



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**MAESTRÍA EN AGRONOMIA MENCIÓN PRODUCCIÓN
VEGETAL**

**ACLIMATIZACIÓN DE VITROPLANTAS DE BANANO CON HONGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**

**“Artículo profesional de alto nivel en opción al título de Magister en
Agronomía Mención Producción Vegetal”**

TUTOR: ING. AGR. SARA CASTILLO HERRERA, PhD.

MACHALA

2022

DEDICATORIA

Quiero dedicar el presente trabajo de investigación en primer lugar a Dios y a mi familia por el apoyo incondicional para lograr este desafío profesional.

AGRADECIMIENTO

- A mi familia por su apoyo, paciencia e incondicionalidad, durante el curso de la maestría.
- A la Universidad Técnica de Machala.
- A la Dra. Adriana Beatriz Sánchez Urdaneta, por brindarme su apoyo, pulir mis conocimientos, por su guía, orientación y su dedicación en su labor como tutora.

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Juan Carlos Escaleras Medina, con C.C. 0703826602; autor del trabajo de titulación “**ACLIMATIZACIÓN DE VITROPLANTAS DE BANANO CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**” en opción al título de Magíster en Agronomía, Mención Producción Vegetal, declaro bajo juramento que:

- El trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido presentado previamente para ningún grado o calificación profesional. En consecuencia, asumo la responsabilidad de la originalidad del mismo y el cuidado al remitirse a las fuentes bibliográficas respectivas para fundamentar el contenido expuesto, asumiendo la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.
- Cedo a la Universidad Técnica de Machala de forma o exclusiva con referencia a la obra en formato digital los derechos de:
 - a. Incorporar la mencionada obra en el repositorio institucional para su democratización a nivel mundial, respetando lo establecido por la Licencia Creative Commons Attribution-No Comercial – Compartir igual 4.0 Internacional (CC BY NCSA 4,0); la Ley de Propiedad Intelectual del Estado Ecuatoriano y el Reglamento Institucional.
 - b. Adecuarla a cualquier formato o tecnología de uso en INTERNET, así como correspondiéndome como autor la responsabilidad de velar por dichas adaptaciones con la finalidad de que no se desnaturalice el contenido o sentido de la misma.

JUAN CARLOS ESCALERAS MEDINA

C.C. 0703826602

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Por medio de la presente, yo, Juan Carlos Escaleras Medina con C.C 0703826602 declaro ante el Comité Académico de la Maestría de Agronomía, de la Universidad Técnica de Machala, que el trabajo de titulación titulado "ACLIMATIZACIÓN DE VITROPLANTAS DE BANANO CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES "; de mi propia autoría, no contiene material escrito por otra persona al no ser referenciado debidamente en el texto, parte de ella o en su totalidad no ha sido aceptada para el otorgamiento de cualquier otro diploma de una institución nacional o extranjera.

JUAN CARLOS ESCALERAS MEDINA

C.C. 0703826602

Machala, 2022/10/28

REPORTE DE SIMILITUD DE TURNITIN

ACLIMATIZACIÓN DE VITROPLANTAS DE BANANO CON HONGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

Juan Carlos Escaleras Medina

INFORME DE ORIGINALIDAD

0%

INDICE DE SIMILITUD

0%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Yo, Adriana Beatriz Sánchez Urdaneta, con C.C. 175.918.734-5, docente-investigadora de la Universidad Técnica de Manabí, adscrita al Instituto de Investigación, Facultades de Ciencias Zootécnicas e Ingeniería Agronómica y de la Universidad del Zulia, Facultad de Agronomía, Departamento de Botánica, tutora del trabajo de titulación " ACLIMATIZACIÓN DE VITROPLANTAS DE BANANO CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES", del autor Juan Carlos Escaleras Medina, en opción al título de Magister en Agronomía, Mención Producción Vegetal, certifico que su tesis ha sido revisada, enmarcada en los procedimientos científicos, técnicos, metodológicos y administrativos establecidos por el Centro de Posgrado de la UTMACH, razón por la cual doy fe de los méritos suficientes para que sea presentada a evaluación.

ADRIANA BEATRIZ SÁNCHEZ URDANETA, PhD.

C.C. 175.918.734-5

Universidad Técnica de Manabí
Instituto de Investigación
Facultades de Ciencias Zootécnicas e Ingeniería Agronómica
Manabí, Ecuador

Universidad del Zulia
Facultad de Agronomía
Departamento de Botánica
Maracaibo, Venezuela

Machala, 2022/11/28

Interesados:

Por este medio se comunica que el artículo: ACLIMATIZACIÓN DE VITROPLANTAS DE BANANO CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES; De los autores: Juan Carlos Escaleras-Medina, Sara Enid Castillo Herrera, y Adriana Beatriz Sánchez-Urdaneta, se encuentra listo para su publicación en el volumen 10, Número 2, de la Revista Científica Agroecosistemas (agosto, 2022), con ISSN: 2415-2862. La revista se encuentra certificada por el Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA) como Publicación Seriada Científico-Tecnológica. También se encuentra indexada en directorios, catálogos y bases de datos internacionales como: Directory of Open Access Journals (DOAJ), la Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico (REDIB) y Latindex.

Atentamente,



M Sc. Amariys Suárez Alfonso
Editora de la Revista Científica Agroecosistemas
Universidad de Cienfuegos



Dr. C. Denis Fernández Álvarez
Director de la Editorial Universosur
Universidad de Cienfuegos

RESUMEN

El sistema de producción de plantas por cultivo in vitro, amerita alternativas de manejo para una mayor obtención de plantas durante la aclimatización ex vitro. Las micorrizas son hongos del suelo y las raíces que mejoran el crecimiento, estado nutrimental de las plantas y aumentan su resistencia. Se evaluó la aclimatización de vitroplantas de banano cv. Willians con sustratos provenientes de agroecosistemas de producción bananera, inoculados con hongos micorrízicos arbusculares. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con arreglo factorial 3x4x2. Los factores de estudio fueron: cosecha, suelo y micorriza, con 24 tratamientos, cinco repeticiones y tres tratamientos testigo. La unidad experimental estuvo representada por una planta. Las variables morfológicas evaluadas fueron: longitud de la raíz, altura de la planta, número de hojas y contenido de clorofila. Se encontraron diferencias estadísticas para todas las variables estudiadas. En los sustratos orgánicos, con presencia de micorrizas se presentó la mayor longitud de las raíces (38,72 cm), altura de las plantas (8,03 cm), número de hojas (6,92) y contenido de clorofila (42,75). Se concluye que la inoculación con hongos micorrízicos (*Acaulospora* sp.) y suelos orgánicos en plantas de banano generan mayor adaptación de las plantas, tolerando condiciones de campo al ser trasplantadas.

Palabras clave: asociación simbiótica, plantas adaptadas, calidad de plantas, crecimiento.

ABSTRACT

The plant production system by *in vitro* culture, requires management alternatives for a greater obtaining of plants during *ex vitro* acclimatization. Mycorrhizae are soil and root fungi that improve growth, nutritional status of plants and increase their resistance. The acclimatization of vitroplants of banana cv. Willians with substrates from banana production agroecosystems, inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. A completely randomized experimental design was used, with a 3x4x2 factorial arrangement. The study factors were: harvest, soil and mycorrhiza, with 24 treatments, five repetitions and three control treatments. The experimental unit was represented by a plant. The morphological variables evaluated were: root length, plant height, number of leaves and chlorophyll content. Statistical differences were found for all the variables studied. In the organic substrates, with the presence of mycorrhizae, the greatest root length (38.72 cm), plant height (8.03 cm), number of leaves (6.92) and chlorophyll content (42.75 SPAD). It is concluded that the inoculation with mycorrhizal fungi (*Acaulospora* sp.) and organic soils in banana plantations generate greater adaptation of the plants, tolerating field conditions when transplanted.

Keywords: symbiotic association, adapted plants, plant quality, growth.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR.....	2
DEDICATORIA	2
AGRADECIMIENTO	3
RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA	5
REPORTE DE SIMILITUD DE TURNITIN.....	6
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR.....	7
RESUMEN.....	9
ABSTRACT	10
ÍNDICE DE CONTENIDO	11
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	¡Error! Marcador no definido.
INTRODUCCIÓN.....	1
3	
CAPITULO III.....	2
MATERIALES Y MÉTODOS.....	¡Error! Marcador no definido.
CAPITULO IV	¡Error! Marcador no definido.
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	¡Error! Marcador no definido.
CAPÍTULO V.....	¡Error! Marcador no definido.
CONCLUSIÓN.....	¡Error! Marcador no definido.
CAPÍTULO VI	¡Error! Marcador no definido.
RECOMENDACIONES.....	¡Error! Marcador no definido.
CAPÍTULO VII.....	¡Error! Marcador no definido.
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	¡Error! Marcador no definido.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Definición de los tratamientos generados para estudiar la aclimatización de vitroplantas de banano bajo el efecto de la cosecha, suelo y micorriza...;	Error! Marcador no definido.
Tabla 2. Análisis de varianza para estudiar el efecto de los tratamientos sobre las variables de estudio.;	Error! Marcador no definido.
Tabla 3. Análisis de varianza del diseño experimental factorial 4x3x2 para estudiar el efecto de los tratamientos sobre las variables de estudio.....	5
Tabla 4. Prueba de Tukey aplicada a las medias ajustadas para la interacción de los factores cosecha por tipo de suelo sobre la variable longitud de la raíz.....	6
Tabla 6. Prueba de medias de Tukey por efecto de las semanas a cosecha sobre la altura de las plantas (cm).....	6
Tabla 7. Prueba de medias de Tukey por efecto del tipo de suelo sobre la altura de las plantas (cm).....	7

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

La biotecnología a través de la técnica de cultivo de tejidos *in vitro*, ha utilizado la micropropagación a partir de meristemas, este sistema permite la propagación masiva de clones específicos, garantiza alta calidad, mayor uniformidad y la obtención de plántulas libres de patógenos, mitigando las pérdidas causadas por plagas y enfermedades (Cruz-Rosero et al., 2016).

Aun ante las ventajas asociadas a la micropropagación de material vegetal *in vitro*, las causas de que su uso no se haya generalizado completamente, se encuentra asociado a los elevados costos de producción, que incluyen laboratorios especializados y estructuras para el endurecimiento del material previo a la plantación, cuidados extras y establecimiento de las plantas en campo y la incidencia de variaciones somaclonales (Wong et al., 2017).

Los cultivares de banano del subgrupo Cavendish utilizados en plantaciones comerciales destinadas a la exportación y en las plantaciones establecidas más recientemente de bananos de otros cultivares se utilizan plántulas obtenidos por cultivo *in vitro* (Galán et al., 2018). En este sentido, en estos sistemas de producción de bananos, la transferencia de plántulas de condiciones *in vitro* a *ex vitro*, se han evidenciado pérdidas entre el 70 al 90%, lo cual ha sido asociado con la presencia de tejidos poco desarrollados, cutículas y estomas no funcionales y un sistema radical débil que incrementa la susceptibilidad a la deshidratación por estrés hídrico (Canchignia et al., 2008; Galán et al., 2018).

Esto ha llevado a establecer un acompañamiento con estrategias de aclimatación y endurecimiento, desde las fases finales del cultivo *in vitro* (enraizamiento) de forma que puedan aumentarse las tasas de supervivencia que permitan garantizar el mantenimiento de dicho material en las fases posteriores del proceso, como el control de las condiciones ambientales en la fase de aclimatación (Mora-González et al., 2021).

Las vitroplantas de banano se encuentran expuestas desde el inicio de su producción a microambientes seleccionados para lograr óptimas condiciones de desarrollo, estas crecen dentro de envases de vidrio de cultivo, bajo condiciones asépticas y con reducida intensidad luminosa, lo cual dificulta en gran manera la transferencia de las plantas del ambiente *in vitro* a condiciones naturales más adversas en vivero lo cual requiere de su endurecimiento y aclimatación (Indacochea et al., 2017).

La fase de aclimatación representa un reto, ya que requiere de un ambiente controlado para lograr el establecimiento *ex vitro* de las plantas micropropagadas, condiciones que hacen costosa la adopción de esta tecnología por parte de los productores y casas comerciales que abastecen a los productores de vitroplantas (Valencia et al., 2019).

Por ello, se han venido implementado estrategias para reducir el estrés durante el trasplante en la fase de aclimatización, a fin de garantizar un crecimiento más rápido del material vegetal originado en cultivo *in vitro* y luego propagado en condiciones de vivero o invernadero, dentro de las cuales el uso de la asociación con microorganismos benéficos como los hongos formadores de micorrizas arbusculares, se ha implementado con éxito en plantas micropropagadas con una alta dependencia de las relaciones micorrízicas, logrando incrementos en la tasa de crecimiento (Folli-Pereira et al., 2013; Koffi & Declerck, 2015; Ortas et al., 2017).

Es importante destacar, que de acuerdo con Brundrett & Tedersoo (2018), los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son reconocidos como endófitos obligados que establecen asociaciones simbióticas con el 80% de las plantas terrestres. Por su parte, Sivakumar (2013) ha señalado que estos microorganismos forman parte trascendental de la microbiota de los agroecosistemas influyendo en la dinámica poblacional y comunidades de especies vegetales; además, aumentan la absorción y movilización de los nutrientes para potenciar la respuesta de la planta a diferentes tipos de estreses bióticos y abióticos.

Ortas et al. (2017) indicaron que al utilizar hongos micorrízicos arbusculares en plantas de banano obtenidas a través de tejidos meristemáticos (plántulas *in vitro*), estas durante la fase de aclimatización registraron mayor grosor y crecimiento del pseudotallo, a la vez que incrementaron en las hojas el contenido de nitrógeno y fósforo.

Las plántulas inoculadas con hongos micorrízicos presentaron una mayor actividad fotosintética, clorofila, contenidos de N, P y K foliar elemental, biomasa seca foliar, área foliar y diferencias en la distribución del carbono en comparación con las plántulas sin micorrizar. Además, la colonización rápida de estos hongos mejoró los ajustes fisiológicos, lo que permitió a las plántulas recuperarse rápidamente durante la aclimatación y obtener un mayor crecimiento durante la post-aclimatación (Teixeira da Silva y col., 2017).

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la aclimatización de vitroplantas de banano (*Musa x paradisiaca*) cv. Willians con sustratos provenientes de agroecosistemas de producción bananera, inoculados con hongos micorrízicos arbusculares.

CAPITULO 2.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción de las condiciones experimentales

Las muestras de suelo convencional fueron recolectadas de la Unidad Experimental Santa Inés, perteneciente a la Universidad Técnica de Machala, provincia de El Oro, Ecuador, caracterizada por un manejo agronómico con uso frecuente de agroquímicos. La unidad de producción cuenta con una superficie de 40 ha. Las siguientes características edafoclimáticas describen el área de estudio: ubicación de 03°21'47'' S y 79°50'38'' O, con temperaturas promedios de 17,5 °C, hasta alcanzar los 26 °C, precipitación media anual de 2.820 mm, con 80% de humedad relativa, suelos clasificados como franco-arcillosos de origen aluvial sedimentario, con clima tropical de sabana (aw).

Con respecto a los suelos caracterizados como suelos orgánicos, fueron recolectadas de la Hacienda “Los Ángeles” localizada en el sur-oeste entre el cantón Pasaje y Buena Vista, localizada en el sur-oeste del cantón Pasaje; se extiende sobre una llanura de 46 Km², a una altura de 24 msnm; limita al norte con la parroquia La Peaña, al sur con el río Buenavista, al este con la cabecera. Las características agroecológicas de la zona fueron: ubicación 03°21'47'' S y 79°50'38'' O, con clima tropical de sabana (aw).

Se recolectaron muestras de la rizosfera de cultivo de banano en ambas condiciones de suelo, haciendo un recorrido en zig-zag, recolectando tres submuestras cada 200 m², para un total de 30 muestras compuestas. Las muestras fueron tomadas a 15 cm de profundidad (horizonte A), y guardadas en fundas de polietileno debidamente marcadas. Posteriormente las muestras se unificaron, tomando un kg como muestra representativa de la zona para su posterior procesamiento en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Machala, Ecuador.

Las muestras de suelo recolectadas fueron subdivididas en dos grupos orgánico y convencional (SO y SC) según el tratamiento respectivo. Las muestras correspondientes a los tratamientos

esterilizados, fueron colocadas en el autoclave a una temperatura de 121 °C, por un periodo de 1 hora. Dejándose reposar para posteriormente llenar las fundas según el tratamiento respectivo.

Característica del material vegetal

Se utilizaron vitroplantas de *Musa x paradisiaca* (AAA) variedad Willians provenientes de la Biofábrica de la Sociedad Ecuatoriana de Bioctenología (SEBIOCA), Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Las cuales tenían cuatro semanas de edad fenológica cuando fueron adquiridas (plantas en bandeja) y presentaron características morfológicas uniformes de altura (4 a 5 cm), entre 3 a 4 hojas funcionales y grosor del tallo de 3,5 cm, fueron inoculadas en esa cuarta semana y dos semanas después de la inoculación se iniciaron las evaluaciones, llegando a las ocho semanas de edad al tiempo final de aclimatización.

Siembra e inoculación de las vitroplantas

Las bandejas de propagación con las vitroplantas fueron limpiadas y separadas según la uniformidad de sus características, se realizó una medición inicial de altura de planta, número de hojas y grosor de tallo garantizar la homogeneidad de las plantas en el crecimiento vegetativo inicial.

Posteriormente las plántulas seleccionadas fueron trasplantadas a fundas agroecológicas negras de 1 kg de capacidad, conteniendo el sustrato en una relación 3:1 suelo y turba. Las cuáles fueron distribuidas según el tratamiento respectivo. Las plántulas correspondientes a los tratamientos inoculados se le colocó 5 g de inóculo micorrizico (*Acaulospora* sp.), todas las plántulas fueron mantenidas bajo condiciones controladas en el Vivero del Laboratorio de Micropropagación Vegetal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Machala, para su adaptación final durante un periodo de 4 semanas donde concluyó su evaluación. Finalmente, las plantas se extrajeron cuidadosamente de las fundas, asegurando que los órganos subterráneos raíces adheridas y los órganos aéreos (pseudotallo y hojas) no sufrieran ningún daño. Después a cada planta se le separaron sus diferentes órganos (raíz, tallo y hojas), estos se midieron y pesaron en fresco; para luego tomar una muestra de cada uno y llevarlos a la estufa para obtener sus pesos secos, para así estimar la producción de biomasa y el resto de variables indicadoras en estudio.

Metodología estadística

La unidad experimental estuvo representada por una funda con una planta de banano. Se estudiaron los factores tipo de suelo (cuatro tipos de suelo, generados por la combinación de dos tipos de suelo, orgánico y convencional, esterilizados y no esterilizados), combinados con dos niveles de micorriza (con y sin micorriza), más tres tratamientos testigo, generando once tratamientos, los cuales se cosecharon en tres tiempos diferentes (plantas cosechadas a las dos, tres y cuatro semanas). Se realizó un análisis de varianza en dos etapas.

En la primera se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con arreglo factorial de dos factores: tratamientos (11) y cosecha (3); los once tratamientos se generaron a partir de un diseño factorial 4X2 más tres testigos. Este análisis permitió probar la significancia de los tratamientos adicionales al factorial mediante contrastes ortogonales.

En el segundo análisis estadístico se estudió el efecto de los factores: cosecha (tres cosechas de plantas a las dos, tres y cuatro semanas), suelo (cuatro tipos de suelo, orgánico y convencional, esterilizados y no esterilizados) y micorriza (con y sin micorrizas), que originaron 24 combinaciones de tratamientos, con cinco repeticiones.

Para aquellos efectos que resultaron significativos se realizaron las pruebas de medias correspondientes. Los datos se procesaron con el paquete estadístico SAS (SAS[®] versión 15.1, 2020).

Definición de las variables de estudio

Se evaluó la longitud de la raíz midiéndola en cada cosecha, desde la base hasta el ápice de la raíz, se utilizó una cinta métrica y se expresó en cm. La altura de las plantas se determinó midiendo desde la base del pseudotallo hasta la hoja del ápice, para ello se utilizó una cinta métrica y se expresó en cm. Para determinar el número de hojas, estas fueron contadas en cada evaluación.

La determinación del contenido de clorofila se realizó de acuerdo a la metodología de Castañeda et al. (2018). Para ello, se realizó el monitoreo de las plantas según el tratamiento aplicado. Se seleccionó y marcó el punto de medición en cada una de las hojas (la mitad del tercio medio de la tercera hoja) para evitar variación de los valores las mediciones fueron obtenidas de la parte

basal media y apical de las hojas, con el fin de establecer el comportamiento de la concentración de clorofila en relación con la posición, se tomaron tres mediciones por hoja para posteriormente obtener un valor promedio. La concentración de clorofila se determinó a través del equipo portátil para medición no destructiva Minolta Spad-502 Plus. Las mediciones fueron realizadas tres veces por semana (interdiaria) y expresados en unidades de Índice de Concentración de Clorofila (ICC). Las evaluaciones de todas las variables analizadas se realizaron durante cuatro semanas.

Tabla 1. Definición de los tratamientos generados para estudiar la aclimatización de vitroplantas de banano bajo el efecto de la cosecha, suelo y micorriza.

Siglas	Tratamientos
SO1M1C1	Suelo orgánico no esterilizado inoculado con micorrizas cosechadas a las dos semanas
SO1M1C2	Suelo orgánico no esterilizado inoculado con micorrizas cosechadas a las tres semanas
SO1M1C3	Suelo orgánico no esterilizado inoculado con micorrizas cosechadas a las cuatro semanas
SO1M2C1	Suelo orgánico no esterilizado sin inoculación con micorrizas cosechadas a las dos semanas
SO1M2C2	Suelo orgánico no esterilizado sin inoculación con micorrizas cosechadas a las tres semanas
SO1M2C3	Suelo orgánico no esterilizado sin inoculación con micorrizas cosechadas a las cuatro semanas
SC1M1C1	Suelo convencional no esterilizado inoculado con micorrizas cosechadas a las dos semanas
SC1M1C2	Suelo convencional no esterilizado inoculado con micorrizas cosechadas a las tres semanas
SC1M1C3	Suelo convencional no esterilizado inoculado con micorrizas cosechadas a las cuatro semanas
SC1M2C1	Suelo convencional no esterilizado sin inoculación con micorrizas cosechadas a las dos semanas
SC1M2C2	Suelo convencional no esterilizado sin inoculación con micorrizas cosechadas a las tres semanas
SC1M2C3	Suelo convencional no esterilizado sin inoculación con micorrizas cosechadas a las cuatro semanas
SO2M1C1	Suelo orgánico esterilizado inoculadas con micorrizas cosechadas a las dos semanas
SO2M1C2	Suelo orgánico esterilizado inoculadas con micorrizas cosechadas a las tres semanas
SO2M1C3	Suelo orgánico esterilizado inoculadas con micorrizas cosechadas a las cuatro semanas
SO2M2C1	Suelo orgánico esterilizado sin inoculación con micorrizas cosechadas a las dos semanas
SO2M2C2	Suelo orgánico esterilizado sin inoculación con micorrizas cosechadas a las tres semanas

- SO2M2C3** Suelo orgánico esterilizado sin inoculación con micorrizas cosechadas a las cuatro semanas
- SC2M1C1** Suelo convencional esterilizado inoculadas con micorrizas cosechadas a las dos semanas
- SC2M1C2** Suelo convencional esterilizado inoculadas con micorrizas cosechadas a las tres semanas
- SC2M1C3** Suelo orgánico esterilizado inoculadas con micorrizas cosechadas a las cuatro semanas
- SC2M2C1** Suelo convencional esterilizado sin inoculación con micorrizas cosechadas a las dos semanas
- SC2M2C2** Suelo convencional esterilizado sin inoculación con micorrizas cosechadas a las tres semanas
- SC2M2C3** Suelo convencional esterilizado sin inoculación con micorrizas cosechadas a las cuatro semanas

CAPITULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al contrastar los tratamientos generados por el diseño factorial con los tratamientos testigos no se encontraron diferencias estadísticas significativas (Tabla 2; factorial versus testigo) para ninguna de las variables evaluadas. Esto permitió analizar las pruebas de medias que generó el análisis de la varianza de la tabla 3.

Tabla 2. Análisis de varianza para estudiar el efecto de los tratamientos sobre las variables de estudio.

Fuentes de variación	GL	Longitud de la raíz (cm)	Altura de la planta (cm)	Número de hojas	Contenido de clorofila (SPAD)
Tratamiento	10	772,74*	21,46*	13,19*	279,68*
Cosecha	2	4.714,39*	133,67*	15,56*	3.908,02*
Tratamiento*cosecha	20	781,08	14,50	11,69*	903,32*
Covariable	1	-	0,63	3,27*	-
Factorial vs testigos	1	93,25	0,82	1,19	59,03
Sust+suelo vs SO	1	3,13	0,60	0,17	0,52
SOester vs SOnoest	1	11,52	1,86	0,30	11,97
Error	112	6.545,53	65,55	27,53	1.623,49
Total	146	3.199,00	259,78	77,61	6.934,26

*: Efecto significativo ($P \leq 0,05$), SOester: Suelo orgánico esterilizado, SOnoest: Suelo orgánico no esterilizado.

El análisis de varianza del diseño de tratamientos factorial indicó diferencias estadísticas significativas para la variable longitud de la raíz por efecto de los factores cosecha, suelo y para la interacción cosecha por suelo; además de la interacción suelo por micorriza (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de varianza del diseño experimental factorial 4x3x2 para estudiar el efecto de los tratamientos sobre las variables de estudio.

Fuentes de variación	GL	Longitud de la raíz	Altura de la planta	Número de hojas	Contenido de clorofila (SPAD)
Cosecha	2	4.139,23*	107,72*	21,67*	3.438,60*
Suelo	3	284,35*	22,77*	9,77*	60,42
Cosecha*suelo	6	476,68*	5,25	5,93*	465,04*
Micorriza	1	20,00	1,41	2,13*	74,42*
Cosecha*micorriza	2	14,51	1,20	0,27	74,14
Suelo*micorriza	3	360,48*	3,85	1,00	73,31
Cosecha*suelo*micorriza	6	153,16	2,78	0,40	168,22
Covariable	1	-	0,19	2,98*	-
Error	95	2.956,68	48,15	21,82	1.294,79
Total	119	8.405,10	193,33	65,97	5.648,94

*: Efecto significativo ($P \leq 0,05$).

En la tabla 4 se muestran las medias de la interacción cosecha por suelo. Las combinaciones C3 y SO1, C3 y SO2 fueron las que presentaron la mayor longitud de las raíces con valores de 38,72 y 38,54 cm, respectivamente y se diferenciaron estadísticamente de la combinación C1 y SO1 con la menor longitud (18,94 cm), cuyo valor fue 2,04 veces mayor a esta última combinación.

Tabla 4. Prueba de Tukey aplicada a las medias ajustadas para la interacción de los factores cosecha por tipo de suelo sobre la variable longitud de la raíz.

Cosecha	Suelo	Media de la longitud de la raíz (cm)	Prueba de Tukey
C3	SO1	38,72	a
C3	SO2	38,54	a
C2	SO1	32,37	ab
C3	SC2	30,91	ab
C3	SC1	30,47	ab

C2	SC1	29,85	b
C2	SO2	29,46	bc
C2	SC2	28,36	bcd
C1	SO2	21,50	cde
C1	SC1	21,43	cde
C1	SC2	20,31	de
C1	SO1	18,94	e

Hubo diferencias en la variable longitud de la raíz por efecto de la interacción cosecha por micorriza. La combinación SO1 sin micorriza presentó la mayor longitud de la raíz con un valor de 31,58 cm en comparación con la combinación SC1 sin micorriza con la menor longitud (24,17 cm), con diferencias estadísticas significativas entre ambas, el resto de las combinaciones fueron estadísticamente similares (Tabla 5). En general, las plantas establecidas en suelos orgánicos presentaron un mayor desarrollo de las raíces que aquellas que crecieron en suelos convencionales, por lo que, esto conlleva a propiciar la implementación de este tipo de manejo en harás de que las plantas puedan alcanzar un mayor desarrollo, lo que conllevaría a una mayor producción.

Tabla 5. Prueba de Tukey aplicada a las medias ajustadas para la interacción de los factores tipo de suelo por micorriza sobre la longitud de la raíz.

Suelo	Micorriza	Media de la longitud de la raíz (cm)
SO1	Sin micorriza	31,58 a
SO2	Sin micorriza	30,38 ab
SC1	Con micorriza	30,33 ab
SO2	Con micorriza	29,29 ab
SO1	Con micorriza	28,44 ab
SC2	Con micorriza	27,20 ab
SC2	Sin micorriza	25,85 ab
SC1	Sin micorriza	24,17 b

Los resultados obtenidos en esta investigación con relación a la longitud de las raíces cuando las plantas fueron aclimatadas en suelos orgánicos con y sin la presencia de micorrizas sugieren que en ambas condiciones las plantas podrían generar un crecimiento de las raíces que les

permitiría alcanzar un sistema radical profundo, con lo cual alcanzarían un mayor anclaje o soporte, una mayor exploración de las raíces en el suelo y por ende una mayor nutrición. Mientras que en el suelo convencional la presencia de micorrizas le permitió alcanzar longitudes de las raíces entre 30,33 y 27,20 cm, valores cercanos a los alcanzados en los suelos orgánicos con y sin micorrizas; no obstante, el suelo convencional sin micorrizas presentó los valores más bajos (25,85 y 24,17 cm).

Ortas et al. (2017) indicó que la utilización de abonos orgánicos, microorganismos como cepas de *Trichoderma* spp. y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) incrementan la longitud de las raíces y el crecimiento aéreo de las plantas, que crecen en sustratos bajo las condiciones indicadas, lo cual fue similar a lo encontrado en esta investigación.

Mora-González et al. (2021) señalaron que la mayor longitud radical se presentó en el tratamiento en el cual aplicaron abonos orgánicos, microorganismos y hongos micorrízicos donde la longitud de las raíces fue de 45 cm, con diferencias estadísticas significativas al compararlo con el testigo (25 cm). En ese sentido, fue atribuido el crecimiento radical desarrollado a la inoculación con las micorrizas arbusculares nativas, debido al alto porcentaje de micorrización que se presentó al analizar el sustrato.

Al momento de establecer en campo, las plántulas producidas *in vitro* es cuando se presentan las mayores pérdidas; ya que estas deben prepararse a las condiciones del entorno que las rodea (ex vitro; edáfico y ambiental) para desarrollarse, razón por la cual es necesario proporcionarles escenarios durante la aclimatización que les permitan superar los procesos estresantes propios del cambio de ambiente, en otras palabras, que las plantas estén fortalecidas antes de ser establecidas en campo.

Para la variable altura de la planta hubo diferencias significativas ($P \leq 0,05$) por efecto de la cosecha y el suelo (Tabla 2). A medida que se aumentó el número de semanas para la cosecha la altura de las plantas fue incrementando, con diferencias estadísticas entre ellas (Tabla 6). El tipo de suelo SO1 presentó la mayor altura (7,45 cm) y se diferenció estadísticamente ($P \leq 0,05$) del tipo SC1, quien tuvo la menor altura de la planta (6,12 cm), tal como se observa en la Tabla 7.

Tabla 6. Prueba de medias de Tukey por efecto de las semanas a cosecha sobre la altura de las plantas (cm).

Cosecha	Media de la altura de las plantas (cm)	Prueba de Tukey
C3	8,0353	a
C2	6,3900	b
C1	5,7952	c

Tabla 7. Prueba de medias de Tukey por efecto del tipo de suelo sobre la altura de las plantas (cm).

Suelo	Media de la altura de las plantas (cm)	Prueba de Tukey
SO1	7,2460	a
SO2	7,0309	ab
SC1	6,5668	bc
SC2	6,1168	c

La velocidad de crecimiento de las plantas al considerar su altura sugiere una tasa de desarrollo lenta o baja, puesto que en cuatro semanas después de haber sido inoculadas, la diferencia de longitud entre la segunda y cuarta semana fue de solo 2,24 cm, lo cual implicó un crecimiento diario de 0,82; 0,91 y 1,14 cm para las cosechas 2, 3, y 4, respectivamente.

Sánchez-Urdaneta et al. (2022) señalaron que plantas de plátano Barraganete obtenidas a través de cormos a los 58 días después de la siembra (dds) obtuvieron una altura promedio de $8,03 \pm 5,04$ cm, pero a los 65 dds las plantas llegaron a tener $20,13 \pm 8,59$ cm de altura, con crecimiento diario de 1,73 cm, representando 2,51 veces mayor el crecimiento en 7 días, por lo que se indicó un crecimiento acelerado de los hijos. Ramos et al. (2016) indicaron que para la a los 58 dds, encontraron en promedio un crecimiento de 20,65 cm, contrastando estos resultados con los obtenidos por los autores indicados anteriormente y los obtenidos en esta investigación. Por lo

que, contrastó la velocidad de crecimiento ($0,59 \text{ cm}\cdot\text{día}^{-1}$) entre estos dos experimentos, pero también, con los obtenidos en esta investigación. Probablemente esas diferencias en la tasa de crecimiento sea producto del tipo de propagación, del tipo de material vegetal y del sustrato que dio origen a las plantas utilizadas en las tres investigaciones en cuestión.

Los resultados de la altura de las plantas presentaron similar comportamiento al expresado en la longitud de las raíces, donde las plantas de banano que crecieron en suelos orgánicos tuvieron un mayor crecimiento. Coincidiendo con lo señalado por Ortas et al. (2017) al indicar que en los suelos orgánicos o micorrizados las plantas alcanzaron una mayor altura.

Para la variable número de hojas se observaron diferencias estadísticas significativas ($P\leq 0,05$) por efecto de la cosecha, el suelo, la interacción cosecha por suelo y por micorriza (Tabla 2). En la tabla 8 se muestran las medias de la interacción cosecha por suelo. Las combinaciones C1 x SC1 y C1 x SC2 fueron las que presentaron el menor número de hojas (4,85 y 4,88 hojas, respectivamente) sin diferencias estadísticas entre ellas, aun cuando se diferenciaron estadísticamente de la combinación C3 y SO2 que tuvo el mayor número de hojas (6,92). Por otro lado, hubo diferencias estadísticas para el número de hojas por la presencia de micorrizas, con un total de 5,79 hojas, en comparación con las no micorrizadas con 5,58 hojas por planta (Tabla 9).

Ramos et al. (2016) reportaron en plátano en promedio 6,21 y 6,97 hojas para la 6ta y 7ma semana, respectivamente. Coincidiendo con lo indicado en esta investigación; pero con diferencias importantes a lo encontrado con Sánchez-Urdaneta et al. (2022) quienes indicaron que a los 58 y 65 dds las plantas de plátano presentaron 2,63 y 3,58 hojas·hijo⁻¹, generando 0,38 y 0,51 hojas·semana⁻¹, respectivamente.

Tabla 8. Prueba de Tukey aplicada a las medias ajustadas para la interacción de cosecha por tipo de suelo sobre la variable número de hojas.

Cosecha	Suelo	Media del número de hojas por planta	Prueba de Tukey
C3	SO2	6,9169	a
C2	SO2	6,3169	ab
C3	SC1	5,8508	bc
C3	SC2	5,8477	bc
C2	SC2	5,8169	bc
C3	SO1	5,7508	bc
C2	SC1	5,7169	bc
C2	SO1	5,5831	c
C1	SO1	5,3815	cd
C1	SO2	5,2831	cd
C1	SC2	4,8846	d
C1	SC1	4,8508	d

Tabla 9. Prueba de medias de Tukey por efecto de la utilización de micorrizas sobre la variable número de hojas.

Micorriza	Media del número de hojas por planta	Prueba de Tukey
Con micorrizas	5,7885	a
Sin micorrizas	5,5782	b

Para la variable contenido de clorofila (SPAD) se observaron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0,05$) por efecto de la cosecha, la interacción cosecha por suelo y micorriza (Tabla 2). En la tabla 9 se muestran las medias de la interacción cosecha por suelo. Las combinaciones C3 x SC2 y C3 x SO1 fueron las que mostraron menor contenido de clorofila, con 23,01 y 24,72 unidades SPAD respectivamente y se diferenciaron estadísticamente de la combinación C1 x SO1 con el mayor contenido de clorofila (42,75 unidades SPAD; Tabla 10).

También se encontraron diferencias estadísticas en el contenido de clorofila por efecto de la utilización de micorrizas, con 33,33 unidades SPAD, en comparación a las no micorrizadas con 31,76 unidades SPAD (Tabla 11).

Tabla 10. Prueba de Tukey aplicada a las medias ajustadas para la interacción de cosecha por tipo de suelo sobre la variable contenido de clorofila (SPAD).

Cosecha	Suelo	Medias del contenido de clorofila (SPAD)	Prueba de Tukey
C1	SO1	42,75	a
C1	SC2	38,15	ab
C1	SO2	37,09	bc
C1	SC1	36,50	bc
C2	SC2	35,98	bcd
C2	SO2	34,37	bcd
C2	SO1	32,13	cde
C2	SC1	31,19	def
C3	SO2	27,99	efg
C3	SC1	26,67	fg
C3	SO1	24,72	g
C3	SC2	23,01	g

Tabla 11. Prueba de medias de Tukey por efecto de la micorrización sobre el contenido de clorofila (SPAD).

Micorriza	Media del contenido de clorofila (SPAD)	Prueba de Tukey
Con micorrizas	33,3333	a
Sin micorrizas	31,7583	b

Cervantes et al. (2020) al estudiar en plantas de banano Willians adultas, la interacción entre el N y el K₂O sobre el contenido de clorofila, demostraron que la dosis creciente de N, influyó positivamente en el contenido de clorofila y alcanzó un valor máximo de 51 $\mu\text{m}\cdot\text{cm}^{-2}$ en las terceras hojas en el cultivo de banano. Esto quizás podría relacionarse a los resultados obtenidos en esta investigación, dado que los mayores valores de clorofila se presentaron en general, en

las plantas aclimatadas en suelos orgánicos y con micorrizas. Por supuesto, en esta investigación los contenidos de clorofila fueron menores a los indicados por Cervantes et al. (2020), lo cual podría ser atribuido al menor desarrollo de las hojas en esta investigación.

Smith & Read (2008), Kavoo-Mwangi et al. (2014) y Johnson et al. (2016) han señalado que la utilización de micorrizas y microorganismos en plantas de banano obtenidas *in vitro* durante la fase de aclimatación incrementó el crecimiento y grosor del pseudotallo, además mejoró la fertilidad del suelo; por lo que, esto permite que las plantas se adapten mejor a las condiciones de invernadero.

CONCLUSIONES

Mediante la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares (*Acaulospora*) en vitroplantas de banana durante la fase de aclimatización se generan mayores beneficios en la planta, al reducir los efectos del estrés que se produce durante el trasplante. Igualmente, permite un mayor crecimiento de las plantas y actividad fotosintética, predecible por la presencia de mayor contenido de clorofila, produciendo un incremento en la actividad fisiológica y una mejor adaptación de las plantas a las condiciones ambientales.

Los resultados señalan la existencia de un efecto bioprotector y biofortificante del sistema radical, del crecimiento de la planta (mayor longitud y número de hojas), lo que promueve la asimilación de nutrientes, y predispone a las plantas para tolerar las condiciones a campo abierto una vez realizado el trasplante.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brundrett, M. C. & Tedersoo, L. (2018). Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, 220(4), 1108-1115.
- Canchignia Martínez, H. F., Sigcha Sigcha, L. E., Toaquiza Soatunsig, J. P., Ramos Gavilanez, L. E., Saucedo Aguiar, S. G., Carranza Patiño, M. S. & Cevallos Falquez, O. F. (2008). Alternativas para la propagación *in vitro* de plátano variedad Maqueño (*Musa balbisiana* AAB). *Ciencia y Tecnología*, 1; 43-48.
- Castañeda Serrano, C. S., Almanza Merchán, P. J., Pinzón Sandoval, E. H., Cely Reyes, G. E. & Serrano Cely, P. A. (2018). Estimación de la concentración de clorofila mediante métodos no destructivos en vid (*Vitis vinifera* L.) cv. Riesling Becker. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 12(2), 329-33.
- Cervantes, A., Sigcha, L., Villaseñor. D. & Maldonado. T. (2020). Efecto de la interacción del nitrógeno con el potasio sobre la intensidad de la clorofila en el cultivo del banano. *Rev. Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 3(2), 191-198.
- Cruz-Rosero, N., Canchignia-Martínez, H., Morante-Carriel, J., Nieto-Rodríguez, E., Cruz-Rosero, E. & Cabrera-Casanova, D. (2016). *In vitro* propagation of the Orito banana cultivar (*Musa acuminata* AA). *Biotechnología Aplicada*, 33, 4201-4204.
- Folli-Pereira, M. D., Meira-Haddad, L. S., Nobre, C. M. & Megumi, M. C. (2013). Plant-microorganism interactions: Effects on the tolerance of plants to biotic and abiotic stress. En: Hakeem, K., Ozturk, M., Ahmad, P. (Eds.). *Crop Improvement: New Approaches and Modern Techniques*. pp. 209-238. Boston: Springer-Verlag New York Inc. doi:10.1007/978-1-4614-7028-1_6
- Galán, V., Rangel, A., López, J., Pérez Hernández, J. V., Sandoval, J. & Souza Rocha, H. (2018). Propagación del banano: técnicas tradicionales, nuevas tecnologías e innovaciones. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(4), e-574.
- Indacochea-Ganchozo, B., Parrales-Villacreses, J., Castro-Piguave, C., Vera-Tumbaco, M. & Gabriel-Ortega, J. (2017). Aclimatación *in vitro* de especies forestales nativas del Sur de Manabí en peligro de extinción. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 8(2), 124-134.
- Johnson, N. C., Gehring, C. & Jansa, J. (2016). Mycorrhizas: At the Interface of Biological, Soil, and Earth Sciences. En: *Mycorrhizal Mediation of Soil: Fertility, Structure, and Carbon Storage*. Elsevier Inc. 1-6.

- Kavoo-Mwangi, A. M., Kahang, E. M., Ateka, E., Onguso, J. & Jefwa, J. M. (2014). Integration of commercial microbiological products into soil fertility practices as a potential option for acclimatization and growth of TC banana in Kenya. *Open Journal Soil Science*, 4(8), 259-271.
- Koffi, M. C. & Declerck, S. (2015). *In vitro* mycorrhization of banana (*Musa acuminata*) plantlets improves their growth during acclimatization. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 51(3), 265-273.
- Mora-González, A. F., Naranjo-Morán, J. A., Albiño-Quitiaquez, A., Flores-Cedeño, J. A., Oviedo-Anchundía, R., Galarza-Romero, L. & Barcos-Arias, M. S. (2021). Optimización en la aclimatación de plántulas micropropagadas de banano (*Musa* sp.) utilizando tres insumos orgánicos. *Revista Bionatura*, 6(1), 1452-1461.
- Ortas, Í., Rafique, M., Akpinar, C. & Kacar, Y. A. (2017). Growth media and mycorrhizal species effect on acclimatization and nutrient uptake of banana plantlets. *Scientia Horticulturae*, 217, 55–60.
- Ramos Agüero, D., Terry Alfonso, E., Soto Carreño, F., Cabrera Rodríguez, A., Martín Alonso, G.M. & Fernández Chuaerey, L. (2016). Respuesta del cultivo del plátano a diferentes proporciones de suelo y Bocashi, complementadas con fertilizante mineral en etapa de vivero. *Cultivos Tropicales*, 37(2), 165-174.
- Sánchez-Urdaneta, A. B., Cedeño Zambrano, J. R., Mesa Reinaldo, J. R., Estévez Chica, S. T., Avellán Vasquez, L. E., Sánchez Urdaneta, D. C. & García Batista, R. M. (2022). Emergencia y crecimiento inicial de hijos de plátano ‘Barraganete’ (*Musa* AAB), en el Carmen, Ecuador. *Revista Científica Agroecosistemas*, 10(1), 59-64.
- Sivakumar, N. (2013). Effect of edaphic factors and seasonal variation on spore density and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in sugarcane fields. *Annals of Microbiology*, 63, 151-160.
- Smith, S. & Read, D. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. Third edition. Great Britain. Editorial Book AID international. 11-13. <https://www.elsevier.com/books/mycorrhizal-symbiosis/smith/978-0-12-370526-6>
- Statistical Analysis System. *SAS studio user's guide: statistics*. Versión 15.1. Cary: SAS Institute, 2020. <https://support.sas.com/documentation/onlinedoc/stat/indexproc.html#stat151>.
- Teixeira da Silva, J. A., Hossain, M. M., Sharma, M., Dobránszki, J., Cardoso, J. C. & Songjun, Z. (2017). Acclimatization of *in vitro*-derived *Dendrobium*. *Horticultural Plant Journal*, 3(3), 110-124.

- Valencia Juárez, M. C., Escobedo López, D., Díaz Espino, L. F. & González Pérez, E. (2019). Aclimatación ex vitro de plántulas de *Fragaria x ananassa* Duch. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(1), 91-100.
- Wong, K. F., Suhaimi, O. & Fatimah, K. (2017). On-farm grower-friendly nursery technique for acclimatization of tissue-cultured banana seedlings. *Asian Journal For Poverty Studies*, 3(2):146-151.