

INFLUENCIA DE LOS HONGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES SOBRE EL  
CRECIMIENTO DE VITRO PLANTULAS DE PIÑA (*ANANAS COMOSUS* (L.)  
MERR.) CON DIFERENTES NIVELES DE FOSFORO

*INFLUENCE OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI ON THE GROWTH OF  
PINEAPPLE VITRO PLANTLET (ANANAS COMOSUS (L.) MERR.) WITH  
DIFFERENT PHOSPHORUS LEVELS*

Vicente Federico Gutiérrez-Oliva<sup>1</sup>, Miguel Abud-Archila<sup>2</sup>, Aura Flores-Pérez<sup>1</sup>,  
José David Alvarez-Solis<sup>3</sup> & Federico Antonio Gutiérrez-Miceli<sup>2</sup>

Departamento de Ing. Química y Bioquímica, Instituto Tecnológico de Tuxtla-Gutiérrez, Tuxtla-Gutiérrez, Chiapas,  
México; <sup>2</sup>Maestría en Ciencias en Ing. Bioquímica, Instituto Tecnológico de Tuxtla-Gutiérrez, Tuxtla Gutiérrez,  
Chiapas, México; <sup>3</sup>Departamento de Agroecología, División de Sistemas de Producción Alternativos, El Colegio de la  
Frontera Sur, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México.  
biotecveg@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de dos hongos micorrízicos arbusculares (HMA) a diferentes concentraciones de fósforo sobre la sobrevivencia y el crecimiento de plántulas de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) obtenidas por micropropagación. Las plántulas se multiplicaron masivamente en cultivos *in vitro* y se aclimataron gradualmente bajo un esquema de estrés por temperatura en tres etapas secuenciales. Los efectos de los HMA y el fósforo no fueron significativos sobre la sobrevivencia y la altura de las plántulas, sin embargo, *Glomus claroideum* estimuló que las plántulas tuvieran mayor número de hojas y peso seco. Los resultados sugieren que la altura de las plántulas fue mayor cuando fueron cultivadas con *G. claroideum* y 0,9 mM de fósforo.

PALABRAS CLAVE: Hongos micorrízicos arbusculares, fósforo, piña, optimización.

ABSTRACT

The objective of this work was to assess the effect of two arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) at different phosphorus concentrations on survival and growth of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) plantlets obtained for micropropagation. Plantlets were multiplied for *in vitro* cultures and were acclimatized under three sequential steps. The effects of AMF and phosphorus were not significant on plantlet survival and plantlet height, however *Glomus claroideum* stimulated that the plantlets were with higher leaves number and dry weight. The results demonstrated that plantlet growth was maximized with *G. claroideum* and phosphorus 0.9 mM.

KEYWORDS: Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), phosphorus, pineapple, optimization.

INTRODUCCION

En la micropropagación de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.), la etapa limitante es cuando los cultivos *in vitro* se pasan al invernadero con la finalidad de aclimatar las plántulas y posteriormente transferirlas

a los productores para su siembra en campo. Cuando la aclimatación se realiza con estrés nutricional y/o ambiental el porcentaje de sobrevivencia de las plántulas es muy bajo y las plántulas que sobreviven crecen lentamente (Bomfim *et al.* 2007). Una alternativa utilizada en otros cultivos es el aplicar

hongos micorrízicos arbusculares (HMA), sin embargo es necesario evaluar si en piña hay efectos y qué especie de HMA es más adecuada y cuál es el comportamiento con diferentes concentraciones de fósforo para incrementar la sobrevivencia y el crecimiento de las plántulas. Los HMA son ubicuos en el suelo y forman asociaciones simbióticas con las raíces de la mayor parte de las plantas terrestres. Esta asociación se denomina micorriza arbuscular y se encuentra bien documentado su efecto al incrementar el crecimiento de las plantas. Este efecto se atribuye al incremento en la asimilación de los nutrientes, especialmente del fósforo, la tolerancia al estrés, patógenos de la raíz y ambientes adversos en el suelo, así como a la producción de sustancias promotoras del crecimiento. Los HMA incrementan el número y la actividad de los organismos benéficos del suelo como por ejemplo, los fijadores de nitrógeno y los solubilizadores de fosfato y como consecuencia, el crecimiento de las plantas mejora (Karandashov & Bucher 2005). La expansión del micelio externo del hongo en el suelo rizosférico es la causa principal de este efecto, permitiendo la captación de los nutrientes más allá de la zona de agotamiento que se crea alrededor de las raíces (García & Mendoza 2007). La asociación micorrízica permite la asimilación de microelementos tales como Zn, Cu y Bo, los cuales son absorbidos por las hifas del hongo y transportados hasta el hospedero, cualidad que puede aprovecharse para fitorremediar suelos contaminados con estos elementos (Hildebrandt *et al.* 2007). El mutualismo supone una relación beneficiosa para los dos organismos implicados, y tanto el hongo como la planta se ven favorecidos por la asociación: el hongo coloniza la raíz de la planta y le proporciona nutrientes minerales y agua, que extrae del suelo por medio de su red externa de hifas, mientras que la planta suministra al hongo sustratos energéticos y carbohidratos que elabora a través de la fotosíntesis (Bolan 1991). Son escasos los reportes que relacionan a los HMA con la sobrevivencia de las plántulas micropropagadas, Padilla *et al.* (2006) reportaron que los HMA aumentaron el porcentaje de sobrevivencia de lúcumo (*Pouteria lucuma* (Ruiz et Pav.) Kuntze) en la aclimatación y el desarrollo de las plántulas. Con respecto al efecto sobre el crecimiento de las plantas, se ha reportado que las plantas de papaya inoculadas con *Glomus claroideum* Schenck et Smith emend. Walker et Vestberg presentaron mayor cantidad de materia seca y área foliar en comparación con los

testigos (Alarcón *et al.* 2002). Están bien documentados los procesos metabólicos en donde participa el fósforo y se ha demostrado que el peso seco depende de la concentración de fósforo en el medio nutritivo independientemente de si las plantas son micorrizadas o no (Toussaint *et al.* 2007).

El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de dos hongos micorrízicos arbusculares (HMA), *G. claroideum* y *G. fasciculatum* (Thaxter sensu Gerd.) Gerd et Trappe a diferentes concentraciones de fósforo sobre la sobrevivencia y el crecimiento de plántulas de piña (*Ananas comosus*) obtenidas por micropropagación.

## MATERIALES Y METODOS

### MICROPROPAGACIÓN

Los explantes se obtuvieron de plantas sanas empleando la corona, la cual fue lavada con una solución de Tween-20 al 2% durante 15 min y posteriormente enjuagadas tres veces con agua destilada estéril. La desinfección se realizó mediante inmersión de la corona en una solución de cloro comercial al 20% durante 10 min y finalmente se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. Los explantes (yemas) se desinfectaron con una solución de cloro comercial al 10% durante 10 min, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se sumergieron en una solución antioxidante de ácido cítrico al 0,3% durante 10 min. Las yemas se sembraron en el medio de cultivo MS (Murashige & Skoog 1962) suplementado con vitaminas (ácido nicotínico 0,5 gL<sup>-1</sup>, tiamina 0,5 gL<sup>-1</sup>, piridoxina 0,5 gL<sup>-1</sup>), sacarosa 30 gL<sup>-1</sup>, phytigel 2,5 gL<sup>-1</sup> y 2,5 mgL<sup>-1</sup> de 6-Benzil aminopurina (6 BAP), el pH se ajustó a 5,7 y la esterilización se realizó en autoclave a 121°C durante 15 min. La incubación se realizó a 22°C con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad. La multiplicación se realizó después de 5 semanas del establecimiento, efectuando 8 subcultivos para obtener el número suficiente de plántulas para realizar el estudio en los cultivos *ex vitro*. El enraizamiento se hizo una vez que las plántulas tuvieron una altura de 3-4 cm, éstas se cambiaron a un medio de enraizamiento MS (Murashige & Skoog 1962) suplementado con vitaminas (ácido nicotínico 0,5 gL<sup>-1</sup>, tiamina 0,5 gL<sup>-1</sup>, piridoxina 0,5 gL<sup>-1</sup>), sacarosa 30 gL<sup>-1</sup>, phytigel 2,5 gL<sup>-1</sup>, carbón activado 1,5 gL<sup>-1</sup> y 0,5 mgL<sup>-1</sup> de ácido naftalen acético (ANA), el pH se ajustó a 5,7 y se esterilizó en autoclave a 121°C

durante 15 min. La incubación se realizó a 22°C con fotoperiodo de 16 horas luz y 8 oscuridad, durante 6 a 8 semanas. La iluminación se realizó con 2 lámparas de luz de día Phillips® Solar de 75 watts con fotoperiodo de 16 h. La aclimatación se realizó una vez que a las plántulas se les quitó el agar y se les sumergió en una solución de Captan® (1 gL<sup>-1</sup>) durante 5 min. Posteriormente las plántulas fueron colocadas en botellas de plástico con tapa rosca conteniendo peat moss-agrolita (2:1) y las plántulas fueron manipuladas bajo un esquema de incremento gradual de temperatura y de aireación. En la primera etapa las plántulas se dejaron por 3 días a 20± 2°C en la botella herméticamente cerrada, al cuarto día la tapa fue removida paulatinamente de tal manera que a los 7 días las botellas estuvieran sin la tapa. Después, las plántulas fueron colocadas en macetas de uniel conteniendo 30 g de peat moss. Se utilizaron 54 plántulas repartidas en tres partes iguales entre las inoculadas con *G.fasciculatum*, con *G.claroideum* y las que no fueron inoculadas con ningún HMA. En los tratamientos correspondientes, las plántulas se inocularon con 1 g de los hongos micorrízicos arbusculares en una ubicación tal que permitiera el contacto con las raíces de las plántulas. Los HMA fueron cultivados usando pasto Rhodes como cultivo trampa y arena-suelo (1:1) como sustrato, en donde se tuvo 95% de colonización de las raíces. El inóculo contenía 200 esporas/g de raíces y tallos del pasto y micelio del HMA secados y

triturados. Después de la inoculación, las plantas se colocaron en un cuarto con condiciones de luz y temperatura (25 ± 14°C) por otro periodo de 15 días. Posteriormente, las macetas fueron transferidas a un invernadero con malla reductora de luz del 80%, donde permanecieron por 90 días después del trasplante (ddt). En esta etapa, las plantas fueron regadas una vez por semana con 20 mL de la solución nutritiva con las concentraciones de fósforo correspondientes a los tratamientos. La solución se preparó con el producto comercial Triamin® radicular (Arvensis Agro S.A.), diluido con agua de acuerdo a las indicaciones del fabricante, y adicionando KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> para obtener las concentraciones finales de fósforo de 0,3, 0,6 y 0,9 mM.

Para analizar la influencia de la especie de HMA a diferentes concentraciones de fósforo sobre el porcentaje de sobrevivencia y de los parámetros de crecimiento, se utilizó la metodología de superficie de respuesta. En esta metodología es necesario codificar los niveles de las variables independientes, por lo que los niveles de cada variable (hongo micorrízico arbuscular y concentración de fósforo) se designaron como -1, 0 y +1 para los niveles bajo, medio y alto, respectivamente; para el caso de los HMA, el nivel bajo correspondió a los tratamientos sin inocular, el nivel medio a los inoculados con *G.fasciculatum* y el nivel alto a los inoculados con *G.claroideum* (Tabla I). En la Tabla II se presentan los diferentes tratamientos usados en el diseño factorial completo.

TABLA I. Rango experimental y niveles de las variables independientes (hongo micorrízico arbuscular y concentración de fósforo) usados en el diseño factorial 3<sup>2</sup> para maximizar el crecimiento de las plántulas de piña.

TABLE I. Experimental range and levels of the independent variables (arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus concentration) used in the 3<sup>2</sup> factorial design for maximize the pineapple plantlets growth.

Variables	Niveles		
	-1	0	1
HMA	Sin inocular	Inoculada con <i>G.fasciculatum</i>	Inoculada con <i>G.claroideum</i>
Fósforo (mM)	0,3	0,6	0,9

TABLA II. Diseño experimental para optimizar el crecimiento de las plántulas de piña.

TABLE II. Experimental design to optimize the growth of pineapple plantlets.

Tratamiento	Hongo micorrízico arbuscular	Fósforo
		mM
1	Sin inocular	0,3
2	Sin inocular	0,6
3	Sin inocular	0,9
4	<i>G. fasciculatum</i>	0,3
5	<i>G. fasciculatum</i>	0,6
6	<i>G. fasciculatum</i>	0,9
7	<i>G. claroideum</i>	0,3
8	<i>G. claroideum</i>	0,6
9	<i>G. claroideum</i>	0,9

Los tratamientos fueron ordenados de acuerdo a un diseño de bloques completamente aleatorizado con 6 repeticiones. Las mediciones de sobrevivencia, altura y número de hojas se hicieron mensualmente mientras que la medida del peso seco se realizó a los 90 días de que las plántulas estuvieron en cultivo *ex vitro*, es decir desde cuando fueron trasplantadas. Se empleó el paquete estadístico Statgraphics Plus versión 5.1 para realizar el análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existieron diferencias estadísticas significativas ( $p=0,05$ ) entre los tratamientos evaluados por cada variable determinada y para estimar los coeficientes de las ecuaciones de regresión. El ajuste de los modelos de regresión obtenidos se verificó por la determinación del coeficiente de correlación ajustado ( $R^2$ ). La significancia estadística de los modelos se determinó por la aplicación de la prueba F de Fisher. El gráfico de Pareto se obtuvo para indicar la significancia estadística de los efectos estandarizados que se calcularon dividiendo el efecto entre su error estándar para estimar las variaciones experimentales en los diferentes factores analizados (A=HMA; B=concentración de fósforo), la interacción entre ellos (AB) y el efecto cuadrático de los dos factores (AA=efecto cuadrático de los HMA y BB=efecto cuadrático de la concentración del fósforo), considerando una ecuación de regresión de segundo orden. Se graficó el efecto principal de los factores y la superficie de respuesta para describir los efectos individuales y acumulativos de las variables, así como de las interacciones entre los HMA y la concentración del fósforo sobre cada variable dependiente.

## RESULTADOS

En la Figura 1a se presentan los porcentajes de sobrevivencia de las plántulas después de la tercera etapa de aclimatación *ex vitro*. Se observa que no hubo diferencias significativas ( $P=0,05$ ) entre los tratamientos, por lo tanto se puede concluir que ni el HMA ni la concentración de fósforo influyeron sobre la sobrevivencia de las plántulas en los cultivos *ex vitro*. El  $R^2$  del modelo matemático fue de 16,4%, lo cual indica que la sobrevivencia dependió en un 85,6% de otros factores diferentes de la especie de HMA y de la concentración de fósforo.

La altura de las plantas evidenció un comportamiento similar (Fig. 1b), con un coeficiente de correlación ajustado de 17,0%. El número de hojas fue diferente ( $P=0,05$ ) entre los tratamientos (Fig. 1c), pero no se observó un comportamiento consistente debido a que los valores más altos se encontraron en las plantas que fueron inoculadas con *G. claroideum* con 0,6 y 0,9 mM de fósforo, sin embargo no hubo diferencias entre las plantas inoculadas con *G. fasciculatum* fertilizadas con 0,3 mM de fósforo y con las plantas sin inocular fertilizadas con 0,9 mM de fósforo. En el caso del control sin inocular, se observó un aumento en el número de hojas con 0,9 mM de P. En esta variable el coeficiente de correlación ajustado del modelo fue de 28,7% e indicó que la concentración de fósforo fue el factor que individualmente promovió un efecto positivo ( $P=0,05$ ) sobre el número de hojas (Fig. 2 a).

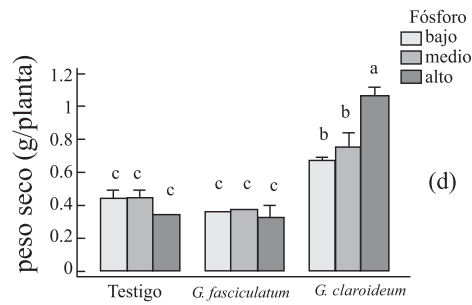


FIGURA 1. (a) Porcentaje de sobrevivencia, (b) altura de las plántulas, (c) número de hojas, (d) peso seco de las plántulas de piña en cultivos *ex vitro* para evaluar la influencia de los hongos micorrízicos arbusculares con tres concentraciones de fósforo, bajo (0,3 mM), medio (0,6 mM) y alto (0,9 mM). 0= sin micorrizas; 1 = *Glomus fasciculatum*; 2 = *Glomus claroideum*; DMS = Diferencia mínima significativa (P=0,05). Letras iguales denotan que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos.

FIGURE 1. (a) Survival percentage, (b) plant height, (c) leaves number and (d) dry weight of pineapple plantlets in *ex vitro* cultures for evaluating the influence of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi with three phosphorus concentrations, low (0.3 mM), middle (0.6 mM) and high (0.9 mM). 0= without AM fungi, 1 = *Glomus fasciculatum*; 2 = *Glomus claroideum*, LSD = Least Significant Difference (P=0.05). Values with a different letter are significantly different.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas en el peso seco de las plantas inoculadas con *G. claroideum* en relación con las que fueron inoculadas con *G. fasciculatum*, así como en las que no fueron inoculadas (Fig. 1 d). En las plántulas inoculadas con *G. claroideum* el peso seco aumentó con el nivel de P aplicado (Fig. 3 a y b).

En la Figura 2a se presentan los efectos estandarizados para evaluar la significancia estadística de los factores y la interacción entre ellos sobre el número de hojas, se observa que solamente

el fósforo tuvo efecto estadístico significativo (P=0,05). En la Figura 2b se presentan los efectos principales de los HMA y del fósforo, se observa que *G. claroideum* fue el HMA que promovió que las plantas tuvieran más hojas. Se observa también que las plantas generaron más hojas a medida que se incrementó la concentración de fósforo en el sustrato. La gráfica de superficie de respuesta (Fig. 2c) muestra claramente que para que las plantas tengan más hojas es mejor usar *G. claroideum* y 0,9 mM de fósforo.

Con respecto al peso seco de las plántulas, el factor que influyó significativamente ( $P=0,05$ ) fue la especie de HMA utilizada (Fig. 3 a). En la Figura 3b se presenta la gráfica de efectos principales de los dos factores estudiados sobre el peso seco, es claro que los HMA fueron el factor con mayor influencia y que *G. claroideum* promovió el mayor efecto. Con respecto al efecto del fósforo fue menos relevante que el de los HMA, observándose un ligero

incremento en el peso seco a medida que se incrementó la concentración del fósforo.

La ecuación 1 muestra el modelo matemático generado a partir de los datos experimentales obtenidos para el peso seco de las plantas de piña, en donde PS es el peso seco ( $\text{g planta}^{-1}$ ), HMA el hongo micorrízico arbuscular y P la concentración de fósforo. El coeficiente de correlación ajustado ( $R^2$ ) fue de 85,8%.

$$\text{PS}=0.35 + 0.21 * \text{HMA} + 0.04 * \text{P} + 0.27 * \text{HMA}^2 + 0.12 * \text{HMA} * \text{P} + 0.006 * \text{P}^2 \dots\dots\dots(1)$$

FIGURA 2. (a) Diagrama de Pareto estandarizado, (b) gráfica de los efectos principales, (c) gráfica de superficie de respuesta para evaluar la influencia de los HMA a diferentes concentraciones de fósforo sobre el número de hojas de las plántulas de piña.

FIGURE 2. (a) Standardized Pareto chart, (b) Plots of main effects, (c) Response surface plots to assess the effect of AM fungi, at different phosphorus concentrations on the leaves number of pineapple plantlets.

En la Figura 3c se presenta la superficie de respuesta del peso seco de las plántulas en función de las micorrizas y de la concentración de fósforo, se observa que las plántulas tuvieron mayor peso seco a medida que se incrementó la concentración del fósforo y cuando fueron inoculadas con *G. claroideum*. Se encontró que el peso seco de las plántulas puede ser optimizado utilizando *G. claroideum* y la concentración más alta de fósforo (0,9mM).

FIGURA 3. (a) Diagrama de Pareto, (b) gráfica de los efectos principales, (c) gráfica de superficie de respuesta para evaluar la influencia de los HMA a diferentes concentraciones de fósforo sobre el peso seco de las plántulas de piña.

FIGURE 3. (a) Standardized Pareto chart, (b) Plots of main effects, (c) Response surface plots to assess the effect of AM fungi at different phosphorus concentrations on the dry weight of pineapple plantlets.

## DISCUSION

Los resultados del presente trabajo demostraron que la inoculación con los HMA, *G. fasciculatum* y *G. claroideum*, a diferentes niveles de fósforo no ejercieron efecto significativo en la sobrevivencia de las plántulas de piña en la etapa *ex vitro*. Los factores más importantes que pudieron haber influido para que las plantas sobrevivieran son los ambientales, por ejemplo el procedimiento de aclimatación gradual a la temperatura y a la concentración de CO<sub>2</sub> para que las plantas adquirieran una actividad fotosintética adecuada a las condiciones *ex vitro*. De acuerdo a Pospíšilová *et al.* (1999), la aclimatación gradual es un procedimiento que permite que una planta micropropagada tenga altos porcentajes de sobrevivencia en la etapa *ex vitro*, en donde se corrigen “anormalidades” que tienen las plantas micropropagadas, tales como producción insuficiente de cera cuticular, presencia de estomas dañados, una pobre actividad fotosintética, pobre conexión vascular, deshidratación e infección por patógenos.

El fósforo fue el factor que influyó significativamente sobre el número de hojas, este resultado se puede explicar porque el sustrato utilizado para cultivar las plántulas en el proceso de aclimatación es deficiente en macronutrientes y especialmente en fósforo y está bien documentado que el fósforo es un macronutriente esencial para todos los organismos (Vance 2003). Las plántulas se regaron con la solución de Triamin que contiene aminoácidos y oligopéptidos más nitrógeno, fósforo y potasio y esto hizo que las plántulas pudieran satisfacer sus necesidades nutricionales, sin embargo en el caso del fósforo y para las plántulas micropropagadas de piña, los resultados indican que es necesario adicionarle una mayor cantidad. En plantas cultivadas en suelo, un factor que complica la asimilación del fósforo por las plantas es la movilidad ya que se ha demostrado que se generan zonas sin fósforo alrededor de las raíces (Hinsinger *et al.* 2005). En este caso, la solución de riego se aplicó en la proximidad de la raíz de las plántulas, por lo que no se considera que la movilidad haya sido un problema y de esta manera las plantas pudieron asimilar el fósforo directamente vía raíces aunque no se descarta que los HMA le proporcionaron una ruta adicional para la asimilación de este nutriente (Zhu *et al.* 2001). La asimilación puede ser más

compleja debido a que se llevan a cabo mecanismos de transporte de alta y de baja afinidad. Para algunas especies vegetales, se ha sugerido la presencia de más de siete cinéticas de transporte. Los aspectos moleculares y bioquímicos de los sistemas correspondientes al transporte de fósforo se han estudiado extensivamente (Bucher 2007, Raghothama & Karthikeyan 2005), sin embargo en el caso de piña no se tiene documentado cuál es el mecanismo de transporte del fósforo.

Para el peso seco los HMA fueron los que tuvieron mayor relevancia respecto del fósforo. *G. claroideum* promovió que las plantas tuvieran mayor crecimiento en comparación con las plantas inoculadas con *G. fasciculatum* y con las plantas control. Esta respuesta diferencial se ha reportado con anterioridad en plantas de *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth., donde el área foliar, el peso fresco de la parte aérea y de las raíces fueron significativamente mayores en las plantas micorrizadas con *Acaulospora tuberculata* Janos et Trappe y *Glomus manihotis* Howeler, Sieverding et Schenck. que con otras micorrizas ensayadas (Boddington & Dodd 1998). La explicación probablemente está relacionada con la proporción de propágulos infectivos en el inóculo de los HMA o con el patrón de crecimiento de las hifas de los HMA dentro de las raíces de la planta. Schnepf *et al.* (2007) estudiaron el crecimiento de tres HMA (*Scutellospora calospora* Nicol. et Gerd, *Glomus* sp. y *Acaulospora laevis* Gerd. et Trappe, encontrando que los tres crecieron con distintos patrones de ramificación de las hifas. Previamente este grupo de trabajo demostró que los mecanismos de asimilación de fósforo son diferentes entre distintos HMA y que están relacionados con el crecimiento de las hifas (Schnepf & Roose 2006). En conclusión, los resultados demostraron que las respuestas de las plántulas fue diferente en función de la especie de HMA inoculado y que si se combina con una concentración adecuada de fósforo puede promoverse un mayor crecimiento de las plantas micropropagadas de piña.

## AGRADECIMIENTOS

La investigación fue financiada por la Dirección General de Educación Superior Tecnológica proyecto: Co-inoculación de micorrizas con organismos promotores del crecimiento vegetal para



incrementar el crecimiento y nutrición de plantas micropropagadas, y el Fondo Mixto CONACYT Gobierno del Estado de Chiapas.

#### BIBLIOGRAFIA

- ALARCÓN, A., F.T. DAVIES, J.N. EGILLA, T.C. FOX, A.A. ESTRADA-LUNA & R. FERRERA-CERRATO. 2002. Short term effects of *Glomus claroideum* and *Azospirillum brasilense* on growth and root acid phosphatase activity of *Carica papaya* L. under phosphorus stress. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 44: 31-37.
- BODDINGTON, C.L. & J.C. DODD. 1998. A comparison of the development and metabolic activity of mycorrhizas formed by arbuscular mycorrhizal fungi from different genera on two tropical forage legumes. *Mycorrhiza* 8: 149-157.
- BOLAN, N.S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 134: 189-207.
- BOMFIM, G.V., A.C.P.P. CARVALHO, F.C. BEZERRA, B.M. AZEVEDO, T.V. VIANA & K.M.A.S. OLIVEIRA. 2007. Ex vitro acclimatization of ornamental pineapple (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) in substrates composed of coir powder. *Plant Cell Culture & Micropropagation* 3: 41-48.
- BUCHER, M. 2007. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytology* 173: 11-26.
- GARCÍA, I.V. & R.E. MENDOZA. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi and plant symbiosis in a saline-sodic soil. *Mycorrhiza* 17: 167-174.
- HILDEBRANDT, U., M. REGVAR & H. BOTHE. 2007. Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Review of Phytochemistry* 68: 139-146.
- HINSINGER, P., G.R. GOBRAN, P.J. GREGORY & W.W. WENZEL. 2005. Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. *New Phytology* 168: 293-303.
- KARANDASHOV, V. & M. BUCHER. 2005. Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas. *Trends in Plant Science* 10: 22-29.
- MURASHIGE, T. & F. SKOOG. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology Plantarum* 15: 473-497.
- PADILLA, I.M., G.E. CARMONA, N. WESTENDORP & C.L. ENCINA. 2006. Micropropagation and effects of mycorrhiza and soil bacteria on acclimatization and development of lucumo (*Pouteria lucuma* R. and Pav.) var. La Molina. *In Vitro Cellular and Development Biology Plant.* 42: 93-196.
- POSPÍŠILOVÁ, J., I. TICHÁ, P. KADLÉČEK, D. HASEL & S. PLZÁKOVÁ. 1999. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. *Biologia Plantarum* 42: 481-497.
- RAGHOTHAMA, K.G. & A.S. KARTHIKEYAN. 2005. Phosphate acquisition. *Plant and Soil* 274: 37-49.
- SCHNEPF, A. & T. ROOSE. 2006. Modelling the contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to plant phosphate uptake. *New Phytology* 171: 669-682.
- SCHNEPF, A., T. ROOSE & P. SCHWEIGER. 2007. Growth model for arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal Royal Society Interface* 5: 773-784.
- TOUSSAINT, J.P., F.A. SMITH & S.E. SMITH. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi can induce the production of phytochemicals in sweet basil irrespective of phosphorus nutrition. *Mycorrhiza* 17: 291-297.
- VANCE, C.P. 2003. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytology* 157: 423-447.
- ZHU, Y.G., T.R. CAVAGNARO, S.E. SMITH & S. DICKSON. 2001. Backseat driving? Accessing phosphate beyond the rhizosphere-depletion zone. *Trends in Plant Science* 6: 194-195.

Recibido: 16.12.08  
Aceptado: 23.01.09