224
167. Viñals, Mabel. y Villar, .1. Avances en la formulación y aplicación de inoculantes bacterianos de uso agrícola. *Cultivos Tropicales*, 1999, vol.20, no.4, p. 9-17
168. Virginia, R.A., M.B. Jenkins & W.M. Jarrel. Depth of root symbiont occurrence in soil. *Biol. Fert. Soil* 1986, no. 2, p. 127-130
169. Ward, G.M. Observation of root growth in the greenhouse tomato. *Journal Plant Science*, 1964, n° 44, p. 492-494
170. Went, F.W. The experimental control of plant growth. *Chronica Botanica*, 1957, n°17, p. 343-349
171. Winspear, K.W.; Postlethwait, J.D. and Cotton, R.F. The restriction of cladosporium and Botrytis cinerea attacking glasshouse tomatoes by automatic humidity control. *Biology*, 1970, n° 65, p. 75-83
172. Youbain, J.; Cabrera, A.; Arzuaga, J.; Fernández, F. Y Dell Amico, J. La aplicación de hongos micorrizógenos en soporte sólido y líquido para la producción de lechuga en casa de cultivo. En: Simposio internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos y VII Taller de Biofertilización de los Trópicos. Congreso Científico del INCA (14:2004 nov 9-12, La Habana). Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X.



