

1. INTRODUCCIÓN

La gran demanda de alimentos que se produce por la explosión demográfica en la década del 50 incentivó que la investigación se orientara al incremento de la productividad mediante el uso de fertilizantes sintéticos y pesticidas químicos. Los logros que se obtuvieron fueron de gran impacto económico que la denominaron revolución verde, más tarde se comprobó que tenía consecuencias destructivas para el medio ambiente, el hombre y el suelo principalmente al haber reducido, en forma alarmante, su fuerza nutritiva haciéndolo cada vez más dependientes de abonos minerales.

Por ser la nutrición vegetal una actividad fisiológica vital y por su gran complejidad interactiva de procesos y fenómenos físicos, químicos y biológicos, que no siempre aportan con una gran cantidad de elementos nutritivos que demanda la planta, hacen que constantemente se esté realizando investigación en este campo, con el fin de obtener fundamentos científicos que potencialicen racionalmente la actividad agrícola; para conseguir beneficios económicos.

Ante este hecho aparecen investigadores que fundamentan sus trabajos en una agricultura sostenible, rentable sin destruir la naturaleza. Hoy se han obtenido resultados positivos en lo que se ha denominado Nutrición Vegetal no dañina, sin embargo, es necesario que se siga conociendo, ampliando y divulgando este campo. Un área importante, es el estudio de la acción de los microorganismos como seres de conexión y tránsito de los elementos nutritivos que la planta necesita.

Consecuentemente estas fueron las razones que me comprometieron a realizar la presente investigación, en la que en forma individual y concomitantemente se analizaron y evaluaron los resultados en la planta, de las acciones de las micorrizas, encargadas de transportar fósforo, principalmente, nitrógeno, potasio y magnesio.

Para este estudio se ha escogido el tomate como cultivo de ensayo, por las siguientes razones: Es un buen indicador de la presencia de los elementos nutritivos. Su consumo permanente le da el carácter de masivo. Lo siembran agricultores de todo nivel económico y, en los últimos años ha producido gran impacto social, debido a los problemas de bajos rendimientos, sobreoferta e incremento en el costo de producción, resurgencia de plagas y enfermedades no comunes que han incidido definitivamente para que los agricultores de la costa no puedan competir con los de la sierra. Situación negativa que se complementa con la industria nacional de pasta de tomate, la misma que actualmente importa la totalidad de los requerimientos industriales

Los problemas anotados menguan la productividad y afectan la economía del agricultor y trabajador tomatero; razón por la que este trabajo, está encaminado a proporcionar una tecnología de alternativa racional que permita dar un valor agregado a la producción de tomate mediante la certificación de “buenas prácticas agrícolas”

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo general

Coadyuvar al fortalecimiento de la investigación en la nutrición orgánica mediante el estudio de las funciones micorrízicas en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill)

1.1.2. Objetivos específicos

- 1.1.2.1.** Analizar la eficiencia de las micorrizas en la etapa de desarrollo del cultivo
- 1.1.2.2.** Estimar la eficiencia de absorción de nutrientes por parte de las micorrizas
- 1.1.2.3.** Evaluar el comportamiento de los hongos micorrízicos a través del ciclo productivo del tomate
- 1.1.2.4.** Determinar la contribución de las micorrizas a la producción de tomate

1.2 Hipótesis.

La interacción de los microorganismos – planta contribuyen significativamente en el aumento de la productividad y sostenibilidad de la producción.

1. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades del cultivo

El tomate es una hortaliza nativa de América. Desde 1850 viene siendo un importante componente de la dieta en el mundo. Es un cultivo que se ha realizado en el ámbito nacional tanto en los valles cálidos de la sierra como en el litoral, en la época de verano en las provincias de Los Ríos y en Manabí. La serranía se ha dedicado a la producción de tomate de mesa y en el litoral más al tomate industrial para la elaboración de pasta.

2.2. Fertilidad del suelo

La fertilidad del suelo se ve menguada por la pérdida de la materia orgánica y con ella la microbiota del suelo; procesos de oxidación; alta tasa de extracción de nutrientes por las plantas cultivadas y por lixiviación o lavado de bases provocada por altas precipitaciones, ocasionando incrementos en la acidez del suelo y en ocasiones efectos tóxicos debido a la alteración o desequilibrio de los componentes químicos del suelo. En este sentido ésta pérdida de la fertilidad puede ser retenida por la adición de la MO o bien por fertilizantes de síntesis química, por eso se dice que el suelo es un recurso natural renovable, en cambio cuando la capa superficial es removida por la acción de la erosión, ya no podrá ser restituida en un corto tiempo, entonces se dice que el suelo es un recurso natural no renovable (Ruiz, 2001).

La fertilización como técnica, debe estar enfocada a mantener o aumentar la fertilidad del suelo agrícola; englobando este concepto, no sólo la capacidad del suelo para aportar nutrientes minerales esenciales a la planta; si no también, la capacidad del mismo para mantener un nivel de producción alto, pero sustentable en el tiempo, sin perder por ello su diversidad biótica ni su complejidad estructural y todo ello dentro de un equilibrio dinámico (Reyes, 1998).

2.3. Los microorganismos del suelo

Kolmans (1996), dice que el fomento de los microorganismos mejora la calidad y cantidad de nutrientes, por la interrelación microorganismo – planta que existe en el suelo en forma natural, pero ésta capacidad que tienen las plantas es desactivada con el uso de fertilizantes minerales. En un modelo alternativo de agricultura, los fertilizantes químicos se los considera un complemento en función de mantener el equilibrio entre los nutrientes que presentan relaciones antagónicas e intensificar interrelaciones entre suelo – planta – microorganismos.

Los fertilizantes nitrogenados son contaminantes del medio, a través de la liberación de amoníaco y óxidos de nitrógeno, en este contexto los biofertilizantes se constituyen en una buena iniciativa, se trata de productos elaborados a partir de diferentes tipos de microorganismos, que una vez aplicados a la planta a través de distintos mecanismos realizan funciones de fertilización (Ribaudó, 1998).

2.3.1. Micorrizas: definición

La palabra micorriza se origina del griego myco, que significa hongo y rhiza, que indica raíz. Etimológicamente se define como una simbiosis mutualista entre algunos hongos del suelo y las raíces de las plantas (Sánchez, 1999) La misma autora cita a Frank (1885) quien indica que micorriza es la unión íntima entre las raíces de la planta y micelios de hongos, los cuales establecen una dependencia fisiológica recíproca. Siquiera & Franco (1988) indican que las micorrizas son simbiosis endofíticas, biotróficas y mutualistas, que se encuentran en la mayoría de plantas nativas y cultivadas; caracterizadas por el contacto íntimo y una perfecta integración morfológica entre el hongo y la planta, por la regulación funcional e intercambio de metabolitos que beneficia a ambos.

2.3.2. Micorrizas: clasificación

2.3.2.1. Basándose en la Anatomía de la planta

- a)** Ectomicorrizas, las hifas del hongo envuelven los segmentos de raíces colonizándolas y entretejiéndolas hasta formar un manto, de la cual se desprenden hifas que colonizan el medio y forman cordones hifales denominados rizomorfos. Dentro de la corteza al penetrar el micelio forma una estructura llamada “red de Hartig”. Predominan en gimnospermas y angiospermas, se hospedan en especies de árboles nativos de regiones frías (Sánchez de Prager, 2001).

- b)** Endomicorrizas, se diferencian de los anteriores porque las hifas del hongo penetran entre y dentro de las células de las raíces, no forman manto, y poseen modificaciones anatómicas microscópicas, se clasifican en: orquídeomicorrizicas, la simbiosis de este grupo es totalmente diferente, porque el hongo provee de carbono a la planta, contrario a lo que sucede con los otros tipos de micorrizas que los compuestos carbonados los forma la planta y se los proporciona al hongo. Ericoides, poseen hifas septadas que se desarrollan alrededor de la raíz, formando un tejido delicado y rompible que se desplaza en el interior de la célula formando enrollamientos, son comunes en arbustos y árboles que crecen en suelos ácidos y turbosos con materia orgánica alta y compuestos polifenólicos, que son pobres en nitrógeno y fósforo. Arbusculares, Se ha determinado que 97% de las fanerógamas incluidas las de interés económico y agronómico presentan este tipo de micorrizas. Su evolución y propagación se produjo en los trópicos y debido a su alta diversidad se la encuentra en todo el planeta (Sánchez de Prager, 2001).

- c)** Ectendomicorrizas, presenta características de las ectomicorrizas con la diferencia que hay penetración intracelular por medio de hifas que son septadas, lo que permite que algunos autores las clasifiquen como endomicorrizas y otros como ectomicorrizas. Se las ubica asociadas con coníferas (Sánchez de Prager, 2001).

2.3.2.2. Basándose en la taxonomía (Micorrizas Arbusculares)

Morton y Redecker, (2001) recientemente han realizado cambios en la taxonomía de los hongos formadores de Micorrizas Arbusculares. Mediante el uso de técnicas en las que intervienen secuencias de ADN, análisis de perfiles de ácidos grasos, reacciones inmunológicas hacia anticuerpos monoclonales específicos, caracterización morfológica de las esporas y sus hábitos de colonización, han permitido tener avances sustanciales en la taxonomía de estos hongos. Con base en el análisis de la información obtenida por las técnicas mencionadas, a continuación se presenta la nueva clasificación de los hongos MA.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de hongos formadores de MA (Morton y Redeker, 2001)

Clase:	Zygomycetos	Orden:	Glomales
Suborden:	Glomineae	Familia:	Género:
		Paraglomaceae	Paraglomus
		Archaeosporaceae	Archaeospora
		Glomaceae	Glomus
		Acaulosporaceae	Entrophospora
			Acaulospora
	Gigasporineae	Gigasporaceae	Gigaspora
			Scutellospora

2. 3. 3. Micorrizas: Estructuras

Hifas: las hifas intra radicales son las encargadas de formar la unidad de infección o colonización, parece ser que su crecimiento es limitado y regulado por las interacciones hongo – hospedero. Las hifas externas se clasifican en: infectivas, de absorción y fértiles (formadoras de esporas) y su crecimiento, senescencia y otras características son pocas conocidas

hasta la presente. Las hifas infectivas son las que ubican nuevos puntos de infección ya sea en varias partes de una misma raíz o en raíces de plantas vecinas. Estudios en macetas han demostrado que las hifas externas son menos infectivas en las familias Glomaceae y Acaulosporaceae que en la familia Gigasporaceae (INVAM, 2002).

Arbúsculos: son estructuras parecidas a un árbol se forman a partir de ramales de las hifas intraradicales una vez que las mismas han penetrado a través de la pared de la célula. Su formación se observa entre la pared celular y la membrana plasmática, tienen poca duración, y se reproducen en gran cuantía cuando el hongo está en activo crecimiento, por lo que pueden observarse por largos periodos. En el suborden Gigasporineae persisten entre 3 – 4 meses, mientras que en el suborden Glomineae es de 2 – 3 meses. Esto se comprueba específicamente en plantas cultivadas en macetas. La morfología difiere entre los hongos de las tres familias endomicorrízicas. Mediante interacciones bioquímicas son los encargados de regular el intercambio de carbono, energía y nutrientes entre los simbioses (INVAM, 2002).

Vesículas: son corpúsculos de pared delgada que tienen lípidos y se producen en la parte media o terminal de una hifa dentro de la corteza radical. Se encuentran en el suborden Glomineae. En la familia Glomaceae las vesículas son ovoides o elipsoides, mientras que en las Acaulosporaceae son generalmente elipsoides e irregulares y/o protuberantes. Las vesículas se observan en los primeros estados del desarrollo de *Glomus*, y proliferan aproximadamente al mismo tiempo que se inicia la esporulación incrementándose de allí en adelante. Hongos micorrízicos tardíos (70–90 días de cultivo en macetas) muestran pocos arbúsculos pero presentan abundantes hifas intraradicales y vesículas, son las encargadas de almacenar y dividir a modo de compartimentos, lípidos ricos en energía durante el desarrollo micorrízico, posiblemente para el mantenimiento y crecimiento del hongo después que han cesado las funciones metabólicas de las raíces (INVAM, 2002).

Células Auxiliares: en el suborden Gigasporineae constituyen racimos de células de paredes delgadas que emergen de una hifa extraradical. En el género *Gigaspora*, la superficie de las células pueden ser espinosas, pero tales espinas pueden estar reducidas a protuberancias o a superficies lisas para el género *Scutellospora*. Se diferencian de las esporas por el tubo germinativo que se observa en estas últimas previo al establecimiento de cualquier colonización micorrízica (incluyendo esporas germinadas en medios de agar). En cultivos de macetas al principio se observan en gran cantidad pero al cabo de cuatro meses son pocas o casi ausentes. Al igual que las vesículas, estas células frágiles almacenan lípidos a manera de compartimentos y proveen de una fuente de micromoléculas de carbono independiente del hospedero durante la formación de las esporas (INVAM, 2002).

Esporas: aunque todos los miembros del orden Glomales se clasifican dentro de la división Zygomycota, ninguno de ellos produce Zygosporas y sus esporas asexuales tienen poca o ninguna afinidad morfológica con las esporangiosporas asexuales o las clamidosporas. Las esporas se pueden observar tanto en el suelo como en las raíces, con excepción del género *Gigaspora*. En la especie de *Glomus* la esporulación intra radical es más abundante que en otras. El inicio de la esporulación varía con la especie y las condiciones fisiológicas del anfitrión, ocurre comúnmente entre tres y cuatro semanas posteriores a la colonización, bajo cualquier condición (excepto alto contenido de fósforo en el suelo, el cual inhibe todas las fases). Se ha comprobado experimentalmente que la esporulación ocurre una vez que se ha alcanzado cierto nivel de biomasa del hongo en las raíces. Cultivos en macetas han demostrado que la esporulación cesa cuando deja de crecer la raíz para el caso de especies de las familias Glomaceae y Acaulosporaceae, pero puede continuar a bajos niveles en especies de la familia Gigasporaceae. Finalmente todas las esporas de los hongos endomicorrízicos son infectivas cuando han formado uno o más tubos germinativos (INVAM, 2002).

2.3.4. Micorrizas: caracterización

Orden Glomales, según Morton y Benny (1990) son hongos del suelo que establecen una simbiosis mutualista obligada con muchas especies de planta. Los arbuscúlos dicotómicos transitorios se forman en el interior de las células a partir de una hifa intraradical. Las esporas son asexuales se forman extra radicalmente y con menos frecuencia intra radicalmente y se reproducen algunas veces en esporocarpos altamente organizados.

Sudorden Glominea, según Morton y Benny (1990), los arbuscúlos se hacen visible gracias a la tinción con azul de tripano, el diámetro del tronco de los arbuscúlos tienen un diámetro de dos a seis μm , y sus ramificaciones son más finas. El tronco hifal se hincha en ocasiones, la red arbuscular no se encuentra en cultivos viejos en macetas o en raíces viejas en el campo. Sin embargo, esta situación es sustituida por una gran red hifal que puede estar acompañada de vesículas o esporas. Las vesículas se forman generalmente en la parte terminal de las hifas ya sea dentro o entre las células; son de paredes delgadas, varían en tamaño, forma y cantidad; para ser observadas tienen que ser teñidas excepto si se observan con luz UV. Las esporas se encuentran solas o en pequeños o grandes grupos con y sin peridium o esporocarpos altamente organizados; se forman generalmente en el suelo, pero cierta especie de Glomaceae también pueden formarse dentro de la raíz; generalmente en estado adulto tienen un diámetro de 200 μm ; los colores varían entre blanco, rojo y negro. Las hifas intraradicales tienen diámetro variable debido a su plasticidad, las hifas colonizan en forma recta y ramificada siguiendo una dirección paralela al eje de las raíces. Las hifas extraradicales, son variables en su diámetro.

Familia Glomaceae, los arbuscúlos de esta familia se observan bastante oscuros con el azul de tripano en la mayoría de las especies y se ven bastantes claros para el caso de *Glomus tortuosum*. Las vesículas se presentan dependiendo del hongo y del anfitrión y se las localiza cerca

de los puntos de entrada; son generalmente oblongas o elípticas que se oscurecen con el azul de tripano. Las hifas intraradicales se pueden ramificar en ángulos agudos u oblicuos a partir del punto de entrada y siguen paralelas a las raíces en grupos de dos en dos que se interconectan mediante ángulos rectos; es necesario realizar tinciones para su observación. Las hifas extraradicales son muy abundantes, su diámetro es muy variado. Las esporas pueden presentarse solas o agregadas en una matriz; la pared de la espora sigue para constituirse en pared de la hifa; se pueden formar dentro de raíces al final o en cualquier otro lugar de la hifa (INVAM, 2002).

Género *Glomus*, forma clamidosporas aisladas o en esporocarpos, normalmente hipogeos. Las clamidosporas se forman en el extremo de una hifa de sustentación y pueden tener una o varias paredes. Forman vesículas (INVAM, 2002).

Especie *tortuosum*, las esporas generalmente de color anaranjado-marrón (0-10-60-0) amarillo-marrón (0-40-100-10) pero en su gran mayoría son anaranjado-marrón pálidas (0-20-40-0). Tienen forma globosa, sub globosa y a veces irregular. El tamaño varía entre 120 - 220 μm . Cada esporocarpo contiene entre dos y seis esporas con un diámetro de 290-540 μm . Poseen dos capas que pueden separarse en varias posiciones. Para el caso de las hifas, estas tienen forma cilíndrica, con un diámetro de 12,5 - 15 μm , de los cuales 1.5 μm pertenecen al grosor de la pared (INVAM, 2002).

Especie *clarum*, presenta esporas que van de blanco a amarillo-marrón (0-10-60-0) otras amarillo pálido (0-0-20-0) y hasta marrón-amarillo claro (0-10-20-0). Son de forma globosa, subglobosa, elípticas, oblongas, o irregulares cuando se trata posiblemente de esporas formadas en raíces. Abarcan un tamaño entre 100-260 μm . Posee tres capas, la primera se separa a menudo en el caso de esporas adultas cuando se aplica presión, es hialina y mucilaginoso, la segunda capa es más

resistente con una consistencia granular que hace que se produzcan agrietamientos, es más gruesa que la primera, la tercera capa está compuesta por tres subcapas que generalmente permanecen inseparables, en pocos casos se separan. Las hifas son cilíndricas con un diámetro entre 18–24 μm ; se distinguen tres capas, la primera es mucilaginosa y solo se encuentra en hifas juveniles, la segunda capa es muy densa en la madurez de la espora, la tercera capa es amarilla y muy delgada, cuando las esporas son de color blanco no se la considera. Las vesículas son oblongas o elípticas y se forman a menudo cerca del punto de entrada de la hifa. Los arbúsculos colonizan tempranamente (INVAM, 2002).

Especie *intraradices*, tienen esporas de color cremoso pálido (0-0-10-0) y amarilla marrón con tintes verdes (0-10-40-0) Tienen forma globosa, subglobosa, irregular y algunas elípticas que se encuentran en las raíces. El tamaño varía entre 40–140 μm . Poseen tres capas, la primera solo se encuentra en esporas juveniles es hialina y mucilaginosa con diámetro de 0.6–3.2 μm . La segunda capa es densa y hialina se mantiene en las esporas jóvenes, en las adultas se degrada igual que la primera, mostrando una apariencia de remiendos. La tercera capa es consistente y solo se separa de la espora por medio de presión. Las hifas de forma cilíndrica, con diámetro de 11–18 μm , las forman tres capas que son las mismas que forman las esporas (INVAM, 2002).

Especie *fasiculatum*, tienen esporas de color amarillo claro a amarillo marrón; forma globosa y subglobosa; el tamaño fluctúa entre 60 y 110 μm . Las constituyen tres capas, la primera es hialina, la segunda es consistente y está formada por subcapas muy finas de color rojo levemente púrpura, la tercera capa es delgada y flexible. Las hifas son cilíndricas, con diámetros de 8–10,2 μm , de los cuales 1.2 μm pertenece a la pared; se denotan dos capas que son una continuación de la pared una y dos de las espora (INVAM, 2002).

Familia *Acaulosporaceae*, los arbúsculos después de la tinción con azul de tripano tienen un color que va de azul marino a casi invisible. Las vesículas son abundantes y se localizan en las entradas de infección, se forman antes de que ocurra la formación de arbúsculos, tienen forma circular y oblonga, al teñirlas se ven bastantes claras, pero si más oscuras que los arbúsculos. Las hifas intraradicales se presentan en forma de espiral en el punto de entrada y con un diámetro de 4-6 μm ; crecen paralelamente a la raíz e interconectas con hifas vecinas por medio de ángulos rectos o agudos; al teñirlas son más oscuras en los sitios de entrada. Las hifas extraradicales, son generalmente finas miden entre 2-3 μm (INVAM, 2002).

Género *Acaulospora*, forman azigósporas hipogreas aisladas, la esporogénesis se inicia con la formación de un saco esporógeno de pared delgada al final de una hifa gruesa. El contenido de este saco emigra hacia su parte basal y se condensa en una espóra sésil. Las azigósporas tienen dos o más paredes, a menudo con ornamentación externa. Forman micorrizas arbusculares con vesículas y a veces con morfologías muy características (INVAM, 2002).

Género *Entrophospora*, se diferencia del anterior porque forma las esporas dentro de la hifa parental, en la parte basal del saco esporífero. Las esporas tienen una pared gruesa y ornamentada y otra interna membranosa. Forman micorrizas con vesículas (INVAM, 2002).

Suborden *Gigasporineae*, son hongos arbusculares que también forman células auxiliares extraradicales sencillas o en grupos. Los miembros de este grupo no forman vesículas de ahí que se los conoce como hongos micorrízicos arbusculares (INVAM, 2002).

Género *Gigaspora* forman azigósporas ectocárpicas sobre una hifa de sustentación engrosada. La pared de azigóspora puede tener de 1 - 20 capas en un solo grupo, siendo la más externa a menudo ornamentada.

La germinación se produce mediante uno o más tubos germinativos. Forman micorrizas arbusculares no desarrollan vesículas intraradicales; sin embargo, se han observado la presencia de estructuras vesiculares en el suelo, formadas a partir de las hifas del hongo (INVAM, 2002).

Género *Scutellospora* es muy próximo a *gigaspora*, del que se distingue por la presencia en las azigospora de una estructura especial llamada escutelo o placa de germinación, por donde se produce ésta a partir de una o varios tubos germinativos. Las azigósporas presentan dos o más grupos de paredes, con una o más paredes flexibles, membranosas o coriáceas en el interior (INVAM, 2002).

2.3.5. Micorrizas: simbiosis

Para que se dé la simbiosis debe haber una buena interacción entre los tres componentes del sistema: el hongo, la planta y las condiciones ambientales. Involucra el reconocimiento entre los simbiosites, compatibilidad y especificidad, permitiendo de esta manera la integración morfológica y funcional de los asociados. En la fase de establecimiento de la simbiosis se pueden distinguir tres tiempos: precolonización, penetración inicial del hongo, colonización intraradical y desarrollo del micelio externo y de estructuras reproductivas. (Sánchez, 1999).

Precolonización: en el suelo se encuentran esporas, células auxiliares, vesículas, hifas fuera y dentro de raíces, que se consideran inóculo para formar nuevos hongos, los que son incitados por las condiciones bióticas, abióticas, exudados, procesos físicos químicos del suelo, logrando germinen y se reproduzcan en gran cantidad, creando la condición para que exista contacto con la raíz y ocurra una infección (Azcón-Aguilar et al., 1991).

Penetración: la primera condición para el ingreso del hongo es que el sitio de entrada sea sano. La hifa colonizadora al ponerse en contacto con la raíz lo primero que hace es producir un abultamiento en su parte terminal, que se lo reconoce como apresorio; el cual permite fijarse a su hospedero, desarrollándose y penetrando a través de las células epidérmicas dándose paso en los espacios intercelulares primeramente. Aunque hay autores que sostienen que el punto de entrada del hongo es facilitado por procesos enzimáticos (Mosse, 1981) ya que se han realizado experimentos con aplicaciones de enzimas hidrolíticas que logran que se produzca una pequeña porosidad en las raíces sin que cause daño alguno en su estructura; no obstante (Harley y Smith, 1983) las micorrizas al penetrar si registran un ligero cambio en la zona de penetración.

Colonización Intraradical: se realiza mediante el desarrollo ramificado de las hifas entre y dentro de las células del sistema radicular. Las formas de colonizar van a tener sus diferencias producida por las distintas especies de los simbioses (Bonfante y Bianciotto, 1995); Sin embargo, se considera en forma general que la hifa una vez que penetra avanza a la corteza media se ramifica y crece longitudinalmente dilatando los espacios intercelulares y penetrando, algunas veces, en el interior de la célula en donde se ramifican en forma dicotómica y dan origen a los arbuscúlos. Éste a medida que se desplaza tiene más contacto con el fluído citoplasmático (Alexander et al., 1988) formando una interfase que le facilita la transferencia de nutrientes entre los simbioses, con lo que se demuestra la compatibilidad anatómica y fisiológica del hongo – planta. Al respecto Barea et al. (1991) y Harley y Smith (1983) aclaran que la colonización del hongo se extiende por la epidermis y el parénquima cortical, nunca penetra en la endodermis ni en los tejidos vasculares y meristemáticos, creando una marcada diferencia con las infecciones radicales de hongos patógenos que sí lo hacen.

2.3.6. Funcionamiento de la simbiosis micorrízica

La simbiosis está estrechamente ligada con el intercambio bidireccional de C y P. Experimentos con $^{14}\text{CO}_2$ han demostrado la transferencia de carbono y de nutrimentos radioactivos entre los simbioses. Se presume que por flujo pasivo o condicionado la sacarosa, especialmente, se descarga desde el floema de la planta a la interfase apoplástica de la célula, en donde es hidrolizada por la enzima invertasa que la transforma en hexosa, que es como el hongo la aprovecha para fabricar compuestos carbonados específicos, como lípidos y glucógeno, que la planta no puede utilizar directamente (Sánchez 1.999).

Análisis recientes de distribución e incidencia de H^+ -ATPasas en el plasmolema de las estructuras intraradicales del hongo permiten aludir que las hifas intercelulares también pueden absorber C, sin necesidad de la existencia de arbusculos (Gianinazzi et al., 1991).

Las raíces micorrizadas presentan mayor actividad respiratoria que las no colonizadas, lo que puede ser debido a la respiración del hongo o a la misma raíz por acción de la micorrización. Se estima que del 4 a 20 % del carbono que se fija por fotosíntesis es aprovechado por las raíces infectadas, este aporte que hace la planta lo reemplaza con elevadas concentraciones de P foliar, buena conducción de flujos y turgencia de las hojas (Jakobsen, 1995).

2.3.7. Conducción de elementos por las micorrizas

Debe tenerse en claro que las micorrizas no solubilizan fósforo, ellas lo toman de la parte lábil de donde lo captan las plantas no micorrizadas. Lo extraordinario es que tienen la capacidad de llegar y captar fosfatos en suelos en que a bajas concentraciones se tornan inaccesible para plantas no micorrizadas; esta captación se dice que se ve influenciada por una zona especial formada sobre las hifas denominada hifosfera

constituida por flora microbiana que podrían inducir cambios en el pH de la zona haciendo factible atrapar fuentes inorgánicas de P (Jakobsen, 1995).

En los iones que se difunden con lentitud y existen en bajas concentraciones en la solución del suelo como son fósforo, amonio, potasio, zin y cobre, entre otros; es donde hacen su mayor participación las micorrizas vésiculo-arbuscular. Aunque ésta misma autora sostiene que el elemento nitrógeno ha evidenciado aumento en las plantas micorrizadas, la respuesta a este acontecimiento está en el efecto sinérgico entre MA y microorganismos fijadores de N₂. En otros casos la micorriza capta directamente el nitrógeno a través de sus hifas externas en forma de ion amonio, el cual es poco móvil y constituye la forma de N más importante en suelos con una ligera acidez (Sánchez, 1999).

El P ayuda a la absorción de K y Mg, razón que explica la existencia de estos elementos en plantas micorrizadas (Sieverding, 1988). Las vacuolas de los hongos micorrízicos llevan consigo gránulos de polifosfatos, los mismos que pueden estar asociados con el Ca, lo que permite concluir que haya alguna movilidad de este elemento en plantas micorrizadas (Barea y Jeffriers, 1995).

El mecanismo de tolerancia al estrés hídrico se ve sustentado en el aumento de P y K que registran las plantas infectadas con MVA, debido a que estos elementos juegan un rol substancial en la regulación del agua en la planta (Sieverding, 1991).

Las micorrizas originan un balance nutricional en términos de macro y micronutrientes que permiten que la planta tolere condiciones de pH extremadamente bajos; así como, alcalinidad, salinidad y altas concentraciones de elementos tóxicos como Fe, Al y Mn, dejando en claro que no por eso la planta va a alcanzar una buena productividad (Gianinazzi et al., 1991).

El micelio de las micorrizas podría aportar entre 4-32 kg N/ha, 0,6-5 kg P/ha, 0,2-1,7 kg K/ha, 1-7,5 kg Ca/ha y 0,2-1,7 kg Mg/ha; a parte de su contribución directa, es una buena forma de reciclar los nutrientes porque los absorbe en forma eficiente y evita su fijación o lavado (Sieverding, 1991).

2.3.8. Factores que limitan el desarrollo de los hongos micorrízicos vesículo-arbuscular

El P en el suelo con fácil disponibilidad, causa efectos depresivos en la colonización del hongo; de la misma manera altos niveles de nitrógeno en forma amoniacal, aunque algunos autores consideran que no debe generalizarse, ya que esto varía de un sitio a otro y está ligado a la disponibilidad de P con relación al K (Sieverding, 1991).

El aluminio es un factor limitante en la asociación hongo-planta. A pesar de esto hay especies que soportan esta condición limitante. El encalamamiento recomendado para saturar el Al y suplir necesidades del Ca y Mg en los cultivos, reducen la diversidad de poblaciones. Los HMA no desarrollan bien su micelio en suelos muy compactados y arenosos, no obstante, en estos últimos se ha encontrado especies de gigasporas que se han visto favorecida por esta condición (Sánchez, 1999).

Uno de los efectos más negativos por haber destruido endotipos de MVA ha sido el uso de biocidas, tales como el bromuro de metilo, cloropicrin formaldehído, vapan, y vorlex (Sieverding, 1991).

La luz y temperaturas, cuando afecta la fotosíntesis, por ende hay menos formación de carbohidratos y menos disponibilidad de carbono para el hospedante (Silveira, 1992) este mismo autor dice que la presencia de nemátodos micofagos reduce poblaciones de esporas y micelio. (Siquiera y Franco, 1988) consideran que otro aspecto negativo para los

HMV es el hiperparasitismo de esporas del HMA por hongos como el *Rhizidiomycopsis* y *Humicola*.

Las semillas tratadas con fungicidas han afectado más las poblaciones de micorrizas que cuando se aplica al follaje. En sí todos los fungicidas sistémicos impiden la colonización, pero los que más han afectado son el tiabendazol, benomil, triadimefon (Silveira, 1992).

2.3.9. Fundamentos para la aplicación de micorrizas

El cultivo de las hortalizas tiene como característica común un alto uso de insumos químicos lo cual además de elevar los costos de producción, incide negativamente en el manejo del ambiente en general y en la salud humana en particular (Guerrero et al., 1996).

Los mismos autores consideran que las ventajas de manejar micorrizas no se restringen al ámbito de productividad vegetal inmediata, sino que deben considerarse los beneficios ambientales, en corto plazo, el potencial real de la inoculación y manejo de hongos micorrízicos está en la siguiente actividad: producción de árboles frutales en viveros y campo; horticultura de alta productividad, pero apoyada en criterios de sostenibilidad y reducción de sustancias contaminantes; agricultura en suelos fumigados; regeneración de suelos degradados por erosión; restauración de áreas degradadas por minería; aclimatación de plantas micropropagadas. Otras consideraciones para su uso son: bajos valores de fósforo edáfico, que dificultan la toma de fósforo insoluble, bajas poblaciones de propágulos infectivos y efectivos en el suelo, alta micotrofia del cultivo a ser manejado.

Los agentes biológicos micorrízicos son fundamentales para asegurar un mejor y mayor uso del fósforo en el suelo; particularmente cuando estos son tropicales y están sometidos a una gran explotación con la consecuente disminución de pH, por lo que tienen deficiencia en fósforo (P) asimilable (Sieverding, 1991).

La inoculación de plantas con hongos micorrizógenos provoca de manera general un incremento en los procesos de absorción y traslocación de nutrientes, éstos en orden de importancia son: Fósforo, Nitrógeno, Potasio, Magnesio, Zinc, Cobre, Molibdeno, Boro (Koide, 1991).

Las micorrizas como biofertilizantes no necesariamente implica que se pueda dejar de fertilizar (Herrera, 1993), sino que la fertilización se hace más eficiente y puede disminuirse la dosis del abonado inorgánico hasta en un 50 - 80 %; y en ocasiones hasta 100 % (Ferruzi, 1994).

Manifiesta, además, Herrera (1993) que de la cantidad de fertilizantes aplicadas sólo se aprovecha un 20 %, mientras que normalmente el resto se fija o lixivia; en cambio, con la utilización de las micorrizas, puede ser recuperado por las plantas un porcentaje mucho mayor; porque un pelo radical, puede poner a disposición de una raicilla los nutrientes y el agua que se encuentran hasta dos milímetros de la epidermis; mientras, que las hifas del micelio extramático de las micorrizas MA pueden hacerlo hasta 80 mm, lo que representa para la misma raicilla la posibilidad de explorar un volumen de suelo hasta 40 veces mayor.

Otros trabajos realizados en la Habana, han demostrado que aplicaciones de micorrizas arbusculares en semilleros con una dosis de 1.5 Kg/m² y, con una carga por unidad de 25 esporas/g de suelo han dado magníficos resultados (INCA, 2001).

Medina (1992) al evaluar diferentes especies de bacterias, hongos MA y sus combinaciones en diferentes cultivares, concluyó que era factible la sustitución de la fertilización nitrogenada en un 80 %, mediante la inoculación en semilleros con hongos micorrízicos (*Glomus musseae*) suplementada con una baja dosis de N (30 Kg/ha).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

Este trabajo de investigación se lo realizó en la Provincia de Los Ríos cantón Vines, en la Unidad de Centros de Clases Prácticas Integradas del Instituto Tecnológico Agropecuario de Vines, Universidad de Guayaquil, a 1 km de la población del mismo nombre, en el periodo 2002 - 2004

3.1.2. Datos Climáticos

Según el INAMHI¹, Vines se encuentra a 79° 39" longitud oeste y 01° 33" latitud sur, a una altura de 41 msnm. Presenta las siguientes características climatológicas promedias: Precipitación 1492 mm/año, considerando las dos estaciones, invierno (enero – mayo) verano (junio – diciembre). Humedad relativa 83 %. Evaporación cerca a los 1000 mm/año, el periodo de mayor evaporación es de septiembre a diciembre. Nubosidad 6/8, con modificaciones diversas durante el día. Velocidad del viento 1,3 m/s, en meses de verano llega hasta 1.5 m/s sopla de sur a este. Temperatura 25°C y heliofanía 1943 horas/año.

3.1.3. Suelo

El terreno donde se desarrolló el trabajo experimental es aluvial, de topografía plana, con una coloración café claro, buena permeabilidad y de textura franca limosa. El porcentaje de materia orgánica fue de 3 % y el pH de 6,2.

¹ Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, 2000

3.2. Diseño de la Investigación

3.2.1. Fase de colonización

3.2.1.1. Obtención de inóculo

El inóculo de micorrizas (nativas) fue seleccionado de entre 5 agro-ecosistemas (soja, maíz, tomate, pasto, cacao) y un bosque secundario, escogiéndose los dos mejores de estos por presentar endomicorrizas con buena habilidad de esporulación y colonización. El inóculo (esporas, hifas externas e internas, raíces micorrizadas) fue multiplicado en macetas por cuatro veces consecutivas con la finalidad de incrementarlo. El cultivo anfitrión fue el tomate, este trabajo preliminar bajo invernadero duro 16 meses.

3.2.1.2. Esterilización de suelo

Con la intención de evitar la interferencia de endomicorrizas en los semilleros, fue necesario esterizar el suelo destinado para este fin, por espacio de una hora a 121°C y 20 PSI.

3.2.1.3. Siembra e inoculación

Se usaron macetas con capacidad de un kilogramo, que fueron llenadas con suelo estéril, en la parte media de éstas se dejaron espacios para depositar el inóculo (1000 esporas por planta) excepto en el testigo, al que se agregó un filtrado de suelo (libre de micorrizas) Seguidamente se sembraron dos semillas de tomate por maceta y se dio un riego a capacidad de campo. A los diez días se seleccionó una planta por sitio. Las plantas permanecieron en este sustrato 30 días.

3.2.1.4. Riego

Se determinó de acuerdo a una programación (Fuentes, 1996) en la que el ETo (evaporación del cultivo de referencia, expresado en milímetros por día) recomendado para la zona fue de 4 y el Kc (coeficiente del cultivo)

de 0,45 que multiplicado por 30 días que duro ésta etapa, determinó un gasto de 540 m³ y considerando que era un riego localizado, se bajo el 50 % y se distribuyó de la siguiente manera: Durante la primera semana 50 cc y la segunda 100 cc por maceta dos veces al día; en la tercera 200 y en la cuarta 300 cc por maceta tres veces al día.

3.2.1.5. Fertilización

La fertilización sólo se hizo en los tratamientos escogidos para éste objetivo. A partir de los quince días se hicieron fertilizaciones de NPK, en una relación 1:1:1 durante la fase de semillero. Posteriormente la distribución y aplicación se basó en las necesidades del cultivo y la cantidad de elementos mayores presentes en el suelo (Anexo 1). Los fertilizantes utilizados fueron: Nitrato de potasio, con una riqueza del 13 % N y 44 % K; Urea, con el 46 % de N; Súper fosfato triple, con el 46 % P₂O₅; Cloruro de potasio con el 60 % K₂O.

3.2.1.6. Monitoreo de colonización

Desde los 15 días se hicieron evaluaciones para detectar el nivel de colonización. A los treinta días se comprobó una densidad visual de colonización promedia de más del 12 % y un porcentaje de colonización del 70 % de acuerdo al número de raíces infectadas.

3.2.2. Experimentación de campo

A los 30 días, comprobada la colonización, se pasaron las plantas al terreno definitivo, en donde se aplicaron acciones en control de plagas, manejo de enfermedades y malezas y otras actividades como riego, fertilización, poda, tutorio y cosecha.

3.2.2.1. Unidad experimental

Estuvo constituida por 36 plantas de tomate del híbrido “SIGAL” de procedencia israelita de la casa comercial “HAZERA”, que estuvieron distribuidas en tres hileras con 12 plantas cada una, con una distancia de siembra de 0,4 por 1,1 m. La forma de la parcela fue rectangular, 3,3 de ancho por 4,8 de largo, dando un área total de 15,84 m². De la hilera central se escogieron 10 que fueron consideradas como área útil y destinadas para evaluación de los objetivos del trabajo.

3.2.2.2 Diseño de experimento

Se usó un diseño de bloques al azar, en donde los tratamientos fueron dispuestos en bloques y distribuidos aleatoriamente, con cinco tratamientos y cinco repeticiones cada uno, totalizando 25 parcelas, con 16 grados de libertad.

3.2.2.3. Diseño de tratamientos

A continuación se detalla la codificación utilizada en este ensayo.

T Sin ningún tratamiento

MS Micorrizas aisladas de agro ecosistema *Glicine max*

MM Micorrizas aisladas de agro ecosistema *Zea mays*

MSF Micorrizas aisladas de agro ecosistemas *Glicine max* + N, P, K

MMF Micorrizas aisladas de agro ecosistemas *Zea mays* + N, P, K

El arreglo de tratamientos fue el siguiente: 1) micorrizas nativas aisladas del agro-ecosistema maíz (*Zea mays*) en una dosis de 1000 esporas por planta. 2) micorrizas nativas aisladas del agro-ecosistema soja (*Glicine max*) en una dosis de 1000 esporas por planta. 3) micorrizas nativas aisladas del agro-ecosistema maíz (*Zea mays*) en la dosis antes mencionada más una fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio. 4) micorrizas nativas aisladas del agro-ecosistema soja (*Glicine max*) en la dosis anterior más nitrógeno, fósforo y potasio. 5) testigo absoluto.

3.2.2.4 Modelo de ANDEVA

a) básico de bloques al azar

Fuente Variación	Grados Libertad
Total	24
Repeticiones	4
Tratamientos	4
E. experimental	16

b) Parcelas divididas en el tiempo

Fuente Variación	Grados Libertad
Total	99
Repeticiones	4
Factor A (tiempo)	3
Error de “a”	12
Factor B (tratamientos)	4
Tiempo (A) x (tratamiento) (B)	12
Error de “b”	64

3.3. Factores estudiados

- ✓ El comportamiento del cultivo de tomate con cada uno de los tratamientos nombrados.
- ✓ La dinámica y eficiencia de las endomicorrizas en la rizosfera del cultivo.
- ✓ La incidencia de los fertilizantes minerales en el cultivo y en los hongos endomicorrizógenos.

3.4. Análisis de la información

3.4.1. Variables de respuesta

3.4.1.1. Tamaño de planta y número de hojas

Se registraron un día antes del trasplante, en floración, fructificación y al finalizar la cosecha.

3.4.1.2. Diámetro del tallo

El diámetro se determinó a la altura de las hojas cotiledonales, se realizaron cuatro evaluaciones: antes del trasplante, en floración, fructificación y al finalizar la cosecha.

3.4.1.3. Número de flores

El número de flores, solo se consideró al inicio de floración, porque después de esta fase se incrementó la masa foliar, impidiendo hacer más evaluaciones fácilmente, de haberlas realizado se pudo haber causado estrés en la planta con la consecuente caída de flores.

3.4.1.4. Peso seco

Se efectuó en floración, cuando el cultivo tenía 45 días de sembrado, se escogieron 10 plantas por tratamiento, las mismas que se secaron a 60°C por 48 horas.

3.4.1.5. Cosecha

Se realizó dos veces por semana, a partir de los 75 días de haber sembrado. Se cumplieron 9 cosechas. Se evaluó el número de frutos y peso por tratamiento.

3.4.1.6. Análisis foliar

Se realizó al momento de la primera floración, es decir, a los 45 días. Para los macronutrientes se empleo el método de Desviación Óptima Porcentual-DOP, (Cadahia, 1998), los rangos de elementos minerales que se escogieron fueron los de Beberly (1991). En el análisis de los

micronutrientes se usó un método tradicional de comparación simple de acuerdo a los niveles sugeridos por Malavolta, 2001 (Anexo 2).

3.4.1.7. Cantidad de Esporas

Se valoraron en el transplante, floración, fructificación y terminada la cosecha, utilizando la metodología cuantitativa de tamizado y centrifugado con sacarosa de Herrera et al. (1986) (Anexo 3).

3.4.1.8. Colonización Micorrízica

Se evaluó en: transplante, floración, fructificación y al final de cosecha, usando la técnica de tinción de raíces con azul de tripano de Herrera et al. (1986) (Anexo 4).

3.4.1.9. Densidad de pelos radicales

Se evaluó en: transplante, floración, fructificación y al final de cosecha, usando la técnica de conteo de raíces de Herrera et al. (1986) (Anexo 5).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. 1. Respuesta de la eficiencia a la inoculación de micorrizas en la fase de desarrollo del cultivo.

4. 1. 1. Altura

La Figura 1 representa la altura de plantas, después de realizado los diferentes tratamientos. En los primeros 30 días sólo se observó diferencia estadística del testigo (T) con los demás tratamientos, habiendo alcanzado un 57 % menos que en las plantas tratadas con MSF que alcanzaron una altura de 28,42 cm. y en MMF 28,41 cm., seguido de MM con 25,8 y MS 25,5 cm.; el de menor tamaño fue para T (sin ningún tratamiento) con 12,3 cm. (Anexo 6), habiéndolo superado el MSF en un 57 %. Resultado que se sustenta con lo afirmado por Barrera (1995) que determina que los periodos iniciales de desarrollo de la planta están dados por el establecimiento de la simbiosis hongo – raíz, en la que atraviesa por una etapa parasítica, en la cual no hay intercambio de metabolitos hacia la planta.

Hay que acotar que los tratamientos MSF y MMF, estuvieron influenciados por la aplicación de fertilizantes químicos a partir de los quince días de sembrado.

Desde los 45 días en adelante las plantas tratadas con MS y MM se vieron beneficiados por las micorrizas al registrar mayor tamaño (Anexo 6), con una tasa de crecimiento, a partir de los 30 días hasta finalizar la cosecha, de 1,12 cm/día promedio. En cambio en los tratamientos con aplicaciones de fertilizantes se registró un crecimiento de 0,84 cm./día, seguido del testigo con 0,67. Habiéndose determinado diferencia estadística ($p < 0.05$) entre los tratamientos (Anexo 19) se puede observar en el anexo 22 que la diferencia se presentó entre grupos tratados con micorrizas mas fertilizante y con los que solo se les aplicó micorrizas al igual que con el testigo.

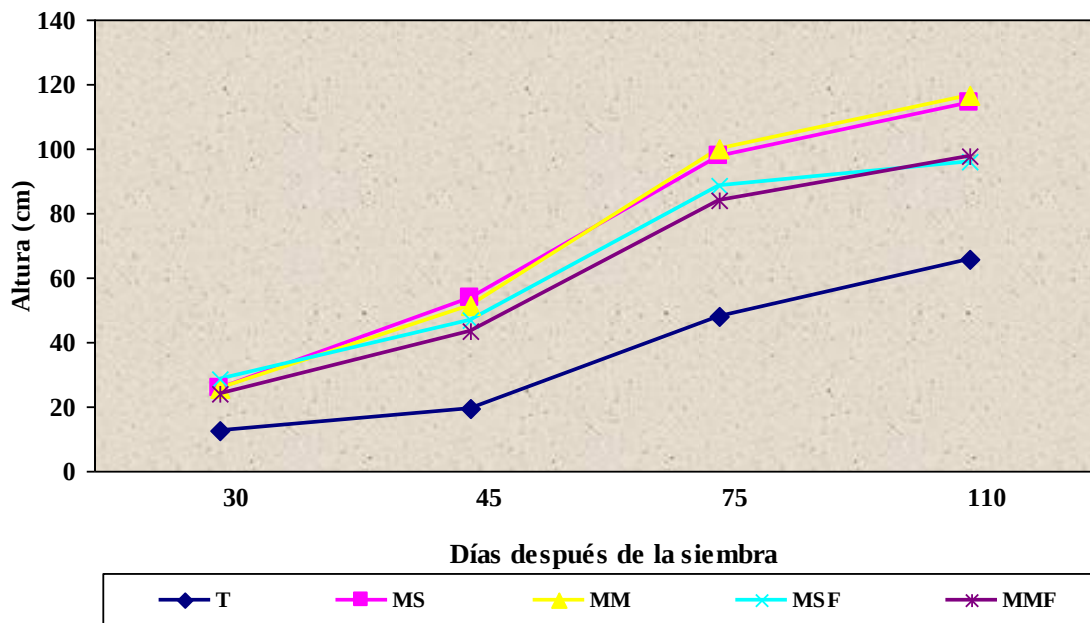


Figura 1. Altura de planta en diferentes ciclos del cultivo. UCCPI. ITAV. UG. Vinces, 2004.

El acoplamiento de los simbiontes se realizó en los primeros 30 días del ciclo de la planta. A partir de esta etapa la planta recibió el beneficio de las micorrizas, lo que se hace notorio por la elongación de las células. Respuesta que se sustenta con lo expresado por Bonfante y Perotto (1995), Collings y Pflieger, (1992). Establecido el mutualismo se produce un rápido desarrollo del vegetal, puesto que los hongos MA se constituyen en un intermediario entre la planta y el suelo, facilitándole a estas la absorción eficiente de agua y nutrientes.

La afirmación de Sánchez (1999) es válida para confirmar el proceso químico en esta investigación, cuando dice que, el suministro de carbohidratos y de nutrimentos minerales entre ambos, contribuyen a mejorar el crecimiento de la planta.

4. 1. 2. Número de hojas

En esta variable no se presentó diferencia estadística ($p < 0.05$) entre las parcelas tratadas, pero sí de éstas con el testigo (anexo 22). La mayor intervención de las micorrizas se observó entre los 45 y 75 días (Anexo 7), donde se registró una activa producción foliar (Fig. 2) En promedio, durante esta etapa, la planta emitió una hoja cada 2,7 días.

Desde el inicio, el testigo presentó retardos en su germinación y crecimiento. En las hojas se detectó un problema de *Alternaria* y para su control se emplearon fungicidas botánicos. Por ser un hongo ascomiceto se pudo haber hecho aplicaciones de fungicidas específicos como los benomilos, pero se los descartó porque impiden la colonización de micorrizas (Silveira, 1992) es decir, se corría el riesgo de influir en la investigación.

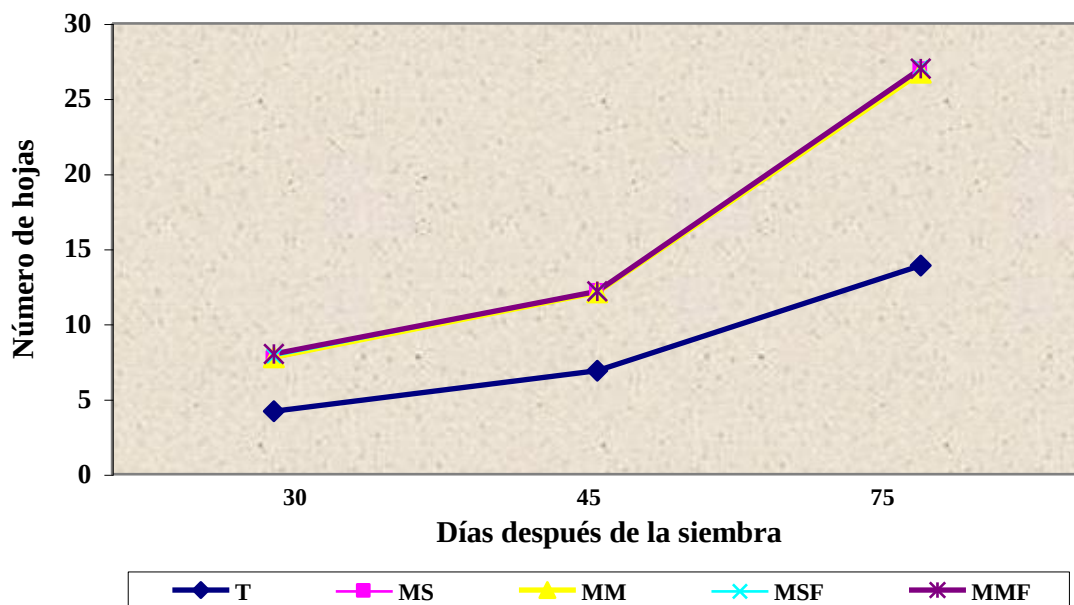


Figura 2. Número de hojas en las principales etapas vegetativas. UCCPI. ITAV. UG. Vines, 2004.

A pesar de que no se midió el área foliar, usualmente se apreció que las plantas tratadas con fertilizantes químicos presentaron mayor biomasa e intensidad en el color. En los tratamientos con micorrizas solas y el testigo ésta característica fue menor.

4. 1. 3. Diámetro del tallo

Se determinó alta diferencia estadística ($p < 0.05$) entre los tratamientos (Anexo 19). MSF y MMF fueron los que presentaron un mayor diámetro del tallo (Anexo 8) con 1,31 cm, pero no registraron diferencia entre ellos (Anexo 22) En cambio MM y MS llevaron un engrosamiento más lento con un promedio de 1,16 cm, es decir con un 11,45 % menos. El testigo con un 50 % inferior con relación a los tratamientos con micorrizas puras, apenas, llegó a 0,59 cm de grosor. Los resultados anotados concuerdan con Pinochet et al. (1997) que sostienen que el grosor de una planta testigo frente a plantas inoculadas con *Glomus intraradice*, éstas últimas pueden superar hasta en un 40 %. Al final de la cosecha se pudo evidenciar que los tallos se hicieron más delgados.

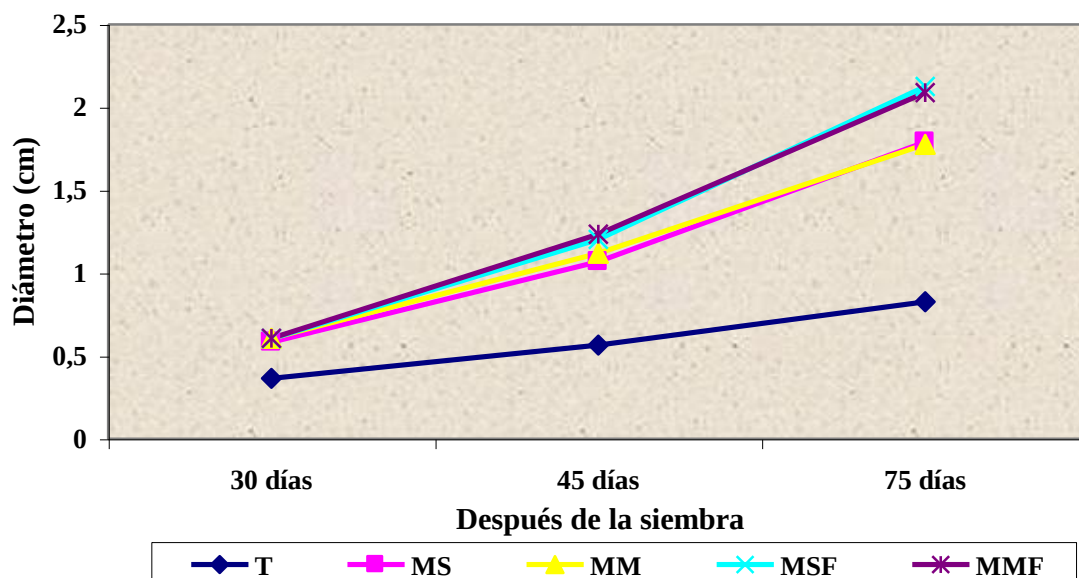


Figura 3. Diámetro del tallo en las etapas de trasplante, floración y fructificación. UCCPI. ITAV. UG Vincennes, 2004.

Los resultados (figura 3) demuestran que aún en floración los tallos siguen aumentando de diámetro, lo que evidencia que las plantas continúan absorbiendo nutrientes activamente después de la etapa fenológica de desarrollo vegetativo.

4. 1. 4. Número de flores

Los tratamientos con micorrizas solas iniciaron la floración 5 días antes que los tratados con ellas, más fertilizantes. El testigo lo hizo 10 días después de estos últimos. Es importante resaltar que los datos fueron tomados sobre la base de esta diferencia.

Los tratamientos MS, MM no mostraron diferencia estadística ($p < 0.05$), pero sí con relación a las combinaciones de estos con fertilizantes y el testigo. Tampoco se observó diferencia en MSF con MMF (Anexo 22). En los tratamientos con micorrizas solas, presentaron un promedio de 19,35 unidades de flores. En las combinaciones fue 15,45 u y en el testigo 8,6 u (Anexo 9). Se demuestra que frente al testigo los primeros lo superaron en un 55,56 % y los segundos en un 44,34 %. Las micorrizas solas tuvieron valores superiores a los tratamientos combinados con fertilizante en un 20,16 %.

Sánchez (1999) dice que las plantas inoculadas registran una estrecha relación con el estado nutricional de la planta y posiblemente con su balance hormonal, razón por la que en un experimento realizado en el cultivo de *Capsicum annuum* se registró una floración temprana con menos caída de flor con relación a plantas no micorrizadas, confirmando lo sostenido en el párrafo anterior.

4.1.5. Peso fresco

En el peso fresco foliar, estadísticamente existió diferencia entre los tratamientos tal como se puede comprobar en el Cuadro 19 del anexo, pero esta sólo se dio entre el testigo y los restantes tratamientos.

En el peso de las raíces la diferencia se dio igual que el caso anterior. El testigo alcanzó 8,59 g diferenciándose del promedio que obtuvieron MSF y MMF en un 64,26 % menos y de MS y MM en un 63,52 %. Como se puede observar en el Anexo 10 los mayores pesos los tuvieron las plantas con fertilización mineral con un promedio de 24,06 con relación a 23,56 de las plantas con solo micorrizas.

Cuadro 2. Promedio y desviación estándar de peso fresco y seco de la planta de tomate (g) a los 45 días. UCCPI. ITAV. UG Vinces, 2004.

Tratamientos	PF tallo	PF raíz	PS tallo	PS raíz
T	21,50 ± 1,19 b	08,59 ± 0,50 b	2,56 ± 0,23 b	1,14 ± 0,09 b
MM	45,96 ± 5,46 a	23,42 ± 2,78 a	8,43 ± 1,43 a	4,13 ± 0,46 a
MS	47,93 ± 1,64 a	23,70 ± 0,74	8,50 ± 0,75 a	3,82 ± 0,31 a
MSF	46,21 ± 2,61a	23,74 ± 1,33 a	8,51 ± 0,77 a	3,98 ± 0,41 a
MMS	47,50 ± 5,68 a	24,35 ± 2,86 a	8,44 ± 1,11 a	4,15 ± 0,59 a

Letras iguales en una misma columna, no difieren estadísticamente, según la prueba de tukey 5 %.

4.1.6. Peso seco

En la estructura foliar seca no se mantuvo la misma tendencia que la fresca. Los mayores pesos en gramos los consiguieron los experimentos tratados con solo micorrizas con un promedio de 8,48 frente a los combinados que lograron 8,46. En el Cuadro 2 se aprecia solo diferencia estadística del testigo con los tratamientos micorrizados.

En el peso seco de la raíz estadísticamente ($p < 0.05$) (Anexo 19), la diferencia se da entre el testigo y los demás tratamientos (Cuadro 2) (Anexo 22). Entre los ensayos micorrizados los pesos (g) más bajos los obtuvieron los tratamientos con micorrizas solas, 3,97 esto es 2,35% menos con relación a plantas micorrizadas más NPK, que adquirieron 4,07. La relación tallo/raíz en plantas micorrizas fue 2,13 y en micorrizas combinadas con fertilizantes 2,08.

Los efectos anotados probablemente se deban a que el aporte de nutrientes por parte del micelio micorrízico ejerce sobre la parte aérea de la planta una regulación de retroalimentación de la fotosíntesis en sí misma y sobre la traslocación de los fotosintatos, localizándose un menor número de éstos en la raíz, conllevando a obtener un menor peso, datos confirmados por Silveira (1992); Gianninazzi et al. (1991).

La presencia de micorrización se considera inversamente proporcional a la de los pelos radicales, a mayor presencia de las primeras los segundos disminuyen y consecuentemente el peso radicular también, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en esta investigación.

4.2. Estimación de la eficiencia de absorción de nutrientes con relación a la aplicación de micorrizas.

4.2.1. Contenido de nutrientes

Los tratamientos presentaron limitaciones en el siguiente orden: nitrógeno, fósforo, potasio, calcio; con excepción del tratamiento MMF que siguiendo el mismo orden invierte el fósforo por el nitrógeno y no presentó deficiencia de calcio (Anexo 11). De esta manera se determinó que ninguno de los elementos en los tratamientos a los 45 días fue capaz de alcanzar los niveles adecuados, no así el magnesio que sí lo hizo.

Cuadro 3. Media y desviación estándar del contenido de macronutrientes en la hoja de la planta de tomate en la etapa de floración. UCCPI. ITAV. UG. Vines. 2004.

Tratamientos	N	P	K	Ca	Mg	S
T	0,852 ± 0,079	0,240 ± 0,010	2,208 ± 0,168	1,568 ± 0,089	0,392 ± 0,025	0,564 ± 0,121
MS	0,930 ± 0,098	0,252 ± 0,018	2,226 ± 0,196	1,648 ± 0,247	0,402 ± 0,064	0,582 ± 0,149
MM	0,946 ± 0,128	0,282 ± 0,033	2,366 ± 0,198	1,620 ± 0,141	0,430 ± 0,056	0,618 ± 0,078
MSF	0,968 ± 0,061	0,26 ± 0,042	2,272 ± 0,315	1,628 ± 0,079	0,518 ± 0,242	0,572 ± 0,067
MMF	2,740 ± 0,470	0,284 ± 0,027	3,290 ± 0,324	2,132 ± 0,444	0,776 ± 0,135	0,364 ± 0,059

Estadísticamente los elementos nitrógeno, potasio, calcio y magnesio presentaron diferencias significativas entre MMF y el resto. La mayor concentración de los minerales nombrados se observaron en el tratamiento con micorrizas del agro ecosistema maíz más NPK. El fósforo no marcó diferencia estadística (Anexo 23).

En el análisis de los micronutrientes se usó un método tradicional de comparación simple de acuerdo a los niveles sugeridos por Malavolta (2001).

Los minerales Zn, Cu, Fe y Mn no alcanzaron los niveles recomendados en ninguno de los tratamientos por lo que se los determinó como deficientes, con excepción del tratamiento MMF en que el Zn alcanzó los niveles adecuados y el Fe y Cu niveles excesivos, inclusive este ultimo superó el nivel apropiado en cuatro veces, lo que podría causar un desequilibrio en las relaciones de nutrientes. El hierro además presentó una alta desviación estándar entre y dentro de los tratamientos. El boro fue el único elemento que obtuvo los niveles adecuado en todos los tratamientos (Anexo 12).

Estadísticamente se presentó diferencia en el Zn, Cu, Fe y Mn, pero no en el B (Anexo 20). La diferencia se dio entre el tratamiento MMF que fue el que más concentración de microelementos registró y los restantes tratamientos (Anexo 23).

Cuadro 4. Media y desviación estándar del contenido de micronutrientes en la parte aérea de la planta de tomate en la etapa de floración. UCCPI. ITAV. UG. Vines. 2004.

Tratamientos	Zn	Cu	Fe	Mn	B
T	27,80 ± 2,58	4,80 ± 1,30	293,00 ± 165,50	75,80 ± 22,09	57,20 ± 6,83
MS	30,60 ± 3,71	5,00 ± 1,00	346,80 ± 54,14	69,60 ± 14,18	63,00 ± 6,74
MM	30,40 ± 2,07	5,60 ± 1,14	456,60 ± 167,15	72,00 ± 19,30	57,20 ± 11,43
MSF	30,80 ± 6,64	5,20 ± 0,83	368,40 ± 48,31	74,20 ± 16,23	61,40 ± 12,77
MMF	76,80 ± 8,81	43,60 ± 5,72	572,80 ± 201,23	142,20 ± 33,42	58,60 ± 22,63

En el cultivo en ensayo, de forma general ninguno de los tratamientos llegó a obtener todos los niveles de elementos nutricionales sugeridos por los expertos. Esta novedad se la puede aducir a la ruta metabólica del cultivo en estudio que se la identifica como una planta C₃, donde el mecanismo de asimilación, acumulación y utilización de los nutrimentos es diferente a una C₄ (Baligar et al., 1997). En la que la mayor acumulación y proceso de traslocación de nutrientes se da en floración, en cambio en una C₃, aún en el transcurso de la etapa de floración sigue absorbiendo nutrientes.

Además, debe considerarse que las plantas con producciones precoces, como en este caso, comienzan a formar los primeros primordios florales a partir de los 35 días y 8 días después se abren. Durante este tiempo, ella, recién ha cruzado por un periodo de estrés causado por el trasplante, razón por la que tampoco le va a permitir absorber y trasladar a un ritmo normal los nutrientes

Compartiendo una alternativa que menciona Malavolta (2001) en el libro Fertilidad de los Suelos, los análisis foliares para el cultivo de tomate deben realizarse cuando tengamos el primer fruto maduro, de otra forma lo mas aconsejable es que se establezcan curvas de absorción de nutrientes en la zona y cultivo de interés.

4.3. Comportamiento de los hongos micorrizicos a través del ciclo productivo del tomate.

4.3.1. Número de esporas y sus fluctuaciones

Estadísticamente establecidas las diferencias tanto en el tiempo como en la experimentación (anexo 21) en la Figura 4 se observa que los tratamientos que mayor número de esporas presentaron por cada 100 gramos de suelo seco fueron MM y MS con una media, a lo largo del tratamiento de 489 y 463 u, mostrando una diferencia significativa ($p < 0.05$) con MSF, MMF y T que lograron 413, 393 y 42 unidades respectivamente (Anexo 24). El testigo a pesar de no haber sido inoculado mostró cierta cantidad de esporas, infiriéndose que fueron acarreadas por las labores de labranza en el cultivo.

Los resultados obtenidos hacen presumir que como el suelo donde se instaló el ensayo fue sometido, por varios años, a la siembra de hortalizas, quedaron residuos de pesticidas produciéndose una contaminación que impidió que las hifas puedan germinar normalmente y por consiguiente bajará drásticamente el número de esporas, salvándose sólo las más resistentes, tal como se indica en trabajos realizados por Bastidas et al. (1993) en los que suelos sometidos a altas aplicaciones de

insumos redujeron las poblaciones de esporas. Debe considerarse, también, que este cultivo tiene una gran demanda hídrica hasta inicios de su cosecha. Sobre este particular Guerrero et al. (1996) sostiene que la humedad parece ser un factor limitante, en cambio el estrés hídrico dispara la esporulación. La presencia de hongos micófagos pudo haber sido otro motivo.

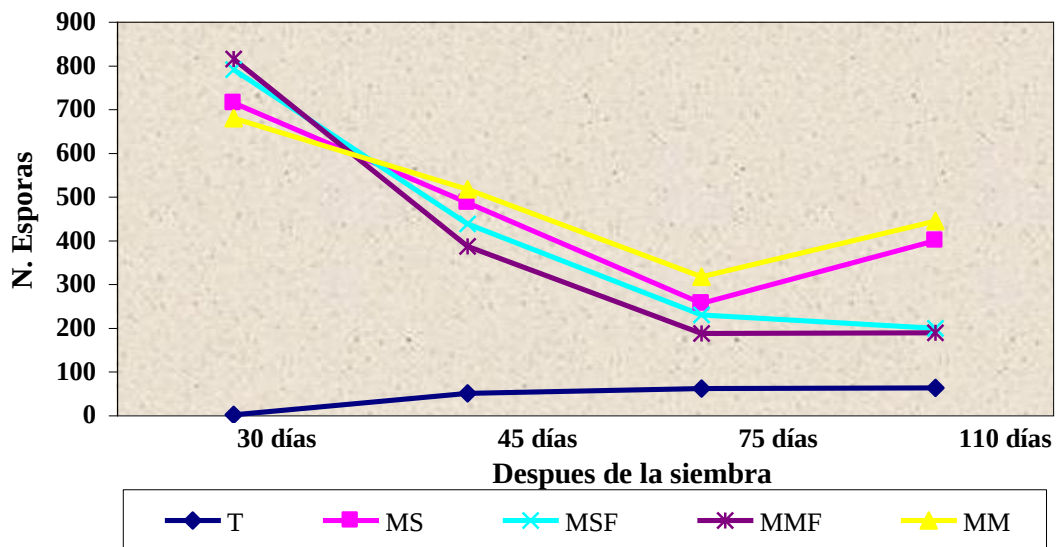


Figura 4. Fluctuación poblacional de esporas de micorrizas en el transcurso del cultivo de tomate. UCCPI. ITAV. UG Vines, 2004.

En la siembra se inocularon 1000 esporas, las cuales fueron disminuyendo en las etapas de trasplante, floración y fructificación (Anexo 14). Considerando las medias ajustadas, este fenómeno se presentó en un descenso del 40, 63 y 79 % respectivamente. Al final de la cosecha se observó una resurgencia en el número de esporas, pero sólo en los casos de MS y MM (Figura 4) que a pesar de ser numéricamente mayor que en la fructificación no presentaron ningún nivel de significancia ($p < 0.05$) con un incremento del 19 %.

En este trabajo debe resaltarse la importancia de la restauración “en parte” de la microbiota del suelo; al instalarse el ensayo el terreno tenía una carga micorrizica de 120 esporas por cada 100 g de suelo seco y concluida la experimentación se incrementó en un 115 %.

La producción de esporas se inició una vez que el hongo alcanzó su nivel máximo de colonización. Según el INVAM (2002) debió haber comenzado antes, pero sin duda no lo hizo por razones anotadas en acápite anteriores. Investigaciones del mencionado Instituto han demostrado que la esporulación se realiza cuando el hongo adquiere un volumen grande de biomasa dentro de las plantas hospedantes, esto ocurre, aproximadamente, a las 2 o 3 semanas de iniciada la colonización micorrízica. Este proceso depende directa e indirectamente de la fisiología del hospedero y continúa mientras la raíz se mantenga en activo crecimiento.

En este experimento, a pesar de haberse detectado una colonización a los 15 días, la esporulación se mostró al final de la cosecha, es decir que pudo haber sucedido en el transcurso de la producción. Al respecto, dice Giovannetti (1985) que la cantidad de esporas presentes en un suelo puede aumentar conforme la planta madura o después de la floración, y de acuerdo a condiciones ambientales del suelo (Guerrero et al., 1996) está teoría es la que más se acerca a lo sucedido en el experimento.

Las parcelas tratadas con fertilizantes químicos presentaron un detrimento en el nivel de esporas, no observándose esporulación en ninguna de las épocas. Con relación a este resultado podemos decir, que muchos trabajos han evidenciado un efecto negativo en la micorrización en condiciones de altas concentraciones de fósforo, nitrógeno y potasio (Honrubia et al., 1992).

4.3.2. Porcentaje de densidad micorrízica y fluctuaciones en el tiempo

El experimento se instaló en el campo con un promedio de densidad micorrízica para los micosimbiontes solos de 14,15 % y 11,57 % para las combinaciones con NPK. Estos valores pueden ser considerados como medios si se tiene en cuenta que los valores más altos encontrados por este método de evaluación fluctúan entre 20 y 30 % (INVAM, 2002).

Se determinó una alta diferencia estadística en los tratamientos y a través del tiempo (Anexo 21), El testigo a pesar de haber registrado esporas en su rizosfera, éstas no fueron capaces de infestar ni competir (Anexo 15) razón lógica para haberse observado una alta diferencia estadística ($p < 0.05$) con relación al resto de los tratamientos (Anexo 24).

Se observó una raíz densamente colonizada en los tratamientos MM y MS, que no presentaron diferencia estadística ($p < 0.01$) entre ellos, 19,35 % frente a 19,01 % respectivamente. Las infecciones entre MSF Y MMS fueron similares 9,97 y 9,48 (Anexo 24), evidenciando una diferencia del 49 % con relación a los anteriores. En este caso el efecto de la colonización se ve claramente influenciado por la presencia de los fertilizantes.

En la simbiosis, no es de esperarse efectos positivos a medida que se tengan altos niveles de fertilización (Arines, 1991) De manera que si es de moderada a baja favorece su establecimiento y función (Azcón et al., 1997) Contrariamente Paz et al. (1997) dicen que se han realizado aplicaciones de hasta 297 kg/ha de fósforo en Morera (*Morus indica*) sin que inhibiera la infección en dicho cultivo. De ahí que la situación podría estar generada por el tipo del cultivo, las condiciones de suelo y las cepas estudiadas.

En los resultados de este ensayo a través del tiempo (Anexo 15) MM y MS van subiendo su tasa de colonización dentro de la raíz hasta llegar a un pico máximo a inicios de fructificación de 25,5 y 25,3 % respectivamente y luego comienza a descender hasta el final de la cosecha; En MSF y MMF el mayor porcentaje de colonización se ubica en floración, con promedios de 13,63 y 12,77 % para ir bajando en las etapas subsiguientes. El efecto de los fertilizantes como el nitrato de potasio y el súper fosfato triple que fueron aplicados en la etapa de floración pudieron haber sido las causas que indujeron a la reducción drástica de la colonización. Obsérvese en la figura 6 que la ruta de colonización de los tratamientos es diferente.

Se presentó una colonización temprana, que pudo haberse generado por exudados radicales, estímulos bióticos, condiciones óptimas físico-químicas del suelo, técnica de inoculación o simplemente por la capacidad bio-sintética de la espora para formar el micelio. De acuerdo a los resultados obtenidos por Afek et al. (1990) la colonización por hongos micorrizogenos en pimiento, comienza entre tercero y sexto día después de la inoculación. Transcurridos 21 días la raíz se encuentra colonizada entre el 10 y 13 %. En otras investigaciones se han registrado diferencias en porcentajes de infección, dependiendo de las variedades y el inóculo.

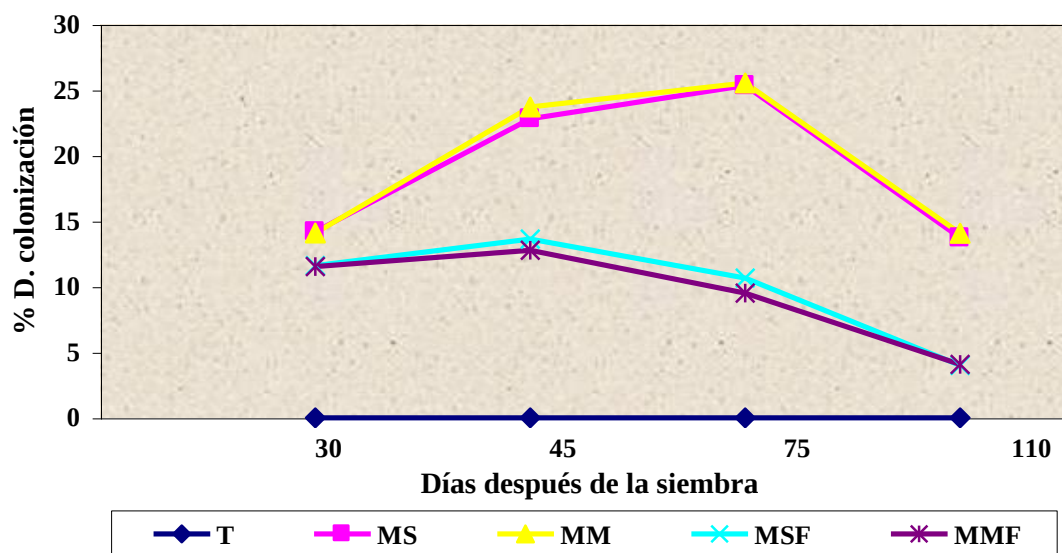


Figura 5. Densidad de colonización de micorrizas en raíces de plantas de tomate en cuatro etapas del cultivo. UCCPI. ITAV. UG Vines, 2004.

En este trabajo se determinó que con el envejecimiento de la planta bajó la colonización. En relación a este resultado el INVAM (2002) dice que el hongo deja de colonizar tan pronto como las raíces dejan de crecer, esto es concomitante a la terminación del flujo del carbono por parte de las plantas.

4.3.3. Porcentaje de raíces colonizadas

La diferencia estadística de esta variable ($p < 0.05$) entre y dentro de tratamientos se presentó de la misma forma que la densidad de colonización (Anexos 15, 24). Como se puede observar en los resultados representados en la figura 6, la cantidad de raíces colonizadas no fueron similares con el porcentaje de la densidad de raíces colonizadas. Este análisis es importante de diferenciar, en el primer caso se evalúa la cantidad de raíces colonizadas independientemente del espacio que la micorrización ocupe en la raíz. En el segundo caso en cambio vamos a evaluar cuanto ha invadido el hongo dentro de la raíz, aquí va haber mayor eficiencia que en el primero, de allí la variabilidad de respuesta de raíces colonizadas que se da en algunos ensayos aparentemente similares por no diferenciar el uno del otro y no especificar claramente la metodología utilizada para la evaluación.

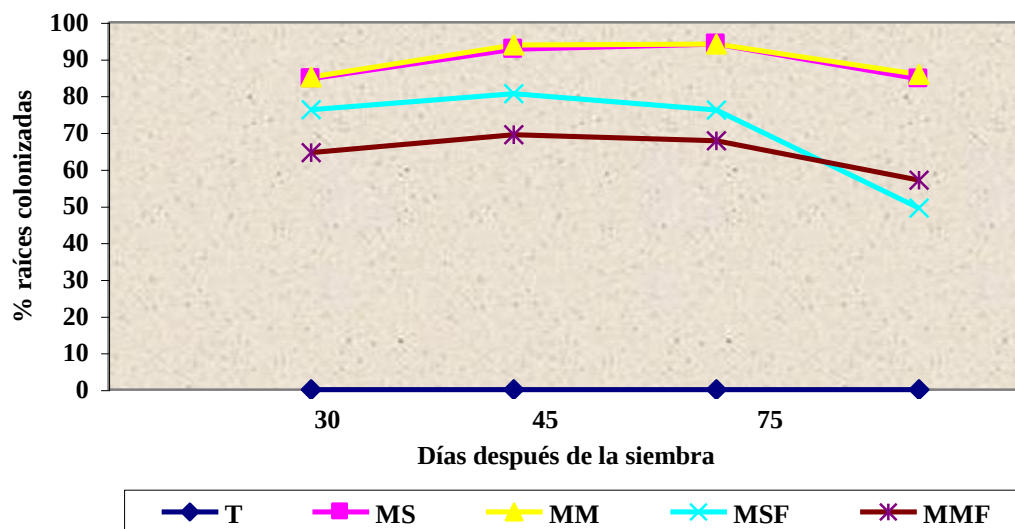


Figura 6. Porcentaje de raíces colonizadas en plantas de tomate en cuatro etapas del cultivo. UCCPI. ITAV. UG Vines, 2004.

En los tratamientos combinados la baja colonización se debe, sin duda, a que los fertilizantes utilizados, especialmente el fósforo, son de rápida asimilación. Sobre el particular Sánchez (1999); Barea et al. (1980) han encontrado que el porcentaje de infección se ve afectado en presencia del P aplicado en campo o invernadero.

4.3.4. Densidad de pelos radicales

El hecho de que una planta, tenga un mayor número de raíces con pelos finos y largos (graminoide) no significa que se nutra más. Todo comportamiento limitado tiene un efecto compensatorio. El sistema radical abundante puede explorar ampliamente una rizosfera y no depende de las micorrizas. Por el contrario, dependiendo de la genética condiciones ambientales, concentración del inóculo, las raíces cortas y gruesas (magniloide) pueden permitir valores altos de infección micorrizica y pueden equilibra la cantidad de nutrientes absorbidos como las primeras (Sánchez, 1999). A lo mencionado debe agregarse “técnicas de inoculación”.

En respuesta con la técnica de inoculación empleada en este ensayo, el tomate alcanzó altas tasas de colonización a pesar de estar dentro de las graminoideas. Se deduce que fue porque las raíces estuvieron cautivas en macetas por 30 días produciendo un acoplamiento obligado de los simbioses.

La densidad de pelos radicales se determinó de acuerdo a las técnicas del INVAM (2002). A los 30 días las plantas lograron una escala para el testigo de 1,949 que las diferenció de los tratamientos con MS y MM que en promedio obtuvieron 3,086 y de MSF y MMF cuyo promedio fue de 3,411 (Anexo 17).

A los 45 días las plantas micorrizadas duplicaron la cantidad de raíces frente al testigo, éste último se lo ubicó en una escala de 2,188 mientras MS y MM obtuvieron en promedio 4,074 y los tratamientos con combinaciones de micorrizas más fertilizantes llegaron a 4,134

En la etapa de fructificación el testigo disminuyó la producción de raíces diferenciándolos aún mas de los restantes tratamientos con una escala de 2,065 mientras que en promedio las plantas micorrizadas llegaron a 4,129 y los tratamientos con mezclas de fertilizantes mas micorrizas obtuvieron 4,186.

Terminada la cosecha se pudo comprobar que la cantidad de raicillas en las plantas había disminuido con excepción del testigo que de 2,065 subió a 2,079, mientras que en promedio las plantas tratadas solo con micorrizas disminuyeron a 3,970, lo mismo sucedió con los tratamientos combinados cuyo promedio fue de 4,02. Al respecto dice Sánchez (1999) que es normal que las plantas, al llegar al final de su producción o en periodos de podas, se liberen de cierto número de raíces.

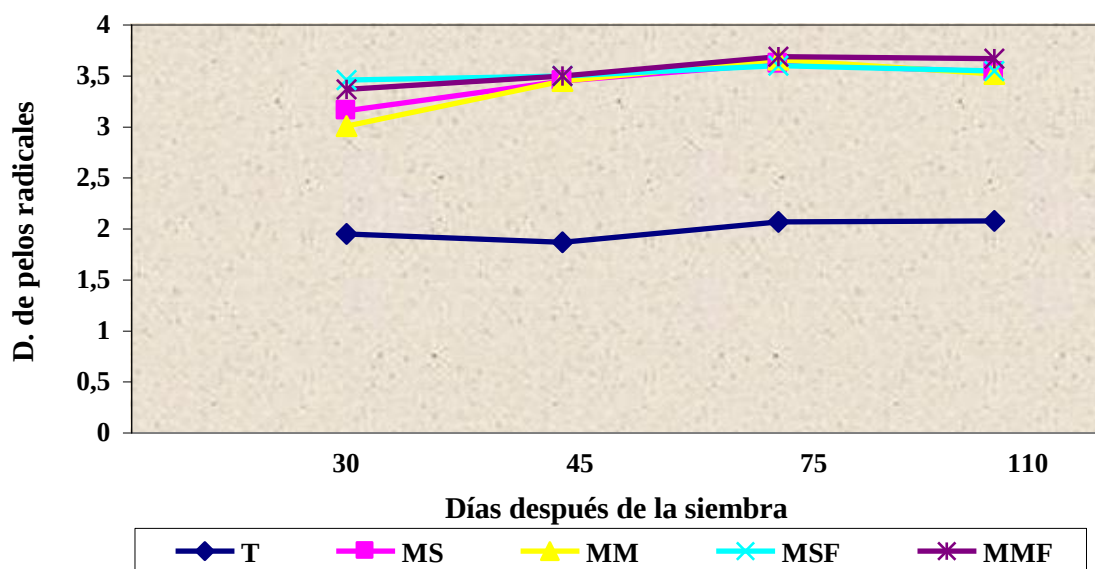


Figura 7. Densidad de pelos radicales en las cuatro etapas fenológicas del cultivo de tomate. UCCPI. ITAV. UG Vines, 2004.

En forma general promediando los resultados obtenidos en cada una de las etapas fenológicas del cultivo, el testigo sin micorrizas logró una categoría de 2,07 (Anexo 24) que le permite clasificarse como una raíz con pocos pelos cortos, este tratamiento se diferenció estadísticamente de los restantes; los resultados, también coadyuvieron, a que la planta no se desarrolle normalmente durante todo el experimento. Las parcelas micorrizadas no presentaron diferencia estadística entre ellas. Las combinaciones de micorrizas y fertilizantes obtuvieron la mayor densidad de pelos radicales con un promedio de 3,94 clasificándolas

como raíces con abundantes pelos finos cortos y largos. A los tratamientos MS y MM se los ubicó en una escala de 3,83 y 3,79 respectivamente.

4.4. Contribución de las micorrizas en la producción de tomate

4.4.1. Producción de frutos

En esta variable los resultados son presentados en términos relativos para su mejor comprensión y análisis. El testigo produjo un 72,45 % menos con relación a su inmediato superior MMF, lo que representa una alta diferencia estadística frente a éste y por ende ante los demás. Cálculo realizado sobre la base del número de frutos/hectárea y frutos/planta (Anexo 18).

Los restantes tratamientos no presentaron diferencia estadística entre ellos. El ensayo con micorrizas procedente del agro ecosistema maíz mas fertilizante mineral fue el que menor cantidad de frutos produjo y se diferenció del tratado con solo micorrizas del agro ecosistema maíz que fue el que más produjo en apenas un 5,61 %, del MSF en un 5,27 % y del MS en 1,12 %.

En cuanto al número de frutos por planta, tampoco existió diferencia estadística entre los tratamientos micorrizados. El promedio entre MM y MS fue de 17,74 frutos y el de MSF, MMF 16,87.

4.4.2 Peso de frutos

El testigo fue el único que se diferenció estadísticamente de los otros tratamientos. Realizado el cálculo sobre la base de Tm/ha, el testigo produjo un 17,64 % menos de lo que produjera el MSF que fue el que más rindió.

Entre los tratamientos simbióticos no se registró diferencia. MS redujo su producción en 1,64 %, MM en 1,04 %, MMF en 0,68 % con relación al que mas toneladas por hectárea obtuvo (MSF).

En cuanto al peso del fruto de igual manera la diferencia se apreció sólo en el testigo que se distanció de su inmediato superior (MM) en un 31,50 %. Este último a su vez obtuvo un peso de 6,59 % menos con relación a MSF que fue el tratamiento con frutos más pesados. Los tratamiento con solo micorrizas procedentes del agro ecosistema soja y de este mas fertilizante, obtuvieron 6,09 y 1,03 % menos peso que el tratamiento (MSF) que fue el que superó a todos.

Resultados parecidos a los obtenidos, se han hecho presente en trabajos experimentales realizados en Cuba, con la utilización de combinaciones de micorrizas en cultivos de tomate, que han logrado incrementar la producción (Gómez, 1997).

De acuerdo a los resultados analizados en los párrafos anteriores, se comprueba que no existe una relación directa entre el peso y el número de frutos. Mientras que MM con la mayor cantidad de frutos/ha obtuvo un peso de 61,48 Tm/ha, MMF en cambio, alcanzó el mayor peso (62,13 Tm/ha) con un menor número de frutos/ha.

Para el análisis correspondiente, se tomó en consideración el tamaño del fruto, presentando solo diferencia el testigo con relación a los otros. Los restantes tratamientos no tuvieron diferencia, pero si se observó en la estructura interna que MM y MS eran menos carnosos.

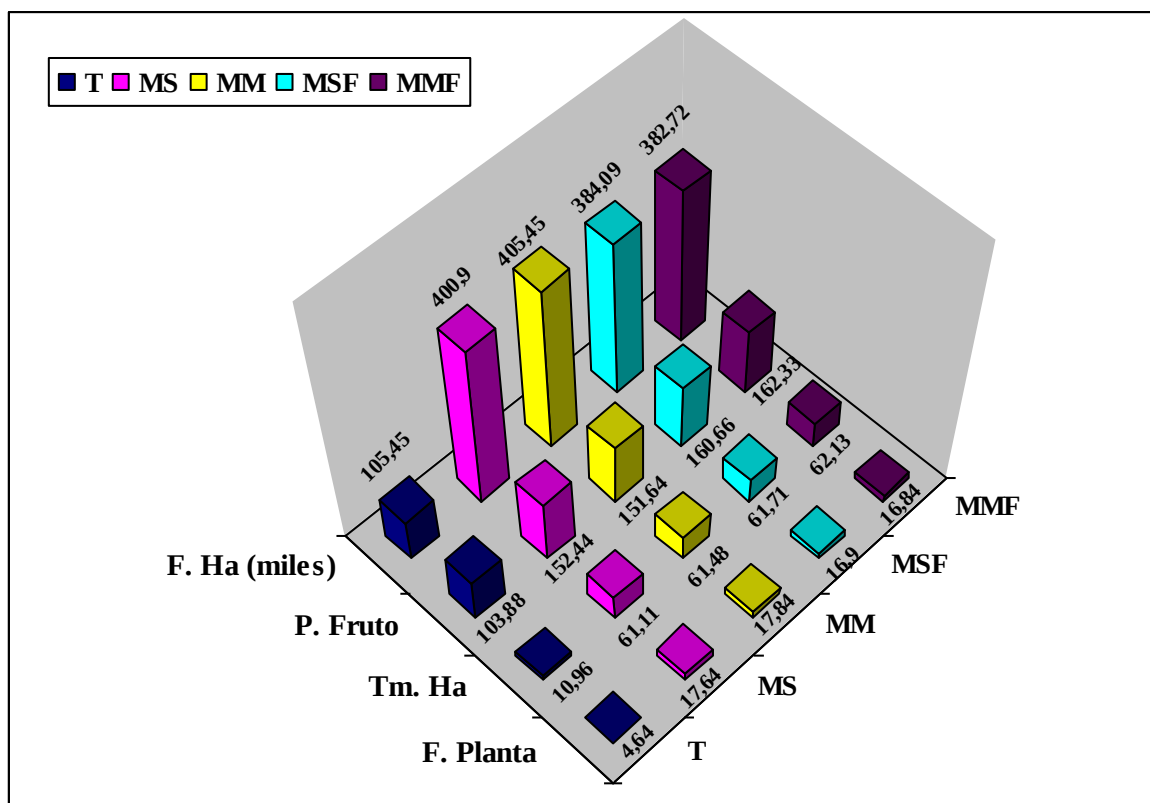


Figura 8. Toneladas métricas por hectárea. Frutos en miles/ha. Peso promedio de fruto. Cantidad de frutos por planta en cada uno de los tratamientos. UCCPI. ITAV. UG Vines, 2004.

El hecho de haber alcanzado producciones comparables entre micorrizas puras y mezcladas con fertilizantes minerales, hacen deducir que las micorrizas son eficientes en poner a disposición de la planta elementos nutricionales que se traducen en producción, además, debe considerárselas en una producción sana y sostenible.

Las plagas que más causaron mermas en la cosecha fueron *Tuta absoluta*, *Prodiplosis longifila* la pérdida presente en los tratamientos con fertilizantes fue de 2 y 11 Tm respectivamente en cada uno de ellos, habiendo diferido significativamente con los tratados con micorrizas que apenas llegaron 0,86 y 3,73 Tm de pérdida.

Las plantas con fertilización mineral obtuvieron un desarrollo de biomasa mucho mayor que las MS y MM, poniéndolas en desventajas frente a las plagas porque éstas encontraron mejores condiciones que les permitió contrarrestar a los diferentes controles que se aplicaron.

De acuerdo a las observaciones de campo, se presume que hubo un desbalance nutricional por exceso de nitrógeno principalmente, que volvió a las plantas más succulentas y apetecidas para los insectos

El exceso de desarrollo foliar, generó un microclima, que produjo el aborto de las flores, incidiendo en un menor cuajado de frutos en los tratamientos con fertilizantes minerales.

Hayman, (1983) manifiesta que aún cuando los porcentajes de colonización puedan ser similares, su efectividad simbiótica puede resultar marcadamente diferente o inversa, es decir que una colonización numéricamente diferente podría ser simbióticamente comparable, que fue lo que sucedió en tratamientos con micorrizas y de estas con fertilizantes.

4.5. Análisis Económico de la producción

4.5.1. Producción de frutos

Comparando los tratamientos con relación a MM que fue el que mayor fruto por hectárea produjo, tenemos: MS dejó de producir 4550 frutos menos (1,12 %), esto equivale a 32,85 cajas (unidad de venta en el mercado local) a un valor de \$ 5 cada una, tendríamos que dejamos de ganar \$ 164,25. MSF redujo su producción en 5,27 % (21360 frutos) que representan 163,4 cajas, que en términos monetarios corresponde a \$ 817,05, que se dejaron de ganar. MMF con un déficit de 5,61% (22730 frutos) que constituye 175,70 cajas que hubiesen generado \$ 878,5.

Finalmente el Testigo redujo su producción en 300000 frutos (74 %) dejando de producir 1484 cajas que podrían haber generado \$ 7420.

4.5.2. Peso de frutos

Haciendo las comparaciones con MMF que fue el de mayor productividad se tiene que: MSF presentó una diferencia de 0,68 %, esto es 420 kg. menos; si multiplicamos este valor por \$ 0,40 (precio referencial de venta) tendríamos \$ 168 se dejó de ganar. MM dejó de producir 650 kg. (1,05 %) por el costo referencial se concluye una pérdida de \$ 260. MS tuvo una baja de 1,64 % (1020 kg.) que equivale a \$ 408. El testigo pudo haber generado \$ 20468 porque su producción se redujo en un 82,36 % (51170 kg.).

El mejor rédito económico se obtendría vendiendo el tomate por peso y no por caja. A continuación se demuestra esta aseveración: En el testigo se ganaría un 59,85 % más, que equivale a \$ 2624/ha. Para los restantes tratamientos el porcentaje de ganancia estuvo en el 40,48 % y en términos monetarios tendríamos: 1) Para MS \$ 9894/ha. 2) MM \$ 9953/ha. 3) MSF \$ 9991/ha y 4) MMF, que fue el que más produjo, \$ 10059/ha. Obsérvese anexos 25, 26, 27, 28 y 29.

4.5.3. Relación beneficio costo

Con relación al Cuadro 5 se puede deducir que la mejor relación beneficio costo fue para los tratamientos (micorrizados) MM y MS con 1,20 y 1,19 respectivamente, lo que significa que se recuperó la inversión y que por cada dólar invertido se ganó \$ 1,20 y 1,19. No obstante, los tratamientos MSF y MMF también alcanzaron buenos beneficios económicos con una relación de 1,10 y 1,07. En el tratamiento testigo la inversión superó a la producción, perdiendo 60 cts. por cada dólar que se destinó a la inversión.

Cuadro 5. Resumen financiero del cultivo de tomate bajo un ensayo de cinco tratamientos con endomicorrizas nativas y un testigo absoluto.

Tratamientos	Rendimiento	Ingreso Venta (kg)	Ingreso Venta (ha)	Costo Producción	Utilidad Bruta	Gasto Financiero	Costo Total	Utilidad Neta	Relación B/C	Rentabilidad (%)
T	10960,00	0,40	4384,00	6875,70	-2491,70	412,54	7288,24	-2904,24	-0,40	-39,85
MS	61110,00	0,40	24444,00	10528,80	13352,63	631,73	11160,53	13283,47	1,19	119,02
MM	61480,00	0,40	24592,00	10538,50	14053,50	632,31	11170,81	13421,19	1,20	120,15
MSF	61710,00	0,40	24684,00	11091,37	14155,20	665,48	11756,86	12927,14	1,10	109,95
MMF	62130,00	0,40	24852,00	11340,00	13512,00	680,40	12020,40	12831,60	1,07	106,75

T = Tratamiento control, testigo absoluto

MS = Micorrizas aisladas de agro ecosistema *Glicine max*

MM = Micorrizas aisladas de agro ecosistema *Zea mays*

MSF = Micorrizas aisladas de agro ecosistemas *Glicine max* + N, P, K

MMF = Micorrizas aisladas de agro ecosistemas *Zea mays* + N, P, K

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

a) Conclusiones

1. Las plantas tratadas con micorrizas se desarrollaron mejor que las nutridas químicamente ya que las micorrizas tuvieron una activa participación en lo referente a número de hojas, diámetro del tallo, peso de biomasa húmeda, peso de biomasa seca y precocidad de floración.
2. En la etapa de floración, ninguno de los elementos minerales alcanzaron niveles requeridos, dentro de los distintos tratamientos.
3. Los niveles de esporulación y colonización se redujeron en presencia de los fertilizantes minerales.
4. El pico máximo de colonización en los ensayos con solo micorrizas se realizó durante la floración, mientras que en los tratamientos con micorrizas más fertilizante el mayor porcentaje de colonización se ubica en pre floración.
5. El aporte de la micorrización en la producción fue del 65% sobre la base del potencial del híbrido, en comparación con los tratamientos combinados que fue del 85%.
6. La mejor relación beneficio costo fue para los tratamientos con solo micorrizas.

b) Recomendaciones

1. Hacer inoculaciones al momento de la siembra.
2. Hacer estudios de combinación de micorrizas con diferentes dosis de fertilizantes orgánicos y minerales, de alta y baja solubilidad, utilizando distintas técnicas de aplicación.
3. Considerar metodologías claras y reconocidas en la evaluación de la eficiencia micorrízica y conteo de esporas, para los procesos experimentales.
4. Evaluar las características físicas químicas y biológicas del suelo antes y después de instalar un ensayo con micorrizas.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Afek, V.; Rinaldelli, E.; Menge, J.; Jonson, E. y Pond, E. 1990. Mycorrhizal species root age and position of mycorrhizal inoculum influence colonization of cotton. *Journal of the Society Horticulture Science. Department of Plant Pathology.* 115(6):938-934.
- Alexander, T.; Meier, R.; Toth, R. and Weber, H.C. 1988. Dynamics of arbuscule development and degenerations in mycorrhizas of *Triticum aestivum* and *Avena sativa*. With reference to *Zea mays*. *New Phytol.* 110:363-370
- Arines, J. 1991. Aspectos físicos-químicos de la fijación y movilización biológica en nutrientes en el suelo y su incidencia en la formación y efectos de las micorrizas VA: Fijación y movilización biológica de nutrientes. Vol. II. Madrid. pp 203-220
- Azcón-Aguilar, C.; Barea, J. 1997. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens: an overview of the mechanism involved. *Mycorrhiza* (6):457-464
- Azcón-Aguilar, C.; García-García, F. y Barea, J. 1991. Germinación y crecimiento anéxico de los hongos formadores de micorrizas vesículo-arbuscular. En: Fijación y movilización biológica de nutrientes. Vol. II. Madrid. pp 129-147.
- Baligar, V.C.; Pita, G.V.; Gama, E.E.; Schaffert, R.E. y Clark, R.B. 1997. Soil acidity effect on nutrient use efficiency in exotic maize genotypes. *Plant Soil* 192:9-13.
- Barea, J.M.; Azcón-Aguilar, C.; Ocampo, J.A. y Azcón, R. 1991. Morfología, anatomía y citología de las micorrizas vesículo-arbusculares. Fijación y movilización biológica de nutrientes. Vol. II. Madrid. pp 149-173.

- Barea, J.H.; Escudero, J.L.; Azcón, C. 1980. Effects of introduced and indigenous VA mycorrhizal fungi on nodulation, growth and nutrition of *Medicago sativa* in phosphate-fixing soils as affected by fertilisers. 54:283-296.
- Barea, J.M.; Jeffries, P. 1995. Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil-plant systems. En: Varma, A y Hock, B. (Edit). Mycorrhiza: Structure, function, molecular biology and biotechnology. Berlín. pp 521-560.
- Barrera, J. 1995. Dinámica del funcionamiento micorrízico. Folleto. 17 p.
- Bastidas, V.; Sánchez, M.; Muñoz, J.E. 1993. Evaluación preliminar de la micorriza vesículo-arbuscular en dos sistemas: pastizal y cebolla de bulbo *Allium cepa* . Acta agronómica. Vol. 43 1:4. Colombia. pp. 84-95.
- Beberly, R.B. 1995. Diagnosis and recommendation integrated system (DRIS). Georgia. Información en línea. Consultada el 10 de Julio del 2002. Disponible en <http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/>
- Bonfante, P.; Perotto, S. 1995. Strategia of arbuscular mycorrhizal fungi when infectin host plants. New Phytol. N° 82. 130:3-21.
- Cadahia, C. 1998. Fertirrigación. Cultivos hortícolas y ornamentales. Mundi Prensa. Madrid. pp 213-230.
- Collins, N.; Pflieger, F. 1992. Vesicular – arbuscular mycorrhizae and cultural stresses. Universidad de Minnesota. pp 71–99.
- Daniels, B. 1984. Ecology of VA micorrhizal fungi. Florida, pp 35-55
- Ferruzzi, C. 1994. Manual de Lombricultura. Mundi - Prensa, Madrid. pp. 47-51.

- Frank, B. 1885. On the root-symbiosis-depending nutrition through hypogenous fungi of certain trees. Translated by J.M. Trappe. En: Molinar, R (edit). Proceeding of the 6th North American Conference on Mycorrhizae, Ben Oregon, USA. June 25-29. 1984. pp. 18-25.
- Fuentes, J. 1997. Curso de Riego para regantes. Mundi - Prensa, Madrid. pp. 23-46.
- Gianinazzi-Pearson, V.; Azcón-Aguilar, C. 1991. Fisiología de las micorrizas vesículo-arbusculares: Fijación y movilización biológica de nutrientes. Vol II. (Fijación de N y micorrizas. Consejo Superior de Investigación Científica. Madrid. 175-185.
- Giovannetti, M. 1985. Seasonal variations of vesicular-arbuscular mycorrhizas and Endogonaceus spores in a maritime sand dune. Mycol. Soc. 84:679-684.
- Gómez, 1997. Biofertilización de diferentes cultivos de interés económico para Cuba. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba. Información en línea Consultada el 22 de octubre del 2001. Disponible en <http://www.inca@reduniv.edu.cu>
- Guerrero, E.; Rivillas, C.; Rivera, E.L. 1996. Perspectiva de manejo de la micorriza arbuscular en ecosistemas tropicales. Fondo para la protección del medio ambiente. Colombia, Bogotá. pp. 185-202.
- Harley, J.; Smith, S. 1983. Mycorrhizal Simbiosis. Academic Press Inc. London and New York.
- Hayman, D.S. 1983. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. Canadian journal of Botany. 61:944-963.
- Herrera, R. 1993. Biofertilizantes. Conferencia en soporte electrónico. Instituto de Ecología y Sistemática. La Habana. pp. 69-70.

- Herrera, R.; Furrázola, E.; Ferrer, R. 1986. Functional strategies of root hairs and arbuscular mycorrhizae in an evergreen tropical forest. Instituto de Ecología y Sistemática. La Habana. 15 p.
- Honrubia, M.; Torres, P.; Díaz, G.; Cano, A. 1992. Manual para micorrizar plantas en viveros forestales. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación-Universidad de Murcia. España, Murcia. 66 p.
- INCA. 2001. Efectos de la Biofertilización con Hongos Micorrizógenos (MA) en el Cultivo de Tomate. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. San José de las Lajas, Cuba. Información en línea. Consultada el 12 de julio del 2001. Disponible en <http://www.inca@reduniv.edu.cu>.
- INVAM. 2002. Internacional culture collection of vesicular and arbuscular mycorrhizal fungi. Species description. Información en línea. Consultada el 12 de julio del 2002. Disponible en <http://invam.caf.wvu.edu>
- Jakobsen, I. 1995. Transport of phosphorus and carbon in VA micorrizas. En: Varma, A y Hock, B. (Edit). Mycorrhiza: Structure, function, molecular biology and biotechnology. Berlín. pp 297-324.
- Koide, R. 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. New Phytol. pp. 380-386.
- Kolmans, E. 1996. La agricultura ecológica como base para un desarrollo rural sostenible. Consideraciones metodológicas. En: Simposio Centro Americano sobre Agricultura Orgánica. Acuerdo bilateral de desarrollo sostenible Costa Rica – Holanda. pp. 329-334.

- Lugo, L. 1988. Efecto de endomicorrizas sobre el crecimiento de musáceas y el biocontrol de *Radopholus similis* (Cobb) Thorne. Costa Rica, Turrialba. pp. 54-102.
- Malavolta, E. 2001. Diagnóstico foliar. En: Silva, F. (Edit). Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. Fertilidad de los suelos, diagnóstico y control. Bogota, Colombia. pp. 57-98.
- Medina, N. 1992. Evaluación de diferentes especies de bacterias y hongos MVA y sus combinaciones como biofertilizantes para el tomate cultivado fuera de época. VIII Seminario Científico del INCA. 38p.
- Morton, J.B.; Benny, G.L. 1990. Clasificación revisada de los hongos micorrízicos arbusculares (Zygomycetes): una nueva orden, Glomales, dos subordenes nuevos, Glomineae y Gigasporineae, y dos nuevas familias, Acaulosporaceae y Gigasporaceae, con un enmendación de Glomaceae. Mycotaxon 37:471-491.
- Morton, J.B.; Redecker, D. 2001. Los caracteres morfológicos y moleculares concordantes reclasifican cinco especies fungicidas micorrhizal arbuscular en los nuevos generos: Archaeospora y Paraglomus, de las nuevas familias Archaeosporaceae y Paraglomaceae, respectivamente. Mycologia información en línea. Consultada el 24 de junio del 2002. Disponible en <http://www.siac.net.co>
- Mosse, B. 1981. Vesicular arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. Bolletin 194. Institute of Tropical Agriculture and human Resources. Hawaii. pp 32-36.
- Paz, N.; Rebolledo, O.; Sánchez, M.; Muñoz, F. 1997. Respuesta de la “morera” *Morus indica* a la inoculación con HMA nativas. Universidad Nacional de Colombia. Palmira. 12 p.

- Pinochet, J.; Fernández, C.; Jaizme, M.; Tenoury, P. 1997. Micropropagated banana infected with *Meloidogyne javica* responds to *Glomus intraradices* and phosphorus HortScience 32(1):100-103.
- Reyes, J. 1998. La materia orgánica y su interés agronómico. pp. 67 - 86
- Ribaudo, C. 1998. Aspectos Bioquímicos de la Asimilación de Amonio en la Asociación de Azospirillum-Maíz. Folleto. 15 p
- Ruíz, J. 2001. Los Fertilizantes y la Fertilización orgánica bajo la óptica de un Sistema de Producción Orgánica. Primer Foro Nacional Sobre Agricultura Orgánica. México. p. 25.
- Sánchez de Prager, M. 1999. Endomicorrizas en Agroecosistemas Colombianos. Colombia, Cali. 227 p.
- _____2001. Las Micorrizas. Ediciones Terranova. 2da edición. Manizales, Colombia. pp 198 – 220.
- Sieverding, E. 1991. Vesicular – Arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. Deutsche Gesellschaft fur techniische Zusammenarbeit. Federal Republic of Germany. 371p.
- Silveira, A. 1992. Microbiología do solo. Sociedad brasileira de ciencia do solo. Brasil, Campinas, pp. 257- 270.
- Siqueira, J; Franco, A. 1988. Biotecnología do solo. Fundamentos e perspectivas. Ministerio da Educacao. Brasilia. pp 125-177.