

**INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES  
AGROPECUARIAS**

<b>Fecha de Presentación:</b>	Septiembre 2008.
<b>Estación Experimental:</b>	Santa Catalina.
<b>Programa:</b>	Fruticultura.
<b>Proyecto:</b>	Mejoramiento de la productividad y calidad de la fruticultura en la región Litoral, Andina y Amazónica del Ecuador.
<b>Resultados:</b>	Desarrollo de las prácticas culturales y alternativas tecnológicas para el manejo integrado de los frutales.
<b>Actividad:</b>	Exploración y uso de Micorrizas para la producción de plantas de aguacate ( <i>Persea americana</i> ).
<b>Título:</b>	Evaluación de la eficiencia de las micorrizas en el crecimiento de plantas de aguacate ( <i>Persea americana Mill</i> ) raza Mexicana, bajo condiciones semicontroladas.
<b>Ubicación:</b>	Granja Experimental Tumbaco. Provincia de Pichincha.
<b>Autor:</b>	Egda. Maria Daniela Gallardo Pazmiño.
<b>Coautores:</b>	Ing. William Viera – INIAP. Dr. Wilson Vásquez – INIAP. Ing. Juan León – INIAP. Ing. Pablo Viteri – INIAP.
<b>Colaboradores:</b>	Lcda. Verónica Luna – PUCE. Dra. Josefina Egas – PUCE. Ing. Rocío Morales - ANCUPA.
<b>Fecha Inicio:</b>	Octubre 2008.
<b>Fecha de Terminación:</b>	Octubre 2009.
<b>Presupuesto:</b>	\$. 4552,85
<b>Fuentes de Financiamiento:</b>	INIAP: (63%) \$. 2872,85 TESISTAS: (37%) \$. 1680

## 1. Antecedentes.

El Ecuador es un país apto para el aguacate, en especial a lo largo de los valles del Callejón Interandino, ya que cuenta con las condiciones edafológicas y climáticas óptimas para su desarrollo durante todo el año. El aguacate es uno de los frutales de importancia en Ecuador por la gran demanda en el mercado doméstico y con mucho potencial en el mercado internacional, siendo las Provincias de Pichincha, Imbabura y Tungurahua las de mayor superficie (LEÓN, 1999).

La utilización de hongos micorrízicos en la agricultura, ha constituido una alternativa del tipo ecológico/orgánico que representa una asociación mutualista entre los hongos y la mayoría de las especies vegetales (GONZALES *et al*, 2004). Son consideradas como bioprotectoras, biorreguladoras y biofertilizantes para la mayoría de cultivos y forman parte del manejo integrado de suelos y de plagas (BERNAL, MORALES, 2006); además favorecen la absorción del agua, el aprovechamiento de los nutrimentos del suelo, la protección contra patógenos, la longevidad de la planta (COGNE, 2000), la absorción de carbono orgánico, la estabilidad de los agregados del suelo (GONZALES *et al*, 2004) y la absorción de fósforo. Por estas condiciones, las micorrizas serán de gran ayuda en el crecimiento, desarrollo y protección de plantas que se encuentra en suelos poco productivos (DUCHICELA, GONZALES, 2003).

Estudios realizados en México sobre el uso de la endomicorriza arbuscular en aguacate, demostraron que los hongos micorrízicos favorecen la absorción y aprovechamiento de los nutrimentos del suelo, así también incrementan el desarrollo y salud de las plantas, creando un sistema mutualista donde se potencia el desarrollo del aguacate dentro de una orientación sustentable, eliminando así los procedimientos de desinfección con agroquímicos y las prácticas agronómicas excesivas que afectan la estabilidad de los microorganismos en el suelo (REYES *et al*, 1997).

Otros estudios realizados en el Departamento de Horticultura y Silvicultura de la Universidad Federal do Río Grande do Sul en Brasil, demostraron que los hongos micorrízicos arbusculares tienen importancia en la absorción de nutrientes, especialmente en aquellos de movimiento lento como P y K, los resultados demostraron que las especies de *G. etunicatum*, *S. heterogama* y *G. clarum*, incrementaron en un 52% la absorción de nutrientes (especialmente de carbohidratos) y el crecimiento de la planta (SILVEIRA *et al*, 2003).

La Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez de la UMSNH” en México, realizó estudios sobre la diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en huertos de aguacate en siete diferentes climas, bajo condiciones de humedad y en dos épocas de lluvias y estiaje; los que demostraron que en la época de estiaje predominaron las especies de los géneros *Glomus* (39,43%), *Acaulospora* (26,23%), y *Scutellospora* (21%) y en la época de lluvias las de los géneros *Glomus* (37,56%), *Scutellospora* (21,16%) y *Acaulospora* (23,24%) (BÁRCENAS *et al*, 2007).

En la Facultad de Agronomía de la Universidad de las Américas de Santiago de Chile, se evaluó el comportamiento de plantas de aguacate Hass injertadas e inoculadas con micorrizas en el valle de Copiapó, en el cuál se observó que el cultivo inoculado con micorrizas presentó una mayor tolerancia a la salinidad, reflejando así un menor daño foliar y un mayor tamaño en la plantas (MATTAR *et al*, 2007).

El Área de Microbiología, especializado en Edafología del Proyecto CONACYT en México, realizó un estudio del efecto de *Glomus*, *Rhizobacterias* y vermicomposta en plántulas de aguacate en condiciones de vivero, en el cual se demostró que la bacteria R1b no favoreció la promoción del desarrollo de porta injertos de aguacate, en cambio la multicépa *Glomus* y la vermicomposta promovieron el crecimiento de plantas de aguacate con respecto al tratamiento de referencia, por lo que constituyen una propuesta regional de implementación de tecnología en el proceso práctico de viveros (REYES *et al*, 2001).

## **2. Justificación.**

El presente estudio, ha sido encaminado a evaluar la eficiencia de las micorrizas en el cultivo de aguacate dado que actualmente en el Ecuador no hay registros del manejo, utilización y producción beneficiosa de estos microorganismos en aguacate, mediante la elaboración de inóculos que puedan disminuir a productos químicos que erosionan y dañan los suelos y así no solo proteger el ecosistema sino también tener productos sanos y de calidad.

Así también, el uso de hongos micorrízicos, para la producción de plantas de aguacate en la etapa de vivero, se puede considerar como una práctica obligatoria del viverista con posibilidades económicas y ecológicamente justificables al aumentar la nutrición, la calidad del cultivo y la producción para que de esta forma se pueda contribuir a una agricultura más sustentable.

La importancia de esta investigación se fundamenta en la búsqueda de soluciones a problemas de muchos agricultores que poseen plantaciones de aguacate con una baja producción, suelos en mal estado, plantas enfermas con patógenos y contaminantes. Por lo tanto el estudio generará conocimiento, del que se beneficiarán instituciones dedicadas a la investigación y transferencia de tecnología, así como también a los viveristas, agricultores y profesionales.

## **3. Objetivos.**

### **3.1. Objetivo general.**

Evaluar la eficiencia de las micorrizas en el crecimiento de plantas de aguacate (*Persea americana Mill*), raza Mexicana, bajo condiciones semicontroladas.

### **3.2. Objetivos específicos.**

- 3.2.1. Aislar hongos micorrízicos del suelo y evaluar el grado de asociación en las raíces de las plantas de aguacate.
- 3.2.2. Seleccionar dos inóculos eficientes para evaluar el desarrollo de plantas de aguacate.
- 3.2.3. Determinar la capacidad infectiva de los hongos micorrízicos y el efecto en el desarrollo de plantas de aguacate en condiciones semicontroladas.
- 3.2.4. Evaluar los efectos en el crecimiento y contenido nutricional de las plantas con micorrizas en el vivero.

#### 4. Hipótesis.

H<sub>0</sub>: El uso de micorrizas no tiene influencia en el crecimiento y contenido nutricional de las plantas de aguacate.

#### 5. Materiales y métodos.

##### 5.1. Materiales.

###### Material de laboratorio.

Se utilizará los materiales y equipos de laboratorio de Microbiología Agrícola de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

###### Reactivos.

- Hidróxido de Potasio (KOH) 10%
- Peróxido de Hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 30%
- Ácido Clorhídrico (HCl) 1N
- Azul de Tripán 0.05%
- Lactoglicerol 2:1:1
- Sacarosa 2N
- Alcohol antiséptico 95%
- Cloro 1.5%
- Agua estéril

###### Materiales empleados en invernadero.

- Semillas de aguacate
- Semillas de sorgo
- Plantas de aguacate
- Tierra esterilizada
- Pomina

##### 5.2. Metodología.

El proyecto consta de tres fases: laboratorio, invernadero y vivero

###### 5.2.1. Fase de laboratorio.

Incluye la evaluación de la presencia de hongos micorrízicos en las muestras de suelo y raíces obtenidas en los diferentes sitios de muestreo. Resultados que se utilizarán como información para la selección de los dos mejores inóculos.

###### 5.2.1.1. Características del sitio experimental.

###### 5.2.1.1.1. Ubicación geográfica.

Se realizará en el laboratorio de Microbiología Agrícola de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador ubicada en la ciudad de San Francisco de Quito, y en el Centro de Investigación de Palma Aceitera (CIPAL) perteneciente a la Asociación Nacional de Cultivadores de Palma Aceitera (ANCUPA) ubicada en el kilómetro 38 de la vía Santo Domingo - Quinindé, Cantón La Concordia.

###### 5.2.1.2. Factores en estudio.

###### 5.2.1.2.1. Suelos.

Se realizó un muestreo y análisis previo en cada uno de los siguientes sitios: Pichincha (Munango, Chavezpamba, San José de Atahualpa, San José de Minas, Perucho), Imbabura (Tumbabiro, Cotacachi), Azuay (Gualaceo, Paute) y Tungurahua (Patate). De los cuáles se escogieron los 4 suelos con muy poco manejo y baja utilización de productos químicos, que tuvieron un alto contaje de esporas y mayor colonización en raíces. Datos geográficos, climatológicos y edafológicos de los 4 sitios de muestreo<sup>1</sup>

S1 = sitio 1:	Provincia:	Pichincha.
	Cantón:	Quito.
	Parroquia:	San José de Minas.
	Lugar:	Hda. "La Playa".
	Altitud:	1980 m.s.n.m.
	Latitud:	0° 09´ 589" N.
	Longitud:	78° 23´ 109" W.
	Temperatura:	22°C.
	Textura del suelo:	Franco – arenoso.
S2 = sitio 2:	Provincia:	Imbabura.
	Cantón:	Urcuquí.
	Parroquia:	Tumbabiro.
	Lugar:	Hda. "El Bohio".
	Altitud:	2120 m.s.n.m.
	Latitud:	00°28´3" N.
	Longitud:	78°11´0" W.
	Temperatura:	20 °C
	Textura del suelo:	Franco – arenoso.
S3 = sitio 3:	Provincia:	Azuay.
	Cantón:	Gualaceo.
	Parroquia:	Gualaceo.
	Lugar:	Hda. "Nauiq-Nayuntur".
	Altitud:	2360 m.s.n.m.
	Latitud:	2°52´55" S.
	Longitud:	78°46´35" W.
	Temperatura:	23°C.
	Textura del suelo:	Franco – arcilloso.
S4 = sitio 4:	Provincia:	Tungurahua.
	Cantón:	Patate.
	Parroquia:	Los Andes.
	Lugar:	Hda. "Nallig".
	Altitud:	2360 m.s.n.m.
	Latitud:	1° 18´ 1" S.
	Longitud:	078° 30´ 0" W.
	Temperatura:	22°C.
	Textura del suelo:	Franco arcillo – arenoso.

<sup>1</sup> INAMHI (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrografía. Ec.2008. Manual de Codificación Meteorológica. Quito. CANADAS, L.1983 Mapa bioclimático y ecológico del Ecuador; Quito; MAG – PRONAREG.

---

#### **5.2.1.2.2. Tratamientos.**

Los tratamientos estarán constituidos por los cuatro suelos seleccionados en los diferentes sitios de muestreo para el cultivo de aguacate.

#### **5.2.1.3. Unidad experimental.**

Estará constituido por una muestra compuesta de 1 kg de suelo, formada por 10 submuestras de 100 g, de los 4 sitios establecidos para el muestreo.

#### **5.2.1.4. Análisis estadístico.**

Se utilizará estadísticos como: media, desviación estándar y coeficiente de variación. Además se realizará un análisis de correlación entre las características físicas (textura, humedad, densidad aparente) y químicas (pH, materia orgánica, nutrientes) de los suelos muestreados con el número de esporas presentes en los mismos.

#### **5.2.1.5. Variables y métodos de evaluación.**

##### **5.2.1.5.1. Población de esporas micorrízicas del suelo.**

La cuantificación de esporas se realizará por el método de tamizado y centrifugado descrito por Herrera (1993).

##### **5.2.1.5.2. Tasa de colonización micorrízica en raíces.**

Se utilizará el método de clarificación y tinción de raíces, siguiendo la técnica de Phillips y Hayman, descrita por Herrera (1993).

#### **5.2.1.6. Manejo específico del experimento.**

##### **5.2.1.6.1. Muestreo de suelo para determinación de esporas.**

El muestreo se realizará alrededor de la corona de plantas seleccionadas al azar, a una profundidad de 20 cm. La muestra estará compuesta por 10 submuestras de 100 gramos. Las muestras serán extendidas sobre papeles periódicos y secados a temperatura ambiente, bajo sombra, durante 15 días para luego realizar la cuantificación de esporas presentes en el suelo (Anexo 2).

##### **5.2.1.6.2. Muestreo de suelo para análisis químico.**

Se delimitará el área del terreno tomando en forma separada, muestras de áreas diferentes, se recorrerá el área en forma de X y se procederá a tomar submuestras hasta obtener 1kg, luego se procederá a identificar la muestra con todos los datos necesarios. Las muestras serán enviadas al Laboratorio de Suelos de la EESC.

##### **5.2.1.6.3. Muestreo de suelo para análisis físico.**

Para el análisis de la textura del suelo se tomará la muestra con un barreno común a 20cm de profundidad, haciendo varias submuestras del terreno. Se mezclarán todas las submuestras y se obtendrá una sola de aproximadamente 1kg para luego enviar al laboratorio de suelos de la EESC.

Para el análisis de humedad y densidad aparente se tomará una sola muestra con un barreno cilíndrico específico a 20cm de profundidad, la muestra será secada en estufa a 110°C, para obtener estos dos datos mediante el método gravimétrico.

##### **5.2.1.6.4. Muestreo de raíces.**

Para obtener muestras de raíces, se deberá tomar como referencia la copa del árbol de aguacate, con ayuda de una pala de desfonde se procederá a cavar a una profundidad de 40 x 40cm para que de esta forma se pueda buscar y obtener raíces terciarias y cuaternarias sanas, jóvenes y poco lignificadas. Las raíces serán llevadas al laboratorio para procesarlas y determinar la tasa de colonización micorrízica (Anexo1).

#### **5.2.2. Fase de invernadero.**

La fase de invernadero comprenderá la evaluación de los cuatro suelos seleccionados, utilizando plantas trampa (sorgo) para la multiplicación del inóculo.

##### **5.2.2.1. Ubicación geográfica.**

Se realizará en la Granja Experimental Tumbaco perteneciente a la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) ubicada en el Cantón Quito, en la Parroquia de Tumbaco.

##### **5.2.2.2. Factores en estudio.**

Se evaluarán los factores descritos en la fase de laboratorio.

###### **5.2.2.2.1. Suelos.**

Se utilizarán los cuatro suelos seleccionados en la fase de laboratorio para ser utilizados como inóculo en la multiplicación de hongos micorrízicos.

S1 = sitio 1 (Hda “La Playa”).

S2 = sitio 2 (Hda. “El Bohio”).

S3 = sitio 3 (Hda. “Nauiq-Nayuntur”).

S4 = sitio 4 (Hda. “Nallig”).

S5 = testigo (tierra negra y pomina).

###### **5.2.2.2.2. Tratamientos.**

Los tratamientos estarán constituidos por los cuatro suelos seleccionados de los diferentes sitios de muestreo para el cultivo de aguacate más un testigo.

###### **5.2.2.3. Unidad experimental.**

Estará constituido por una maceta de 2 kg de capacidad, en la cual se colocarán 10 semillas de sorgo (planta trampa), manteniéndolas hasta el final del ciclo estimado de reproducción del inóculo.

###### **5.2.2.4. Diseño experimental.**

Se aplicará un Diseño Completamente al Azar (DCA), con cinco observaciones.

###### **5.2.2.4.1. Análisis estadístico.**

**Cuadro 1.-** Esquema del Análisis de Varianza para evaluar los suelo seleccionados de los diferentes sitios de muestreo para el cultivo de aguacate (*Persea americana Mill*), 2008 - 2009.

<b>Fuentes de Variación</b>	<b>Grados de Libertad</b>
-----------------------------	---------------------------

Total	24
Tratamientos	4
Error experimental	20

#### **5.2.2.4.2. Análisis funcional.**

Se realizará la prueba de Tukey al 5% para tratamientos.

#### **5.2.2.5. Variables del cultivo trampa.**

##### **5.2.2.5.1. Número de hojas.**

Cada 15 días durante 3 meses, se contabilizará el número de hojas de las plantas trampa.

##### **5.2.2.5.2. Altura de planta (cm).**

Cada 15 días durante 3 meses, se medirá el incremento en altura de las plantas trampa desde la base del tallo hasta el ápice.

##### **5.2.2.5.3. Población de esporas micorrízicas del suelo.**

A los 90 días después de la siembra de las plantas trampa, se realizará la cuantificación de esporas utilizando el método de tamizado y centrifugado descrito por Herrera (1993).

##### **5.2.2.5.4. Tasa de colonización micorrízicas en raíces.**

A los 90 días después de la siembra de las plantas trampa, se evaluará la tasa de colonización utilizando el método de clarificación y tinción de raíces, siguiendo la técnica de Phillips y Hayman, descrita por Herrera (1993).

##### **5.2.2.5.5. Biomasa producida.**

A los 90 días de instalado el ensayo se evaluará la biomasa producida en el departamento de suelos y aguas de la EESC.

#### **5.2.2.6. Manejo específico del experimento.**

##### **5.2.2.6.1. Desinfección de semillas.**

Las semillas de sorgo (plantas trampa) serán colocadas en alcohol antiséptico durante 3 minutos, posteriormente serán remojadas con una solución de cloro al 1.5% durante 2 minutos y enjuagadas 5 veces consecutivas con agua destilada esterilizada.

##### **5.2.2.6.2. Pregerminación de semillas.**

Las semillas se sumergirán en una solución de ácido giberelico a una concentración de 1250 ppm por 24 horas.

##### **5.2.2.6.3. Evaluación de plantas trampa y multiplicación del inóculo.**

Se sembrarán 10 semillas de sorgo (plantas trampa) en macetas de 2 kg de capacidad, en las cuales se colocarán sustrato conformado por una parte de tierra negra estéril, una parte de pomina y dos partes del suelo muestreado. Después de 3 meses de reproducido el inóculo, se escogerán 3 plantas al azar para evaluar la colonización de raíces y se sacará un promedio para obtener un dato representativo; cada 15 días se evaluarán la altura y el número de hojas de 3 plantas al azar que servirán también para la determinación de biomasa al final del ciclo, así mismo se sacará un promedio para



obtener un dato representativo y las 4 plantas restantes se utilizarán para formar el inóculo que será utilizado en la fase de vivero.

#### **5.2.2.6.4. Selección de los 2 mejores inóculos.**

En base a la capacidad de colonización de los diferentes consorcios micorrizicos y a la eficiencia de los mismos, se seleccionarán los 2 mejores inóculos para ser probados en condiciones semicontroladas de vivero.

#### **5.2.2.6.5. Preparación del inóculo.**

Diez días antes de utilizar el inóculo, se cortarán las plantas trampa por la base del tallo y se las dejará de regar, para que produzca esporas reproductivas. Diez días después se preparará el inóculo mezclando las raíces de las plantas trampa, las cuáles se cortarán en pedazos de aproximadamente 1cm, y la tierra de la maceta. Esta mezcla de raíces y tierra será el inóculo.

#### **5.2.3. Fase de vivero - Ensayo A.**

En la fase de vivero se evaluarán los dos mejores inóculos (suelos muestreados) seleccionados en base a los resultados de la fase de laboratorio y de invernadero.

##### **5.2.3.1. Ubicación geográfica.**

Se efectuará en la Granja Experimental Tumbaco perteneciente a la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) ubicada en el Cantón Quito, en la Parroquia de Tumbaco.

##### **5.2.3.2. Factores de estudio.**

###### **5.2.3.2.1. Tipo de material vegetativo (T)**

t1 = Semilla

###### **5.2.3.2.2. Inoculo (I)**

i1= inóculo seleccionado 1

i2= inóculo seleccionado 2

i3= inóculo comercial

i4= testigo absoluto.

###### **5.2.3.2.3. Tratamientos.**

El tratamiento del ensayo A estará constituido por tres inóculos y un testigo evaluados en semilla, dando un total de 4 tratamientos.

**Cuadro 2.-** Tratamientos a analizar en el ensayo de evaluación de la eficiencia de micorrizas en el cultivo de aguacate (*Persea americana Mill*), 2008 - 2009.

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>CODIFICACIÓN</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
1	i1t1	Semilla + inoculo 1
2	i2t1	Semilla + inoculo 2
3	i3t1	Semilla + inoculo comercial
4	i4t1	Semilla + testigo absoluto

###### **5.2.3.3. Unidad experimental.**

En el ensayo A la unidad experimental estará constituida por una semilla de aguacate, sembrada en una funda de 2 kg. de sustrato con 200 gramos de inóculo.

#### **5.2.3.4. Diseño experimental.**

Se utilizará un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 10 observaciones.

##### **5.2.3.4.1. Análisis estadístico.**

**Cuadro 3:** Esquema del análisis de varianza para evaluar la eficiencia de micorrizas en el cultivo de aguacate (*Persea americana Mill*), 2008 - 2009.

<b>Fuentes de Variación</b>	<b>Grados de Libertad</b>
Total	39
Tratamientos	3
Error experimental	36

##### **5.2.3.5. Análisis funcional.**

Se realizara la prueba de Tukey al 5% para tratamientos.

##### **5.2.3.6. Variables y métodos de evaluación.**

###### **5.2.3.6.1. Altura de las plantas y número de hojas.**

En todas las repeticiones, se medirá la altura, expresada en centímetros, desde la base del tallo hasta la yema apical, además se registrará el incremento en el número de hojas. Los datos se tomarán cada 15 días a partir del primer mes de instalado el ensayo.

###### **5.2.3.6.2. Diámetro del tallo.**

Se determinara midiendo el diámetro del tallo, expresado en milímetros, a una altura de 10 cm de la base del tallo. Los datos se tomarán mensualmente a partir del primer mes de implementado el ensayo.

###### **5.2.3.6.3. Tasa de colonización micorrízica en raíces.**

Al quinto mes después de inoculadas las semillas de aguacate, se determinará la tasa de colonización mediante la clarificación y tinción de raíces, por medio de la técnica de Phillips y Hayman, descrita por Herrera (1993). Para obtención de datos se procesará las raíces de 5 plantas de las 10 observaciones utilizadas en esta fase.

###### **5.2.3.6.4. Concentración de nutrientes.**

Al quinto mes después de inoculadas las semillas de aguacate, se determinará la concentración total de nutrientes en el tejido vegetal mediante un análisis bromatológico (Departamento de Nutrición y Calidad de la EESC). Para la obtención de datos se procesarán 5 plantas de las 10 observaciones utilizadas.

###### **5.2.3.6.5. Absorción y extracción total de nutrientes.**

Al quinto mes después de inoculadas las semillas de aguacate, se determinará los valores de absorción y extracción total de nutrientes en el tejido vegetal (planta completa). Los análisis se realizarán en el Departamento de Nutrición y Calidad de la

EESC. Para la obtención de datos se procesarán 5 plantas de las 10 observaciones utilizadas.

#### **5.2.3.6.6. Biomasa.**

Al quinto mes después de inoculadas las semillas de aguacate, se medirá el peso fresco (gramos), por separado, de raíz, tallo y hojas. Las muestras se colocarán en la estufa por 24 horas a 110 °C para luego medir el peso seco de cada una. Para la obtención de datos, en el caso de raíces se utilizarán 5 plantas, para tallo y hojas se utilizara el material vegetal de las 10 repeticiones.

#### **5.2.3.7. Manejo específico del experimento.**

##### **5.2.3.7.1. Preparación de semillas.**

Se utilizará el ecotipo Nacional Negro, las semillas deben provenir de frutos maduros y recogidos del árbol. Se deberá retirar la semilla del fruto, luego se quitará la corteza (epidermis) para que de esta forma se pueda acelerar la germinación y al mismo tiempo se eliminen patógenos que se encuentren adheridos a la pulpa de la semilla, además será fundamental realizar un corte en las puntas de las semillas para acelerar la germinación. La desinfección se realizará con Terraclor, sumergiendo las semillas en el producto durante 30 minutos.

##### **5.2.3.7.2. Implementación del Ensayo.**

Se colocarán en fundas de 2 kg, una cantidad de sustrato (en proporción 3:1) compuesto por tierra negra esterilizada y pomina. Se rellenará los 2/3 de la funda con el sustrato estéril, luego se colocará 200 g del inóculo preparado según el tratamiento más una fina capa de sustrato estéril, donde se realizará la siembra de una semilla de aguacate, para que de esta manera cuando salgan las primeras raíces sean infectadas por las esporas de micorrizas y finalmente se completará la funda con otra capa de sustrato estéril.

##### **5.2.3.7.3. Fertilización por planta.**

Se realizará una fertilización media en base al análisis físico-químico del sustrato que se realizará en el laboratorio de suelos de la EESC.

##### **5.2.3.7.4. Labores culturales.**

Los riegos y deshierbes se realizarán según las necesidades del cultivo.

#### **5.2.4. Fase de vivero - Ensayo B.**

En la fase de vivero se evaluarán los dos mejores inóculos (suelos muestreados) seleccionados en base a los resultados de la fase de laboratorio y de invernadero.

##### **5.2.4.1. Ubicación geográfica.**

La fase de vivero se llevará a cabo en la Granja Experimental Tumbaco perteneciente a la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) ubicada en el Cantón Quito, en la Parroquia de Tumbaco.

##### **5.2.4.2. Factores de estudio.**

###### **5.2.4.2.1. Tipo de material vegetativo (T)**

t2 = planta

#### 5.2.4.2.2. Inoculo (I)

i1= inóculo seleccionado 1

i2= inóculo seleccionado 2

i3= inóculo comercial

i4= testigo absoluto.

#### 5.2.4.2.3. Tratamientos.

El tratamiento del ensayo B estará constituido por tres inóculos y un testigo evaluados en planta, dando un total de 4 tratamientos.

**Cuadro 4.-** Tratamientos a analizar en el ensayo de evaluación de la eficiencia de micorrizas en el cultivo de aguacate (*Persea americana Mill*), 2008 - 2009.

TRATAMIENTO	CODIFICACIÓN	DESCRIPCIÓN
1	i1t2	Planta + inoculo 1
2	i2t2	Planta + inoculo 2
3	i3t2	Planta + inoculo comercial
4	i4t2	Planta + testigo absoluto

#### 5.2.4.3. Unidad experimental.

En el ensayo B la unidad experimental estará constituida por una planta de aguacate, sembrada en una funda de 2 kg. de sustrato con 200 gramos de inóculo.

#### 5.2.4.4. Diseño experimental.

Se utilizará un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 10 observaciones

#### 5.2.4.4.1. Análisis estadístico.

**Cuadro 5:** Esquema del análisis de varianza para evaluar la eficiencia de micorrizas en el cultivo de aguacate (*Persea americana Mill*), 2008 - 2009.

Fuentes de Variación	Grados de Libertad
Total	39
Tratamientos	3
Error experimental	36

#### 5.2.4.5. Análisis funcional.

Se realizara la prueba de Tukey al 5% tratamientos.

#### 5.2.4.6. Variables y métodos de evaluación.

##### 5.2.4.6.1. Altura de las plantas y número de hojas.

En todas las repeticiones, se medirá la altura, expresada en centímetros, desde la base del tallo hasta la yema apical, además se registrará el incremento en el número de hojas. Los datos se tomarán cada 15 días a partir del primer mes de instalado el ensayo.

#### **5.2.4.6.2. Diámetro del tallo.**

Se determinará midiendo el diámetro del tallo, expresado en milímetros, a una altura de 10 cm de la base del tallo. Los datos se tomarán mensualmente a partir del primer mes de instalado el ensayo.

#### **5.2.4.6.3. Tasa de colonización micorrízica en raíces.**

Al quinto mes después de inoculadas las plantas de aguacate, se determinará la tasa de colonización mediante la clarificación y tinción de raíces, por medio de la técnica de Phillips y Hayman, descrita por Herrera (1993). Para obtención de datos se procesarán las raíces de 5 plantas de las 10 observaciones utilizadas en esta fase.

#### **5.2.4.6.4. Concentración de nutrientes.**

Al quinto mes después de inoculadas las plantas de aguacate, se determinará la concentración total de nutrientes en el tejido vegetal mediante un análisis bromatológico (Departamento de Nutrición y Calidad de la EESC). Para la obtención de datos se procesarán 5 plantas de las 10 observaciones utilizadas.

#### **5.2.4.6.5. Absorción y extracción total de nutrientes.**

Al quinto mes después de inoculadas las plantas de aguacate, se determinarán los valores de absorción y extracción total de nutrientes en el tejido vegetal (planta completa). Los análisis se realizarán en el Departamento de Nutrición y Calidad de la EESC. Para la obtención de datos se procesarán 5 plantas de las 10 observaciones utilizadas.

#### **5.2.4.6.6. Biomasa.**

Al quinto mes después de inoculadas las plantas de aguacate, se medirá el peso fresco (gramos), por separado, de raíz, tallo y hojas. Las muestras se colocarán en la estufa por 24 horas a 110 °C para luego medir el peso seco de cada una. Para la obtención de datos, en el caso de raíces se utilizarán 5 plantas, para tallo y hojas se utilizará el material vegetal de las 10 repeticiones.

#### **5.2.4.7. Manejo específico del experimento**

##### **5.2.4.7.1. Siembra del Ensayo**

Para la siembra del ensayo se colocarán en fundas de 2 kg, una cantidad de sustrato (en proporción 3:1) compuesto por tierra negra estéril y pómima. Se rellenará los 2/3 de la funda con el sustrato estéril, se colocará 200 g del inóculo preparado según el tratamiento, luego se realizará la siembra de una planta de aguacate, procurando que las raíces estén en contacto con el inóculo y finalmente se completará la funda con el sustrato estéril.

##### **5.2.4.7.2. Fertilización por planta**

Se realizará una fertilización media en base al análisis físico – químico del sustrato que se llevará a cabo en el laboratorio de suelos de la EESC

##### **5.2.4.7.3. Labores culturales**

Los riegos y deshierbes se realizarán según las necesidades del cultivo.

## 6. Cronograma.

**Cuadro 6.-** Desarrollo de actividades del proyecto “Evaluación de la eficiencia de micorrizas en el crecimiento de plantas de aguacate (*Persea americana Mill*)”, 2008 - 2009.

ACTIVIDADES	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8	Mes 9	Mes 10	Mes 11	Mes 12
Definición de los sitios de muestreo.	■											
Recolección de frutos.		■										
Extracción de Semillas.		■										
Secado de Semillas.		■										
Preparación del material y reactivos.		■										
Recolección del suelo y raíces en los sitios de muestreo.			■	■								
Aislamiento de hongos micorrízicos.			■	■	■							
Trampeo y preparación del inóculo.					■	■	■					
Inoculación en plantas y semillas.							■					
Siembra y trasplante del ensayo.							■					
Toma de datos.							■	■	■	■	■	
Evaluación de resultados.									■	■	■	
Elaboración del informe de tesis.										■	■	■

## 7. Presupuesto.

**Cuadro 7.-** Presupuesto para el estudio de la eficiencia de micorrizas en el crecimiento de plantas de aguacate (*Persea americana*), 2008 - 2009.

RUBRO	UNIDAD	CANTIDAD	VALOR UNITARIO USD	Financiamiento INIAP	Financiamiento Tesista	VALOR TOTAL USD
<b>Materiales laboratorio</b>						
Tamiz	Unid.	1	120,00	120,00		120,00
Soporte universal	Unid.	1	50,00	50,00		50,00
Piceta	500ml	1	4,00	4,00		4,00
Pinza de punta de aguja	Unid.	1	8,00	8,00		8,00
Azul de Tripán	gramos	10	1,44	14,40		14,40
Ácido Clorhídrico	litro	1	11,25	11,25		11,30
KOH	gramos	100	0,052	5,20		5,20
Peróxido de Hidrógeno	litro	1	11,80	11,80		11,80
Ácido Láctico	mililitros	100	0,07	7,60		7,60
Glicerol	litro	1	30,00	30,00		30,00
Alcohol Polivinílico	1 litro	1	150,00	150,00		150,00
Sacarosa	gramos	640	0,08	51,20		51,20

Alcohol industrial	galón	1	10,00	10,00		10,00
Porta Objetos	caja	1	1,40	1,40		1,40
Cubre Objetos	24x50- honza	1	4,50	4,50		4,50
Caja guantes quirúrgicos	100 pares	1	7,00	7,00		7,00
Manguera con regadera de lavabo	Unid.	1	5,00	5,00		5,00
Recipiente para lavado	Unid.	1	3,00	3,00		3,00
Embudo	Unid.	1	1,00	1,00		1,00
<b>Materiales fase invernadero y vivero</b>						
Semilla	Unid.	100	0,10	10,00		10,00
Macetas de 2 kg.	Unid.	20	1,50	30,00		30,00
Fundas para vivero	Unid.	100	0,40	40,00		40,00
<b>Análisis de laboratorio</b>						
Análisis completo de suelo	Unid.	4	14,67	58,68		58,68
Análisis de Nutrientes	Unid.	20	3,30	66,00		66,00
biomasa	Unid.	20	1,34	26,80		26,80
<b>Otros</b>						
Becario	Unid.	6	280,00	1680,00	1680,00	3360,00
Viáticos	Unid.	8	50,00	400,00		400,00
Combustible	galón	40	1,20	48,00		48,00
Resmas de papel	Unid.	2	4,00	8,00		8,00
Impresiones	Unid.	0,05	200,00	10,00		10,00
<b>TOTAL</b>				2872,85	1680,00	4552,85

## 8. Bibliografía.

1. BÁRCENAS, A; ALMARAZ, C; REYES, L; VARELA, L; LARA, B; GUILLÉN, A; CARREÓN, Y; AGUIRRE, S; CHÁVEZ, A. 2007. Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares en huertos de aguacate de Michoacán. Actas VI Congreso Mundial del Aguacate. Ciudad Universitaria. Facultad de Agrobiología. México. [www.avocadosource.com/WAC6/es/Extenso/2b-82.pdf](http://www.avocadosource.com/WAC6/es/Extenso/2b-82.pdf) (17-10-08).
2. BERNAL, G; MORALES, R. 2006. Micorrizas: Importancia e investigación en el Ecuador. ANCUPA, Quito. Ecuador. 1ra Edición. Pag 13-16, 32-39.
3. COGNE, M. 2000. Microbiología del suelo: Un enfoque exploratorio. México. Ed Paraninfo. Cap 29.
4. DUCHICELA, J.; GONZALES-CHÁVEZ, C. 2003. La Micorriza Arbuscular en el contexto de la Agricultura Sustentable. ESPE. Centro de Investigaciones Científicas. Monografía CEINCI. Cap1 – Cap7.
5. GONZÁLES, M.C.A; GUTIERREZ, M.C; WRIGHT, S. 2004. Hongos Micorrízicos Arbusculares en la agregación del suelo y su estabilidad. TERRA Latinoamericana. Volumen 22. Número 4. Pag 507-513.
6. HERRERA, R. 1993. General methodology to analyze rootlets, raw humus and VA mycorrhizal (VAM) components. Cuba. p. 1-8
7. LEÓN, J. 1999. Manual del Cultivo de Aguacate (*Persea americana*) para los valles interandinos del Ecuador. Proyecto Fruticultura. INIAP CONSUDE. Granja Experimental Tumbaco · Quito. Pag 2-14.
8. MATTAR, M; NEVEAU, M; MARTINEZ, A. 2007. Evaluación del comportamiento de plantas Hass injertados en diferentes porta injertos de semilla bajo condición de cultivo en el Valle de Copiapó. Actas VI Congreso Mundial del Aguacate. Facultad de Agronomía. Universidad de las Américas. Viña Del Mar, Chile. [www.avocadosource.com/WAC6/es/Extenso/1a-30.pdf](http://www.avocadosource.com/WAC6/es/Extenso/1a-30.pdf) (17-10-08).
9. REYES, A. J.C; ALARCÓN, A; FERRERA-CERRATO, R. 1997. Aspectos relacionados sobre el uso de la endomicorriza arbuscular en aguacate (*Persea americana* Mill). CICTAMEX. Área de Microbiología. Especialidad de Edafología. Colegio de Postgraduados. México. [www.avocadosource.com/Journals/CICTAMEX/CICTAMEX\\_1997/ecol\\_2\\_97.pdf](http://www.avocadosource.com/Journals/CICTAMEX/CICTAMEX_1997/ecol_2_97.pdf) (16-10-08).
10. REYES, A. J.C; ALARCÓN, A; FERRERA-CERRATO, R. 2001. Endomicorriza – arbuscular, bacterias y vermicomposta en plántulas de aguacate en vivero. Área de Microbiología. Especialidad edafología. CONACYT. Estado de México. Pag 55-63. [www.avocadosource.com/Journals/CICTAMEX/CICTAMEX\\_19982001/CICTAMEX\\_1998-2001\\_PG\\_056-053.pdf](http://www.avocadosource.com/Journals/CICTAMEX/CICTAMEX_19982001/CICTAMEX_1998-2001_PG_056-053.pdf) (17-10-08).



11. SILVEIRA, S.V; SOUZA, D.P.V; KOLLER, O.C; SCHWARZ, S.F. 2003. Elementos minerales y carbohidratos en plántones de aguacate “Carmen” inoculados con micorrizas arbusculares. Actas V Congreso Mundial del Aguacate. Universidad Federal de Río Grande. Departamento de Horticultura. Porto Alegre. Brasil. Pag 415-420. [www.avocadosource.com/WAC5/Abstracts/WAC5\\_Abstract\\_p112s.pdf](http://www.avocadosource.com/WAC5/Abstracts/WAC5_Abstract_p112s.pdf) (16-10-08)

## 9. Anexos.

### **Anexo 1. Metodología para el procesamiento de raíces - Phillips y Hayman (HERRERA, 1993).**

Para el procesar las muestras obtenidas de raíz de aguacate se aplico la siguiente técnica:

- 1.- Escoger de la muestra a analizar las raíces más jóvenes de la planta.
- 2.- Lavar las raíces cuidadosamente con agua corriente.
- 3.- Colocar en un erlenmeyer de 100ml una cantidad suficiente de raíces para ser procesadas.
- 4.- Cubrir las raíces con KOH al 10%.  
Para preparar KOH al 10% diluir 50g de KOH en 500ml de agua destilada.
- 5.- Autoclavar la muestra a 10 libras de presión durante 5 minutos.
- 6.- Enjuagar con agua corriente.
- 7.- Agregar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hasta cubrir las raíces.  
Para preparar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% mezclar 50ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en 450ml agua destilada.
- 8.- Dejar las raíces en contacto durante 3 minutos.
- 9.- Enjuagar con agua corriente.
- 10.- Agregar HCl por 3 minutos.  
Para prepara HCl agregar 57ml de HCl en 458.5ml de agua destilada.
- 11.- Eliminar el HCl sin lavar la muestra.
- 12.- Agregar Azul de Tripán y meter al autoclave por 5 minutos a 10 libras de presión.
- 13.- Eliminar el colorante mediante el lavado de la muestra hasta que no salga más color.
- 14.- Dejar en Lactoglicerol 24 horas.
- 15.- Prepara una placa colocando las raíces en forma perpendicular al lado mas largo del cubre objetos y montar.
- 16.- Observar la colonización de las raíces por micorrizas.

### **Anexo 2. Metodología para el procesamiento de suelos (HERRERA, 1993).**

Para el procesar las muestras obtenidas de suelo de aguacate se aplicará la siguiente técnica:

- 1.- Tamizar el suelo que se va a evaluar a través del tamiz de 2mm.
- 2.- Pesar 20 gramos del suelo tamizado.
- 3.- Colocar en 1 litro de agua los 20 gramos de suelo y agitar con un guante hasta formar un remolino.
- 4.- Pasar la suspensión antes de que pare el molino por los tamices de 500 $\mu$ , 180 $\mu$  y 38 $\mu$ .
- 5.-Lavar lo que quedo de los tamices de 180 $\mu$  y 38 $\mu$  y colocar 20ml de cada uno en un tubo cónico de 50ml.
- 6.- Agregar a cada tubo 20ml de sacarosa 2M desde la parte inferior y agitar para homogenizar la muestra.
- 7.- Centrifugar por 15 minutos a 2500 rpm.
- 8.- Volver a pasar el centrifugado por los tamices de 500 $\mu$ , 180 $\mu$  y 38 $\mu$ .
- 9.- Lavar lo que quedo de los tamices de 180 $\mu$  y 38 $\mu$  y llenar 2 cajas petri de cada uno de los tamices.

- 10.- Dejar durante toda la noche.
- 11.- Observar en el estéreo microscopio las esporas obtenidas y realizar el conteo.

### **Anexo 3. Metodología para el procesamiento de plantas trampa – trapeo (MORALES, 2008)<sup>2</sup>.**

El trapeo es una parte muy importante para formar el inóculo (multiplicación de micorrizas), se utilizará sorgo como planta trampa.

Se realizará el siguiente procedimiento:

- 1.- Preparar el invernadero cubriendo todos los lugares que tengan polvo con piedra o cemento.
- 2.- Desinfectar cuidadosamente todas las áreas con cloro.
- 3.- Las macetas a ocuparse deben ser desinfectadas 2 días antes de realizar la siembra y ser enjuagadas con agua estéril para eliminar lo que quede de cloro.
- 4.- Aspergear alcohol antiséptico en toda el área del invernadero incluyendo las macetas.
- 5.- Colocar la turba estéril que contiene arena o suelo negro, pomina, y cascarilla de arroz en una maceta de 2 kg en proporción 2:1:1.
- 6.- Preparar la semilla pregerminada:
  - Desinfectar la semilla con cloro al 1.5% durante 2 – 3 minutos con cuatro lavados.
  - Escarificar la semilla por aproximadamente 24 horas dependiendo la calidad de la misma.
  - Colocar la semilla en una caja petri que contenga papel filtro o papel toalla estéril y húmedo.
- 7.- Colocar agua destilada o corriente en el macetero preparado con la turba durante toda la noche y que esté saturado completamente.
- 8.- Realizar un orificio con una paleta de helado limpia hasta que quede a la mitad de la maceta.
- 9.- Colocar en el fondo del orificio 50 gramos de la tierra que servirá como inóculo.
- 10.- Colocar la semilla o la planta en contacto con el inóculo y cerrar el orificio con la turba.
- 11.- Colocar muy poca cantidad de agua si es necesario.
- 12.- Identificar la plántula adecuadamente y tomar datos de crecimiento al primer mes, y luego cada semana.

---

<sup>2</sup> MORALES, R. 2008. Comunicación personal. ANCUPA. La Concordia.