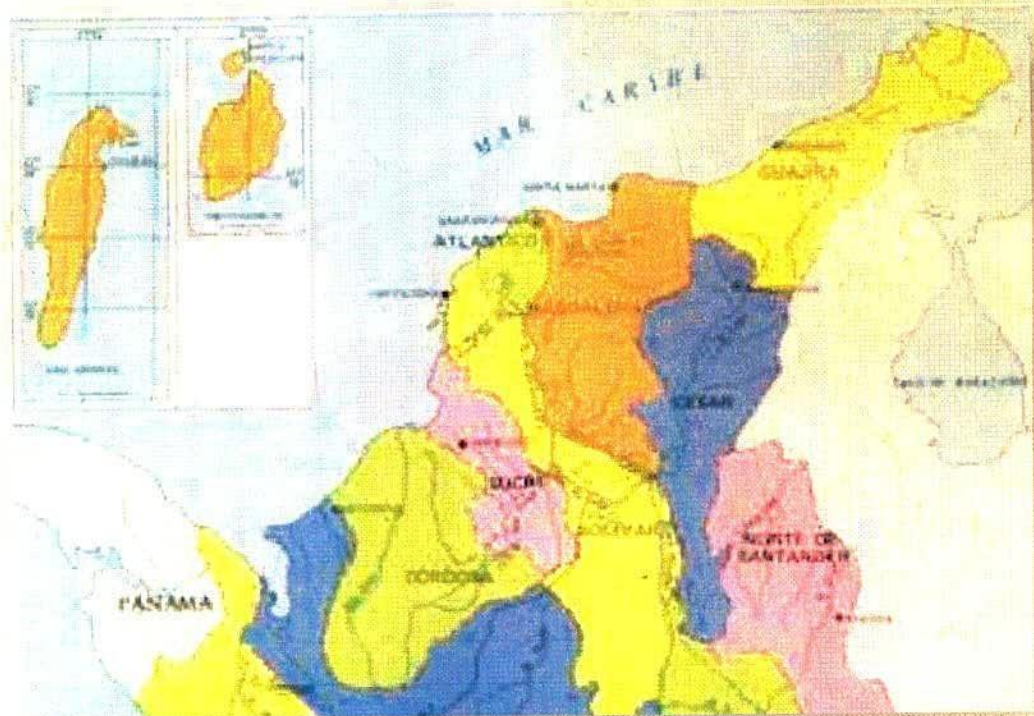


CURSO TALLER

MEMORIA

Cultivo de tejidos, empleando la técnica de multiplicación clonal "In Vitro", para la obtención de plantas sanas de plátano



Turipaná Septiembre 13 y 14 de 2001

25501

61284

MEMORIAS

**CURSO – TALLER: CULTIVO DE TEJIDOS, EMPLEANDO
LA TÉCNICA DE MULTIPLICACIÓN CLONAL IN VITRO
PARA LA OBTENCIÓN DE PLANTAS SANAS DE
PLATANO**

DIRIGIDO A:

PRODUCTORES Y TÉCNICOS VINCULADOS AL PROYECTO

**“Producción y Evaluación de Semilla de Buena Calidad de
Variedades Tradicionales Mejoradas y Promisorias de Plátano
para el Desarrollo Tecnológico y Social de Pequeños y Medianos
Productores de la Costa Atlántica”**

**PROGRAMA NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA
CORPOICA REG. 2, C. I. Turipaná
13 y 14 De Septiembre del 2001**

ORGANIZADORES

PROGRAMA NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

Dr. AMAURY ESPITIA MONTES
Coordinador PBA, Reg 2

Dr. JULIO BENAVIDES BENAVIDES
Coordinador transferencia PBA, Reg 2.

Dra. LILA SARMIENTO BERROCAL
Investigadora

CONFERENCIAS

Dr. JULIO BENAVIDES BENAVIDES
Investigador, CORPOICA, Reg. 2

Dr. AMAURY ESPITIA MONTES
Coordinador PBA, Reg 2

Dr. ANDRES AGUAS AGUAS
Investigador, CORPOICA, Reg. 2

Dr. GLORIA AMPARO CORREDOR
Investigador, CORPOICA, Reg. 1

EMILIO SOTO ENAMORADO
Técnico en informática

13 y 14 De Septiembre del 2001

PERSONAL DE APOYO

GALO GAMERO VILLADIEGO
I.A. Investigador CORPOICA Reg. 2

LUZ ESTELA MARTINEZ MARTINEZ
Auxiliar técnico

NICOLAS BENITEZ PALENCIA
Auxiliar técnico

JARGID GUERRA PALENCIA
Auxiliar técnico

MIGUEL MARTINEZ HERNÁNDEZ
Operario calificado

MONICA PERNETH GALARCIO
Secretaria.

MARLEDIS AVILA ORTEGA
Estudiante de Ing. Agronómica

JAIME E. FRANCO MARÍA
Estudiante de Ing. Agronómica

DIRIS PERNETH PEÑA
Operaria

LILIANA LLORENTE FERNÁNDEZ
Operaria

ANA MARCELA OROZCO LARA
Operaria

MILDRE GOMEZ
Operaria

EVARISTA ROMERO
Operaria

LUIS C. PEREZ
Operario

NEL PERNETH
Operario

LAUREANO GAMERO
Operario

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
OBJETIVO	1
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ECOFISIOLOGIA DEL CULTIVO DEL PLATANO (Musa AAB Simmonds)	2
2.1. Introducción	2
2.2. Ecofisiología del cultivo.	2
2.2.1. La planta de plátano.	2
2.2.2. Factores ambientales	4
2.2.2.1. Latitud	4
2.2.2.2. Altitud	4
2.2.2.3. Radiación solar	4
2.2.2.4. Temperatura	5
2.2.2.5. Requerimiento hídrico	6
2.2.2.6. Humedad relativa	6
2.2.2.7. Vientos	7
2.2.2.8. Componente biótico	7
2.2.3. Factores edáficos	7
2.3. Bibliografía	9
3. MULTIPLICACIÓN CLONAL IN VITRO	10
3.1. Introducción	10
3.2. Cultivo de Tejidos Vegetales	10
3.2.1. Ventajas del Cultivo in vitro	11
3.2.2. Limitaciones del Cultivo in vitro	11
3.3. Técnica inmunoenzimática ELISA	12
3.4. Necesidades Nutricionales de las Plantas	12
3.4.1. Medios de Cultivo	12
3.4.1.1. Sales Minerales	12
3.4.1.2. Reguladores de crecimiento	13
3.4.1.3. Vitaminas	13
3.4.1.4. Carbohidratos	14
3.4.1.5. Agente Gelificante	14
3.4.1.6. Antibióticos	14
3.5. Micropropagación Clonal "in vitro"	14
3.5.1. Organogénesis directa	14
3.5.2. Organogénesis indirecta	14
3.5.3. Embriogenesis somática	14
3.6. Etapas del Cultivo de Tejidos Vegetales	15
3.6.1. Etapa 0	15
3.6.2. Etapa 1	16
3.6.3. Etapa 2	16
3.6.4. Etapa 3	17
3.6.5. Etapa 4	14
3.7. Bibliografía	18

4. ACLIMATIZACIÓN DE VITROPLANTAS DE PLATANO EN LA COSTA CARIBE	19
4.1. Introducción	19
4.2. Principios de la aclimatización (endurecimiento) y crecimiento en vivero de vitroplantas de plátano	19
4.3. Esquema de un prototipo de instalación para aclimatización (endurecimiento y vivero)	20
4.4. Adaptación y endurecimiento de en bancos (invernadero - casa malla) de plátano	21
4.4.1. Presentación de las plantas “ in vitro “	21
4.4.2. Preparación de las plántulas	22
4.4.3. Preparación del sustrato	22
4.4.4. Desinfección del sustrato	22
4.4.5. Transplante	22
4.4.6. Riego, nutrición y manejo de la temperatura, humedad relativa y luz solar	23
4.4.7. Manejo de enfermedades e insectos	23
4.5. Adaptación en fase de vivero	24
5. MICORRIZAS ARBUSCULARES: APLICACIÓN PARA ELMANEJO SOSTENIBLE DE LOS AGROECOSISTEMAS	25
5.1. Importancia y aplicación de las micorrizas arbusculares	25
5.2. Antecedentes científicos y tecnológicos	27
5.3. Beneficios por la aplicación de micorrizas	28
5.4. Importancia del fósforo (P) en las plantas	29
5.5. Como funcionan las micorrizas en la planta	29
5.6. Que es inoculante y como lo vamos a obtener	32
5.7. Bibliografía	32

CURSO – TALLER: CULTIVO DE TEJIDOS, EMPLEANDO LA TÉCNICA DE MULTIPLICACIÓN CLONAL IN VITRO PARA LA OBTENCIÓN DE PLANTAS SANAS DE PLATANO

OBJETIVO

Capacitar de manera integral técnicos de UMATAS y a productores en los métodos de multiplicación clonal in vitro para la producción de semillas sanas de plátano.

1. INTRODUCCIÓN.

Este proyecto busca contribuir a mejorar la competitividad de sistemas de producción modales de medianos y pequeños productores de plátano en la Costa Atlántica, mediante la utilización de semilla de buena calidad, producida "*in vitro*", de variedades tradicionales, mejoradas y promisorias, y el desarrollo de un manejo tecnológico adecuado del cultivo. El proyecto es ejecutado por CORPOICA en sus regionales 2 (Atlántico, Bolívar, Córdoba y Sucre) y 3 (Cesar, Guajira y Magdalena).

Para el desarrollo de este proyecto se tienen como base las técnicas de cultivos de tejidos vegetales planteadas en tres fases: 1). Selección de genotipos tradicionales, promisorios y mejorados para su introducción "*in vitro*", certificación sanitaria y micropropagación, 2). Montaje de pruebas de evaluación y desarrollo tecnológico participativo a nivel local y 3). Montaje de un modelo operativo para la producción local de semillas de buena calidad.

Por lo anterior queremos mostrar estas etapas en forma aplicada para que los pequeños y medianos productores se apropien y apliquen esta tecnología de manera práctica y rápida en sus fincas.

2. ECOFISIOLOGIA DEL CULTIVO DEL PLATANO (*Musa AAB Simmonds*)

Julio R. Benavides B.[®]

2.1. INTRODUCCIÓN.

En Colombia, el cultivo del plátano está distribuido en diferentes pisos térmicos y zonas agroecológicas, que van desde el nivel del mar hasta los 2000 metros de altitud, con temperaturas que varían entre los 17° C y los 35° C. Los principales centros productores están en la región Andina. Otras regiones de importancia para la producción de plátano son: la Orinoquía, la Región Pacífica, la Región Caribe y la Amazonia

En la región Caribe, el cultivo está distribuido en los 7 departamentos ocupando ecosistemas localizados entre la sierra nevada de Santa Marta, la zona bananera del Magdalena, los valles bajos de los ríos Cauca, Magdalena, San Jorge, Alto y bajo Sinú, y algunas planicies y colinas de la costa noroccidental. Las características del cultivo en la región son : manejo en monocultivo como sistema permanente; uso del clon Hartón por su mayor importancia económica. Otros clones como el cachaco y pelipita, se cultivan a nivel de subsistencia. Actualmente se están evaluando varios clones promisorios como el FHIA 21, FHIA 22, FHIA 3 y AFRICA, con excelentes condiciones en algunos ecosistemas.

2.2. ECOFISIOLOGIA DEL CULTIVO.

2.2.1. LA PLANTA DE PLATANO.

El conocimiento de la morfología y la estructura de la planta de plátano son de mucha importancia para efectos de su manejo como cultivo. Lo anterior nos permite comprender las relaciones e interacciones existentes entre la planta y los factores del ambiente en donde se establece, así como los procesos fisiológicos que realiza en las diferentes fases del crecimiento y desarrollo productivo. En general, la planta de plátano consta de las siguientes estructuras básicas.



Figura 1. Planta de plátano de la variedad Fhia 03

[®] I. A., Investigador cooperante. CORPOICA , Regional 2.

- **SISTEMA RADICULAR.** Está compuesto totalmente por raíces adventicias, fasciculadas y fibrosas de consistencia frágil, cuya longitud y grosor depende de la textura y estructura del suelo. Su distribución espacial es de carácter radial - horizontal, ocupando la mayoría los primeros 40 cm de la superficie, aspecto que está influido por factores como la profundidad de siembra, la edad de la planta, el nivel freático y el contenido de materia orgánica entre otros.
- **EL TALLO.** En la planta de plátano este órgano corresponde a un corno subterráneo erecto con ramificación monopódica en cuyo ápice lleva anidado el punto de crecimiento vegetativo o meristemo apical, el cual va rodeado por las bases de las hojas diferenciadas, formando una cubierta protectora.
- **SISTEMA FOLIAR.** En principio, la hoja está compuesta de cuatro partes definidas así:
 1. **Apéndice .** Es un órgano temporal con forma de hilo que va insertado en el ápice de la hoja y se aprecia cuando ella inicia su aparición a través de la última hoja formada.
 2. **Limbo.** La hoja está formada por los dos semi limbos, la nervadura central, las nervaduras laterales y las bandas pulvinares. La hoja es de forma ovalada, con el ápice cónico y la base auriculada . su tamaño es variable en la medida que avanza el crecimiento de la planta hasta el momento previo a la floración..
 3. **Seudopeciolo.** Es la porción de la hoja que une la vaina con la nervadura central, formada aparentemente por una contracción gradual de la sección superior de la vaina
 4. **Vaina.** La vaina es una estructura foliar originada en el tejido meristemático apical del corno, al cual rodean tanto en los nudos basales como en la parte aérea. El conjunto de todas las vainas emitidas por el corno dan origen a la estructura denominada pseudotallo que sirve de soporte al sistema foliar, el tallo aéreo y la inflorescencia.
- **INFLORESCENCIA.** Es la estructura que origina el racimo después que ha cumplido una serie de procesos fisiológicos. También tiene su origen en el tejido meristemático apical del corno y su aparición implica el cese de la emisión de primordios foliares, concluyendo así la fase vegetativa y dando inicio a la fase reproductiva. Al ocurrir la diferenciación floral, se inicia el ensanchamiento y elongación de la parte superior del tallo subterráneo, que se convierte en tallo aéreo llevando en su ápice la inflorescencia a través del pseudotallo hasta colocarlo en el extremo superior de la planta. El tiempo que dura este proceso, es el equivalente a la emisión del 50% del total de hojas formadas en el meristemo apical.
- **FRUTOS.** Después que la inflorescencia ha emergido y tomado la posición vertical paralela al pseudotallo (entre 7 y 10 días en la región Caribe), las brácteas se van levantando y dejando al descubierto los frutos que aparecen en manos dirigidas hacia abajo y que luego van modificando su posición con respecto al eje floral hasta un plano perpendicular a éste. El tamaño de los frutos se incrementa desde el levantamiento de las brácteas y alcanza el máximo entre unas 10 y 12 semanas en la región Caribe.

2.2.2. FACTORES AMBIENTALES

Los factores ambientales, entendidos como: latitud, altitud, temperatura, humedad relativa, radiación solar, precipitación, vientos y componente biótico, son inmodificables directamente por el hombre, y relacionados con los factores edáficos, caracterizan la aptitud de un ecosistema para el crecimiento y desarrollo del cultivo a través del tiempo. En la medida que uno o varios de estos factores tiene incidencia anormal, afecta las interacciones entre ellos, reflejando las consecuencias en el comportamiento del cultivo porque interfiere la actividad fisiológica de las plantas, obligándolas a modificar los procesos que ocurren durante la fase que coincide con la anomalía, efectos que se pueden traducir en disminución de los rendimientos.

2.2.2.1. LATITUD.

Este factor es de alguna manera responsable de la distribución de las especies vegetales en el planeta, contribuyendo a establecer los rangos espaciales donde pueden comportarse con mayor eficiencia fisiológica y productiva en condiciones normales de manejo. Gracias al efecto de la latitud, cada tipo de planta en su lugar, puede disponer de la cantidad de luz solar requerida para cumplir sus procesos, necesitando algunas, mayor número de horas durante el día (días largos), mientras que otras, requieren días cortos, interactuando para definir la duración del ciclo de crecimiento y desarrollo de las plantas, así como su cantidad y calidad de producto, dependiendo de la interacción con los otros factores del clima, del suelo y la planta. Para el cultivo del plátano se ha establecido que puede cultivarse en un rango de 30° de latitud hacia el norte y hacia el sur de la línea ecuatorial, caracterizándolo como un cultivo de tipo tropical aunque tiene amplio rango de adaptación.

2.2.2.2. ALTITUD.

La altitud es un factor del clima que influye sobre la duración del ciclo vegetativo de las especies y para el caso del plátano, la información disponible indica que puede cultivarse desde el nivel del mar hasta los 2000 m.s.n.m., siempre y cuando la temperatura media no sea inferior a los 18° C y la mínima media superior a 15° C.

La región Caribe tiene ventajas sobre la Andina para el cultivo del plátano porque el ciclo vegetativo ocurre en un período más corto. Si nos referimos por ejemplo al clón Hartón, en la zona bananera de Santa Marta, con altitud de 20 m.s.n.m., su ciclo es de 327 días, mientras que en Palmira, a 1001 m.s.n.m., requiere 418 días. En términos generales, para este clón se ha establecido que por cada 100 metros que se modifique la altitud, el período vegetativo varía aproximadamente 10 días.

2.2.2.3. RADIACION SOLAR

La radiación solar es la fuente básica de energía para la actividad fotosintética de las plantas y la producción de alimentos para los seres vivos en la tierra, determinando la temperatura funcional de los procesos fisiológicos. Las plantas interceptan para la fotosíntesis menos del 5% de la radiación solar incidente (constante solar), la cual también afecta el crecimiento y desarrollo. De la energía solar que llega a la tierra, sólo el espectro visible, comprendido entre las radiaciones azul (400 nm.) y roja distante (710 nm.), se considera como radiación fotosintéticamente activa (RFA), es decir, la energía radiante disponible para la actividad de fotosíntesis en las plantas.

En cuanto al cultivo del plátano, aunque éste puede sembrarse en condiciones variadas de radiación solar, para que las plantas y los racimos se desarrollen normalmente, requieren de alta RFA, factor determinante para la emisión y crecimiento de nuevos brotes; por lo que al establecer un cultivo, se deben considerar los criterios de densidad poblacional y la ejecución oportuna de labores para permitir a las plantas, captar la radiación solar requerida, puesto que ella es determinante en los procesos de llenado del racimo, especialmente en los períodos de menor incidencia. En cambio, durante los períodos de mayor incidencia de radiación solar, por de insolación, se pueden afectar el ráquis y los dedos del racimo, presentando quemaduras en la curvatura (ráquis) y decoloración en los plátanos que adquieren una tonalidad amarillenta, llegando al caso de sufrir necrosis.

La captación de radiación solar por una hoja está influida por su tamaño, la forma, la edad, el ángulo de inserción sobre el tallo, separación vertical, y arreglo horizontal (Yoshida, 1972). El ángulo de inserción es importante en la producción, pues de él depende la exposición de las hojas a los rayos solares y la distribución más uniforme de la luz a través del dosel vegetal, determinando que la actividad fotosintética sea más eficiente en los estratos medio e inferior de la planta (Cayón, 1992). En cultivos permanentes como el plátano, las hojas superiores sombrean a las inferiores, de manera que la RFA incidente es absorbida más eficientemente por las hojas superiores, mientras que las inferiores, por recibir menos radiación solar, presentan tasas fotosintéticas más bajas.



Figura 2. Efecto de la luz solar en la coloración de las hojas.

2.2.2.4. TEMPERATURA.

Este factor está correlacionado con la altitud, la radiación solar y los vientos. La temperatura reviste gran importancia porque influye directamente sobre los procesos respiratorios y fotosintéticos de la planta en cuanto tiene que ver con la velocidad de ellos, así como lo hace sobre la duración del ciclo vegetativo.

Por efectos de la temperatura, a nivel nacional se han establecido cinco pisos térmicos, y entre ellos, los denominados medio y cálido, con temperaturas en el rango de 18 a 22^a C y

de 22 a 38° C, respectivamente, se consideran los mejores para cultivar los cinco clones de plátano más conocidos. Sin embargo, atendiendo puntos de vista relacionados con comercialización y temperatura óptima requerida, dichos clones podrían zonificarse así: Dominico y Dominico - Hartón para clima medio con temperatura media de 22° C y Hartón para clima cálido con temperatura media de 29° C.

La temperatura influye sobre la duración del ciclo vegetativo, retardando o acelerando el ritmo de los procesos fisiológicos. En condiciones de temperatura baja, la emisión foliar es lenta, así mismo la división celular en el meristemo de crecimiento se retarda, reduciendo el desarrollo y el rendimiento anual, aun cuando no sean afectados el tamaño del fruto y su calidad. Sin embargo, temperaturas en extremos bajos pueden alterar la morfología de las hojas y los frutos (Simmonds, 1973).

2.2.2.5. REQUERIMIENTO HIDRICO.

El agua como sustancia que interviene en las reacciones bioquímicas que ocurren en la célula, es de importancia vital para los procesos fisiológicos de las plantas. Los requerimientos hídricos del cultivo, están relacionados con la variedad, la radiación solar diaria, la densidad poblacional, la edad de la plantación y la superficie foliar transpirante. La planta de plátano necesita de suficiente humedad en el suelo para cumplir los procesos de crecimiento y desarrollo productivo. La planta reacciona de manera sensible frente a situaciones de exceso y déficit de humedad, razones por las que se deben tomar medidas para regular los niveles hídricos durante el año.

Estudios adelantados en el Brasil (Morello, 1954) mostraron que la transpiración de plantas a exposición solar plena es del orden de 40 - 50 mg/dm² / minuto debido a que los estomas están completamente abiertos. Sin embargo la pérdida de agua en las hojas inferiores es menor porque se encuentran parcialmente sombreadas. Con fundamento en esos estudios, los investigadores han estimado para la zona cafetera que un cultivo comercial con 1500 plantas/ha y un índice foliar de 2.1 (2.1 m² de área foliar/m² de terreno) consume en un mes 1170 m³/ha de agua en ambientes soleados y 765 m³/ha en condiciones de nubosidad intensa permanente. En la práctica, se requieren alrededor de 150 mm. mensuales de precipitación (1500 m³/ha) para satisfacer las necesidades hídricas del clon Dominico - Hartón. En zonas y épocas en que la precipitación o el agua almacenada en el suelo es inferior a 5 mm/día, es necesario aplicar riego. Sin embargo, esto no es un patrón estático porque tanto la radiación solar como el área foliar de la planta son variables en el curso del año.

2.2.2.6. HUMEDAD RELATIVA.

Es un factor regulador de las relaciones hídricas de las plantas, interviene como la fuerza impulsora del agua desde el suelo, y a través de la planta, hasta la atmósfera, mediante la creación de un gradiente de potencial hídrico en el sistema suelo- agua- planta- atmósfera. Esto es posible por la capacidad que tiene el aire seco para absorber vapor de agua, es decir, a medida que la humedad relativa del aire disminuye por debajo de 100%, la afinidad del aire por el agua se incrementa notablemente.

Cuando la humedad relativa es alta y la tasa de transpiración es igual a la tasa de absorción de agua, los dos limbos de la hoja de plátano se encuentran en el mismo plano y los estomas permanecen abiertos; con humedad relativa baja o bajo estrés hídrico leve,

los limbos foliares se doblan hacia abajo reduciendo la exposición del envés a los rayos solares y los estomas se cierran. Este mecanismo contribuye a conservar el agua en los tejidos y a prevenir o retardar las consecuencias de un déficit hídrico severo.

2.2.2.7. VIENTOS.

Este factor climático también guarda importancia en relación con las plantas por la influencia que ejerce sobre la fotosíntesis y la transpiración de las hojas, así como por sus efectos físicos sobre las plantas. El daño más generalizado que se observa en casi todas las zonas productoras de plátano, es el rasgado de las láminas foliares y el desgarre o arranque de sectores del limbo por vientos fuertes con velocidad superior a 50 km/h. El rasgado de las hojas por el viento es un fenómeno de ocurrencia común en varias especies de la familia Musaceae.

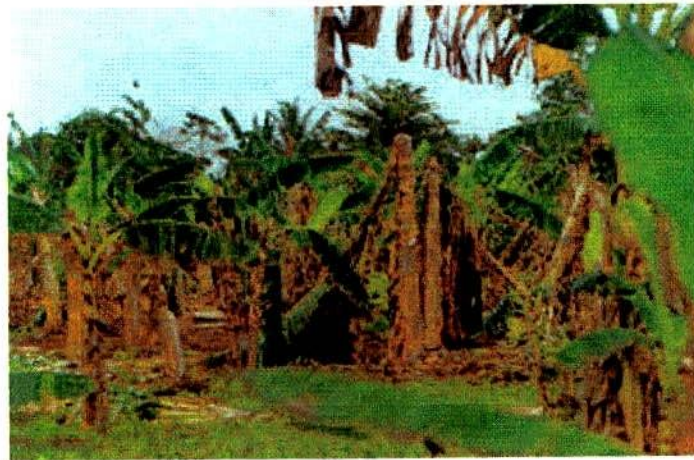


Figura 3. Efecto de los vientos sobre la plantación de plátano

2.2.2.8. COMPONENTE BIOTICO.

Este factor actúa como formador del suelo gracias a la actividad desarrollada por sus diferentes componentes. Así mismo, crea condiciones para el establecimiento o ausencia de los enemigos del cultivo: insectos, plantas dañinas, hongos, virus, bacterias, etc., que bajo determinadas condiciones de ambiente y manejo, pueden interferir el desarrollo normal del cultivo y limitar sus rendimientos y la calidad productiva.

Entre sus componentes, los microorganismos tienen la función de descomponer los restos vegetales para transformarlos en materia orgánica. La vegetación actúa en los procesos de formación de los suelos mediante el suministro de materia orgánica y el traslado de minerales desde los estratos inferiores a los superiores; las raíces aumentan la porosidad y permiten una rápida penetración del agua. Los animales, incluso el hombre, son agentes intermediarios de la descomposición de muchos vegetales porque estos sirven de alimentos y sus desechos ingresan al suelo.

2.2.3. FACTORES EDAFICOS

El suelo, como recurso integral básico de todo ecosistema, debe cumplir, además de su función de soporte y espacio vital de las plantas, determinados requisitos de carácter

físico-químico indispensables para éstas. No obstante que el plátano se adapta a una variedad amplia de suelos, esto no significa que todos los suelos guarden aptitud para su desarrollo óptimo.

De acuerdo con lo anterior, antes de tomar la decisión de establecer un cultivo de plátano, se deben analizar las condiciones de los factores mencionados, con el fin de tener la certeza de que el suelo cumple con los requerimientos de la planta, en relación con su composición orgánica y mineral, condiciones de fertilidad, propiedades físicas y en especial aquellas que se relacionan con el contenido, retención y movimiento del agua y del aire.

La reacción del suelo es una característica muy importante que influye sobre todas las propiedades tanto físicas, como químicas y biológicas. La reacción del suelo se determina midiendo el PH, el cual establece el grado de acidez o alcalinidad que presentan los horizontes de un suelo, permitiendo distinguir tres condiciones básicas: Ácida, Neutra y Alcalina.

CUADRO N° 1. Factores del suelo que afectan la disponibilidad de nutrientes para las plantas. (Lora, 1994).

ELEMENTO	PH DEL SUELO (Óptimo)	OTROS FACTORES
Nitrógeno (N)	6 – 8	1. Bacterias específicas. 2. Aireación. 3. Temperatura. 4. Humedad. 5. M. orgánica.
Fósforo (P)	6.5 – 7.5	1. Al y Fe disueltos; 2. Ca disponible; 3. Organismos; 4. M. orgánica; 5. Int. Aniónico,
Potasio (K)	> 6	1. Arcilla tipo 2:1; 2. Humedad; 3. Textura
Calcio (Ca)	> 7	1. Precipitación excesiva; 2. Lixiviación; 3. Exceso de magnesio.
Magnesio (Mg)	7 - 8.5	1. Aireación; 2. Exceso de Ca; 3. Exceso de K.
Boro (B)	5 – 7	1. Sequía; 2. Exceso de cal; 3. Suelos arenosos deficitarios.
Manganeso (Mn)	5 - 6.5	1. Buen drenaje; 2. Exceso de K; 3. Exceso de Fe, Cu, Zn.
Hierro (Fe)	< 6	1. Alto contenido de cal, Mg, Cu, y Zn; 3. Altos NO ₃ o PO ₄ ; 4. Pobre aireación.
Cobre (Cu)	5 – 7	1. Alto contenido de M. orgánica y exceso de fosfatos, reduce disponibilidad.
Zinc (Zn)	5 – 7	1. Contenido de materia orgánica; 2. Microorganismos.
Azufre (S)	> 6	1. Microorganismos; 2. Buen drenaje.
Molibdeno (Mo)	> 6	1. Exceso de Cu; 2. Exceso de sulfatos; 3. Silicatos amorfos (alófana)

Los rendimientos productivos del plátano, en su condición de cultivo permanente, además de estar en relación estrecha con la fertilidad del suelo, necesitan que haya reposición de ciertos niveles de nutrientes para restituir las pérdidas que ocurren a través del tiempo por

efectos de lixiviación y por extracción con las cosechas y demás estructuras que salen del campo. Para garantizar tales condiciones se hace necesario realizar monitoreos periódicos mediante análisis que permitan detectar los cambios ocurridos a nivel químico, físico y biológico con el fin de aplicar los correctivos apropiados ya sea incorporando fuentes orgánicas, residuos de cosecha o empleando fuentes químicas.



Figura 4. Efecto de la salinización del suelo

En términos generales, todas las especies cultivadas requieren el suministro de 16 elementos nutritivos, los cuales de acuerdo con las cantidades necesarias se clasifican como elementos mayores (Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Carbono, Oxígeno, Hidrógeno); elemento menores (Boro, Cobre, Hierro, Magnesio, Zinc, Molibdeno y Cloro, y secundarios: Calcio, Manganeso y azufre. El contenido de estos elementos es variable en los suelos del país, dependiendo de las condiciones agroecológicas de cada región y las relaciones de los factores climáticos con los factores del suelo.

La materia orgánica está constituida por los compuestos de origen biológico que se presentan en el suelo. La materia orgánica es la fuente principal del nitrógeno del suelo. Aproximadamente el 85% del nitrógeno total procede de este componente. Sin embargo, sólo del 5 al 10% del nitrógeno total se encuentra en formas inorgánicas de amonio, nitrato o nitrito que son las asimilables por los cultivos.

Los microorganismos pueden estimular o inhibir el crecimiento de las plantas, dependiendo del tipo y de las condiciones ambientales existentes. La inhibición puede ser causada por la liberación de toxinas y la estimulación por la movilización de nutrientes (Azotobacter) y/o producción de fitohormonas (Azospirillum). Los aspectos relacionados con absorción y disponibilidad de nutrientes son estimulados por la presencia de los diferentes grupos de organismos.

2.3. BIBLIOGRAFIA.

BELALCAZAR, C., S; JARAMILLO, G., O; TORO, JULIO CESAR. 1991. Aspectos agroecológicos. En: El cultivo del plátano en el trópico. ICA, CIID, Comité Departamental

de Cafeteros del Quindío, INIBAP. Manual de asistencia técnica N° 50. Armenia, Colombia. Pp 21-42.

BELALCAZAR, C., S; VALENCIA, M., JORGE; LOZADA, Z., JESUS, E. 1991. La planta y el fruto. En: El cultivo del plátano en el trópico. ICA, CIID, Comité Departamental de Cafeteros del Quindío, INIBAP. Manual de asistencia técnica N° 50. Armenia, Colombia. Pp 45-89.

BOLAÑOS, B., MARTHA. 1998. El papel del componente Biorgánico en la fertilidad de los suelos. En: Seminario Internacional sobre producción de plátano. Memorias. Armenia, Colombia. Pp 89-105.

CAYON, S., G; BELALCAZAR, C., S; LOZADA, Z., JESUS, E. 1998. Ecofisiología del plátano (*Musa AAB Simmonds*). En: Seminario Internacional sobre producción de plátano. Memorias. Armenia, Colombia. Pp221-236.

CORPOICA. 1995. Estudio Base para la identificación de Líneas de acción del trabajo en Biotecnología con pequeños y medianos productores agropecuarios en la Costa Atlántica. (Documento Preliminar). Santafé de Bogotá. 49 pp.

FASSBENDER, HANS, W. 1978. Química de suelos. Editorial IICA. San José, Costa Rica. 398 pp.

RODRIGUEZ, S., ALFREDO; RODRIGUEZ, M., JOSE LUIS. 1998. Aspectos Socioeconómicos del cultivo del plátano en Colombia. CORPOICA, Regional 9. Armenia, Colombia. 26 pp.

3. MULTIPLICACION CLONAL IN VITRO

AMAURY ESPITIA MONTES
I. Agrónomo
Investigador Programa Agrícola

3.1. Introducción.

El cultivo de tejidos como técnica, consiste esencialmente en aislar una porción de la planta (explante) y proporcionarle artificialmente las condiciones físicas y químicas apropiadas para que las células expresen su potencial intrínseco o inducido. Es necesario además adoptar procedimientos de asepsia para mantener los cultivos libres de contaminación microbiana.

3.2. Cultivo de Tejidos Vegetales.

La tecnología del cultivo de tejidos vegetales en asocio con las otras herramientas que la Biotecnología ofrece, permite obtener plantas completas con características sobresalientes a partir de un explante inicial (protoplastos, polen, yemas, meristemas u otro tejido vegetal).

El producto obtenido a través de esta técnica es el resultado bien sea de la transformación, limpieza de virus o simplemente de la selección de fenotipos deseables.

Asepsia: la asociación explante – medio y las condiciones físicas en que normalmente se incuban los cultivos conforman un ambiente propicio para la proliferación de microorganismos (Bacterias – hongos), los cuales pueden destruir tales cultivos, competir con el explante por el medio de cultivo o modificarlo. Evitar las contaminaciones con microorganismos es un aspecto básico que se debe tener en cuenta para el éxito, no solamente en el establecimiento de los cultivos sino en su ulterior incubación y manipulación.

Es difícil lograr cultivos completamente estériles en el estricto sentido de la palabra; por ejemplo, es probable que los virus presentes en el explante persistan en los cultivos. Hecha esta salvedad, para establecer cultivos asépticos es conveniente o necesario: a. Trabajar en ambientes adecuados; b. esterilizar medios de cultivos, c. Desinfectar superficialmente los explantes, liberándolos de bacterias y hongos exógenos y d. Realizar los cultivos respetando ciertas normas de asepsia.

Clon. Es el conjunto genéticamente uniforme de individuos (que pueden ser de naturaleza quimérica) originalmente derivados de un solo individuo mediante propagación asexual; por ejemplo, por medio de estacas, divisiones, injertos o apomixis obligada.

Dentro de la amplia y nueva ciencia biotecnológica, existen diferentes técnicas que permiten su aplicabilidad, entre ellas se cuentan: el diagnóstico molecular mediante cromatografía y electroforesis, la extracción de DNA, la clonación de genes de interés, la transformación genética mediante DNAr, y el cultivo de tejidos vegetales, visto este último desde dos perspectivas:

- a. Como herramienta para la visualización de resultados de la utilización de técnicas moleculares de transformación con fines inicialmente investigativos.
- b. Como técnicas científico-productiva de especies vegetales tradicionales, mejoradas o promisorias en el sector agrícola.

Como se trata de una tecnología *in vitro*, todas las condiciones empleadas, tanto físicas como químicas son artificiales. Partiendo de este lineamiento, la composición del sustrato debe contar con los elementos nutricionales básicos para el buen crecimiento y desarrollo de la plántula y adicionado a esto se incluyen otros elementos dependiendo del interés que exista.

Era así, como de acuerdo con el objetivo que se trace al inicio del trabajo, se optará por utilizar una metodología y los correspondientes medios de cultivo establecidos, o bien, se estandarizarán para obtener óptimos resultados.

Dentro de un esquema biotecnológico el uso y producción de semilla de buena calidad resulta de la selección del material vegetal de partida (plantas madre de alta calidad) y la utilización o desarrollo de medios de cultivo adecuados, es muy importante para el éxito del cultivo de tejidos vegetales.

El explante donante debe presentar *in vivo* características fenotípicas sobresalientes, esto asegurará que las generaciones que provengan de dicho material, tanto *in vitro* como *in vivo* poseerán las características del material de partida también. Además de esto, es necesario el diagnóstico fitosanitario al inicio del programa.

3.2.1. Ventajas del Cultivo *in vitro*.

Las técnicas de propagación *in vitro* son, preferidas a las prácticas convencionales de propagación en muchas especies debido a sus ventajas:

- a. Solamente una pequeña cantidad de material vegetal es requerida como explante inicial para la regeneración de millones de plantas clonales en un año.
- b. Muchas especies de plantas son altamente resistentes a las prácticas convencionales de propagación masiva.
- c. La técnica *in vitro* suministra un método para el intercambio de material vegetal de una manera rápida.
- d. Los stocks *in vitro* pueden ser proliferados en cualquier época del año, mientras que la propagación por métodos convencionales se tiene que ceñir a las estaciones de los cultivos.

3.2.2. Limitaciones del Cultivo *in vitro*.

- a. Escogencia de la planta madre, ya que ella suministra el genoma para ser multiplicado, por lo tanto, debe reunir el máximo de características sobresalientes.
- b. Número suficiente de clones. En busca del mejoramiento genético, es necesario tener el mayor número de líneas puras.
- c. Manejo adecuado de las hormonas. Conocer la clase y la cantidad de hormona que se debe utilizar para obtener la respuesta requerida.
- d. Conocer muy detalladamente las metodologías del cultivo *in vitro*.

3.3. Técnica inmunoenzimática ELISA

Los VIRUS son considerados como uno de los más grandes limitantes en la producción y el rendimiento de los cultivos. Tecnológica y científicamente, se han desarrollado sistemas de detección bastante sensibles y específicos.

Entre los métodos de diagnóstico de virus se incluye la técnica por ELISA, basada en la capacidad de los antígenos de reaccionar "in vitro" con sus anticuerpos específicos. La muestra de savia es depositada sobre los pozos de la placa y en caso de contener partículas virales, éstas son reconocidas por un anticuerpo específico conjugado a una enzima, la cual puede ser fosfatasa alcalina o peroxidasa.

La interpretación de los resultados se realiza de acuerdo con la intensidad del color cuando se degrada el sustrato de la enzima. Dicho color cual es proporcional a la cantidad de antígeno (virus) presente en el extracto.

Cuando se utiliza tejido foliar de plantas jóvenes, la reacción colorimétrica de ELISA se presenta mas intensa si se compara con la que se observa en tejido tomado directamente de semilla en estado latente. Este resultado probablemente está relacionado con la mayor concentración de los virus en tejidos foliares de plantas en crecimiento activo (Hernández & Mancipe, 1994).

3.4. Necesidades Nutricionales de las Plantas.

La composición química de una planta se asemeja a la de cualquier ser vivo. La diferencia está en la forma como cada uno obtiene los elementos para su crecimiento y desarrollo.

Las plantas los elaboran, a partir de compuestos inorgánicos sencillos como el agua y el bióxido de carbono, por medio del proceso fotosintético, en el cual se transforma la energía luminosa en energía química, en forma de moléculas de carbono (azúcares), consideradas como la base metabólica para la construcción de cualquier otra molécula orgánica que la planta requiera.

Aparte del agua y el bióxido de carbono, la planta absorbe compuestos minerales necesarios en sus procesos fisiológicos.

3.4.1. Medios de Cultivo.

Un solo medio no puede suplir el desarrollo de todas las células, por lo cual es necesario variar su composición para obtener diferentes tipos de respuesta en el crecimiento de un explante.

En general, los medios de cultivo contienen sales inorgánicas, reguladores de crecimiento vegetal, vitaminas, carbohidratos, hexitoles y un agente solidificante en la mayoría de los casos. Adicionalmente, se pueden agregar aminoácidos, antibióticos y complejos naturales.

3.4.1.1. Sales Minerales.

Las formulaciones de sales minerales pueden variar. La fórmula Murashige y Skoog (MS) (1962) es la mas ampliamente utilizada en todo el mundo. Su característica principal es el alto contenido de nitratos, potasio y amonio en comparación con otras fórmulas.

3.4.1.2. Reguladores de crecimiento.

Son compuestos sintetizados por un organismo de forma autónoma, en este caso, la planta elabora bajas concentraciones de estas sustancias (fitohormonas), que luego son transportadas a los diferentes órganos, en donde producen una respuesta fisiológica.

El tipo y la concentración del regulador varía de acuerdo con el objetivo del trabajo.

Las fitohormonas se han clasificado en dos grupos:

Promotoras del crecimiento: AUXINAS, GIBERELINAS y CITOCININAS.

Inhibidoras del crecimiento: ETILENO ACIDO ABSCISICO.

Existen otros compuestos catalogados como Reguladores Endógenos, dentro de los que se encuentran las poliaminas, ácido salicílico, ácido jasmónico.

a. Auxinas

Son sintetizadas en las hojas jóvenes y semillas.

Las auxinas son requeridas por la mayoría de las plantas para la división celular, la iniciación de raíces adventicias, la diferenciación de tejidos vasculares y la promoción de la floración.

Las concentraciones altas de éstas hormonas inhiben la morfogénesis. El 2,4D es ampliamente utilizado en la inducción de callos. AIA, AIB Y ANA son utilizados en la inducción de raíces.

b. Citocininas.

Se sintetizan en los meristemos radiculares y semillas en desarrollo. Inducen activa división celular, generando morfogénesis (aparición de brotes), estimula el crecimiento de yemas laterales rompiendo la dominancia apical. Retrasa el proceso de senescencia de las hojas.

c. Giberelinas.

Se sintetizan en tejidos jóvenes como brotes y semillas en desarrollo. Inducen la germinación de semillas, crecimiento y desarrollo de frutos y estimulan el alargamiento y división celular.

d. Etileno.

En la mayoría de los tejidos maduros o senescentes como respuesta a los niveles de estrés. El etileno rompe la dormancia, induce la formación de raíces adventicias y flores, y en la maduración de frutos.

e. Ácido Abscisico.

Es sintetizado en hojas maduras como respuesta al estrés hídrico. Induce el cierre de estomas, transporta fotosintatos hacia semillas en desarrollo, favorece el mantenimiento de la dormancia de semillas y yemas.

f. Poliaminas.

Son sintetizadas en varios tejidos de la planta. Inducen la morfogénesis, incrementan el desarrollo y el crecimiento de los tejidos, disminuyen el efecto del estrés hídrico, retardan el envejecimiento de las hojas.

3.4.1.3. Vitaminas.

Las vitaminas tienen funciones catalíticas en las reacciones con enzimas. Las vitaminas que requieren las células vegetales son la Tiamina (B1), el ácido nicotínico (B3) y la piridoxina (B6) entre otras.

3.4.1.4. Carbohidratos.

Los tejidos vegetales cultivados en un medio y bajo condiciones artificiales son fotosintéticamente inactivos; por lo tanto, requieren de un suplemento de azúcares para su desarrollo. La sacarosa y la glucosa son los más utilizados.

3.4.1.5. Agente Gelificante

Para cultivos vegetales se utiliza principalmente el agar, el cual debe ser altamente purificado, de otra forma puede alterar la composición original del medio preparado, afectando la respuesta,

3.4.1.6. Antibióticos

Se utilizan en gran medida para detener la contaminación del medio y del explante. En algunos casos, en concentraciones elevadas o simplemente por el rechazo de la planta a su composición, pueden ser tóxicos.

3.5. Micropropagación Clonal “in vitro”

El objetivo de la multiplicación de plántulas in vitro es el de obtener mediante la propagación agámica, un conjunto de individuos genéticamente estables e iguales al explante del que estos se originaron.

Estos individuos deben reunir una serie de características deseables, asegurando y aumentando la producción y el rendimiento de los cultivos en campo.

Existen diferentes estrategias dentro del proceso morfogenético para la multiplicación clonal, utilizando brotes de yemas terminales, axilares o laterales. Es así, como el punto de inicio son los meristemas, las puntas de los brotes, las yemas, los nudos o los brotes de yemas en raíces.

En síntesis, las células somáticas pueden ser inducidas a la morfogénesis, dando paso a la aparición de estructuras que se convertirán en los órganos de la futura planta. Este proceso incluye tres estrategias:

3.5.1. Organogénesis Directa.

Este término se aplica cuando existe la formación de un brote a partir de una parte de la planta, sin la aparición de callo.

3.5.2. Organogénesis Indirecta.

Como el término lo indica, implica la formación de órganos o brotes a partir de un tejido indiferenciado.

3.5.3. Embriogenesis Somática

Es la producción de estas estructuras embrionarias a partir de las células somáticas (vegetativas o no germinativas). Este tipo de embriogenesis puede presentarse en cultivo de tejidos, ya sea en forma directa o indirecta. El desarrollo de embriogenesis directa ocurre cuando el embrión somático se origina directamente del explante sin pasar por la fase de callo.

La embriogenesis indirecta consiste en el establecimiento del cultivo de un explante con la subsiguiente formación y proliferación de un callo y la iniciación de pro embriones (en medio carente de reguladores del crecimiento para inducir un embrión bipolar a partir de los pro embriones iniciales, cuando las condiciones en el medio son favorables estos embriones germinan y se convierten en plántulas.

3.6. Etapas del Cultivo de Tejidos Vegetales

Después del éxito de Morel en 1965 en la multiplicación de orquídeas por cultivo de meristemas, se ha despertado un interés creciente en la técnica de Cultivo de Tejidos como un medio alternativo de propagación asexual, de plantas importantes económicamente.

En general, esta técnica implica una serie de etapa, entre ellas se encuentran:

3.6.1. Etapa O

- **Selección y desinfección del material inicial**

En esta etapa el objetivo es escoger el material del que se va a partir para iniciar un programa de producción de semilla, por esta razón, las características fenotípicas deben ser sobresalientes para garantizar la producción de plantas de excelente calidad. Un segundo propósito es realizar la desinfección del material ya que por provenir en la gran mayoría de los casos del suelo, contiene una gran cantidad de contaminantes que deben ser eliminados para asegurar la sanidad del material.

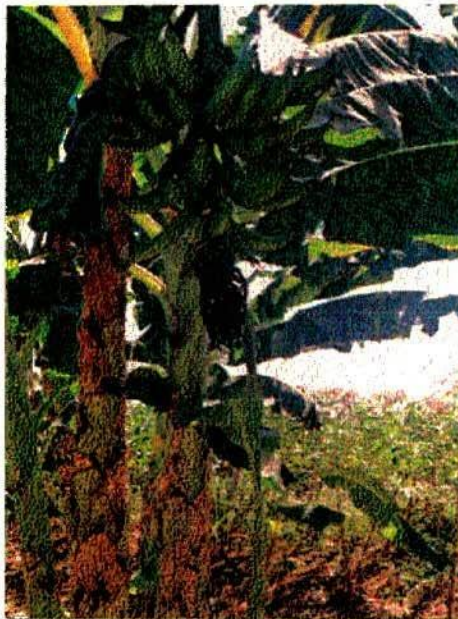


Figura 5. Planta de plátano Madre o Donante.

3.6.2. Etapa 1

- **Establecimiento del explante**

Luego de la etapa anterior, se procede a la extracción del explante (meristemo, yema, esquejes, etc) por medio de pinzas y bisturí en cámara de flujo laminar, este se debe cultivar en un medio estéril que contenga los elementos esenciales para su establecimiento (crecimiento y desarrollo)

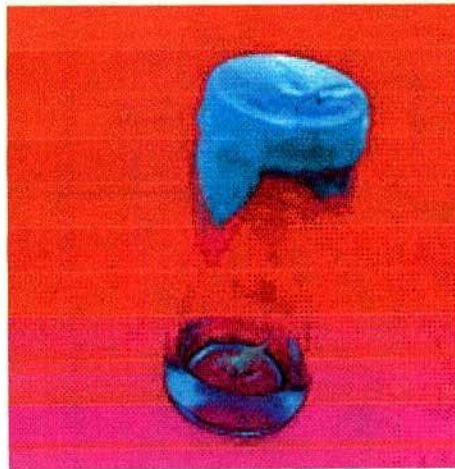


Figura 6. Establecimiento de explante de plátano.
Laboratorio de cultivo de tejidos C.I. Turipaná.

3.6.3. Etapa 2

- **Propagación**

Las plantas establecidas in vitro que presenten buenas características físicas son incorporadas en un medio de propagación que inducirá la formación de brotes que mas adelante se convertirán en nuevas plantas (con características genotípicas iguales a las de la planta madre). Estos brotes se subdividen cada determinado tiempo y se subcultivan en nuevo medio de propagación para la generación de mas plantas.



Figuras 7 y 8. Cuarto de crecimiento de incubación bajo condiciones controladas.
Laboratorio de cultivo de tejidos C.I. Turipaná.

3.6.4. Etapa 3

- **Enraizamiento**

Luego de obtener el número de plantas requeridas se procede a realizar la última subdivisión de las plantas. Ya individualizadas se cultivan en un medio que contiene enraizadores como AIA, ANA, AIB o simplemente sacarosa, las cuales que estimularán el crecimiento de raíces para asegurar la sobrevivencia de las plantas en la etapa de habituación.

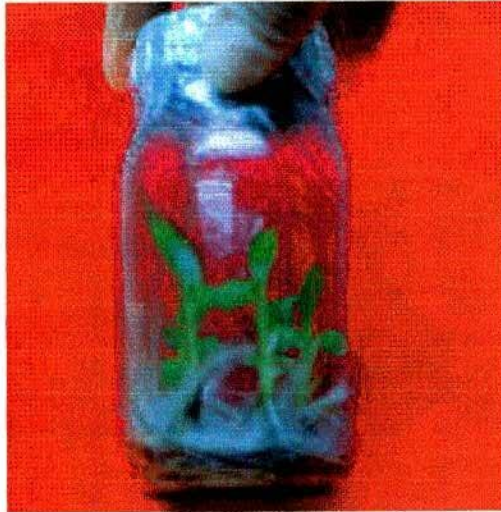


Figura 9. Enraizamiento.
Laboratorio de cultivo de tejidos C.I. Turipaná.

3.6.5. Etapa 4

- **Adaptación, Endurecimiento y Crecimiento en Vivero**

Los principios de adaptación, endurecimiento y crecimiento en vivero de las plántulas in vitro son simples, pero deben ser respetados, con el fin de evitar la pérdida del material.

Los principios se basan en:

La necesidad absoluta de mantener las plantas en un ambiente saturado de agua (alta humedad relativa) los primeros 15 días de adaptación.

El retorno progresivo a las condiciones hídricas normales

El establecimiento bajo sombrío para proteger las plantas de exceso de luminosidad.

Se debe crear una atmósfera cerrada con 100% de HR y con un sistema de nebulización que presente salidas cada 60 cm sobre las plantas.



Figura 10. Acclimatización de vitroplantas
Casa malla C.I. Turipaná.

3.7. Bibliografía.

CASTILLO, R. El cultivo de callos y suspensiones celulares en el cultivo de plantas. En curso sobre técnicas Avanzadas de la Biotecnología Vegetal. Memorias. Medellín, 1996.

MONTOYA, L. M. Cultivo de tejidos Vegetales. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, 1991.

ROCA, W. Y MROGINSKI, L. Cultivos de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. 1993.

4. ACLIMATIZACION DE VITROPLANTAS DE PLATANO EN LA COSTA CARIBE

Andrés Aguas Aguas^{*}
Amaury Espitia^{*}
Julio Benavides^{*}
Galo Gamero V.^{*}
Lila Sarmiento^{*}
Nicolás Benitez^{**}
Miguel Martínez^{***}

4.1. Introducción

La aclimatación de plántulas procedentes de ambientes artificiales in vitro, es uno de los componentes cruciales, dentro del proceso de adaptación de materiales a nuevos ambientes y es uno de los requisitos indispensables que debe cumplir cualquier especie para su acomodo a un sitio definitivo (al campo). Uno de los obstáculos para aclimatizar especies procedente de sistemas " in vitro" es el desconocimiento de técnicas y métodos que se ajusten a nuestras condiciones de ambiente tropical, lo cual repercute, desde el punto de vista técnico y económico, en una nula o baja eficiencia en el número de plantas a producir. Este proceso debe tener la mayor eficiencia en la fase de invernadero (casa malla) como en la fase de vivero, para poder reducir los niveles de mortalidad y aumentar el endurecimiento de las plántulas, en forma tal que no reduzcan su crecimiento y desarrollo permitiendo , llevar plantas sanas y vigorosas al campo.

Esta charla apunta categóricamente a conocer las técnicas y métodos para aclimatizar plántulas de plátano procedentes de sistemas in vitro.

4.2. Principios para la Aclimatación de Vitroplantas.

Los principios de adaptación, endurecimiento y crecimiento en vivero de las plantas in vitro son simples, pero deben ser respetados escrupulosamente con el fin de evitar todo riesgo de pérdida.

Estos principios se basan esencialmente en :

- La necesidad absoluta de mantener las plantas en un ambiente saturado de agua durante los primeros quince días después de su salida de las cajas o frascos de vidrios.
- El retorno progresivo a las condiciones hídricas normales.
- El establecimiento bajo sombrío para proteger las plantas de exceso o deficiente luminosidad.

^{*} Ingenieros Agrónomos, Investigadores CORPOICA Regional 2.

^{**} Auxiliar Técnico. CORPOICA Regional 2.

^{***} Operario Calificado. CORPOICA Regional 2.

Las técnicas aquí descritas pueden ser modificadas o adaptadas localmente, siempre y cuando se respeten estos principios básicos. La duración indicada para cada una de las fases representa un promedio.

4.3. Esquema de un prototipo de instalación para aclimatización (endurecimiento y vivero).

En clima tropical el sombrío es suficiente para proteger las plantas de un exceso de luminosidad, durante la primera etapa de la adaptación. Puede utilizarse tejas o tela plástica (sarán-blanco) que deje pasar 30 a 50% de la luz en la primera fase de adaptación en el invernadero (endurecimiento) y de 50 a 60% durante la segunda fase de crecimiento en vivero.



Figura 11. Siembra de vitroplantas en casa malla en el C. I. Turipaná.

Se pueden utilizar también hojas de palma, bambú o cualquier material de la zona para sombrío en la fase de vivero. Tener en cuenta también una protección lateral de polisombra, y si los vientos son frecuentes, esta debe hacerse con polietileno. Esta protección también debe ponerse para evitar el ingreso de plagas al vivero, además de controlar las hierbas alrededor del invernadero para evitar el incremento de poblaciones de insectos portadores de virus (mallas antiáfidos)

En todos los casos programar invernaderos cerrados suficientemente altos para que un hombre pueda circular por debajo sin molestia .

Teniendo en cuenta los caminos, calcular 40 M² de sombrío fuerte para adaptar 10.000 plantas in vitro durante la primera fase de invernadero y 400 M² de sombrío ligero para el crecimiento en vivero de la misma cantidad.

4.4. Adaptación y endurecimiento en bancos (invernadero- casa malla) de plátano.

La adaptación en casa malla es una etapa de transición en la cual las plantas pasan de un medio artificial "in vitro" a condiciones de crecimiento autónomo (Autotrofia).

4.4.1. Presentación de las plantas "in vitro"

Las plantas in vitro llegan del laboratorio en frascos de vidrio, cajas de cartón envueltas en plástico o papel húmedo, conteniendo 1.000 plántulas de plátano por caja.



Figura 12. Plántula de plátano "in vitro", tomada en los laboratorios de cultivo de tejidos en el C. I. Turipaná.

Esta presentación es apta para las condiciones de transporte a larga distancia, estando las plántulas protegidas de choques y del marchitamiento. Sin embargo, no es apta para el almacenamiento prolongado de las plantas después de recibidas en el sitio de siembra.

La experiencia ha mostrado que efectuar la fase de endurecimiento en condiciones de casa malla cerrada y la de crecimiento en vivero en el mismo lugar de la plantación evita los problemas de adaptación y las interrupciones en el crecimiento y desarrollo de las plantas.



Figura 13. Endurecimiento de plántulas de plátano en casamalla. C. I. Turipaná.

4.4.2. Preparación de las plántulas.

Debe hacerse a más tardar al día siguiente de la recepción de las plántulas, en la sombra y en un lugar cerrado con ambiente húmedo, o bajo el sombrío en condiciones higiénicas.

Sacar las plántulas y aislarla con delicadeza, a medida que se sacan de las cajas, deben enjuagarse con agua limpia y después se colocan en un recipiente con agua, evitar que esté muy fría o muy caliente.

Las hojas necróticas (dañadas) de la base de cada plántula y las raíces se cortan a 1 o 2 cm para evitar dificultades en el transplante. El corte se hace con tijeras desinfectadas con vanodine al 5% u otro desinfectante . Se retiran las plántulas del agua y se colocan en una solución fungicida de Dithane M-45 0.5 a 1 g/l. o Benlate 0.5 1g/l, agitando con suavidad para eliminar cualquier residuo de Agar que haya quedado impregnado en las raíces.

4.4.3. Preparación del sustrato (suelo)

Se puede utilizar una mezcla de sustrato permeable de tal forma que drene bien; esta puede ser de arena, aluvión, cascarilla de arroz. También se puede utilizar aluvión, ceniza de cascarilla de arroz y bobinaza en relación 85-10 y 5% respectivamente.

4.4.4. Desinfección del sustrato.

La mezcla del sustrato debe desinfectarse con formol al 5% la cual, conviene taparlo con un plástico durante varios días (5-7) y después se remueve para la evaporación del producto.

4.4.5. Transplante (Siembra).

Cada bolsa se llena con el sustrato (suelo) y se hace un pequeño hueco de 1 a 2 centímetros de profundidad donde se coloca las plántulas y se pone sustrato alrededor. Teniendo cuidado de no enterrar demasiado la plántula para evitar procesos de pudrición, sino, ponerla hasta el cuello (sin cubrir hojas). También se puede hacer la siembra

sobre bancos de maderas con plástico y suelo en forma masal, tratando de agrupar las plantas por tamaño.

4.4.6. Riego, nutrición y manejo de la temperatura, humedad relativa y luz solar.

La humedad del ambiente a nivel de las plántulas se debe mantener así: El 90% en la primera semana, 80% la segunda y el 70% a la tercera y cuarta semana. La temperatura se debe mantener de 25°C hasta 32°C.

El riego debe ser frecuente preferiblemente nebulizado pero poco abundante de manera que se mantenga permanente una película de agua sobre las hojas y el sustrato húmedo pero no empapado, para que haya una correcta emisión de raíces. En las condiciones de Turipaná, (Casa -malla) las plántulas, son regadas en la primera semana con una frecuencia de 20 minutos. A la segunda semana se efectúan riegos cada hora.

Pasados los primeros 15 días, se debe reducir la frecuencia de los riegos, es decir, de cada media hora al inicio, pasa a 1 hora por espacio de 5 segundos.

El drenaje del suelo debe ser muy bueno para evitar las acumulaciones de agua. Si las hojas se ablandan, se amarillan y después se negrean en el borde para finalmente necrosarse, es signo de un mal control de la humedad del ambiente o excesiva humedad en el suelo.

La nutrición se debe efectuar dos veces por semana con bomba de espalda con una solución de Wuxal o Nutri foliar completo (2cc/l) mas aceite adherente agrícola, debe aplicarse en el último riego de la tarde durante la primera semana. A partir de la segunda semana, aplicar fertilizante líquido al sustrato (al suelo) dos veces semanales de acuerdo a la siguiente fórmula:

En 10 litros agregar los siguientes componentes:

Nitrato de calcio	132 g
Agrimins	5 g
Kelatex -----	9 g
Nitrato de amonio	92 cc
Acido fosfórico	20 cc
Nitrato de potasio	136 g

agitar hasta disolución completa. Los componentes pueden ser de grado agrícola; esta solución puede almacenarse a temperatura ambiente sin ningún problema al momento de la fertilización, diluir la cantidad necesaria de la solución en proporción 1:10 con agua corriente.

4.4.7. Manejo de enfermedades e insectos

Programar una aplicación semanal de fungicidas(Dithane o Benlate 1 gr/l) durante las dos primeras semanas y un tratamiento de insecticidas, sólo en caso de que sea requerido para controlar hormigas, áfidos y trozadores. Las plantas duran en esta fase de 3-8 semanas y tienen de 4-6 hojas.

4.5. Adaptación de plantas de plátano. Fase de Vivero

En el curso de esta etapa se continúa la adaptación y la aclimatización de las plantas con el objeto de llevarlas progresivamente a las condiciones de siembra definitivas.

En el vivero se hacen camas de 0.6 a 1.00 m de ancho, separadas por camino, sobre estas camas es conveniente (pero no indispensable) poner una cubierta de polietileno negro, para evitar que las raíces de las plantas saliendo de las bolsas se fijen en el suelo del vivero. La cubierta del vivero debe tener un sombrío moderado (60% de la sombra).

Las bolsas se ponen sobre las camas. Es aconsejable programar riegos por aspersión con micro aspersores fijos en el suelo en vez de aspersores rotativos o regaderas. . Al mes, las plantas pueden salir al campo con seis a ocho hojas y 40- 60cm de altura.



Figura 14 y 15. Plántulas de plátano listas para ir al campo.

5. MICORRIZAS ARBUSCULARES : APLICACIÓN PARA EL MANEJO SOSTENIBLE DE LOS AGROECOSISTEMAS

Gloria A. Corredor H
Investigadora Recursos Biofisicos
CORPOICA Reg. 1

Estudios desarrollados en los cultivos de plátano, yuca y ñame de pequeños y medianos productores de la Costa Atlántica, han demostrado que existen varios limitantes relacionadas con el manejo fitosanitario, agronómico y de comercialización de estos cultivos.

Estos limitantes se han abordado implementando diferentes estrategias, lo que ha permitido el establecimiento de un programa multidisciplinario para abordarlas y solucionarlas, acercando nuevas tecnologías al agricultor que permitan un desarrollo competitivo y sostenible de su cultivo, el establecimiento de programas de desarrollo tecnológico, permitirá conseguir un impacto final de tipo socioeconómico en la región.

Dentro del desarrollo del proceso productivo de semillas limpias de cualquier especie, la etapa de adaptación de las plántulas bajo condiciones de invernadero núcleo y vivero, es particularmente crítica, y en general, un buen desarrollo del cultivo en el campo, reflejado en el aumento de los niveles de productividad, dependen en gran medida de los niveles de adaptativos iniciales y nutricionales a los que la planta sea sometida durante todo su ciclo, por lo que es necesario desarrollar una estrategia que facilite y que asegure las dos etapas y lleve a la obtención mayores rendimientos del cultivo.

5.1. Importancia y Aplicación de las Micorrizas Arbusculares.

Que nos motiva a la aplicación de micorrizas ?

En el año 2025, se prevee que la población para América Latina y el Caribe alcanzará la cifra de 799 millones de habitantes, con relación a 40 millones en 1985, es decir que en 40 años prácticamente se duplicará la población. Para satisfacer las crecientes demandas de la región es necesario incrementar la producción agropecuaria en una tasa cercana al 2% anual (Nores, 1992). Estas demandas en producción podrán ser satisfechas mediante aumentos en la productividad y/o a través de la incorporación de nuevas tierras a la producción agropecuaria, las mayores áreas con posibilidades de expansión agrícola se encuentran localizadas en el trópico húmedo (1.500 millones/ha) (Grant, 1957; ICA, 1974; IGAC, 1983).

Colombia como país tropical y por su alta biodiversidad, presenta ventajas naturales, para la producción de especies como plátano, yuca y ñame, las cuales se encuentran adaptadas a diversas regiones naturales como la Región Caribe, el Piedemonte Llanero y los Valles Interandinos.

El uso de tecnologías apropiadas facilita que este enorme potencial pueda ser aprovechado para la producción competitiva y sostenible de las regiones. En la actualidad, la producción comercial para el consumo en fresco o para la agroindustria requiere superar múltiples limitantes, que se manifiestan a lo largo de toda la cadena

productiva, desde la selección de materiales genéticos adaptados a condiciones agroecológicas específicas, en el manejo de plantas propagadas a partir de vivero o por técnicas de micropropagación al ser transplantadas a condiciones de campo, debido al desconocimiento de los mecanismos de adaptabilidad o aclimatación de estas especies, que se refleja en pérdidas en la producción, uso excesivo de insumos fertilizantes y pesticidas, que aumentan los costos de producción y afectan la competitividad de estas especies, hasta la cosecha y poscosecha que incluye procesos agroindustriales.

Adicionalmente, la mayoría de las tecnologías existentes corresponden a especies de plantas adaptadas a condiciones de zona templada y subtropical, como a zonas mediterráneas. Las especies tropicales en su mayoría cuentan con escaso conocimiento y poco desarrollo de tecnologías apropiadas, la mayoría de las cuales han sido desarrolladas a partir del conocimiento empírico de los productores y que debe ser revisado y validado por la ciencia y la tecnología.

En condiciones naturales la mayoría de las plantas tropicales adaptadas a diversos nichos ecológicos se encuentran asociadas con microorganismos del suelo, como micorrizas, estableciendo relaciones benéficas (simbióticas). Esta estrategia de la evolución ha sido muy exitosa, y a pesar de que su conocimiento se reporta desde hace más de un siglo, solo durante las últimas décadas el hombre ha empezado a utilizarla en las producciones hortícolas y frutícolas, donde existen evidencias de su potencial y éxito para el desarrollo competitivo y sostenible de estas especies. Adicionalmente, las nuevas tendencias del mercado tanto mundial como regional, buscan ser más cautelosas en lo referente a la aplicación de agroquímicos y pesticidas en la agricultura, por los problemas que ocasionan sobre la salud humana.

Dentro de la diversidad de esos microorganismos del suelo, y sus diferentes interacciones, se destacan grupos de relaciones positivas como el de algunas asociaciones simbióticas micorrízicas, presentadas entre las raíces de las plantas y ciertos hongos del suelo, que juegan un papel clave en el ciclaje de nutrientes en el ecosistema y en la protección de las plantas contra estrés cultural y ambiental, que han demostrado efectos positivos en la absorción de nutrientes, dentro los cuáles el más estudiado a nivel mundial ha sido el fósforo. Las principales limitantes para la absorción de fósforo por las plantas son la baja disponibilidad de fósforo en los suelos (deficiencia del nutriente y procesos de fijación) y la baja movilidad del elemento que no permite que la planta lo pueda absorber. Las micorrizas, permiten aumentar el área de exploración de las raíces en el suelo, permitiendo una mayor zona de contacto y por tanto de absorción de nutrientes y agua, favoreciendo a las plantas que establecen relaciones simbióticas con ellas.

En Colombia, la aclimatación, la adaptación y la multiplicación de los cultivos en diversas condiciones agroecológicas, son las mayores limitantes para la producción sostenible y eficiente. Los microorganismos tienen un gran potencial para contribuir a la solución de múltiples problemas de la agricultura, dentro de los cuales, los biofertilizantes con base en micorrizas arbusculares (MA) son una alternativa para reducir pérdidas en los procesos de multiplicación de especies frutales, mejorar la aclimatación y nutrición de frutales de importancia actual y potencial. Estas tecnologías tienen aplicación en un gran número de especies, incorporadas a la producción de semilla de buena calidad, tanto a nivel de vivero como en el manejo de los materiales micropropagados en el área de la biotecnología vegetal (Azcón y Barea, 1.997).

5.2. Antecedentes Científicos y Tecnológicos.

Los estudios más recientes, muestran los efectos benéficos de las micorrizas arbusculares (MA) en el mejoramiento de la aclimatación de plantas micropropagadas (manzana, durazno), en la reducción de la mortalidad de plantas ornamentales y frutales, al crecer en sustratos con bajos contenidos de fósforo y buena aireación, que se reflejan en un incremento del peso seco de hojas y raíces, así como una floración significativamente más precoz utilizando micorrizas del género *Glomus* (*mosseae*, *intraradices* y *viscosum*) que en plantas no micorizadas, (Olivares y Barea, 1991; Fortuna, *et al.*, 1996).

En el ámbito mundial, se reportan múltiples experiencias a cerca de los beneficios de las micorrizas arbusculares (MA) sobre especies frutales, donde frecuentemente se compara el crecimiento de plantas micorizadas con no micorizadas, estas diferencias son atribuibles a una mayor absorción de nutrientes, mayores niveles en la producción de hormonas y mayores contenidos de clorofila (Godar, Awasthi y Kaith, 1996; Lovelock, kylo, *et al.*, 1997). Estas diferencias se han observado en especies tropicales como Mora Excelsa, *Prioria copaifera* en Caribe (Trinidad y Tobago y Panamá), y en múltiples árboles tropicales de la familia Fabacea, dicotiledóneas y angiosperma (Torti, *et al.*, 1997). Otros autores reportan beneficios en especies como Chirimoya (Azcón y Barea, 1997), en *Tamarindus indica*, *Parkia biglobosa*, *Sclerocaria birrea*, *Balanites aegypticae*, *Adansonia digitata*, *Codyla pinnatta*, *Saba senegalensis*, *Landolfia heudelotti*, *Dialium guineensis*, *Anacardium occidentale*, *Afsellia africana*, y *Aphala seneganensis*. (Ba Amadou, 1998).

En Colombia, el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) inició trabajos de investigación con micorrizas (MA) desde la década de los 80, donde se evaluó su importancia agronómica en cultivos tropicales como yuca y algunas pasturas. Se iniciaron trabajos de recolección de hongos nativos, aislamiento e identificación de micorrizas originarias del Valle de Cauca, Llanos Orientales, entre otras.

Como resultado de estas investigaciones se formó un Banco de Germoplasma, y algunas recomendaciones relacionadas con su biodiversidad potencial de uso en la agricultura. Existen también experiencias positivas con la aplicación de inóculos de micorrizas (*Glomus*, *Scutellospora* y *Entrophospora*) en frutales tropicales como arazá (*Eugenia sptipitata*), borjó (*Borojoa sorbillis*) y chontaduro (*Bactris gasipaies*) (Salamanca, *et al.*, 1997). Sin embargo, se conoce muy poco en especies como mora, lulo, uchuva, papaya. Aunque existen evidencias de su alta capacidad de asociación con (MA), por lo que presentan un alto potencial para mejorar la aclimatación de plantas propagadas en vivero y posteriormente transplantadas a campo, donde frecuentemente son sometidas a condiciones de estrés por nutrientes especialmente fósforo y nitrógeno, estrés por sequía y altas temperaturas, así como problemas por toxicidad de compuestos de aluminio y sales entre otros.

Las técnicas de cultivo de tejidos *in vitro*, entre ellas la micropropagación o multiplicación clonal, han sido empleadas como metodologías limpias que logran aumentar significativamente los niveles de productividad de muchos cultivos. Después del enraizamiento *in vitro*, las vitroplantas requieren un periodo de adaptación en condiciones de vivero antes de ser llevadas a la plantación definitiva. Las micorrizas arbusculares (MA) son importantes en la supervivencia y crecimiento de muchas especies de frutales micropropagadas: Durazno (Fortuna *et al.*, 1992 y 1998), Piña (Guillermin *et al.*, 1992), Aguacate (Vidal *et al.*, 1992), Uva (Schubert *et al.*, 1987, 1988, 1990), Manzana y Pera

(Branzanti *et al.*, 1987; Granger *et al.*, 1983), Fresas (Chavez *et al.*, 1990; Hrselova *et al.*, 1989; Vestberg, 1992) y Plátano y Banano (Ramcharan *et al.*, 1995), yuca (Azcon – Barea, 1997). Las técnicas de producción *in vitro* no sólo permiten la formación de micorrizas (MA), sino que cuando ocurre durante fases tempranas puede ser una estrategia para mejorar el crecimiento de plantas (Gianinazzi *et al.*, 1989). No hay reportes a nivel mundial de utilización de micorrizas en especies de name (*Dioscorea*)

Las micorrizas (MA) pueden ser utilizadas en la agricultura en forma de biofertilizantes tanto, en vivero o como durante el enraizamiento de vitroplantas, constituyéndose así en una alternativa valiosa para solucionar problemas de micropropagación, aclimatación y nutrición de diferentes especies de importancia en la agricultura y reduciendo al mismo tiempo los costos de producción, ya que requieren una menor aplicación de insumos fertilizantes, riego y pesticidas y a su vez permitiendo de esta forma establecer sistemas de producción más eficientes, precoces y productivos, que aumenten la sostenibilidad de los cultivos.

De esta forma, estas tecnologías pueden beneficiar y ser fácilmente transferidas a técnicos y agricultores dedicados a la producción de especies de importancia económica en la Costa Atlántica como plátano, yuca y ñame, mediante el desarrollo e implementación de metodologías de manejo y producción, tanto de micorrizas arbusculares, así como también la aplicación de humus de lombriz en módulos locales artesanales establecidos en fincas de productores.

5.3. Beneficios por Aplicación de Micorrizas.

Las micorrizas son asociaciones entre la mayoría de las plantas existentes, con hongos benéficos, que permiten incrementar el volumen de la raíz y por tanto permiten una mayor exploración de la rizósfera y son consideradas los componentes más activos de los órganos de absorción de nutrientes de la planta, la que a su vez provee al hongo simbiote, de nutrientes orgánicos y de un nicho protector.

Las asociaciones simbióticas establecidas por las plantas y los hongos pertenecientes a los Zigomicetos, orden de los Glomales, más conocidas como micorrizas arbusculares, son consideradas en la actualidad a nivel mundial como biofertilizantes, bioprotectores y bioreguladores para la mayoría de cultivos y ya hacen parte del manejo integrado de suelos y de plagas, así como del manejo de los materiales micropropagados en el área de la biotecnología vegetal (Azcón y Barea, 1.997).

Es ampliamente conocida la multitud de ventajas que tiene una planta micorrizada con respecto a una que no lo esté. Entre éstas ventajas, se encuentran:

- Contribución a la nutrición mineral de la planta, en especial a su aporte de fósforo, por absorción, translocación y transferencia; en la nutrición nitrogenada de la planta, y en la adquisición de otros nutrientes como zinc y cobre, y se considera que probablemente podrían translocar potasio, calcio, magnesio y azufre
- Control biológico para algunos patógenos provenientes de suelo, e incremento de la tolerancia de la planta a patógenos.
- Efecto positivo sobre el desarrollo y distribución de biomasa
- Mejoramiento de la tolerancia a condiciones de estrés hídrico y salinidad
- Influencia sobre la fotosíntesis de la planta hospedera
- Producción de hormonas estimulantes o reguladoras de crecimiento vegetal
- Incremento en la relación parte aérea/raíz de la planta micorrizada

- Aportes en recuperación de suelos por ser formadores de agregados del suelo
- Uso potencial en suelos degradados o áridos en programas de revegetación
- Interacción positiva con fijadores libres y simbióticos de nitrógeno y otros microorganismos de la rizósfera (Olivares y Barea, 1.991)

La simbiosis de endomicorriza arbuscular debe ser considerada como un elemento esencial para promover sanidad y productividad en los cultivos de importancia económica como el que ocupa éste proyecto. Beneficios máximos serán obtenidos si se inocula con hongos micorrizógenos eficientes y si se hace una selección de combinaciones compatibles de hongo - planta - suelo. En general, cuanto más temprano se establezca la simbiosis, mayor el beneficio.(Azcón y Barea, 1.997)

5.4. Importancia del Fósforo (p) en las plantas.

El fósforo es esencial para el crecimiento de las plantas y es absorbido casi enteramente en forma inorgánica. No existe otro nutriente que pueda sustituirlo. Es uno de los tres nutrientes principales, (N, K). Aunque de los elementos primarios es el requerido en menor cantidad, la disponibilidad de este, en la mayor parte de los suelos agrícolas del trópico, es limitada (Bhat,1973). El fósforo es constituyente de ácidos nucleicos, fosfolípidos, vitaminas, es indispensable en procesos donde hay transporte, almacenamiento y transformación de energía; actúa también en la fotosíntesis, respiración, división y elongación celular. Otras de sus funciones son las de estimular la formación temprana y el crecimiento de las raíces, intervenir en la formación de los órganos de reproducción de las plantas; es vital para la formación de semillas; acelera la maduración de los frutos en los cuales generalmente se almacena en altas concentraciones (Guerrero, 1991; Brokes, 1984).

El primer síntoma por falta de fósforo es el de una planta atrofiada, las hojas pueden deformarse, con deficiencias severas, se pueden producir áreas necróticas en las hojas, frutos y tallos, los síntomas generales son: germinación y crecimiento lentos, el crecimiento de la parte aérea y de las raíces se reduce. Tallos cortos y delgados, pérdida del color verde del follaje y desarrollo de una coloración verde azulosa, color púrpura en el follaje, al margen, posteriormente estos pueden secarse y morir, las hojas son pequeñas, la defoliación prematura comienza por las más viejas. Las deficiencias de fósforo traen como consecuencia una baja producción, del cultivo (Sánchez, 1981).

El origen tanto orgánico como mineral del fósforo en el suelo, supone que los procesos responsables del suministro a la planta sea de naturaleza química y biológica. Esto supone que la cuantificación de la disponibilidad de fósforo para la planta sea particularmente difícil. El predominio de una y otra forma en la solución del suelo depende del pH; bajo condiciones ácidas predomina $H_2PO_4^-$ y en condiciones alcalinas HP_4^{2-} existiendo un equilibrio entre las dos formas, cuando el pH está cercano a la neutralidad. Ambas formas son igualmente disponibles a las plantas, pero su concentración en el suelo es muy pequeña (Guerrero, 1996; Fassbender, 1989).

5.5. Como funcionan las Micorrizas en la planta ?

La colonización del hongo a la raíz de la planta puede ser originada por el micelio precedido por la germinación de esporas de resistencia que permanecen en el suelo. Las clamidiosporas que resisten condiciones adversas en el suelo, germinan frecuentemente a circunstancias favorables, emitiendo un tubo germinal, tubo que muere a no ser que encuentre y penetre con éxito en una raíz. La presencia de un sistema micelial, integrado por

dos fases, un micelio externo, el cual coloniza el suelo, cuya extensión puede ser considerable, sin embargo esta característica varía, y un micelio interno que se ubica dentro de la corteza de las raíces micorizadas (Harley, 1983; Smith, 1988).

La presencia de micelio externo constituye uno de los principales pilares de la asociación, ya que estas hifas se desarrollan más allá del suelo que circunda la raíz, trascienden la rizósfera y transportan nutrimentos directamente a la planta. Se presentan dos tipos de hifas extramatriciales: las hifas de avance "runner" en el suelo y las hifas absorbentes (Harley, 1983).

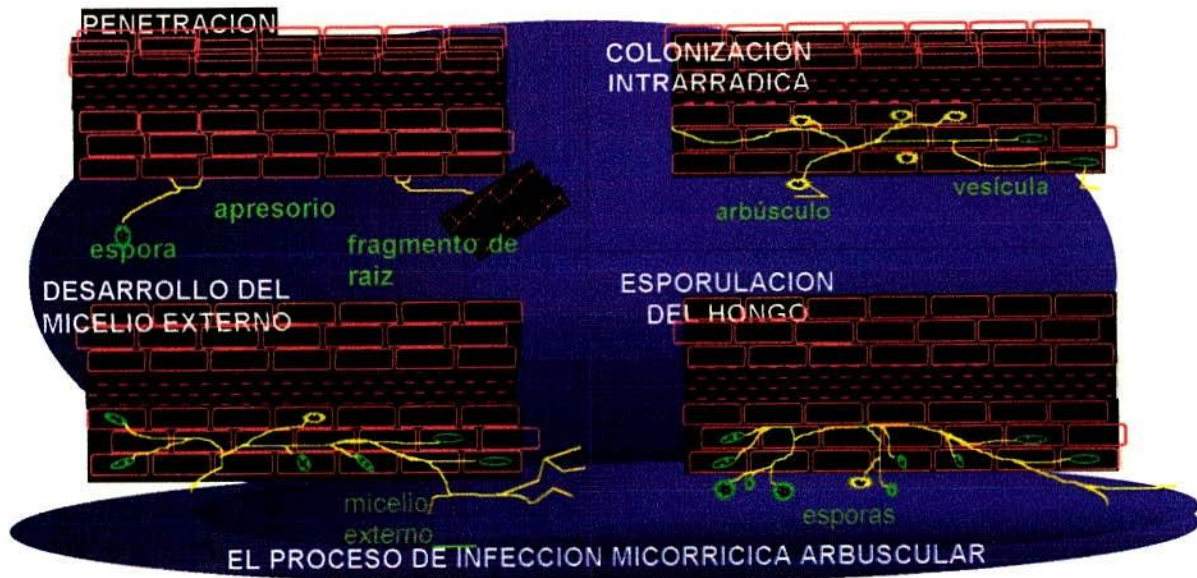


Figura 16. Proceso de infección de las raíces con micorizas vesiculo arbusculares.

Las primeras son de paredes gruesas, grandes, con proyecciones angulares muy definidas, las cuales siguen la trayectoria de las raíces en el suelo, o en algunos casos, simplemente crecen a través del suelo en busca de ellas; estas aunque absorben nutrimentos, su función primordial aparentemente, es de soporte y base permanente de la red micelial. Las hifas que penetran las raíces se inician a partir de estas hifas de avance. Las hifas absorbentes de paredes más finas, se desarrollan a partir de las de avance y se dividen dicotómicamente extendiéndose en el suelo, son las componentes del hongo que absorben los nutrimentos para transportarlos al hospedero. Su escaso diámetro les permite explorar los poros más finos del suelo, especialmente cuando estos tienen altos contenidos de arcillas y materia orgánica. No se conoce aún la distancia a la cual puede extenderse. Dada la alta relación área/volumen que genera su presencia, el micelio externo de la endomicorriza arbuscular permite que la planta pueda explorar intensamente un gran volumen de suelo (Baon, 1992).

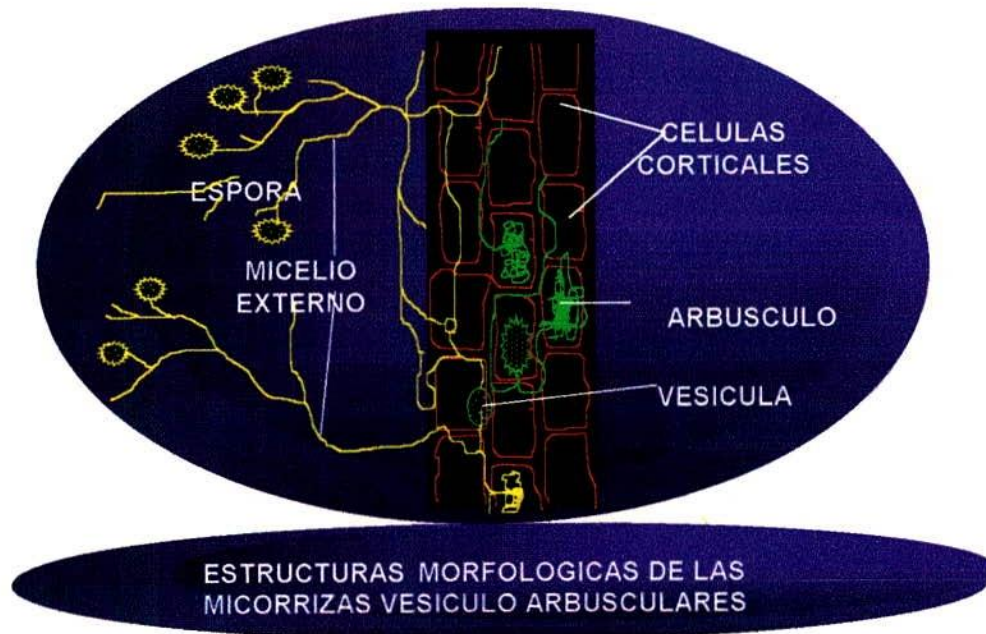


Figura 17. Estructuras morfológicas de las micorrizas vesículo arbuscular

A partir del micelio externo del hongo se pueden formar células auxiliares aisladas o agrupadas, cuya función no se ha determinado totalmente y grandes esporas de resistencia de paredes gruesas, las cuales pueden sobrevivir por años y cuya germinación inicia un nuevo ciclo de la simbiosis. El desarrollo de micelio interno se inicia cuando una clamidospora entra en contacto con la raíz, forman un apresorio, penetra la epidermis desarrollando hifas que crecen intra e intercelularmente. Forman enrollamientos al interior de algunas células del hospedero, extendiendo la infección longitudinalmente en la raíz, penetran a las células más internas de la corteza (Baon, 1992). En este lugar, a partir de hifas intercelulares, se forman ramificaciones laterales que trascienden las paredes de las células del hospedero, cuyo plasmalema se invagina y rodea totalmente la estructura fungosa, la cual una vez en el interior de la célula, se ramifica en forma dicotómica repetidamente, dando lugar a una estructura tridimensional arborescente que se ha denominado arbusculo. En la zona de contacto hospedero-arbusculo se forma una matriz interfacial, en donde se ha comprobado ocurre la mayor transferencia de nutrientes entre los asociados.

Algunos géneros de micorrizas arbusculares producen vesículas, las cuales consisten en ensanchamientos de hifas, que se disponen inter o intracelularmente, ocupando posiciones terminales o intermedias en las hifas. Las vesículas se desarrollan posterior a los arbusculos, en las regiones más antiguas de la infección y contienen material lipídico, por lo cual se las ha aceptado comúnmente como órganos de almacenamiento de algunos de los hongos micorrizógenos arbusculares. Estas estructuras poseen una pared fina, que puede espesarse en algunas ocasiones, transformándose en clamidospora. El hecho de encontrarlas asociadas con raíces viejas o muertas, sugiere que también desempeñan un papel como órganos de reposo o de propagación del hongo. Esta estructura la forman todos los hongos micorrizógenos arbusculares, con excepción de los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* (Harley, 1983; Smith, 1988).

La asociación simbiótica beneficia a la planta con un incremento en la altura, vigor, área foliar y mejora el estado nutricional en la parte aérea. En la raíz ocurren cambios anatómicos y

citológicos. La asociación ocasiona cambios en la organización celular del meristemo apical y cilindro vascular de las raíces, en ellas se detienen la actividad meristemática, haciendo decrecer el índice mitótico medio y la síntesis de ADN Y ARN Formándose un tejido parenquimatoso en los ápices radicales. En contraste, los núcleos de las células corticales activados por el hongo están totalmente diferenciados e involucrados directamente con la cromatina en comparación con las células no infectadas (Baon, 1992).

En las células corticales colonizadas se realizan alteraciones en su organización que varían de acuerdo a su localización, lo que condiciona también al hongo. En conjunto, se ha encontrado que la forma y el tamaño de los núcleos se ven influenciados por la simbiosis, registrándose que se toma de mayor tamaño que los de los controles no micorrizados, sin que esto sea el resultado de una endoreduplicación del ADN, igualmente se rodean durante periodos de máxima actividad del hongo y se localiza centralmente.

5.6. Qué es un Inoculante y como lo vamos a obtener ?

Un punto definitivo en la utilización de las micorizas es la obtención de un inoculo que sea capaz de inducir en forma efectiva la infección en el cultivo que se trata de beneficiar (Dehne, 1975).

Un aspecto importante es el de establecer cuales son los propágulos de las micorizas vasículo arbusculares. Se acepta que en el suelo existen 3 tipos de inoculos, los cuales aunque con diferente grado de capacidad de supervivencia y potencial infectivo, puede originar la simbiosis y son : las grandes esporas de resistencia de los hongos, las raíces micorrizadas, o sus fragmentos, procedentes de plantas preexistentes y los agregados de hifas que sobreviven en el suelo. El soporte experimental de estos hechos, es concluyente en lo que se refiere a los dos primeros sistemas de inoculo aunque es más problemático el tercero (Burbano, 1989).

Debe tenerse en cuenta que uno de los grandes inconvenientes para la obtención del biofertilizante a base de micorizas es que este hongo se propaga unicamente si se tiene una planta que le sirva de hospedero, y lograr así su multiplicación. Por lo tanto debe realizarse una cuidadosa selección de hospederos y condiciones de clima y suelo para lograr este propósito, pudiendo ofrecer al agricultor un producto confiable, que beneficie el sistema productivo donde se aplique y a su vez conserve recursos como suelo, agua y medio ambiente ya que no contiene productos químicos contaminantes.

5.7. Bibliografía.

ABBOTT, L. K. & ROBSON, A. D. The role of VA- mycorrhizal fungi in agriculture and the selection of fungi for inoculation. *Australian Journal of Agricultural Research*. V. 33. P 389-408. 1985.

ARINES, J. VILARIÑO, A. & SAINZ, M. Effect of different inocula of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on manganese content and concentration in red clover (*Trifolium pratense* L) plants. *New Phytologist* V. 112. P. 215-219. 1989.

AZCON-AGUILAR, C., CANTOS, M., TRONCOSO, A., BAREA, J.M. Beneficial effect of arbuscular mycorrhizas on acclimatization of micropropagated cassava plantlets. 1997. *Scientia Horticulturae* 72 : 63 - 71

AZCON, C. BAREA M. Micorizas. *Investigación y Ciencia*. pp. 8-167. 1980.

- AZCÓN, C., BAREA, J.M. 1.997. "Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture significance and potentials" *Scientia Horticulturae*, 68, p1-24.
- AZCÓN, C., BAREA, JOSÉ M.1.996." Arbuscular micorrizas and biological control of soil-borne plant pathogens" *Micorrhiza*, p.457-464.
- BAREA, J. M. AZCON, A. C. Micorrizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. *Advances in Agronomy*. V. 36. P. 1-54. 1983.
- BARBER, D. A. & LEE, R. B. Fungal biomass and fungal immobilization of plant nutrients in Swedish coniferous forest soils. *New Phytologist*. V. 73. P. 97-106. 1974.
- 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*. 38. P.161-175. 1973.
- BORIE, F. Y BAREA, J. M. Ciclo del fósforo II papel de los microorganismos y repercusión en nutrición vegetal. *Anales de Edafología y Agrobiología España*. 41: 2356-2381. 1982.
- BROKES, P. C. POWLSON, D. S. Y JENKINSON, D. S. Phosphorous in soil microbial biomass. *soil Biology and Biochemistry (England)* V. 16. 2. P. 169-175. 1984.
- BURBANO, O. H. El Suelo Una visión sobre sus componentes biorgánicos. Edit. Serie de Investigaciones No.1 Universidad de Nariño. (Pasto). 1989.
- BURNS, R. G. AND DAVIS, J. A. The microbiology of soil structure . *Biol. Agric & Hortic*. V. 3. P. 95-113. 1986.
- CIAT., 1992. Firts International Scientific Meeting of the Cassava Biotechnology Network. Cali, Colombia. Pp 96-168, 314-358
- CORPOICA., 1996. Programa de Biotecnología para la Multiplicación y Capacitación en producción y uso de semilla mejorada de plátano para pequeños y medianos productores de la Costa Atlántica. Tibaitata, Mosquera.
- CORPOICA., 1995. Estudio base para la identificación de lineas de acción del trabajo en biotecnología con pequeños y medianos productores Agropecuarios en la Costa Atlántica. Tibaitata, Mosquera.
- EASON, W. R. NEWMAN, E. Y. AND CHUBA, P. N. Specificity of interplant cycling of phosphorus: the role of mycorrhizas. *Plant and Soil*. V. 137. P. 267-274. 1991.
- GERDEMANN, J. W AND NICOLSON, T. H. Spores of Mycorrhizal *Endogona* species extracted from soil by wet sieving and decation. *Trans.Br. Mycol. Soc*. 46. 235-244. 1963.
- GIANINAZZI, P, V. Y AZCON-AGUILAR, C. Fisiología de las micorrizas vesículo arbusculares. En Olivares, J. y Barea, J.M. (Coord). Fijación y movilización biológica de nutrientes. Vol II. Nuevas Tendencias. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, P 175- 202. Madrid. 1991.
- GREEN, N. E. GRAHAM, S. O. & SCHENCK, N. C. The influence of pH on the germination of VA-mycorrhizal spores. *Mycologia*. V. 68. P. 924-934. 1976.
- GUERRERO, F. EDUARDO. Micorrizas: Un recurso biológico del suelo. FEN.Colombia. 1996.

GUERRERO, R. R. Determinación de la disponibilidad de fósforo y la capacidad de fijación de fosfatos. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 1991.

HABTE, M., BYAPPANAHALLI, M.N., Dependency of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 1994. 4: 241 -245

HANKE, F. Solubilización de fosfatos por microorganismos. *Suelos Ecuatoriales*. V. 13. P.62-65. 1983.

HARDIE, K. The effect of removal of extraradical hyphae on water uptake by VA- mycorrhizal plants. *New Phytol*. V. 101. P. 677-684. 1985.

HARLEY, J. L. AND SMITH, S. E. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press. London and New York. 1983.

IGAC. *Suelos de las Sabanas del Norte de Colombia*. Subdirección Agrológica. Bogotá. P. 237. 1987.

INIBAP., 1994. *The Improvement and Testing of Musa: a Global Partnership*. Montpellier, France. pp 117-129.

JACOBSEN, Y. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in field crops. II. Effect of inoculation on growth and nutrient uptake in barley at two phosphorus levels in fumigated soil. *New Phytologist*. Vol 94. P. 595-604. 1983.

KITT, D. G. HETRICK, B. A. D. & WILSON, G. T. Sporulation of two VA-mycorrhizas in no sterile soil. *Mycologia*. V. 79. P. 896-899. 1987.

KUCEY, R. M. & JANZEN, H. H. Effects of VAM and reduced nutrient availability on growth and phosphorus and micronutrient uptake of wheat and field beans under greenhouse conditions. *Plant and soil*. V. 104. P. 71-78. 1987.

LAMBERT, D. H. BAKER, D.E. Y COLE, H. Jr. The role of mycorrhizae in the interactions of phosphorus with Zn, Cu, and other elements soils. *Science Society of America Journal*. 43. Vol.5. 976-980. 1979.

LONGMAN, R. B. N. *Introduction to the soil Ecosystem*. New York. P. 185-213. 1974.

MORTON JB, BENNY GL. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon*. V. 37. P. 471-491. 1990.

MILLER, R. M. JASTROW, J. D. The role of mycorrhizal fungi soil conservation. In: Bethlenfalvay GJ. Linderman RG (eds) *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Am -soc Agron Spec. Madinson. Wisconsin. V. 54. P. 45-70. 1992.

MONTALDO, Alvaro., 1991. *Cultivos de raíces y tuberculos tropicales*. Editorial IICA., San José de Costa Rica. pp 91-130.

OLIVARES, JOSÉ; BAREA, JOSÉ M. 1991, en "Fijación y movilización biológica de nutrientes" Vol. II, p.177-202.

OROZCO, F. H. Investigaciones sobre micorrizas en Colombia N0 2. Sociedad Colombiana del Suelo. Medellín. 1989.

PRAGUER, M. SANCHEZ. Las Micorrizas Como componentes de la productividad del suelo. 1990.

PRAGUER, M. SANCHEZ. Endomicorrizas y Agroecosistemas. XVIII Congreso. Memorias. Fitopatología Biodiversidad y Micorrizas. 1997.

RAPPARINI, F., et al. Vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation of micropropagated fruit trees. J. Horticultural Science 1994. 69 (6) 1101 - 1109.

RHODES, H. & GERMAN, W. Phosphate uptake zones mycorrhizal and non mycorrhizal ions. New Phytologist. Vol 75. P. 217-222. 1989.

SCHENCK, N. SPAIN, J. HOWELER, R. SIENERDING, E. several new and unreported vesicular arbuscular mycorrhizal fungi (Endogoneaceae) from Colombia. Mycología, 76 . P. 685-699. 1984.

SCHWAB, S. M, MENGE, J. A. AND TINKER, P. B. Regulation of nutrient transfer between host and fungus in VA- mycorrhiza. New Phytol. V. 117. P. 387-398. P. 1991.

SIEVERDING, E. Aspectos básicos de la investigación de micorrizas arbusculares. Investigaciones sobre micorrizas en Colombia. Edt. Sieverding, E. Sanchez de P., M y Braco, N. Universidad Nacional, Facultad de ciencias Agropecuarias. Palmira. V. 1. P. 276. 1984.

SIEVERDING, EWALD. La Micorriza: Un componente biotecnológico en la producción vegetal. Ciencia y Tecnología. Vol. 7. No. 1. 1989.

SIEVERDING, E. Vesículo Arbuscular Mycorrhiza management tropical agrosystems. Technical cooperation, Federal Republic of Germany, Eschborn GTZ. P.371. 1991.

SMITH, S. E. AND GIANINAZZI, P. Physiological interactions between symbionts in VA plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol. V. 39. P. 221-244. 1988.

SMITH, S. E. ROBSON, A.D. AND ABBOTT, L.K. The involment of mycorrhizas in assessment of genetically dependent efficiency of nutrient uptake and use. Plant and Soil. V. 146. P. 169-179. 1992.