

Evaluación de métodos de inoculación de maíz y frijol con micorrizas VAM

José Alfredo Minero Ascencio

301820

BIBLIOTECA WILSON POPENO
ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
APARTADO 93
TEGUIGALPA HONDURAS

301820

**Zamorano, Honduras
Diciembre, 2003**

#1240

Evaluación de métodos de inoculación de maíz y frijol con micorrizas

VAM

Tesis presentada como requisito parcial
para optar al título de Ingeniero Agrónomo
en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

José Alfredo Minero Ascencio

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2003

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas y jurídicas se reservan los derechos de autor.



José Alfredo Minero Ascencio

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2003

DEDICATORIA

A Dios por darme las fortalezas y fuerzas en los momentos que más las necesite.

A mis queridos padres, José Alfredo Minero Rodríguez y Milagro del Carmen de Minero por haber confiado en mi persona y haberme enseñado que todo en la vida se logra con sacrificio y esfuerzo.

A Jenny Castillo Murillo por brindarme su apoyo incondicional, amor, amistad y cariño.

A mis hermanos Morena Minero Ascencio y José Ricardo Minero Ascencio por apoyo y palabras de cariño en todo momento.

A mis abuelas Eva de Minero y Amalia de Ascencio por su constante preocupación y apoyo con mi persona.

A mis abuelos Tomás Ascencio y Raúl Minero que en paz descansen.

AGRADECIMIENTOS

A Dios padre por acompañarme en todos mis momentos.

A mis padres y hermanos, les agradezco infinitamente por todo el esfuerzo que realizaron para que pueda realizarme como profesional.

A mis abuelas, por confiar en mí y poder darles esta satisfacción.

A todos mis tíos que en ciertos momentos me incentivaron y ayudaron a seguir adelante dándome consejos muy valiosos.

Al Dr. Juan Carlos Rosas por su colaboración en la elaboración de esta investigación.

Al Ing. Agr. Byron Reyes por su apoyo profesional y personal.

A la Ing. Agr. Luwbia Aranda por su valiosa amistad y apoyo en el desarrollo de mi investigación.

A la Dra. María Mercedes Roca de Doyle por su aporte valioso a esta investigación.

A todo el personal del PIF, por su cooperación en la ejecución de este proyecto, en especial para Tomasita Colindres, Luz Henríquez y Jorge Sánchez.

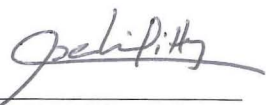
A mi compañero de cuarto Diego Antelo por su apoyo y ayuda en todo momento.

RESUMEN

Minero Ascencio, José A. 2003. Evaluación de métodos de inoculación de maíz y frijol con micorrizas VAM. Proyecto Especial de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 14 p.

El uso de micorrizas está tomando importancia por sus beneficios simbióticos con la planta. Debido al alto costo de inoculación con micorrizas, se evaluaron métodos de inoculación de maíz y frijol con micorrizas VAM que redujeran el costo. Para la evaluación se utilizó maíz Guayape y frijol Tío Canela 75, Mycoral[®] y semillas de linaza como adherente. Se realizaron dos ensayos, el primero fue la elaboración de métodos de inoculación y el segundo fue evaluarlos en el campo. Se utilizó un diseño experimental de Bloques Completamente al Azar con cuatro tratamientos (sin Mycoral[®], Mycoral[®] en polvo, peletizado y granulado) y una probabilidad de 0.10 con cuatro repeticiones. Las variables medidas fueron, peso seco de biomasa aérea, peso seco de raíz, volumen de raíz, número de esporas, infección en raíces, rendimiento y peso seco de cien semillas. El peletizado se obtuvo mezclando el Mycoral[®] en polvo la semilla y el adherente; el granulado con la mezcla de Mycoral[®] en polvo con agua. En el ensayo de campo se inocularon los cultivos con 15 g/100 semillas con el peletizado, 20 g/m lineal con el granulado y 100 g/m lineal con el Mycoral[®] en polvo. En frijol, el número de esporas fue mayor con el peletizado y el Mycoral[®] en polvo en la floración. En el llenado de vainas, el peletizado fue mayor en el número de esporas. La infección de raíces fue igual en Mycoral[®] en polvo, peletizado y granulado. El mejor rendimiento fue con el granulado y testigo, el peso seco de cien semillas fue mayor en el testigo. En maíz el peso seco de la biomasa aérea y rendimiento con Mycoral[®] en polvo, granulado y testigo fueron iguales. El peso seco de cien semillas fue mayor con Mycoral[®] en polvo, peletizado y testigo. En frijol el costo de la inoculación por hectárea para Mycoral[®] en polvo fue 16,000 L. granulado 3,200 L. y peletizado 240 L. y en maíz 10,000 L. con Mycoral[®] en polvo, 2,000 L. granulado y 60 L. para el peletizado.

Palabras clave: Granulado, inoculación, Mycoral[®], micorrizas VAM, peletizado.


Abelino Pitty, Ph. D.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Autoría.....	ii
Página de firmas.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Resumen.....	vi
Contenido.....	vii
Índice de cuadros.....	viii
Índice de anexos.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivos.....	2
MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
Ubicación.....	3
Material experimental.....	3
Metodología del Ensayo 1.....	3
Tratamientos del Ensayo 1.....	4
Variables a medir en el Ensayo 1.....	4
Metodología del Ensayo 2.....	4
Tratamientos del Ensayo 2.....	4
Diseño experimental.....	5
Variables a medir en el Ensayo 2.....	5
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
Ensayo 1.....	6
Ensayo 2.....	7
Análisis financiero.....	9
CONCLUSIONES.....	10
RECOMENDACIONES.....	11
LITERATURA CONSULTADA.....	12
ANEXOS.....	13

ÍNDICE DE CUADROS**Cuadro.**

1. Efecto del método de inoculación con Mycoral® en el desarrollo del cultivo de frijol Tío Canela 75 y maíz Guayape a la floración. Zamorano, Honduras, 2003.7
2. Efecto del método de inoculación con Mycoral® en el desarrollo del cultivo de frijol Tío Canela 75 a la formación de vainas. Zamorano, Honduras, 2003.....8
3. Efecto del método de inoculación con Mycoral® en el rendimiento del cultivo de frijol Tío Canela 75 y maíz Guayape. Zamorano, Honduras, 2003.....9
4. Variaciones en las cantidades del inóculo Mycoral® y costo del producto Según el método de inoculación en frijol Tío Canela 75 y maíz Guayape.....9

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo.

1. Peletizado de la semilla y su evaluación.13
2. Evaluación de la efectividad de los métodos de inoculación.14

INTRODUCCIÓN

La producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays*) es importante para la seguridad alimentaria de los países en vías de desarrollo, ya que son la fuente esencial de alimento y contribuyen significativamente a la economía (Rosas y Castro, 1999). Durante muchos años, el gobierno y las instituciones privadas han ayudado al pequeño y mediano productor para mantener estables los rendimientos de sus cultivos básicos. Sin embargo, existen limitaciones para alcanzar a la mayoría de productores, debido a que no hay mecanismos efectivos para multiplicar semilla suficiente de nuevas variedades y asegurar una distribución masiva.

En la actualidad, se ha visto la necesidad de investigar en el área de biofertilización para combatir problemas como éstos. Ésta se basa en el uso de organismos vivos para ayudar en el desarrollo de las plantas y es una alternativa para incrementar el rendimiento sin mermar los recursos. Los productos biológicos para uso agrícola son elaborados con diferentes microorganismos que tienen efectos positivos sobre algunos procesos de descomposición y síntesis que se dan en el suelo. Entre éstos se encuentran las bacterias del género *Rhizobium*, microorganismos que fijan nitrógeno; *Pseudomonas putidas*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus subtilis*, *Thiobacillus*, *Penibacillum bilaji* y *Aspergillus nige*, que son microorganismos solubilizadores de fósforo (CATIE, 2002).

Uno de los biofertilizantes más conocidos son las micorrizas, hongos benéficos del suelo que se asocian simbióticamente (relación benéfica entre dos organismos) con las raíces de plantas; estas micorrizas favorecen a la planta en un mayor crecimiento radical y foliar, mejor absorción de nutrimentos y mayor tolerancia a enfermedades (Raddatz, 1997), además mejoran la conductividad hidráulica de las raíces y evitan el estrés por sequía (Cui y Nobel, 1992). Para su desarrollo, el hongo depende de la receptividad del hospedante y del suelo (Perrin y Plenchette, 1993); los que pueden tener hongos micorrícicos nativos que pueden competir con los aportados mediante la inoculación por espacio y fotosintatos de la raíz (Ayuso, 2002).

Los suelos con alto contenido de fósforo pueden reducir el 90 % de la colonización de las raíces por el hongo micorrícico. El ambiente puede contribuir positiva o negativamente ya que cuando el hongo se está desarrollando en la rizósfera (sustrato del suelo adherido a las raíces), si la planta no recibe agua, la colonización de las raíces no ocurre debido a la poca disponibilidad de carbohidratos en la planta (Anderson y Muir, 1996).

La inoculación (incorporación del hongo a la raíz) de cultivos extensivos requiere de un mecanismo práctico y económico que permita una adecuada colonización de las raíces por el hongo. Entre las alternativas se encuentra el realizar el peletizado de las semillas para que estas lleven el inoculante adherido. Otra alternativa es desarrollar una presentación física del Mycoral® que posea buen potencial infectivo y que requiera menos cantidad de producto para reducir los costos de aplicación, como por ejemplo un producto granulado.

El rendimiento de frijol en plantas con micorrizas en Honduras fue mayor que las plantas sin micorrizas en un 45%; sin embargo, no fue económicamente rentable debido a la cantidad de Mycoral® requerido por área (Montaño, 2001). La inoculación con VAM (micorrizas vesículo-arbuscular) en frijol bajo condiciones de estrés hídrico moderado y sin fertilización, mostró efectos significativos en rendimiento (Soto, 2001). Zamorano, como institución de enseñanza y apoyo al productor en América Latina ésta interesada en desarrollar métodos rentables de inoculación con micorrizas (VAM) en diversos cultivos para facilitar la transferencia y la obtención de los beneficios asociados al uso de esta tecnología.

El objetivo principal de este estudio fue desarrollar métodos de inoculación con Mycoral® para la siembra de maíz y frijol, que sean técnica y económicamente viables. Se pretendió determinar el procedimiento más adecuado para peletizar semillas de frijol y maíz; además se realizaron evaluaciones agronómicas y económicas para la inoculación de estos granos básicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

Para llevar a cabo esta investigación, se realizaron dos ensayos en diferentes fechas y localidades. En el Ensayo 1 se desarrollaron los métodos de inoculación con Mycoral® y en el Ensayo 2 se probaron los métodos desarrollados utilizándolos en los cultivos de maíz y frijol.

El Ensayo 1 se efectuó en el Laboratorio de Biodiversidad y Biofertilización; y el Ensayo 2 se llevó a cabo en los bancales del Programa de Investigaciones en Frijol. Ambos están ubicados en Zamorano, valle del Yeguaré, departamento de Francisco Morazán, a 800 msnm, con una temperatura media anual de 24° C y una precipitación media anual de 1,100 mm.

Material experimental

En ambos ensayos se utilizó semilla de maíz "Guayape" y de "frijol Tío Canela 75" Mycoral® (formado por los géneros *Entrophospora*, *Acaulospora* y *Glomus*) y semillas de linaza (utilizada como adherente).

Metodología del Ensayo 1

En esta parte del experimento se pretendió desarrollar dos métodos de inoculación con Mycoral®, para reducir la cantidad de inóculo requerido por área. Para esto se realizó el peletizado de las semillas y la formación de gránulos de Mycoral®.

Para efectuar el peletizado de las semillas se realizaron dos pruebas en las cuales se varió el uso o no de un adherente, con el fin de determinar si era necesaria o no esta práctica. En la primera prueba se agregó agua a las semillas de maíz o frijol para humedecerlas y luego se mezclaron con el Mycoral® dejándolas secar a la sombra para poderlas manipular. En la segunda prueba, se colocaron las semillas de linaza en un beaker de vidrio de 100 ml con agua y luego se calentaron al microondas hasta que hirvieran para liberar los exudados y utilizarlos como adherente. Estos exudados se agregaron a las semillas de maíz o frijol para humedecerlas y luego éstas se mezclaron con el Mycoral® dejándolas bajo sombra para que se sequen. Para determinar las proporciones adecuadas de los distintos componentes utilizados se realizaron tres pruebas en cada paso (Anexo 1).

Para la elaboración del Mycoral® granulado se colocó el producto en un vaso de precipitados plástico (beaker) de 2000 ml, luego se aplicó agua a presión con una piseta a intervalos, dependiendo de la humedad observada (no podía quedar ni muy seco ni muy húmedo) y se agitó manual y constantemente en forma circular, logrando la unión de partículas hasta formar gránulos de aproximadamente 1.0 mm de diámetro.

Tratamientos del Ensayo 1

En el peletizado de las semillas se evaluaron tres mezclas de agua con semilla de maíz o frijol; una vez determinado esto, tres mezclas de esta semilla húmeda con Mycoral® y tres tiempos de secado (10, 15 y 20 minutos).

Para el uso de adherente, se probaron tres proporciones de semilla de linaza con agua para obtener los exudados, luego tres proporciones de éstos exudados con semillas de maíz o frijol; tres mezclas de esta semilla húmeda con Mycoral® y tres tiempos de secado (10, 15 y 20 minutos).

Variables a medir en el Ensayo 1

En el peletizado de semillas con Mycoral® se evaluaron:

- Cantidad de esporas en 100 semillas peletizadas.
- Porcentaje de germinación

Metodología del Ensayo 2

Las semillas de los cultivos fueron sembradas en cinco bancales con un área de 37.5 m² (1.5m de ancho x 25 m de largo) cada uno, a una distancia de 70 cm entre hileras, 10 cm entre plantas y colocando dos semillas por postura para frijol (requiriendo 1.8 bancales) y 90 cm entre hileras, 30 cm entre plantas y colocando dos semillas por postura para maíz (requiriendo 3.2 bancales). En cada cama se abrieron surcos para colocar la semilla y luego cubrirla. Cuatro semanas después de la siembra se fertilizó con Urea (46 kg N/ha), realizándose también el aporque. Para la medición de las variables se realizaron dos muestreos (uno a la floración y otro a la formación de vainas), sacándose cuatro plantas por bloque y realizándose los análisis (Anexo 2).

Tratamientos del Ensayo 2

Constó de cuatro tratamientos: 100 g/m lineal de Mycoral® en polvo aplicado al fondo del surco minutos antes de la siembra (T1), semilla peletizada con Mycoral® (T2) y Mycoral® granulado a razón de 20 g/m lineal (T3) y el testigo sin Mycoral® (T4). Para la siembra de todos los tratamientos, primero se abrió un surco en cada cama, luego se colocaron los tratamientos e inmediatamente después las semillas se cubrieron con el suelo.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño de Bloques Completamente al Azar con dos cultivos, cuatro tratamientos y cuatro repeticiones, para un total de 16 bloques por cultivo. Cada tratamiento constó de 5 surcos. Los cultivos fueron manejados y evaluados como ensayos separados. Se utilizó el programa estadístico MSTAT® realizando el ANDEVA y la separación de medias (DMS).

Variables a medir en el Ensayo 2

En frijol se realizaron dos evaluaciones: una a la floración (50% de las plantas presentan botones florales abiertos) y otra a la formación de vainas (50% de las plantas presentaban vainas). En maíz sólo se realizó un muestreo: a la floración. En cada muestreo y para ambos cultivos se midió la infección en las raíces (%), el número de esporas en la solución de suelo, peso seco de la biomasa aérea y de las raíces (g) y el volumen de raíces (ml). En la cosecha de ambos cultivos se midió el rendimiento (kg/ha) y uno de sus componentes: peso seco de 100 semillas (g).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo 1

En el peletizado y formación de gránulos de Mycoral® para ambos cultivos se determinó que:

- La mejor proporción para el peletizado de las semillas sin adherente se obtuvo al mezclar 100 semillas con 15 ml de agua y luego con 20 g de Mycoral®; el mejor tiempo de secado para poderlas manipular fue de 10 minutos ya que con este procedimiento, el Mycoral® quedaba bien adherido, no se desperdiciaba mucho producto durante el proceso y las semillas, una vez transcurrido este tiempo, se podían manipular sin que el producto se desprendiera. Las semillas peletizadas debían sembrarse en un tiempo menor a 24 horas porque después de este tiempo el inóculo seco empieza a desprenderse.
- El mejor procedimiento para obtener el adherente (exudados de semilla de linaza) se obtuvo al mezclar 25 ml de agua con 3 g de semillas, calentadas en el microondas hasta llegar a punto de ebullición (aproximadamente 2 minutos). Con esto se obtuvo un adherente ligoso.
- La mejor proporción para el peletizado de las semillas con adherente se obtuvo al mezclar 100 semillas con 5.0 ml del adherente y luego con 15 g de Mycoral®; el mejor tiempo de secado para poderlas manipular fue de 10 min. Con el adherente, las semillas peletizadas debían sembrarse en un tiempo menor a 48 horas porque después de este tiempo el inóculo seco empieza a desprenderse.

Con estas proporciones se logró obtener un promedio de 2.7 esporas de micorrizas por semilla de frijol y 1.1 esporas por semilla de maíz. Esto nos indicó que el método de peletizado de semillas puede ser efectivo ya que garantiza por lo menos una espora por semilla. El porcentaje de germinación no se vio afectado por el uso del adherente.

En la segunda parte de este ensayo se determinó que al mezclar 100 g de Mycoral® con 15 ml de agua a presión y manteniendo aproximadamente de 90-110 vueltas por minuto en la agitación, hay una mejor formación de los gránulos de Mycoral®. Además se observó que en el proceso hay una merma del 14% del producto, el cual se quedó adherido a las paredes del recipiente. Con esto se obtienen gránulos de aproximadamente 1.0 mm de diámetro. El proceso completo para esta cantidad de producto duró aproximadamente 10 minutos.

Ensayo 2

En la evaluación en campo de los métodos de inoculación se observó que:

En frijol a la floración el mayor número de esporas se presentó cuando se aplicaron 100 g/m lineal de Mycoral® en polvo o cuando se peletizaron las semillas con Mycoral®, sin encontrarse diferencias significativas entre ambos tratamientos ($P \leq 0.10$) pero sí con los demás tratamientos. Esto nos indica que con este procedimiento se puede reducir la cantidad de producto requerida por área sin afectar esta variable (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto del método de inoculación con Mycoral® en el desarrollo del cultivo de frijol "Tío Canela 75" y maíz "Guayape" a la floración. Zamorano, Honduras, 2003.

Mycoral®	PSBA ² (g/pl)		PSR (g/pl)		VR (ml/pl)		NE		IR (%)	
	M ³	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Polvo ¹	179 ab ⁴	5.2 a	23.7 a	0.6 a	5.6 a	4.1 a	5.6 a	15 ab	80 a	45 a
Peletizado	176 b	4.8 a	28.4 a	0.8 a	6.4 a	4.5 a	6.8 a	30 a	80 a	62 a
Granulado	192 ab	5.2 a	25.1 a	0.9 a	6.6 a	5.8 a	4.6 a	3 b	60 a	66 a
Sin inóculo	230 a	6.2 a	27.8 a	0.8 a	6.2 a	4.4 a	3.9 a	4 b	56 a	46 a
ANDEVA	*							*		
C.V.	21	.4	29.9	38.7	19.3	37.4	49.5	98.2	30.4	60.7
DMS	53	2.9	10.2	0.38	33.6	2.3	3.4	16.6	27.3	43.1

¹ Formulación estándar de Mycoral® (100g/m lineal)

² PSBA = peso seco de la biomasa aérea; PSR = peso seco de la raíz; VR = Volumen de la raíz; NE = numero de esporas; IR = infección de las raíces.

³ M = maíz; F = frijol

⁴ Valores con diferente letra en la misma columna y * son diferentes estadísticamente ($P \leq 0.10$), según prueba DMS.

Como se observa en el Cuadro 1, para frijol no se encontraron diferencias significativas en el PSBA, PSR, VR ni IR. Esto nos indica que se consiguió el mismo desarrollo del frijol al inocularlo con Mycoral® en polvo, peletizado o granulado. La infección de raíces también es similar entre los tratamientos, lo que sugiere que se puede reducir la cantidad de Mycoral® requerida sin afectarse el establecimiento del hongo en la planta.

A la floración, en maíz, no se observaron diferencias significativas en las variables PSR, VR, NE e IR, pero sí en el PSBA (Cuadro 1). Esto sugiere que, al igual que en frijol, se puede conseguir una buena infección de las raíces y una buena cantidad de esporas en el suelo al inocular las semillas con Mycoral® en polvo, peletizado o granulado y pudiéndose disminuir la cantidad requerida por área. Las variables de NE e IR no mostraron diferencias con el testigo debido posiblemente a la infección del testigo con micorrizas nativas. El PSBA fue mayor en el testigo sin encontrarse diferencias entre éste y el aplicar Mycoral® en polvo o granulado.

A la formación de vainas (formación del 50% de las vainas en la población), en frijol, las variables PSBA, PSR y VR no presentaron diferencias significativas; mostrándose diferencias solamente en el NE e IR (Cuadro 2). Al realizar el peletizado de las semillas se obtuvo la mayor cantidad de esporas. En los tratamientos con Mycoral®, la infección fue mayor, especialmente al realizar el inoculo en polvo y el peletizado, lo que sugiere que el peletizado puede ser una alternativa al método en polvo utilizado actualmente. Las plantas testigo también presentaron infección en las raíces, lo que se puede atribuir a las micorrizas nativas en el suelo.

Cuadro 2. Efecto del método de inoculación con Mycoral® en el desarrollo del cultivo de frijol Tío Canela 75 a la formación de vainas. Zamorano, Honduras, 2003.

Mycoral®	PSBA ² (g)	PSR (g)	VR (ml)	NE	IR (%)
Polvo ¹	14.8 a	1.1 a	5.6 a	0.5 b ³	64 a
Peletizado	14.3 a	1.2 a	6.4 a	4.3 a	68 a
Granulado	14.8 a	1.2 a	6.6 a	0.4 b	54 ab
Sin inóculo	15.8 a	1.2 a	6.2 a	0.4 b	31 b
ANDEVA				*	*
C.V.	37.4	22	18.4	54.8	41.4
DMS	7.2	0.4	1.5	10.2	29.1

¹ Formulación estándar de Mycoral® (100g/m lineal)

² PSBA = peso seco de la biomasa aérea; PSR = peso seco de la raíz; VR = Volumen de la raíz;

NE = numero de esporas; IR = infección de las raíces

³ Valores con diferente letra en la misma columna y * son diferentes estadísticamente ($P \leq 0.10$), según la prueba DMS.

Durante el ensayo hubo una precipitación de 505 mm y una temperatura promedio de 23.5 °C. El testigo obtuvo el peso seco de cien semillas (PSCS) más alto a la cosecha en frijol, (Cuadro 3) en maíz no se observaron diferencias estadísticas entre el testigo, Mycoral® en polvo y peletizado de las semillas. En frijol, el mayor rendimiento se observó en las plantas testigo, sin encontrarse diferencias con las plantas inoculadas con el Mycoral® granulado. En maíz, el mejor rendimiento se obtuvo en el testigo, sin encontrarse diferencias con el uso del Mycoral® en polvo o granulado.

Debido a que se esperaba diferencias en rendimiento a favor de la inoculación con micorrizas; estos resultados no respaldan esto. Los niveles de esporas presentes y la infección de raíces a la floración sugiere la presencia de micorrizas nativas porque el NE es bajo en frijol, lo cual sugiere que otros factores incluyendo la disponibilidad de nutrientes no favorecieron los aportes del inóculo VAM al rendimiento.

Cuadro 3. Efecto del método de inoculación con Mycoral® en el rendimiento del cultivo de frijol Tío Canela 75 y maíz Guayape. Zamorano, Honduras, 2003.

Mycoral®	PSCS ² (g)		RDTO (kg/ha)	
	M ³	F	M	F
Polvo	28.9 ab ⁴	20.9 b	7073 ab	2977 b
Peletizado	30.4 ab	21.3 b	6420 b	2747 b
Granulado	28.7 b	21.1 b	6897 ab	3309 ab
Sin inóculo	30.7 a	22.7 a	7789 a	4070 a
ANDEVA		*		*
C.V.	4.8	3.7	12.2	25
DMS	1.85	1.3	1114	1060

¹ T1 = 100g/m lineal; T2 = peletizado; T3 granulado; T4 = sin micoriza

² PSCS = peso seco de cien semillas; RDTO = rendimiento

³ M = maíz; F = frijol

⁴ Valores con diferente letra en la misma columna y * son diferente estadísticamente ($P \leq 0.10$), según prueba DMS.

Análisis financiero

La comparación de costo y cantidad del uso de los métodos de inoculación (Cuadro 4). Se puede determinar las diferencias que se presentan con los nuevos métodos de inoculación con el actualmente utilizado (Mycoral® en polvo 100g/m lineal) se tienen reducciones de costos de 12,800 y 15,760 Lps/ha con el granulado y peletizado respectivamente en frijol si lo comparamos con el actual, 16,000 Lps/ha. Los costos de Mycoral® en el peletizado se reduce a 60Lps/ha en maíz y a 240Lps/ha en frijol; en el granulado se reduce a 2,000 Lps/ha en maíz y 3,200 Lps/ha en frijol, lo cual es todavía muy alto para su uso en estos cultivos. En maíz se reduce el costo en 8,000 Lps/ha y 9,940 Lps/ha en el peletizado y granulado, respectivamente, en relación a la inversión que se tendría que hacer con el método actual, Mycoral® en polvo 10,000Lps/ha.

Cuadro 4. Variaciones en las cantidades del inóculo Mycoral® y costo del producto según el método de inoculación en frijol "Tío Canela 75" y maíz "Guayape".

Mycoral®	Cantidad (kg/ha)		Costo (Lps/ha)	
	M ¹	F	M	F
Polvo	1250	2000	10,000	16,000
Peletizado	7.5	30	60	240
Granulado	250	400	2,000	3,200

¹ M = maíz; F = frijol

LITERATURA CONSULTADA

Anderson, C.; Muir, L. 1996. Colonisation of wheat in southern New South Wales by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi is significantly reduced by drought. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. Vol. 36. N° 5. P 563-569.

Ayuso, F. 2002. Efecto de enmiendas orgánicas y de un hongo micorrízico sobre *Radopholus similis* en banano (Musa AAA cv Valery). *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, Costa Rica. N° 65. P 82-91.

CATIE, 2002. Bioplaguicidas.org es un proyecto del CATIE y de la GTZ. Consultado en septiembre de 2003 (en línea). Disponible en: <http://www.bioplaguicidas.org/CostaRica/Biofertilizantes/indexbf.htm>

Cui, M.; Nobel, P. 1992. Nutrient status, water uptake and gas exchange for three desert succulents infected with mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 122: P 643-649.

Montaño, G. 2001. Evaluación de los beneficios de la inoculación con micorriza vesículo-arbuscular en el cultivo de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) Tesis Ing. Agr. 30p.

Soto, K. 2001. Variación genotípica del frijol común bajo inoculación con micorriza vesículo-arbuscular, estrés hídrico y fertilización. Tesis Ing. Agr. 38p.

Perrin, R.; Plenchette, C. 1993. Effect of some fungicides applied as soil drenches and the mycorrhizal infectivity of two cultivated soils and their receptiveness to *Glomus intraradices*. *Crop Protection* 12: P 127-133.

Raddatz, E. 1997. Micorrizas (VAM) un beneficio para la producción vegetal (en línea). Consultado 06 de marzo de 2003. Disponible en: <http://www.mycoral.de>

Rosas, J.; Castro, A. 1999. Experiencias en la Producción Artesanal de Semilla de Frijol en Centro América. Taller de Producción y Distribución de Semilla de Frijol en Centro América. Escuela Agrícola Panamericana / Zamorano, Honduras, 101p.

RECOMENDACIONES

Realizar un análisis biológico del suelo antes de inocular las plantas.

Repetir el ensayo agronómico en condiciones de campo.

Utilizar métodos de peletización en otras especies.

Mejorar los métodos de peletización y granulado.

Para estas condiciones, pasteurizar el medio.

CONCLUSIONES

Con el peletizado hay una reducción de 98.5% en la cantidad de Mycoral®/ha en frijol y de 99.4% en maíz.

La linaza fue eficiente como adherente natural para mejorar el peletizado de semillas de frijol y maíz.

Se logró obtener un gránulo adecuado para la inoculación, reduciéndose las cantidades requeridas de Mycoral® en 5 veces.

En maíz, durante la etapa de floración se observó el menor PSBA al usar el peletizado sin diferenciarse de los demás tratamientos con Mycoral®.

En frijol, durante la etapa de floración la mayor cantidad de esporas se observó en el peletizado sin diferenciarse del Mycoral® en polvo.

En la etapa de formación de vainas, con el peletizado se observó el mayor número de esporas y también el mayor porcentaje de infección en las raíces.

En la etapa de cosecha, se observó el mayor rendimiento al no utilizar Mycoral® sin observarse diferencias con el uso del granulado.

ANEXOS

Anexo 1. Peletizado de la semilla y su evaluación.

Para realizar el peletizado sin adherente se colocaron tres cantidades de agua: 15, 20 y 25 ml en beakers de vidrio de 250 ml que contenían semillas de maíz y frijol, todos con 100 semillas; se mezcló y se dejó en reposo 5 minutos para todos los beakers. Después de esto se agregaron tres cantidades de Mycoral®: 15, 20 y 25 g, se mezclaron y se probaron tres tiempos de secado 10, 15 y 20 min.

Para realizar el peletizado con adherente se colocaron 3, 4 y 5 g de semillas de linaza en beakers de vidrio de 50 ml calentándose con 25 ml de agua las tres cantidades de semillas, utilizando el mismo tiempo de calentamiento (2 min) en un microondas para que las semillas liberen sus exudados (adherente). Después se colaron las semillas. Ese adherente (exudados) se agregó a razón de 5, 10 y 15 ml en beakers de vidrio de 250 ml que contenían 100 semillas de maíz o frijol; se mezclaron y se dejó reposar por 5, 8 y 11 minutos para cada beaker para que el adherente se pegara a las semillas. A cada beaker con las semillas y el adherente se les agregaron 15, 20 y 25 g de Mycoral®, mezclándolos poco a poco hasta que se separa el producto. Al final se dejó secar al ambiente y bajo sombra por 10, 15 y 20 minutos para determinar el mejor tiempo de secado.

Procedimiento:

1. Seleccione la muestra en el campo y recolecte 100 g de suelo.
2. En el laboratorio, pese los 100 g exactos de suelo.
3. Vacie esta muestra en un envase de 2.0 L y utilizando una manguera delgada asperjela con un fuerte chorro de agua para separar las partículas del suelo, luego déjelo reposar por 30 segundos.
4. Coloque tres tamices (40, 60 y 200 Mesh) uno sobre otro para extraer las esporas.
5. Vacie la mezcla sin perturbar el sedimento y pásela por los tamices, repita el proceso dos veces.
6. Transfiera el material filtrado a un tubo para centrifugación con 50 ml de capacidad.
7. Centrifugue a 2000 rpm por 5 minutos; al centrifugar vacie la solución del tubo sin perturbar el sedimento.
8. Al tubo con sedimento agregue una solución de sucrosa al 40%; mézclelo y colóquelo en la centrifugadora a 2000 rpm por 2 min. Vacie la solución en un tamiz de 325 Mesh y recoja las esporas que quedan en este tamiz en un tubo para centrifugar.
9. Transfiera las esporas a un tubo para centrifugar y afore a 25 ml.

10. Coloque 1.0 ml de la solución con esporas en una plato de petri con cuadros en el fondo de 5 cm de capacidad. Observe en el estereoscopio. Si desea guardar la solución con esporas almacénelas a 4° C.

Método por:

Jarstfer, A.G. 1970. University of Florida, Soil Science Department, 2171 McCarty may, Gainesville, FL 32611-0151 USA.

Anexo 2. Evaluación de la efectividad de los métodos de inoculación.

Se realizaron las pruebas del Anexo 1 para el conteo de esporas y también se realizó la clarificación y tinción de las raíces:

Procedimiento de clarificación:

1. Prepare los casetes con muestras de raíces y mantengamos en agua hasta que todo este listo para iniciar el proceso.
2. En un beaker, vierta la solución de KOH al 10% de modo que cubra todos los casetes.
3. Caliente el KOH hasta 80° C de temperatura.
4. Coloque los casetes en el KOH caliente durante 30 min.
5. Lave con agua cinco veces.

Procedimiento de tinción:

1. En un beaker vierta suficiente cantidad de Azul de Tripano (0.05%) para cubrir los casetes.
2. Caliente el tinte azul sin los casetes hasta 80° C.
3. Coloque los casetes en el tinte caliente y mantenga la temperatura en 80° C; después de 30 min deje enfriar hasta que la temperatura sea menor a 50° C. Luego filtre el tinte y almacénelo en refrigeración. Enjuague los casetes una vez con agua.
4. En una placa monte 10 raíces para su observación y coloque el cubre objetos. Las raíces deben manipularse con guantes y pinzas ya que el tinte es cancerígeno.
5. Después de este proceso están listas para ser estudiadas en el microscopio.

Método por:

Jarstfer, A.G. 1970. University of Florida, Soil Science Department, 2171 McCarty may, Gainesville, FL 32611-0151 USA.

301820