

## CAPÍTULO 6

# APLICACIÓN DE BIOFERTILIZANTE EN LA PROPAGACIÓN DE PLANTAS *IN VITRO* Y CONVENCIONAL DE ÑAME ESPINO CULTIVAR BOTÓN *DIOSCOREA ROTUNDATA. POIR*

Karol Liseth Rueda Concha<sup>16</sup>  
Eder Durango Ballesteros<sup>17</sup>

---

<sup>16</sup> Biólogo. Joven Investigadora CECAR

<sup>17</sup> Ingeniero Agrónomo, Maestría en Biotecnología. Doctorado en Biotecnología Agrícola, mención Vegetal. Instructor Investigador en el SENA Programa SENNOVA



## Introducción

En las últimas décadas, el cultivo de tubérculos ha desempeñado un papel importante en la dieta alimentaria sobretodo de los países en vía de desarrollo; se estima que para el 2020 más de 2 mil millones de personas de África, Asia y América Latina dependerán de estos cultivos como fuente de alimento. La producción comercial de *Dioscorea* sp., es de gran importancia en estos países, puesto que constituye una fuente rica en carbohidratos, fibra y proteínas (Chacón et al., 2005).

Existen más de 600 especies comprendidas dentro de la familia Dioscoreaceae, las cuales se encuentran distribuidas en regiones tropicales y subtropicales del mundo, algunas especies del género *Dioscorea* como *D. alata* L. y *D. rotundata*, son cultivadas para la producción de tubérculos almidonados conocidos como ñames (Alvis, Vélez & Rada-Mendoza, 2008; Méndez et al., 2013; Perea, 2000). Desde que esta especie se comenzó a cultivar por el hombre se ha propagado por tubérculos enteros, secciones de tubérculos o bulbillos aéreos. El uso continuado de este tipo de material vegetal de plantación tiene el inconveniente de que, al plantarse de un año para otro en campo, se puede infestar por microorganismos patógenos y perder calidad fisiológica y sanitaria (Cabrera et al., 2010).

En Colombia, existe una alta demanda en el consumo de este tubérculo principalmente en los habitantes de la costa Caribe, donde los mayores productores son los agricultores del departamento de Córdoba, la subregión de los Montes de María en los departamentos de Bolívar y Sucre, algunos municipios del departamento del Cesar y la Guajira (Álvarez, 2000). Debido a que esta práctica constituye la principal fuente de ingresos y de empleo rural en estas zonas, el cultivo y comercialización del ñame es realizado principalmente por pequeños medianos agricultores (Méndez et al., 2013).

La sostenibilidad de los sistemas agrícolas a largo plazo debe fomentar el uso manejo efectivo de los recursos internos de los agroecosistemas. En

este sentido, los fertilizantes biológicos constituyen un componente vital de los sistemas sostenibles ya que son un medio económicamente atractivo y aceptable de reducir los insumos externos y de mejorar la cantidad y calidad de los recursos internos (Mejía, 1994).

Entre los beneficios del uso de microorganismos en la agricultura están su capacidad de fijar nitrógeno, atmosférico, la descomposición de residuos orgánicos, la desintoxicación con plaguicidas, la supresión de enfermedades en las plantas, el aporte de nutrientes al suelo y la producción de compuestos bioactivos como vitaminas y hormonas que estimulan el crecimiento de las plantas (Terry Alfonso, Leyva & Hernández, 2005).

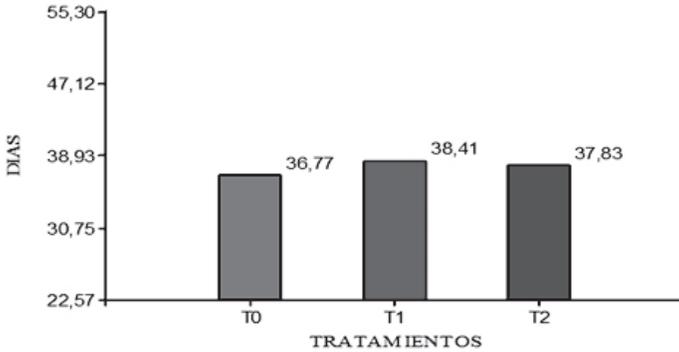
Considerando que el uso del sustrato adecuado y los nutrientes son importantes para el cultivo de ñame, se utilizaron diferentes concentraciones de un insumo biológico preparado a base de microorganismos con el fin de facilitar la absorción de los nutrientes necesarios para el crecimiento de las plantas sin producir daños adversos al medio ambiente, además, conservar la fertilidad y biodiversidad del suelo y permitir una producción a bajo costo (Armenta et al., 2010; Chirinos, Leal & Montilla, 2006).

## **Propagación de ñame.**

Se utilizaron tubérculos de ñame espino, del cultivar botón *Dioscorea rotundata*. Poir. Los segmentos de tubérculos, fueron cortados de 50-60 gramos 24 horas antes de la siembra (Olalde Portugal & Aguilera Gómez, 1998), y desinfectados con un fungicida de ingrediente activo Azoxystrobin, perteneciente al grupo de los  $\beta$ -metoxiacrilatos (Amistar 50 GW). (Jiménez & Hernández, 2012). Los segmentos se sumergieron en tres concentraciones de un bioinsumo comercial (Terravite S21) a base de microorganismos (T0 =0, T1=4 y T2=8 ml/Kg de suelo). Para garantizar la colonización de los microorganismos se realizó una aplicación del insumo por 4 semanas.

Luego de la siembra se observó brotación de los segmentos de tubérculos a los 37 días en todos los tratamientos (Figura 1), indicando que el uso de microorganismo no influye en la formación de brotes en el ñame, además se observó para los tratamientos T0 y T1 un porcentaje de germinación del 95% y para T2 un 100% de las semilla, datos que difieren de los reportados por Reyes et., al en el 2014 quienes reportaron que el uso de microorganismos benéficos tienen un efecto positivo en la germinación

de las semillas de *Echinocactus platyacanthus* (Castillo-Reyes et al., 2014); según Jiménez 2012, las semillas de ñame utilizan las reservas de las semillas durante las primeras etapas por lo que la humedad adecuada es indispensable para la germinación de las semillas (Jiménez & Hernández, 2012).



**Figura 1.** Tiempo promedio de germinación de las semillas.

**Tabla 1.** Análisis de varianza para el tiempo de brotación de las semillas de ñame.

Variables	TTO	Media Cuadrática	Error estándar	IC 95%		P(valor)
				Límite inferior	Límite superior	
Brotos	T0	36,773 a	1,258	34,259	39,28	0,643
	T1	38,409 a	1,258	35,895	40,923	
	T2	37,909 a	1,258	35,395	40,423	

*\*Para cada variable, medias cuadráticas con letra común no son estadísticamente diferentes  $P > 0,05$*

Se realizaron mediciones de longitud del tallo para determinar crecimiento de la planta por tratamiento a través del tiempo (ver tabla 1). En los tres tratamientos se observó un aumento progresivo de tamaño lo que muestra que la planta estaba recibiendo los nutrientes necesarios para su crecimiento, sin embargo, no se encontró diferencias estadísticas entre tratamientos con respecto al crecimiento cada 7 días  $P > 0,05$  (Tabla 2). Igualmente no se encontró diferencias estadísticas entre tratamientos y largo final del tallo, indicando hasta este punto que la incorporación de

microorganismos no produjeron un aprovechamiento del material orgánico del suelo, datos que contrasta con los reportados por Terry et., al (2005) quienes demostraron que las plantas de tomate inoculadas con algún microorganismo que estimule su crecimiento y desarrollo, presentan una mayor capacidad para absorber más eficientemente el agua y los nutrientes del suelo a través del estímulo provocado en el sistema radical, que se evidencia en el estado nutricional de las plantas; además según Bashan (1998), algunos microorganismos provocan una absorción más efectiva de los nutrientes, lo que explica la acumulación de compuestos nitrogenados en las plantas sin existir una aparente fijación biológica de nitrógeno (Bashan, 1998; Terry, Leyva Hernández, 2005); sin embargo Moreno Díaz (1998) encontró que el crecimiento a los 68 días del trasplante no mostraba diferencias significativas entre las plantas con y sin inoculación y que permaneció con la misma tendencia hasta 92 días (Moreno Díaz, 1988), probablemente en el caso del ñame ocurre lo mismo puesto que en las primeras etapas utiliza las reservas de las semillas. García (2003) encontró que los hongos micorrízicos confirieron un mayor efecto sobre la altura de plantas de chile mirasol, en el cual el mayor crecimiento registrado, fue en el cultivar de chile ancho, inoculado con *Glomus* sp., teniéndose un incremento del 8% (García, 2003).

**Tabla 2.** Análisis de varianza para el tamaño de las plantas de ñame. DPG: Días post germinación.

Tamaño DPG	TTO	Media cuadrática	Error estándar	IC 95%		P(valor)
				Límite inferior	Límite superior	
0	T0	2,386	0,161	2,064	2,709	0,504
	T1	2,405	0,161	2,082	2,727	
	T2	2,164	0,161	1,841	2,486	
7	T0	29,218	3,345	22,533	35,903	0,865
	T1	26,868	3,345	20,183	33,553	
	T2	28,905	3,345	22,220	35,589	
14	T0	78,755	6,493	65,779	91,730	0,421
	T1	76,959	6,493	63,983	89,935	
	T2	88,268	6,493	75,292	101,244	

Tamaño DPG	TTO	Media cuadrática	Error estándar	IC 95%		P(valor)
				Límite inferior	Límite superior	
21	T0	119,468	8,561	102,354	136,582	0,058
	T1	116,895	8,561	99,782	134,009	
	T2	144,090	8,561	126,574	161,607	
28	T0	160,655	10,634	139,405	181,904	0,212
	T1	154,232	10,634	132,982	175,482	
	T2	179,982	10,634	158,732	201,232	

*P < 0,05 indican diferencias estadísticas entre tratamientos.*

### Área foliar total (aft).

Después de 90 días s de la siembra se determinó el número total de hojas por planta, escaneándolas y utilizando el software LEAFARE.EXE. Para calcular un promedio por planta de acuerdo con la siguiente formula: AFT= promedio área hoja x No de hojas totales. (Warnock et al., 2006).

Una mayor aplicación de microorganismos en el tratamiento 2, presentó una mayor área foliar lo que repercute en la fisiología de la plata puesto que es la capacidad de la cubierta vegetal para interceptar la radiación fotosintéticamente activa (RFA), la cual es la fuente primaria de energía utilizada por las plantas para la fabricación de tejidos y elaboración de compuestos alimenticios (Warnock et al., 2006), sin embargo al realizar el análisis estadístico no se encontró asociación entre algún tratamiento y el área foliar total  $P > 0.05$  (Tabla 3), resultados que difieren a los encontrados por García en el 2003 quien encontró que la colonización de los hongos micorrízicos arbusculares influyen positivamente en la producción de Ácido Indolacético a los 80 y 120 días de edad, los cuales mejoraron el vigor de la planta, aumentaron la elongación del tallo y el crecimiento celular, lo que se reflejó en un mayor número de hojas y mayor área foliar (García, 2003).

**Tabla 3.** Análisis de varianza para parámetros fisiológicos de las plantas de ñame. Germinación, AFT: área foliar total y Pero seco (MS).

Variables	TTO	Media Cuadrática	Error estándar	IC 95%		P (value)
				Límite inferior	Límite superior	
Brotación	T0	36,773 a	1,258	34,259	39,28	0,643
	T1	38,409 a	1,258	35,895	40,923	
	T2	37,909 a	1,258	35,395	40,423	
AFT	T0	852,415 a	162,457	498,452	1206,378	0,498
	T1	755,862 a	162,457	401,899	1109,825	
	T2	1031,067 a	162,457	677,105	1385,030	
MS	T0	9,152 a	1,171	6,600	11,704	0,247
	T1	8,764 a	1,171	6,212	11,316	
	T2	11,482 a	1,171	8,930	14,034	

\*Para cada variable, medias cuadráticas con letra común no son estadísticamente diferentes  $P > 0,05$

## Peso seco total de la planta

Se colectaron hojas, tallo y raíces. Todo el material vegetal se pesó y secó en estufa a 70°C por 48 horas, para determinar para cada órgano de la planta, el peso seco total (Mas-Golac, 2013).

El análisis de varianza mostró que no hay diferencia estadística entre tratamientos para esta variable (Tabla 3), lo que se debe probablemente a que el tiempo que duró el cultivo fue poco y era necesario esperar que la planta aprovechara en su totalidad los nutrientes del suelo. Resultados similares fueron reportados por Moreno Diaz (1988) quien no encontró diferencias significativas en el rendimiento de tubérculos de papa ni en el peso seco total en plantas con y sin inoculación en los primeros 90 días del cultivo (Moreno Díaz, 1988). Los resultados obtenidos difieren a los reportados por Bashan (1989) quien observó que en experimentos realizados con *A. brasilense*, obtuvieron un incremento de la masa fresca y seca de plántulas de tomate y en la elongación de las raíces en otros cultivos. Este resultado expresa la especificidad entre los exudados radicales de este cultivo y la rizobacteria *A. brasilense* (Bashan, 1998). Vander Zaag y col. (1982) informaron que, en los suelos de ese país, las raíces de ñame están fuertemente colonizadas con HMA y es por ello por lo que el cultivo utiliza el fósforo (P) eficientemente a bajos niveles en el suelo y las investigaciones

revelaron que el ñame responde a la inoculación con HMA (Vander Zaag et al., 1982).

### **Pigmentos fotosintéticos (clorofilas y carotenoides)**

La determinación de clorofila total, A, B y carotenoides, se realizó según la metodología de Val, et. Al (1985), tomando 0,5 gr de hoja de la parte media de la planta, ésta se envolvió en papel filtro húmedo y en papel aluminio, se maceró con 5 ml de acetona al 80%, la mezcla se filtró y el extracto se aforó a 5 ml para hacer las lecturas de absorbancia relativa en el espectrofotómetro GENESYS 10s UV-VIS, a longitudes de onda de 662, 645 y 470 nm. El cálculo de los pigmentos fotosintéticos se realizó teniendo en cuenta las siguientes fórmulas (García, 2003; Val, Heras & Monge, 1985):

$$\begin{aligned} \text{Cla } (\mu\text{g/ml}) &= 10.8 \times \text{Abs } 662 - 0.75 \times \text{Abs } 645 \\ \text{Clb } (\mu\text{g/ml}) &= 19.02 \times \text{Abs } 645 - 3.98 \times \text{Abs } 662 \\ \text{Clt } (\mu\text{g/ml}) &= 6.83 \times \text{Abs } 662 + 18,27 \times \text{Abs } 645 \\ \text{Carotenoides } (\mu\text{g/ml}) &= 3.775 \times 479 - 0.21 \times \text{Clb} \end{aligned}$$

Los valores de la concentración de pigmentos fotosintéticos (Clorofila a, b, y total y carotenoides) de absorbancia se encontraron en las plantas con los tratamientos T0 y T2, y los carotenoides se encontraron en una menor concentración en los tres tratamientos. Al realizar el análisis de varianza se encontró diferencias estadísticas en la variable clorofila entre los tres tratamientos, estableciéndose una relación entre los tratamientos T0 y T2 como se indica en la Tabla 4. Datos similares son reportados por García (2003) quien encontró un efecto positivo en el contenido de clorofila total en plantas inoculadas con hongos micorrízico-arbusculares, comparado con las plantas sin inocular, con una diferencia del 10%. Sin embargo, Cruz Gutiérrez (2013) señaló que el contenido de clorofila total no presentó diferencias significativas entre las plantas de tomate de los diferentes tratamientos. Por otra parte, Lancheros (2012) encontró que las plantas del tratamiento testigo (sin micorrizas) mostraron mayores concentraciones de clorofilas en comparación con las plantas inoculadas, y que en el caso de los carotenoides no se encontró diferencias estadísticas entre tratamientos lo que indica que la presencia de microorganismos benéficos no está relacionada con la producción de pigmentos fotosintéticos en las plantas de agraz (*Vaccinium meridionale*) Swartz.

**Tabla 4.** Análisis de varianza para parámetros clorofilas y carotenos. Cla: clorofila a, Clb: clorofila b, Clt: clorofila total, Caro: Carotenoides y LTF: longitud del tallo final en plantas de ñame.

Variables	TTO	Media Cuadrática	Error estándar	IC 95%		P (value)
				Límite inferior	Límite superior	
Cla	T0	26,047 b	2,509	20,580	31,513	0,001*
	T1	14,663 a	2,509	9,197	20,130	
	T2	31,625 b	2,509	26,159	37,092	
Clb	T0	31,463 a	5,967	18,461	44,464	0,061
	T1	15,978 a	5,967	2,976	28,979	
	T2	37,843 a	5,967	24,842	50,845	
Clt	T0	49,334 ab	7,462	33,075	65,592	0,023*
	T1	26,059 a	7,462	9,801	42,317	
	T2	59,546 b	7,462	43,288	75,804	
Carotenos	T0	4,694 a	0,922	2,686	6,703	0,471
	T1	6,068 a	0,922	4,059	8,077	
	T2	6,174 a	0,922	4,165	8,182	
LTF	T0	292,520 a	32,445	221,828	363,212	0,393
	T1	346,600 a	32,445	275,908	417,292	
	T2	287,900 a	32,445	217,208	358,592	

\*Para cada variable, medias cuadráticas con letra común no son estadísticamente diferentes  $P > 0,05$ .

Es necesario realizar una prueba de comparaciones múltiples de las medias para las variables que presentaron diferencias significativas.

## Conclusiones

Las fertilizaciones con microorganismos no influyen en algunos parámetros fisiológicos de las plantas de ñame como área foliar total, masa seca, longitud del tallo concentración de pigmentos fotosintéticos.

## Referencias Bibliográficas

- Abang, M., Winter, S., Mignouna, H., Green, K., & Asiedu, R. (2003). Molecular taxonomic, epidemiological and population genetic approaches to understanding yam anthracnose disease. *African Journal of Biotechnology*, 2(12), 486-496.
- Acosta, R., & Beltrán, J. (2000). Estandarización de la Técnica de micropropagación para la obtención masiva de plantas de ñame espino (D.

- rotundata) mediante el cultivo in vitro de segmentos nodales (Tesis de grado para optar el título de Biólogo), Universidad de Sucre, Sincelejo.
- Aguilar-Reyes, Z. I. (2012). Caracterización morfológica y molecular de la colección de *Dioscorea* spp. del Banco de Germoplasma del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Costa Rica. (Tesis como requisito para optar por el grado de Magister Scientiae en Agricultura Ecológica), Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica.
- Agvik, E. (2011). Enraizamiento y Aclimatación de plántulas de *Vainilla planifolia* Andrews, provenientes de cultivo de tejidos con fines de conservación. (Informe de Tesis Para optar el título de Bióloga), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Alberto Espinosa Cuéllar, Ruiz, L., Rivera, R., & Espinosa, E. (2015). Las micorrizas y su efecto en clones comerciales de yuca sobre suelo pardo mullido carbonatado. *Rev. Agricultura Tropical*, 1(2), 19-25.
- Allen, M. F., Moore, T. S., & Christensen, M. (1982). Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. II. Altered levels of gibberellin like substances and abscisic acid in the host plant. *Canadian Journal of Botany*, 60(4), 468-471.
- Alvarez, A. (2000). Prácticas agronómicas para el cultivo del ñame. In M. y. B. Guzmán, G. (Ed.), *Ñame: producción de semilla por biotecnología*. Unibiblos, Bogotá. pp. 55-65.
- Alvis, A., Vélez, C., & Rada-Mendoza, M. (2008). Composición de ñames frescos cultivados en Colombia y sometidos a freído por inmersión. *Información Tecnológica*, 19(1).
- Amusa, N. (2000). Screening of cassava and yam cultivars for resistance to anthracnose using toxic metabolites of *Colletotrichum* species. *Mycopathologia*, 150, 137-142.
- Andresson, A. J., Rodriguez, P., & Guedes, E. (1994). Efectos de la inoculación con *Azotobacter* y hongos MVA en vitroplantas de ñame. *Cultivos Tropicales*, 15(3), 66.
- Armenta, A., García, C., Camacho, R., Apodaca, M., Montoya, L., & Nava, E. (2010). Biofertilizantes en el Desarrollo Agrícola de México. *Ra Ximhai*, 6(1), 51-56.

- Azcón-Aguilar, C., & Barea, J. M. (2007). Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Horticulturae*, 68(1-4), 1-24.
- Barea, J. M., Azcón-Aguilar, C., & Roldán-Fijardo, B. (1984). Avances recientes en el estudio de la micorriza V-A. Formación, funcionamiento y efectos recientes en nutrición vegetal. *Anales de edafología y Agrobiología*, Granada, España. 659-677.
- Bashan, Y. (1998). Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances*, 16(4), 729-770.
- Bethlenfalvy, G., & Schüepp, H. (1994). Arbuscular mycorrhizas and agrosystem stability. *Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*, 1-24.
- Bonilla, M., & Hernández, Ó. (2012). Propagación *in vitro* de ñame (*dioscorea* spp.): una perspectiva en la producción masiva de plántulas y conservación de germoplasma. *agron.*, 20(2), 65-76.
- Boutherin, D., & Bron, G. (1994). Multiplicación de plantas hortícolas. Zaragoza. pp. 225
- Cabrera, M., Gómez, R., Rayas, A., DeFeria, M., López, J., Medero, V., et al. (2010). Evaluación en campo de plantas de ñame (*Dioscorea alata* L.) obtenidas de los microtubérculos formados en Sistema de Inmersión Temporal. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 12(1), 47-56.
- Calva, G., & Pérez, J. (2005). Cultivo de células y tejidos vegetales: la fuente de alimentos del futuro. *Revista Digital Universitaria*, 6(11).
- Castillo-Reyes, F., Sánchez Chaparro, J. D., Rangel Estrada, S. E., & Canul Ku, J. (2014). Efecto de microorganismos en la promoción de la germinación de semillas de la cactácea *Echinocactus platyacanthus* LINK & OTTO. *INTERCIENCIA*, 39(12), 863-867.
- Chacón, A. G., Gómez, L., Torres, S., & Saborío, F. (2005). Aclimatización de plántulas de yampí (*Dioscorea trifida*) y ñame (*D. alata*) producidas *in vitro*. *Agronomía Costarricense*, 29(3), 47-58.
- Chirinos, J., Leal, Á., & Montilla, J. (2006). Uso de Insumos Biológicos como Alternativa para la Agricultura Sostenible en la Zona Sur del Estado Anzoátegui *Revista Digital CENIAP HOY*, 11, 1-7.

- Cruz Gutiérrez, E. J. (2013). Estudio de la interacción de la simbiosis micorrízica arbuscular en plantas infectadas con Tobacco mosaic virus. (Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de: Doctora en ciencias), Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado De México.
- Dehne, H. W., & Schönbeck, F. (1975). The influence of the endotrophic mycorrhiza on the fusarial wilt of tomato. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 82(10), 630-632.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2011). InfoStat.
- Domínguez, G., & Donayre, M. L. (2006). Aclimatacion de *Uncaria tomentosa* (willd.) dc. producida in vitro. *Ecología Aplicada*, 5(2), 67-74.
- García, F. R. (2003). Concentración de reguladores del desarrollo vegetal inducida por hongos endomicorrízicos en dos cultivares de Chile (*Capsicum annum* L.). (Tesis para obtener el grado de doctor en Ciencias, Área Biotecnología), Universidad De Colima, Colima-Mexico. (188)
- Gianinazzi, V., & Gianinazzi, S. (1981). Role of endomycorrhizal fungi in phosphorus cycling in the ecosystem. In: *The fungal community: its organization and role in the ecosystem*. In Wicklow (Ed.). New York.: D.T., C. Carrol, G.C. y Dekker, M. pp. 637-652
- González Muñoz, Y. d. C. (2003). Caracterización morfológica y molecular de genotipos de *Dioscorea alata* y *D. trifida* del Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá, IDIAP y CATIE, Costa Rica". (Tesis sometida a la consideración de la, como requisito parcial para optar por el grado de: Magíster Scientiae), Escuela de Posgrado de Educación para el Desarrollo y la Conservación del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica.
- González, M. (2012). El ñame (*Dioscorea* spp.). Características, usos y valor medicinal. Aspectos de importancia en el desarrollo de su cultivo. *Cultivos Tropicales*, 33(4), 5-15.
- González-Muñoz, Y. d. C. (2003). "Caracterización morfológica y molecular de genotipos de *Dioscorea alata* y *D. trifida* del Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá, IDIAP y CATIE, Costa Rica". (Tesis para optar por el grado de: Magíster Scientiae), Cen-

tro Agronomico Tropical De Investigacion Y Enseñanza-Catie, Turrialba, Costa Rica.

- Graham, J. H., & Menge, J. A. (1982). Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil phosphorus on take-all disease of wheat. *Phytopathology*, 72(1), 95-98.
- Gribaudo, I., Novello, V., & Restagno, M. (2001). Improved control of water loss from micropropagated grapevines (*Vitis vinifera* cv. Nebbiolo). *Vitis*, 40(3), 137-140.
- IITA. (1976). International Institute Of Tropical Agriculture) Annual. Ibadan (pp. 80-81.).
- Jiménez, D., & Hernández, R. (2012). CULTIVO DE ÑAME (*Dioscorea alata* L.). In I. d. I. A. d. Panamá. & D. d. E. y. Publicaciones (Eds.), *MANUAL TÉCNICO*. Panamá: Instituto de investigación agropecuaria de panamá. pp. 36
- Lancheros, H. O. (2012). Caracterización de las micorrizas nativas en agraz *Vaccinium meridionale* Swartz y evaluación de su efecto sobre el crecimiento plantular. (Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de: Magister en Ciencias Agrarias), Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Mas-Golac, R. A. (2013). Aclimatación de plántulas de piñón (*Jatropha curcas* L.) propagadas *in vitro* en la estación experimental agraria El Porvenir Juan Guerra. (Para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo), Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto.
- Mejía, M. (1994). *Agriculturas para la vida: movimientos alternativos frente a la agricultura química*. Cali, Colombia: Feriva 252.
- Méndez, Y., Palencia, J., Hernández, K., Hernández, E., & Beltrán, J. (2013). Reacción de genotipos de ñame (*Dioscorea* spp) a la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*). *TEMAS AGRARIOS*, 18(1), 34-40.
- Montaldo, Á. (1991). *Cultivo de raíces y tuberculos: Segunda edicion*, San Jose, Costa Rica, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 408p. pp.

- Moreno Díaz, P. (1988). Inoculación de micorrizas MVA en papa (*Solanum tuberosum*) respuesta en el crecimiento y nutrición de plantas inoculadas en invernadero y en campo. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 1, 84-103.
- Olalde Portugal, V., & Aguilera Gómez, L. I. (1998). Microorganismos y Biodiversidad. *TERRA*, 16(3), 289-292.
- Onyeka, T. J., Pétro, D., Ano, G., Etienne, S., & Rubens, S. (2006). Resistance in water yam (*Dioscorea alata*) cultivars in the French West Indies to anthracnose disease based on tissue culture-derived whole-plant assay. *Plant Pathology*, 55(5), 671-678.
- Perea, M. (2000). Utilización de los sistemas in vitro para la obtención de plantas de ñame (*Dioscorea* spp) libres de patógenos. Ñame: producción de semilla por biotecnología. Unibiblos, Bogotá, pp.
- Pierik, R. L. M. (1990). Cultivo in vitro de las plantas superiores. 3ª ed. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. pp. 326
- Potty, V. P. (1978). Occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhiza in certain tuber crops. *Journal of Root Crops.*, 4(1), 49-50.
- Primitiva, L., Namur, J., Bollati, S., & Arce, O. (2010). Acclimatization of *Phalaenopsis* and *Cattleya* obtained by micropropagation. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 12(2), 27-40.
- Quintero, I., Polo, J., Jarma, A., & Espitia, A. (2003). Enraizamiento in vitro de *Dioscoreas* sp. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 5(2), 51-56.
- Reina, Y. C. (2012). El cultivo de ñame en el Caribe colombiano. Banco de la República – Sucursal Cartagena (168), 1-34.
- Ruiz Martínez, L. A., Simó González, J., Rodríguez Morales, S. J., & Rivera Espinosa, R. (2012). Las micorrizas en cultivos tropicales Una contribución a la sostenibilidad agroalimentaria pp. 246
- Ruiz-Perez, E. E. (2003). Severidad del complejo de enfermedades foliares en el cultivo de ñame (*Dioscorea alata* L.) en diferentes densidades de siembra y soportes vivos de madera negro [*Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp] y su rentabilidad en Azuero, Panamá. (Tesis como requisito parcial para optar por el grado de: Magister Scientiae), Centro AgronomicoTropical de Investigación y Enseñaza, Turrialba, Costa Rica.

- Salazar, R., & Hoyos, R. (2007). Multiplicación y tuberización *in vitro* de ñame *Dioscorea alata* L. En sistema de inmersión temporal. *Fac. Nal. Agr.*, 60(2), 3907-3921.
- Terry, E., Leyva, Á., & Hernández, A. (2005). Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 7(2), 47-54.
- Val, J., Heras, L., & Monge, E. (1985). Nuevas ecuaciones para la determinación de pigmentos fotosintéticos en acetona. *Estacion Experimental de Aula Dei, Zaragoza*, 17(1-2), 231-238.
- Vander Zaag, P., Fox, R., Kwakey, P. K., & Obigbesan, G. O. (1982). Necesidades de fósforo de los ñames (*Dioscorea* spp.). *Información Express, Viandas, Hortalizas y Granos*, 6(3), 21-22.
- Warnock, R., Valenzuela, J., Trujillo, A., Madriz, P., & Gutiérrez, M. (2006). Área foliar, componentes del área foliar y rendimiento de seis genotipos de caraota. *Agronomía Trop.*, 56(1), 21-42.