

**Evaluación y caracterización de cuatro
inoculantes comerciales de micorrizas en
frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), pasto Tanzania
(*Panicum maximum* Jacq) y pasto Transvala
(*Digitaria decumbens* Stent)**

Virna Lisa Sáenz Chauca

ZAMORANO
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria

Febrero, 2002

ZAMORANO
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria

**Evaluación y caracterización de cuatro
inoculantes comerciales de micorrizas en
frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), pasto Tanzania
(*Panicum maximum* Jacq) y pasto Transvala
(*Digitaria decumbens* Stent)**

Tesis presentada como requisito parcial
para optar al título de Ingeniero Agrónomo
en el grado académico de licenciatura

Por:

Virna Lisa Sáenz Chauca

Honduras: Febrero, 2002

Evaluación de cuatro inoculantes comerciales de micorrizas en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), pasto Tanzania (*Panicum maximum* Jacq) y pasto Transvala (*Digitaria decumbens* Stent)

Presentado por
Virna Lisa Sáenz Chauca

Aprobada

John Reilly, M.P.S
Asesor principal

Jorge Iván Restrepo, M.B.A
Coordinador de la Carrera de
Ciencia y Producción
Agropecuaria

Juan Carlos Rosas, Ph. D
Asesor

Antonio Flores, Ph. D.
Decano

Pablo Paz, Ph. D.
Coordinador PIA _ Fitotecnia/CCPA

Keith L. Andrews, Ph.D.
Director General

Alfredo Rueda, Ph. D.
Coordinador Area temática CCPA

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

Virna Lisa Sáenz Chauca

Zamorano, Honduras
Febrero, 2002

DEDICATORIA

A la memoria de mi padre Desiderio Sáenz, que aunque ya no este conmigo dejó una huella profunda en mi; su legado de sabiduría y sacrificio

AGRADECIMIENTOS

A Dios, en primer lugar, por ser la fuente de todo cuanto existe y ser mi fortaleza en todo momento.

A toda mi familia por ser eso, una verdadera familia y estar en los momentos en que más los necesité, por sus sabios consejos, por todo gracias de verdad

A la incondicional Zoili, por ser fuente de estímulo y estar allí siempre para escucharme.

A mi familia hondureña Andresa y Javier Avila por haberme acogido y brindarme todo su apoyo

A Mariana de Vélez por haberme acogido como a una hija durante mi vida en Zamorano.

A mi asesor John Reilly, por sus enseñanzas prácticas y sus sabios consejos a lo largo de mi cuarto año.

A mis asesores Juan Carlos Rosas y Raúl Santillán, por prestarme su ayuda en la realización de este trabajo.

A Araceli Castro, Byron Reyes, Luwbia Aranda y a todo el personal del PIF, por su valiosa ayuda.

A todos mis colegas de la clase' 98, por brindarme su amistad. A mis amigos y colegas Antonio Salvador, Zoila Almeida, Jennifer Erazo, Beatriz Pozo, Karina Lalama, Graciela Andrango, Zhasmín Moscoso, Brigitte Bonilla, Christian Sabando y, Euro Torres.

A todos mis amigos del PIA, Claudia Kuniyoshi, Víctor Moravek, Pablo Williams, Jacqueline Moreno, Edith Bermeo, Cecilia Ramos, María Omonte, Mónica Garcés, David Hedinger, Edwin Westreicher, Milagros Marín, Demis Andrade, Isabel Estrada, Christian Núñez y Carolina Rodríguez. Guardo buenos recuerdos de todos ellos.

A toda la gente del área de Protección Vegetal, en especial Alfredo Rueda, Lourdes Gaitán, Werner Melara, María Calona y Carolina Galo, por toda su ayuda en la realización de este proyecto.

A todos con los que entablé una sincera amistad, gracias de corazón por brindarme la oportunidad.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

A la Cooperación Suiza para el Desarrollo (COSUDE) por su ayuda económica durante el programa de Agrónomo.

Al Proyecto Zamorano/USAID componente café por darme la oportunidad de continuar con el Programa de Ingeniero Agrónomo.

Al Proyecto Micorriza/USDA del área de Biotecnología Aplicada, Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria de Zamorano, por su asesoría y apoyo en la conducción de este trabajo.

Al Dr. Erich Raddatz de la Empresa Mycoral LTDA de Colombia , asesor del proyecto Micorriza/USDA de Zamorano, por su apoyo científico en la ejecución de este estudio.

A Hugo Gallo y a la Dra. Nancy Erickson por su ayuda en el programa de Ingeniero Agrónomo.

RESUMEN

Sáenz Chauca, Virna Lisa. 2002. Evaluación y caracterización de cuatro inoculantes comerciales de micorrizas en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), pasto Tanzania (*Panicum maximum* Jacq) y pasto Transvala (*Digitaria decumbens* Stent). Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 36 p.

Las micorrizas son asociaciones simbióticas entre los hongos y las raíces de las plantas, en las cuales normalmente ambos miembros se benefician de la asociación. El hongo coloniza la raíz de la planta y le proporciona nutrimentos minerales y agua que extrae del suelo con su red externa de hifas; la planta suministra al hongo sustratos energéticos y carbohidratos que elabora a través de la fotosíntesis. Debido a la importancia de las micorrizas en la nutrición de las plantas, se han desarrollado productos comerciales en base a ellas, con el fin de aplicarlos en la agricultura. El objetivo de este trabajo fue evaluar la efectividad de los productos comerciales de micorrizas disponibles en el mercado, para aumentar los rendimientos de frijol, pasto Tanzania y pasto Transvala, y determinar si podían constituir una alternativa para los agricultores. Los productos evaluados fueron Burize, Mycoral[®], Biorganics y Biovam, más el testigo sin inocular. Se utilizó un diseño completamente al azar. Las variables analizadas para frijol fueron: porcentaje de infección, número de esporas, biomasa aérea, biomasa radical y rendimiento. Las variables analizadas en ambos pastos fueron: infección (%), número de esporas, materia seca (%), biomasa aérea y biomasa radical y rentabilidad de los tratamientos. En frijol ningún producto comercial fue una alternativa económicamente viable para el agricultor, a pesar de que Mycoral[®] produjo casi el doble de rendimientos con respecto al testigo sin inocular. En los pastos las diferencias encontradas se debieron principalmente a las diferencias botánicas entre ambos pastos y no a los tratamientos. Por lo tanto, no se hizo un análisis económico debido a que los rendimientos apenas superaban al testigo, el costo elevado de los productos comerciales de micorrizas y la alta cantidad de inóculo que se requiere; se recomendó buscar métodos de aplicación del inóculo de uso factible y que sean rentables al agricultor.

Palabras clave: Costos, efectividad, productos comerciales.

Nota de prensa

LAS MICORRIZAS EN HONDURAS

Se denominan micorrizas a las asociaciones simbióticas, mutualistas, existentes entre un grupo de hongos del suelo y las raíces de las plantas. Las micorrizas son tan antiguas como las propias plantas y se conoce su existencia desde hace más de cien años. Se estiman que aproximadamente el 95% de las especies vegetales conocidas establecen de forma natural y constante este tipo de simbiosis con hongos del suelo.

Las asociaciones planta-hongo supone una relación beneficiosa para ambos organismos. El hongo coloniza la raíz de la planta y le proporciona nutrimentos 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.

En vista que son muchos los beneficios que brinda la micorriza a las plantas, en algunos países del medio como México, Cuba y Costa Rica, se han desarrollado productos comerciales basado en micorrizas y se está trabajando en la investigación y validación de la efectividad de éstas en los cultivos.

En Honduras, Zamorano comenzó a producir su propio inóculo de micorrizas, registrado bajo el nombre de Mycoral[®]. Se realizó un trabajo de investigación para evaluar el comportamiento de Mycoral[®] en cultivos como pastos y frijol. Aunque se obtuvieron buenos resultados en rendimientos y productividad, se demostró que no era rentable el uso de inóculo como suelo micorrizado (Mycoral[®]), según las presentes sugerencias en su aplicación en algunos cultivos.

Buscando una solución, se recomienda estudiar métodos de inoculación más sencillos y baratos como la aplicación a la semilla y el pelletizado. En el mercado ya existe este tipo de semilla, recubierta de inóculo de micorriza, pero todavía falta investigar su uso y costos. Se espera que el uso de esta tecnología pueda ser difundido entre los productores de la región y ellos también puedan beneficiarse de este producto.

Licda. Sobeyda Alvarez

CONTENIDO

Portada	i
Portadilla	ii
Autoría	iii
Página de firmas	iv
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Agradecimientos a patrocinadores	vii
Resumen	viii
Nota de prensa	ix
Contenido	x
Índice de cuadros	xiii
 1. INTRODUCCION	 1
1.1 Definición del problema	1
1.2 Antecedentes	2
1.3 Justificación del estudio.....	3
1.4 Límites del estudio	4
1.5 Objetivos.....	5
 2. REVISION DE LITERATURA	 6
2.1 El cultivo de frijol	6
2.2 El cultivo de los pastos.....	6
2.2.1 Pasto Guinea.....	6
2.2.2.1 El cultivar Tanzania.....	7
2.2.2 Pasto Transvala.....	7
2.3 Aspectos generales de las micorrizas.....	8
2.3.1 El concepto de micorriza.....	8
2.3.2 Morfología de las micorrizas.....	8
2.3.3 Fisiología de la micorriza.....	9
2.3.4 Factores ecológicos relacionados a la micorrización.....	10
2.3.4.1 Inóculo de micorriza.....	10
2.3.4.2 Problemas del suelo	11
2.3.4.3 Fertilidad del suelo.....	11
2.3.4.4 Luz.....	11
2.3.4.5 Temperatura.....	11
2.3.4.6 Agua y aireación.....	11
2.4 Perspectivas agronómicas de la micorriza.....	11

2.5	Producción de inóculo.....	12
2.5.1	Tipos de inóculo.....	12
2.5.1.1	Esporas.....	13
2.5.1.2	Suelo micorrizado.....	13
2.5.1.3	Esporas y solución nutritiva.....	13
2.6	Productos comerciales a base de micorrizas.....	13
3.	MATERIALES Y METODOS	15
3.1	Ubicación del ensayo.....	15
3.2	Cultivos y establecimiento.....	15
3.3	Preparación del medio.....	15
3.4	Tratamientos.....	16
3.4.1	Bio/organics.....	16
3.4.2	Biovam Mycorrhiza.....	16
3.4.3	Mycoral®.....	16
3.4.4	Burize.....	16
3.5	Análisis de laboratorio.....	16
3.6	Variables analizadas.....	17
3.7	Diseño experimental y análisis estadístico.....	18
3.8	Análisis económico.....	18
4.	RESULTADOS Y DISCUSION.	19
4.1	Análisis de laboratorio de los productos previo al ensayo.....	19
4.2	Características agronómicas de los cultivos.....	19
4.2.1	Frijol.....	19
4.2.1.1	Etapas de floración.....	19
4.2.1.2	Etapas de cosecha.....	21
4.2.2	Pastos.....	22
4.2.2.1	Primer corte.....	22
4.2.2.2	Rebrote.....	23
4.3	Factor económico.....	25
4.3.1	Frijol.....	25
4.3.1.2	Costos diferenciales.....	25
4.3.1.3	Análisis de dominancia.....	26
4.3.2	Pastos.....	26
5.	CONCLUSIONES	27

6.	RECOMENDACIONES	28
7	BIBLIOGRAFIA.	29
8.	ANEXOS	32

INDICE DE CUADROS

Cuadros

1.	Conteo de esporas de productos comerciales de micorrizas previo al Ensayo, Zamorano, Honduras, 2001.	19
2.	Análisis de varianza (cuadrados medios) de las variables analizadas en frijol durante la etapa de cosecha, Zamorano, Honduras, 2001.	20
3.	Respuesta de las variables analizadas estadísticamente durante la etapa de floración, Zamorano, Honduras, 2001.	21
4.	Análisis de varianza (cuadrados medios) para las variables analizadas en frijol durante la cosecha, Zamorano, Honduras, 2001.....	21
5.	Respuesta de las variables analizadas en frijol durante la etapa de cosecha, Zamorano, Honduras, 2001.....	22
6.	Respuesta de cada pasto a las variables analizadas estadísticamente, durante el primer corte, El zamorano, Honduras, 2001.....	22
7.	Análisis de varianza (cuadrados medios) para las variables analizadas, durante el primer corte en los pastos, Zamorano, Honduras, 2001.....	23
8.	Respuesta a las variables analizadas en el primer corte, en dos pastos, El Zamorano, Honduras, 2001.....	23
9.	Comportamiento de dos pastos, como respuesta a la aplicación de Productos comerciales de micorrizas, Zamorano, Honduras, 2001.....	24
10.	Análisis de varianza del comportamiento de los dos pastos durante el Rebrote (20 días después del primer corte), Zamorano, Honduras, 2001	24
11.	Respuesta de las variables analizadas estadísticamente, en los dos pastos, Durante el rebrote (20 días después del primer corte), Zamorano, Honduras, 2001.....	25
12.	Costos diferenciales de producción de frijol, utilizando el producto Mycoral [®] , Zamorano, Honduras, 2001.....	25
13.	Análisis de dominancia del rendimiento de frijol usando Mycoral [®] , Zamorano, Honduras, 2001.....	26

1. INTRODUCCION

1.1 Definición del problema.

La agricultura en el trópico se ve afectada por las limitantes que conlleva el manejo de suelos. El nitrógeno (N) y el fósforo (P) constituyen los dos elementos más críticos; el N por su alto consumo y el P por su fijación y alto costo.

González (1995) menciona que no más del 30% del N, el cual es absorbido como nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+), y aproximadamente el 25% de la fertilización mineral son asimilados por los cultivos en el año en que se aplican. El resto del N es perdido por lixiviación y a través de la desnitrificación. El P es rápidamente fijado por algunos componentes del suelo y convertido a formas que no son utilizables por las plantas.

La rizósfera es el volumen de suelo en la vecindad de las raíces, las cuales son afectadas por la actividad de las plantas. Esta es colonizada por un amplio rango de microorganismos (Mukerji y Varma, 1998).

Higa y Parr (sf) mencionan que microbiólogos y ecologistas microbianos han diferenciado los microorganismos del suelo que son benéficos o dañinos de acuerdo a sus funciones y de como afectan la calidad del suelo, el crecimiento y rendimiento de las plantas y de la sanidad. Definiendo como benéficos a aquellos que pueden fijar el nitrógeno atmosférico, descomponer desechos y residuos orgánicos, detoxificar pesticidas, suprimir enfermedades de las plantas y patógenos del suelo, aumentar el ciclo de nutrientes y producir compuestos bioactivos tales como vitaminas, hormonas y enzimas que estimulan el crecimiento y desarrollo de las plantas. Los dañinos son aquellos que pueden inducir enfermedades en las plantas y estimular el crecimiento de patógenos. Además, pueden inmovilizar los nutrientes y producir sustancias tóxicas y afectar el desarrollo normal de las plantas.

Una de las mejores contribuciones benéficas de los microorganismos del suelo a las plantas es el abastecimiento de nutrientes esenciales para su crecimiento. De todos los microorganismos del suelo, son de suma importancia los que están involucrados en el ciclo del nitrógeno y el fósforo. Estos son los dos elementos que comúnmente se encuentran deficientes en el suelo y que mayormente limitan el crecimiento de las plantas (González, 1995).

Dentro del ciclo del nitrógeno, destacan las bacterias fijadoras de este elemento como *Rhizobium*, *Azotobacter* y *Azospirillum* entre las más importantes, pero la mayor fijación

biológica de nitrógeno en suelos agrícolas es la efectuada por la simbiosis leguminosa-*Rhizobium* (Echegaray, 1995).

Por estas razones, es imprescindible buscar y evaluar fuentes alternativas de fertilización que satisfagan los requerimientos nutricionales de los cultivos y a la vez obtener niveles óptimos de rendimiento y calidad en los productos agrícolas a un bajo costo.

Una de estas alternativas la constituye el uso de biofertilizantes, práctica agrícola que cada día cobra más fuerza dentro del contexto de la agricultura sostenible o de pocos insumos, debido no sólo a su bajo costo de producción sino también a la posibilidad de fabricarse a partir de los recursos locales renovables (Corbera, 1998).

El uso indiscriminado de los productos químicos ha provocado grandes trastornos ecológicos en los agroecosistemas incluyendo la contaminación de las aguas y problemas de acidez en el suelo. En los últimos años se ha incrementado el interés en el campo de la microbiología del suelo, donde especial énfasis ha cobrado el estudio de las micorrizas vesículo-arbusculares, por la contribución que éstas realizan en la nutrición de las plantas (Sánchez *et al.*, 2000).

Una de las alternativas que surge, como posible solución a este problema en el trópico, es la utilización de productos comerciales de micorrizas en la agricultura, las cuales pueden aportar muchos beneficios a las plantas.

1.2 Antecedentes

Las micorrizas son asociaciones simbióticas entre los hongos y las raíces de las plantas superiores, en las cuales normalmente ambos miembros se benefician de la asociación (Safir, 1990). De los microorganismos que colonizan la rizósfera, los hongos micorrícicos ocupan una posición ecológica única, ya que parcialmente están dentro de la planta y al mismo tiempo fuera de ella (González, 1995).

Las micorrizas son tan antiguas como las propias plantas y se conoce de su existencia hace más de 100 años. Se estiman que aproximadamente el 95% de las especies vegetales conocidas establecen de forma natural y constante este tipo de simbiosis con hongos del suelo (Hernández, 2001).

Según Hernández (2001) el mutualismo supone una relación beneficiosa para los dos organismos, 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.

Las micorrizas se clasifican de acuerdo con las relaciones entre los hongos y las células de la raíz; los dos principales tipos son: 1) las ectomicorrizas, en las cuales las hifas del hongo penetran en los espacios entre las células; y 2) las endomicorrizas o micorrizas vesículo-arbusculares (MVA), donde las estructuras del hongo entran a la célula

(González, 1995). Se puede decir que las micorrizas arbusculares son las de mayor importancia y las que más ampliamente se encuentran distribuidas tanto a nivel geográfico como dentro del reino vegetal (Hernández, 2001).

A nivel mundial se han realizado muchos estudios con productos comerciales de micorrizas en diferentes cultivos, frutales, hortalizas y ornamentales, con muy buenos resultados.

En café se han observado efectos beneficiosos de la inoculación micorrícica, apreciándose un mayor crecimiento y porcentaje de supervivencia en el campo de las plantas que fueron inoculadas con estos hongos, manteniéndose inclusive un efecto positivo en las primeras cosechas (Sánchez *et al.*, 2000).

Las investigaciones en leguminosas en los estudios sobre el aprovechamiento del nitrógeno debido a las bacterias del género *Rhizobium*. Por otro lado, se han desarrollado numerosos trabajos científicos sobre el empleo de las micorrizas conjuntamente con *Rhizobium*, que han posibilitado incrementos en el crecimiento y rendimiento de las leguminosas como soya y frijol (Corbera, 1998).

Ortiz y Fernández (1998), mencionan que en cereales y otros cultivos se ha informado el beneficio encontrado con la acción de estos biofertilizantes.

Todo lo anterior ha despertado un gran interés, en el uso de biofertilizantes, especialmente micorrizas. Muchos países han iniciado sus investigaciones al respecto y a la vez iniciado la producción de productos comerciales a base micorrizas.

Cuba, es el país latino que lleva la delantera en investigación y producción de productos comerciales en base a micorrizas y han realizado pruebas de campo en casi todos los cultivos, obteniendo excelentes resultados.

Actualmente, se sabe que hay otros países, tanto en el medio centroamericano y sudamericano, iniciando sus trabajos de investigación en micorrizas y comenzando a producir inóculo en diferentes presentaciones, así como aislamiento de cepas específicas, buscando la eficiencia en la producción.

Zamorano inició sus estudios con micorrizas en el año 2000 con su producto Mycoral®. Hasta la fecha se han realizado varios estudios en café, banano, maíz dulce, árboles forestales y otros. Aunque no se observaron incrementos en rendimientos, se observaron diferencias en vigor de plantas, biomasa aérea y radical.

1.3 Justificación del estudio

El uso cada vez mayor de microorganismos edáficos para satisfacer las necesidades nutricionales de los cultivos para obtener adecuados niveles de rendimiento y calidad de los productos, constituye una alternativa promisorio frente a los fertilizantes minerales.

Esto hace posible el ahorro parcial o total de los fertilizantes minerales, así como el incremento de los procesos biológicos en el suelo como índice de sostenibilidad del proceso agrícola (Corbera y Nápoles, 2000).

Según Hernández y Cuevas (1999), el beneficio del uso de las asociaciones vesículo-arbusculares en el crecimiento de las plantas cultivadas resulta de gran importancia, particularmente en suelos tropicales deficientes en P asimilable y en donde el potencial de explotación de éste es mucho mayor que en regiones de clima templado.

La inoculación de las plantas con hongos micorrícicos provoca, de manera general, un marcado incremento en los procesos de absorción y traslocación de nutrimentos como P, N, K, Mg, Zn, Cu, Mo y B (Hernández y Cuevas, 1999).

Otros beneficios, son que la planta micorrizada incrementa su tasa fotosintética entre 8 y 21% producto de un incremento en el área foliar. Las micorrizas estimulan el crecimiento de los brotes, altura, peso, producción de flores y el crecimiento de la raíz ya que asimilan y reciben en mayor cantidad los nutrimentos, especialmente el P, presentes en el suelo aunque estos sean escasos (Villalba, 2001).

Se sabe además que las plantas micorrizadas son más resistentes a enfermedades y sequía, a altas temperaturas del suelo, a la toxicidad por metales pesados, a pH extremos y al estrés al transplante (Brundett, 2000).

La aplicación comercial de los hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares, siempre ha sido un tema muy discutido, pese a conocerse con exactitud algunos de los mecanismos por los cuáles los hongos le brindan a la planta nutrientes, agua y hasta cierta protección contra algunas enfermedades radicales (Hernández y Cuevas, 1999).

En vista de los beneficios que conlleva utilizar micorrizas vesículo-arbusculares, en este estudio se evaluaron cuatro productos comerciales de micorrizas, caracterizándolos y recolectando información para difundir su uso.

El estudio fue financiado por el proyecto de Reactivación Agrícola Post Mitch Zamorano/USAID. Para cumplir con los objetivos el proyecto se seleccionaron los cultivos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y los pastos; Tanzania (*Panicum maximum* Jacq) y Transvala (*Digitaria decumbens* Stent), con los cuales el proyecto Zamorano/USAID ha estado trabajando y promoviendo en las zonas afectadas de Honduras.

1.4 Límites del estudio

Los resultados del presente trabajo sólo son válidos para los cultivos y productos comerciales en estudio bajo condiciones de clima y suelo parcialmente controlados en Zamorano. Las condiciones climáticas se controlaron realizando el ensayo bajo invernadero utilizando un medio bajo en P. Además el medio fue esterilizado para evitar que esté altamente infectado por micorriza nativa y que esto afectara la infección por las cepas específicas de micorriza de los productos comerciales; sin embargo, a pesar de la

esterilización se observó que el medio todavía contenía esporas de micorriza al momento de iniciar el ensayo.

El tiempo de duración del estudio fue de acuerdo al ciclo de cada cultivo. El frijol se evaluó a la floración (45 días después de la siembra) y a la cosecha (90 días después de la siembra); los pastos se evaluaron al primer corte (60 días después de la siembra) y en el segundo corte (80 días después de la siembra).

Con respecto a los productos comerciales, no podemos inferir que uno es mejor que el otro a pesar de los resultados, porque son diferentes y no se uniformizaron variables como la presentación comercial, dosis, ni concentración de inóculo.

1.5 Objetivos

Objetivo General

Evaluar la efectividad de productos comerciales de micorriza disponibles en el mercado.

Objetivos Específicos

1. Caracterizar los productos comerciales de acuerdo a sus presentaciones y concentración de inóculo.
2. Determinar el efecto de los productos comerciales en los cultivos de frijol y los pastos Tanzania y Transvala.
3. Realizar un análisis económico del uso de productos a base de micorrizas usando estimados de costos por dosis con base a los resultados de cada cultivo.
4. Recomendar la mejor alternativa para el productor.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 El cultivo del frijol

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la tercera leguminosa de grano en importancia mundial, superado sólo por la soya y el maní. Esta leguminosa es la más ampliamente distribuida, ya que crece en todo los continentes excepto en la Antártica y ocupa más del 90% de área sembrada de todas las especies de *Phaseolus* en el mundo (Rockefeller Foundation, sf).

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una planta anual, herbácea, de crecimiento determinado para las especies cultivadas e indeterminado para la mayor parte de las especies silvestres (Rockefeller Foundation, sf).

La planta de frijol se puede establecer en una gran diversidad de suelos de características variables. Sin embargo, para su producción, se recomiendan suelos sueltos, con buen drenaje y profundidad superior a los 30 cm. En lo posible se debe evitar sembrar en terrenos con suelos que se endurecen fácilmente o en suelos pedregosos donde no hubo frijol anteriormente. El rango de pH apropiado está entre 6.0 y 7.5 (Rosas, 1998).

Por ser una planta de origen tropical, se desarrolla y produce mejor a temperaturas entre 18 y 24°C que generalmente predominan a una altitud que varía entre 400 y 1200 msnm. Las temperaturas inferiores a 18 °C afectan el desarrollo vegetativo de las plantas provocando un retraso en la floración, prolongándose el ciclo de crecimiento. Los requerimientos de agua para el cultivo son aproximadamente de 300-350 mm de agua, bien distribuida durante todo el ciclo del cultivo (Rosas, 1998).

2.2 El cultivo de los pastos

2.2.1 Pasto Guinea (*Panicum maximum* Jacq.)

El pasto Guinea o “Guinea común” es una planta nativa de Africa tropical y subtropical, perenne. Su altura va desde 0.5 hasta 4.5 m, se adapta bien a precipitaciones mayores de 900 mm, no tolera inundaciones o pobre drenaje. Esta especie se usa principalmente como pastoreo solo o en asociación con leguminosas; también es idóneo para ensilaje y como pasto de corte. En buenas condiciones produce 50 TM de MS/ha, aunque su rango normal de producción es de 10 - 30 TM de MS/ha. El pasto Guinea es propagado principalmente por semilla y se requiere de 2 - 3 Kg de semilla pura germinable por hectárea (Sabando, 1989).

Este pasto tiene muy buena adaptación, crece bien en suelos arcillosos bien drenados o ligeros; aunque tolera la sequía y las altas temperaturas crece mejor a 1800 msnm (Crowder, 1969). La temperatura óptima para el crecimiento fluctúa entre 19 y 23 °C (FAO, 1992).

El pasto Guinea es extremadamente tolerante a la sombra de árboles, arbustos u otras especies de pastos. Este atributo es importante porque el pasto en cuestión puede ser sombreado por numerosas leguminosas y todavía competir para producir una buena combinación gramínea/leguminosa (Yates, 1987).

Existen varios cultivares del pasto Guinea que son ahora reconocidos en adición al guinea común, los cuáles tienen características distintivas del guinea común y sólo por citar algunos, se mencionan: el cultivar (Cv.) Hamil, Cv. Coloniao, Cv. Makueni, Cv. Riversdale, Cv. Tobiatá, Cv. Tanzania y otros de gran importancia (Yates, 1987).

2.2.1.1 El cultivar Tanzania

Este cultivar fue seleccionado en Brasil entre 425 cultivares de *Panicum maximum*; fue considerado como el mejor en 1984 y lanzado comercialmente en 1990. El cultivar Tanzania tiene hábito de crecimiento erecto, pero es más enano que el Guinea común (1.3-1.5 m de altura). Su crecimiento es más rápido durante los cuatro primeros meses hasta su floración y establecimiento (AGRIPAC, 2001).

Las ventajas de este cultivar, según AGRIPAC (2001), son que produce 30% más de follaje palatable, para equinos y bovinos, que el Guinea común; tiene el más alto nivel proteico entre los pastos tropicales (12 – 14%, en materia verde) con hojas más anchas; mayor relación hojas/tallos comparado con Guinea común, menos tallos leñosos, menos fibra; altamente tolerante al salivazo; tolera la quema y la sequía; posee buena asociación con leguminosas como la soya perenne, kudzu, Calapogonio (*calapogonium*); se adapta a las mismas condiciones de clima y suelo que el Guinea común.

2.2.2 Pasto Transvala (*Digitaria decumbens* Stent)

El pasto Transvala, es una gramínea provista de largos estolones rastreros que fácilmente desarrollan raíces. Los tallos son erectos y crecen entre 20 a 30 cm, su inflorescencia es una espiga digitada con 10 ramificaciones.

Este pasto es nativo del África del Sur, se adapta a regiones tropicales y subtropicales húmedas, desde el nivel del mar hasta los 1600 m de altura, y con más de 1000 mm de precipitación al año. Esta especie requiere suelos de mediana a alta fertilidad y bien drenados; responde magníficamente al riego y a la fertilización tolerando pastoreos pesados pero preferiblemente rotacionales (Restrepo, 1992).

Aunque el pasto Transvala no produce semilla viable, se propaga fácilmente por tallos y estolones (Yates, 1987). Bajo condiciones favorables, puede darse el primer pastoreo liviano a los tres meses de sembrado. La producción de forraje es alta y puede alcanzar

más de 35 TM de MS/ha/año, siendo el rango normal de 8 a 24 Tm de MS/há/año. Es un pasto de buena calidad y muy apetecible, su digestibilidad oscila entre 48 y 67% y su contenido de proteína cruda entre 7 y 12% (Restrepo, 1992).

Se utiliza principalmente en pastoreo; sin embargo, puede producir un heno de excelente calidad y también ensilaje (FAO, 1992).

2. 3 Aspectos generales de las micorrizas

2.3.1 El concepto de micorriza

Se denomina micorrizas a la simbiosis que se establece entre las raíces de las plantas y ciertos hongos. De los microorganismos que colonizan la rizósfera, los hongos micorrícicos ocupan una posición ecológica única, ya que parcialmente están dentro de la planta y al mismo tiempo fuera de ella (Gonzáles, 1995).

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 nutrimentos 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 (Hernández, 2001).

2.3.2 Morfología de la micorriza

Las micorrizas se clasifican de acuerdo a las relaciones entre los hongos y las células de la raíz, los dos principales tipos son: ectomicorrizas, en las cuales las hifas de los hongos penetran en los espacios entre las células, y las endomicorrizas, donde las estructuras del hongo penetran al interior de la célula (Gonzáles, 1995).

Las ectomicorrizas, son formadas en su mayoría por hongos superiores (*Basidiomycetes* y *Ascomycetes*) y muchas especies arbóreas incluyendo plantas de las familias *Pinaceae*, *Fagaceae*, *Betulaceae*, *Rosaceae*, *Cupressaceae*, y *Leguminosae*. Las hifas del hongo envuelven la raíz y forman una densa masa denominada manto, que físicamente separa la raíz de su alrededor. Las hifas no penetran las células y están restringidas a los espacios entre ellas, donde forman una red interconectada, llamada red de Hartig, la cual juega un papel importante en el desarrollo de la planta y el hongo (Gonzáles, 1995).

En las endomicorrizas, el micelio se encuentra principalmente en forma intracelular en la corteza radicular. Las plantas que forman endomicorizas pertenecen a la familia *Orquidaceae* y *Ericaceae*. Otro tipo de endomicorrizas está relacionada con vesículas arbusculares que poseen hifas intracelulares (Hemard, sf). Algunos hongos formadores de ectomicorrizas pertenecen a los Basidiosmicetos (*Boletaceae*, *Agaritaceae*) y *Gasteromycetes*. Las micorrizas arbusculares son las de mayor importancia y las que más ampliamente se encuentran distribuidas (tanto a nivel geográfico como dentro del reino vegetal), este tipo de micorriza se encuentra en condiciones naturales en la mayoría de los cultivos tropicales y subtropicales de interés (Hernández, 2001).

La endomicorriza arbuscular es la más común y ocurre en más del 90% de las plantas superiores. La endomicorriza arbuscular está usualmente asociada con plantas herbáceas como avena, maíz, tomate, cebolla, fresa, leguminosas y pastos. También se forma en algunos árboles como manzana, cítricos, aguacate y café (Gonzáles, 1995).

Existen familias de plantas que no son susceptibles a la micorrización incluyendo a las *Caryophyllaceae*, *Chenopodiaceae*, *Commelinaceae*, *Cruciferae*, *Cyperaceae*, *Juncaceae*, *Phytolaccaceae*, *Polygonaceae*, *Portulacaceae*, *Proteaceae*, *Restionaceae* y *Sapotaceae* (Read, 1993).

Hernández (2001) menciona que los hongos formadores de micorrizas arbusculares pertenecen a la clase *Zigomicetes* y se caracterizan porque producen, a lo largo de su ciclo de vida, unas estructuras conocidas como arbuscúlos (en todos los casos) y vesículas (en la mayoría de ellos).

El nombre de la micorriza vesículo-arbuscular se deriva de las estructuras internas que forma el hongo en la raíz. Las vesículas son estructuras globosas e irregulares que actúan como reserva de lípidos, y los arbuscúlos consisten en hifas finamente ramificadas en las cuales se realiza la transferencia de nutrimentos (Gonzáles, 1995).

2.3.3 Fisiología de la endomicorriza

El efecto más importante que producen las micorrizas arbusculares en las plantas es un incremento en absorción de nutrimentos minerales del suelo, que se traduce en un mayor crecimiento y desarrollo de las mismas. La expansión del micelio externo del hongo por el suelo rizosférico es la causa principal de este efecto, porque permite la captación de nutrimentos más allá de la zona de agotamiento que se crea alrededor de las raíces, por la propia absorción de la planta (Hernández, 2001).

Hay informes de que la infección micorrícica incrementa la disponibilidad de potasio, hierro, cobre, calcio, nitrógeno, azufre, zinc y fósforo. El aumento en la disponibilidad y consumo de fósforo por las raíces con micorrizas es de particular importancia, ya que la mejora en el desarrollo de las plantas micorrizadas está a menudo muy correlacionado con la mejora de la nutrición fosforada. El fósforo (P) frecuentemente limita el crecimiento de la planta porque casi siempre se encuentra en forma no disponible cuando se añade o está presente en el suelo, siendo así parcialmente utilizable por las raíces de la planta (Safir, 1990).

El efecto en la utilización eficiente del P es especialmente importante, porque esto puede reducir la necesidad de aplicación de fertilizante fosforado. El mecanismo parece ser físico; el P es captado por el micelio externo, posteriormente es translocado a través de las hifas o estructuras intrarradicales en forma de gránulos de polifosfatos y finalmente mediante el proceso de la transferencia por el arbuscúlo a las células del huésped (Gonzáles, 1995).

Con respecto al nitrógeno, ha existido una polémica sobre si la micorriza arbuscular es capaz de aumentar la capacidad de absorción de éste macronutriente. El nitrógeno puede encontrarse en el suelo como NO_3^- y como NH_4^+ , y las plantas pueden captarlos de ambas formas. En vista que el ión nitrato es más móvil que el amonio, la micorriza podría tener más importancia en suelos donde la principal forma de N es el NH_4^+ , ya que las micorrizas arbusculares, al igual que otros hongos, tienen preferencia por este ión sobre el nitrato (Varela y Estrada, 1999).

Cuando se forma la micorriza vesículo – arbuscular (MVA), se dan algunos cambios en la morfología de la raíz, pero la fisiología de la raíz experimenta cambios en mayor magnitud, así como la fisiología de toda la planta. Por ejemplo, cuando la planta llega a ser micorrizada, ocurren cambios en concentraciones de compuestos que regulan el crecimiento como auxinas, citoquininas y giberelinas (Linderman, 1992).

Por otro lado, la presencia de la micorriza en la raíz provoca cambios fisiológicos, que conducen a la modificación de la cantidad y calidad de los exudados radicales, lo cual promueve un ambiente particular al que se le ha denominado micorrizósfera, cuyas características permiten el establecimiento de una microbiota específica (Varela y Estrada, 1999).

Algunos estudios han relacionado la infección MVA con el aumento en la fijación de nitrógeno por *Rhizobium*. En el caso de plantas de frijol, al comparar las plantas micorrizadas con las no micorrizadas en presencia de *Rhizobium*, se encontraron un incremento de crecimiento, nodulación, tasas de fijación de nitrógeno, leghemoglobina, fósforo y del contenido total de proteína (Safir, 1990).

Se ha demostrado que los hongos que forman micorrizas arbusculares producen, además, un efecto positivo sobre las características edáficas. Una planta micorrizada que crece en suelos arenosos es capaz de agregar más partículas de suelo en sus raíces por unidad de masa, que una planta no micorrizada. La formación de agregados del suelo puede ser un factor importante para disminuir su erosión (Hernández, 2001).

2.3.4 Factores ecológicos relacionados a la micorrización

La infección micorrícica depende de condiciones que determinan las características de los hospederos del suelo, en particular el potencial fotosintético del hospedero, y la fertilidad, condiciones físicas y contenido del agua y cantidad y calidad del humus presente en el suelo. Entre estos factores se pueden mencionar algunos tomados de (Brundett, 2000 y Hemard, sf):

2.3.4.1 Inóculo de micorriza

Las plantas asociadas a las micorrizas predominan en la mayoría de los ecosistemas naturales, por eso el inóculo de micorriza está presente en la mayoría de todos los suelos. La cantidad de inóculo de micorriza que es compatible con la planta puede ser medido por experimentación (Brundett, 2000).

2.3.4.2 Problemas del suelo

Los propágulos de micorrizas pueden estar ausentes en suelos donde severas perturbaciones al suelo hayan resultado en pérdida de la cubierta del suelo, o donde las plantas hospederas estén limitadas por factores del suelo como la salinidad, aridez o extremos climáticos. La mayoría de estudios de asociaciones de micorrizas en suelos altamente perturbados, muestran que se han reducido los niveles de propágulos de micorrizas. Formas menos severas de perturbación del suelo, que incluyen la labranza mecánica, actividad de los animales del suelo, fuego y erosión, pueden también reducir los niveles de propágulos de micorriza (Brundett, 2000).

2.3.4.3 Fertilidad del suelo

Un factor clave en los efectos del potencial de las micorrizas para beneficios de las plantas es la cantidad de fósforo y nitrógeno en el suelo. El fósforo es considerado como el más importante de los factores limitantes del crecimiento de las plantas, el cual puede ser suplido por las asociaciones micorrícicas. El incremento en los niveles de fósforo pueden causar reducciones en el beneficio de las micorrizas a las plantas (Brundett, 2000).

2.3.4.4 Luz

Al aumentar la intensidad luminosa, el aumento de la micorrizas es proporcional al número de raíces cortas, posiblemente por un aumento en la disponibilidad de nutrimentos, principalmente carbohidratos libres en las raíces.

2.3.4.5 Temperatura

La temperatura tiene una acción directa sobre el porcentaje de crecimiento radical y la producción de nuevas raíces. La temperatura óptima para el crecimiento de las micorrizas varía entre 17 y 27 °C, para la mayoría de estos hongos.

2.3.4.6 Agua y aireación

Las formaciones micorrícicas están influenciadas por la humedad del suelo y por la aireación. Se cree que el crecimiento miceliar decrece a una baja concentración de oxígeno, debido a que la mayoría de los hongos son aeróbicos. La formación micorrícica se inhibe en suelos arcillosos, debido a la dificultad de las raíces para penetrar en este, así como también una pobre aireación (Hemard, sf).

2.4 Perspectivas agronómicas de la micorriza

El potencial benéfico de la micorriza a la agricultura es más aparente que nunca antes. La necesidad de incrementar la producción de alimentos, fibra y producción de combustible para ir a la par con el incremento en la población mundial es crucial, especialmente en las áreas del mundo menos desarrolladas. Para el año 2000, la población del mundo dobló el

número de personas que había en la tierra desde el comienzo de la historia del hombre. Los desafíos para el futuro son la utilización de micorriza para: i) incrementar la producción en tierras marginales, ii) reducir el uso de fertilizantes que son cada vez más caros y escasos, y iii) establecer una agricultura sostenible menos dependiente del uso de energía a prácticas de la agricultura corriente. Si podemos ser exitosos en la capitalización de los beneficios potenciales ofrecidos por la micorriza, debe ser generado más conocimiento en la evaluación y establecimiento de procedimientos para el uso de micorrizas en la agricultura comercial (Schenck, 1982).

2.5 Producción de inóculo

Hemard (sf) menciona que el problema más importante que existe actualmente al pretender una inoculación de endomicorrizas MVA radica en la obtención de cantidades suficientes de inóculo. Esto ocurre porque los hongos no crecen en un cultivo puro, haciéndose necesario el reproducirlo con plantas. Este proceso además de ser caro y lento tiene el peligro latente de introducir patógenos conjuntamente con el hongo simbiote.

Las fuentes de inóculo de la MVA son definidas por la biología del mismo hongo. Todas las estructuras infectivas del hongo pueden ser utilizadas, ya sea esporas o el micelio producido dentro o fuera de la raíz del hospedero. Los arbuscúlos y células auxiliares no son conocidos por ser una fuente importante de inóculo. Raíces y sustratos infectados (los cuales contienen raíces infectadas y/o micelios y esporas de MVA), son fuentes comunes de inóculo (Sieverding, 1991).

La forma más común de producir inóculo de micorriza es utilizando como hospedero la especie *Brachiaria decumbens*. En CIAT, decidieron utilizar esta especie como hospedero debido a que las semillas están siempre disponibles y la tasa de germinación es generalmente más alta que la de otras gramíneas (Sieverding, 1991).

2.5.1 Tipos de inóculo

Diversas formulaciones a nivel artesanal de hongos micorrícicos están presentes en el mercado como alternativa viable para mejorar la calidad del sustrato sobre el que se desarrollará la nueva planta.

La inoculación de hongos micorrícicos arbusculares, puede realizarse de varias maneras. Además del inóculo producido en el suelo, se ha ensayado e incluso patentado la producción de inóculo en diversos sustratos que por lo general implican o no las mezclas de turbas y otros elementos, sino también en medio líquido. A pesar de esto, el agricultor debe ser muy cuidadoso a la hora de comprar productos a base de hongos micorrícicos que tengan que ver directamente con la seriedad de la empresa que los fabrica (Villalba y Rodríguez, 2000). Podemos mencionar los siguientes tipos de inóculo.

2.5.1.1 Esporas

Las esporas son una importante fuente de inóculo para el establecimiento de cultivos de MVA en plantas hospederas en sustratos previamente esterilizados. Esto es una ventaja porque: i) pequeñas cantidades de esporas pueden ser aisladas relativamente fácil de los sustratos de suelo, ii) las esporas pueden ser distinguidas morfológicamente de otras estructuras para su identificación y iii) solamente las esporas pueden ser desinfectadas exitosamente sobre su superficie con ciertos químicos (con el objetivo de producir inóculo libre de otros microorganismos. Es bien conocido que una sola espora (o unas pocas esporas) puede iniciar la simbiosis micorrícica y que MVA puede reproducirse plenamente a partir de un pote de cultivo que sólo contenga una espora (Sieverding, 1991).

Las esporas pueden ser extraídas de algún suelo cultivado o en condiciones naturales, por lo general es una metodología que se utiliza en laboratorios y universidades o centros de investigación para ser inoculadas sobre semillas o plántulas y realizar ensayos a nivel de invernadero o de maceteras. La dosis de aplicación dependerá en muchos casos del cultivo a inocular, de la especie de micorriza a utilizar y de los estudios realizados con anterioridad. Por lo general, no están comercialmente disponibles para el agricultor (Villalba, 2001).

2.5.1.2 Suelo micorrizado

Se venden en el mercado sustratos con contenidos de estructuras de micorrizas, las que son incorporadas como inóculo mixto; es decir que tienen micelio externo e interno del hongo (esporas, vesículas y arbusculos), así como raíces de plantas infectadas. El problema con este tipo de inóculo es que si no se tiene el debido cuidado es, es posible que el suelo contenga hongos patógenos y nematodos (Villalba y Rodríguez, 2000).

Se sabe sin embargo que el suelo es el sustrato que conserva por más tiempo la viabilidad de las esporas. La desventaja de este sustrato, es la comercialización, ya que por ser un medio muy pesado aumentan los costos de transporte. Por estas razones lo recomendable es producir el inóculo en los lugares (en las fincas), dónde es requerido; esos sitios pueden ser viveros o campos, los cuales serán inoculados (Sieverding, 1991).

2.5.1.3 Esporas y solución nutritiva

Existe este tipo de inóculo que trae por separado, esporas de cierta especie de micorriza y aparte, una solución nutritiva líquida. Las cuales van a ser mezcladas al momento, antes de la aplicación, y la aplicación se hará después de la germinación de la semilla (Villalba y Rodríguez, 2000).

2.6 Productos comerciales a base de micorrizas

En Cuba, desde hace algunos años se ha ensayado la producción masiva de inóculo en canteros multiplicadores en las empresas de cultivos estatales. Se proveyó un inóculo

básico certificado como MICOFERT-C, por el grupo de trabajo, el cual fue producido por el Instituto de Ecología y Sistemática de la Academia de Ciencias de Cuba (IESACC) a partir de una cepa purificada y reproducida en cultivo puro MICOFERT-O, para ser reproducido durante 3 – 4 meses en los canteros multiplicadores de las propias áreas del cultivo MICOFERT- A, antes de ser definitivamente inoculado en el campo. Se evaluó la influencia del uso del MICOFERT sobre la germinación y el desarrollo del mamón (*Anona reticulata* L.); los resultados indican una influencia en el incremento de la velocidad de germinación y crecimiento (Guzmán, 1999).

Existe otro producto, también de origen cubano, llamado Ecomic que es un biofertilizante de uso general a base de hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares. Este inóculo, garantiza un 50% de colonización radical a una dosis de 10 esporas/g de suelo; tiene una viabilidad de hasta seis meses y se recomienda para cultivos de granos, viveros, almacigos, bancos de enraizamiento y plantas *in vitro*. Se evaluó este producto, con plantas de mango, y se demostró que a los 42 días de la siembra, las plántulas tenían condiciones de transplante a bolsa; además se encontró una mayor influencia sobre la germinación y altura de plántulas (Guzmán, 1999).

En Colombia, llegó a comercializarse suelo micorrizado, que se vendió en bolsas de 1 Kg, bajo el nombre de Manihotina[®], que contenía una cepa de *Glomus manihotis* y era producida por Jira Agroindustrias de Tulúa, valle. Este biofertilizante era formulado como tierra biológicamente mejorada y se recomendaba para su uso en la producción de café, cítricos, hortalizas, frutales, uvas, pastos, viveros y jardines (Sieverding, 1991).

La producción de pellets, también se ha intentado. Estos se forman bañando las semillas, cuyo tamaño es apropiado, con mezclas que incluyen aglutinantes como el yeso o la metilcelulosa, mezclados con inóculo. La problemática es que cuando la raíz ya atravesó el inóculo, generalmente no está lo suficientemente desarrollada para formar las micorrizas (Guzmán, 1999).

Además de los productos mencionados, actualmente existe una gran variedad de productos a base de micorrizas. Muchos, por no decir la mayoría, están disponibles en internet y su distribución es de la misma forma. A pesar de eso, la micorriza es todavía desconocida para la gran mayoría de agricultores.

Los grandes retos deberían ser ahora, el uso masivo de productos comerciales garantizados y la orientación a que los agricultores puedan producir su propio inóculo y beneficiarse así de las ventajas de su uso.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Ubicación del ensayo

El experimento se realizó en los invernaderos de Ciencia y Producción Agropecuaria, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Zamorano se encuentra ubicado en el Valle del Río Yeguate, departamento de Francisco Morazán, Honduras, a una altura sobre el nivel del mar de 800 metros, con una temperatura promedio de 24.2 °C. Con el ensayo, bajo invernadero se controló, por lo menos parcialmente, condiciones climáticas y gradientes de fertilidad en el medio de cultivo.

3.2 Cultivos y establecimiento

Los ensayos con los diferentes productos de micorrizas se realizaron en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y los pastos Tanzania (*Panicum maximum* Jacq.) y Transvala (*Digitaria decumbens* Stent). Cada cultivo fue manejado de acuerdo a su naturaleza, y fueron sembrados al mismo tiempo utilizando maceteras estándar de 7" de diámetro, empleando una siembra de doble postura.

3.3 Preparación de medio

Se preparó un medio a base de suelo agrícola y arena de río en una proporción 1:1 y se esterilizó con vapor durante dos horas a una temperatura de 80 °C. El proceso de esterilización es importante para evitar que el medio vaya contaminado con un alto contenido de esporas de cepas nativas de endomicorriza, y que esto afecte la asociación de las raíces con las cepas específicas de endomicorrizas que contienen los productos comerciales.

Se espera que el medio tenga pocas esporas de cepas nativas de micorrizas, para que éstas no afecten la asociación con las cepas específicas de micorrizas que contienen los productos comerciales.

El medio utilizado tuvo un contenido de fósforo inferior a 12 ppm, porque se sabe que concentraciones de fósforo por arriba de ese nivel inhiben o enmascaran el efecto de la micorriza (Manjarrez, 2000).

3.4 Tratamientos

Los tratamientos utilizados para cada cultivo fueron cuatro productos comerciales de micorrizas en diferentes presentaciones.

3.4.1 Bio/organics

Bio/organics es un inoculante producido por Bio/Organics (Ithaca, NY) Mycorrhizae inoculants, conseguido en Ithaca, New York. El inoculante contiene esporas de Endomicorrizas (*Glomus brasilianum*, *G. Clarum*, *G. Deserticola*, *G. Intraradices*, *G. Monosporus*, *G. mosseae*, *Gigaspora margarita*), con una concentración mínima de 50 esporas/cc. Es un polvo fino de color gris y puede utilizarse con transplantes, semillas y plantas producidas vegetativamente y en ambientes controlados. La dosis utilizada para cada cultivo fue de 10 g para cada postura, en cada cultivo.

3.4.2 Biovam Mycorrhiza

Biovam es un inoculante a base de endomicorrizas (*Glomus intraradices*) con una concentración garantizada de 40 esporas/cc y está certificado por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, para su uso en la producción de alimentos orgánicos. Este producto es comercializado por T&J Enterprises. La dosis utilizada fue de 10 g de inóculo por postura en cada cultivo.

3.4.3 Mycoral®

Este producto es producido y comercializado por Zamorano, bajo la asesoría técnica de la empresa Mycoral LTDA, consiste en un suelo micorrizado que contiene esporas, hifas y raíces infectadas de varias cepas (*Glomus*, *Acaulospora* y *Enterophospora*). La concentración que garantiza es de 50 esporas/cc.

3.4.4 Burize

Burize es fabricado por Buckman Laboratories de México y es comercializado en Honduras por Tecniconsult de San Pedro Sula y Tegucigalpa. Burize es un inoculante líquido a base de la cepa *Glomus intraradices*, garantizando una concentración de un 64-70 esporas/cc o al menos un propágulo/cc, refiriéndose a cualquier estructura con micorriza (raíces infectadas, hifas u otras). Su aplicación es inyectada y se puede usar en semillas, transplantes, riego por goteo y camas o semilleros. La dosis utilizada de este producto fue de 4 cc por postura en todos los cultivos.

3.5 Análisis de laboratorio

Conociendo que cada casa comercial garantiza cierta concentración de inóculo en sus productos, se realizaron pruebas previas al ensayo con el fin de tener un indicador de la concentración de inóculo (esporas/cc) que tiene cada uno.

El conteo de esporas se realizó utilizando el método para aislamiento y conteo de esporas (Anexo 1) por A.G. Jarstfer después de Phillips, J.M. y Hayman. (Read, 1993).

Iniciado el ensayo se hicieron otras evaluaciones, para determinar la infección de raíces por la micorriza en los cultivos utilizando el método de Phillips y Hayman, 1970 (Read, 1993).

3.6 Variables analizadas

FRIJOL

A la floración (45 días después de siembra)

- Altura de plantas
- Longitud de raíces
- Infección de raíces
- Número de esporas
- Biomasa aérea
- Biomasa radical

A la cosecha (90 días después de siembra)

- Infección de raíces
- Número de vainas por planta
- Peso de grano por planta.

PASTOS

Al primer corte (60 días después de siembra) incluyendo:

- Infección
- Número de esporas
- Materia seca aparente (%)
- Biomasa aérea
- Biomasa radical

Al rebrote (80 días después de siembra)

- Infección de raíces
- Número de esporas
- Materia seca aparente (%)
- Biomasa aérea
- Biomasa radical

3.7. Diseño experimental y análisis estadístico

FRIJOL

Se utilizó un diseño completamente al azar incluyendo cuatro tratamientos y un testigo con 10 repeticiones. La siembra se realizó en maceteras de 7" a doble postura con dos semillas por cada postura, de manera que en cada macetera hubo cuatro plantas en un inicio para después dejar sólo dos por macetera. La distribución en los invernaderos se hizo completamente al azar.

PASTOS

Se utilizó para el ensayo dos pastos de diferentes formas de propagación: Tanzania que tiene propagación por semilla y Transvala que es de propagación vegetativa.

En el caso de Tanzania se utilizó seis semillas por postura en cada macetera, para que después de la germinación hacer un raleo y dejar sólo cuatro plantitas por macetera. En el pasto Transvala se sembraron cuatro tallos aproximadamente del mismo tamaño, en dos posturas.

El diseño experimental utilizado fue un diseño completamente al azar, y el ensayo se hizo bajo condiciones controladas en invernadero. Se utilizaron 10 maceteras por tratamiento y un testigo.

Los datos de altura de plantas, biomasa aérea y radicular y todos los resultados de las variables medidas, fueron analizados por medio del paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS), versión 2001.

3.8 Análisis económico

Para el análisis económico se realizó un análisis marginal basándose en los costos por dosis de cada producto y los resultados de las variables que están correlacionadas con rendimiento en cada uno de los tratamientos, utilizando la metodología del CIMMYT (1988).

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Análisis de laboratorio de los productos previo al ensayo

Al realizar el conteo de esporas de los productos comerciales, se observó que los productos Burize y Bio/organics presentaron una concentración muy por debajo de la garantizada (por el fabricante). Por otro lado, la muestra de Mycoral[®] presentó una concentración superior a la garantizada. El producto Biovam presentó una concentración igual a la especificada (Cuadro 1). Esta diferencia puede deberse a la viabilidad del inóculo en el sustrato en el que viene. Según Schenk (1982), el mejor medio para preservar el inóculo es el suelo. De todos los productos, el único que tiene suelo como sustrato es Mycoral[®]

Cuadro 1. Conteo de esporas de productos comerciales previo al ensayo. Zamorano, Honduras, 2001.

Producto Comercial	Concentración Garantizada (esporas/cc)	Concentración Observada (esporas/cc)
Mycoral [®]	50	159
Burize	64-70	1
Biovam	40	41
Bio/organics	50	5

4.2 Características agronómicas de los cultivos

4.2.1 Frijol

4.2.1.1 Etapa de floración

Se observaron diferencias significativas entre los productos comerciales para las variables medidas, excepto en el caso de biomasa de raíces, que resultó ser no significativo y con un bajo ajuste del modelo (Cuadro 2). El ensayo fue bien conducido (coeficientes de variación menores o iguales a 30) y las diferencias dentro de un mismo tratamiento fueron mínimas (Cuadro 2)

Cuadro 2. Análisis de varianza (cuadrados medios) de las variables analizadas en frijol durante la etapa de floración. Zamorano, Honduras, 2001.

	Infección (%)	Nº esporas/cc	B A (g)	B R (g)	A P (cm)	L R (cm)
Tratamiento	3484.4 ***	7574 ***	0.39***	0.11 ns	32.42 ***	7.14 ***
Error	214.74	40.14	0.01	0.04	1.96	1.72
R²	0.64	0.95	0.80	0.21	0.65	0.62
CV (%)	30	15	6	26	5	3.74

R² = Ajuste del modelo, CV = Coeficiente de variación

*** = Altamente significativo (P<0.001).

B A = Biomasa aérea, B R = Biomasa de raíces, A P = Altura de planta y L R = Longitud de raíces.

ns= No significativo (P>0.05).

La mayor tasa de infección de raíces se observó en Mycoral[®], que fue superior a los otros tres productos comerciales evaluados y al testigo sin inoculación (Cuadro 3). Entre los demás productos comerciales, sólo Burize superó al testigo no inoculado, sugiriendo que los productos Biovam y Bio/organics no fueron diferentes al testigo (infección natural presente en el sustrato después de ser esterilizado).

En el número de esporas en el suelo, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (P < 0.001) que superaron al testigo no inoculado. El producto Bio/organics presentó mayor concentración de esporas en el suelo, a pesar de que previo al ensayo tenía una concentración mucho menor que Mycoral[®] (Cuadro 1). Esta diferencia y la no relación entre el número de esporas previo y durante la etapa de floración puede deberse, según Sieverding (1991), a que una o pocas esporas son suficientes para iniciar la simbiosis con las raíces de las plantas y que la micorriza vesículo-arbuscular puede reproducirse satisfactoriamente a partir de una sola espora en el pote de cultivo; el número de esporas nos puede ayudar sólo para ver que tan infectivo es el inóculo.

La eficiencia, en rendimiento, dependerá, más que nada de las cepas que contenga el producto. Hoy en día se han aislado cepas que se cree, son más eficientes, pero todavía falta mucho por investigar.

En la etapa de floración hubo diferencias significativas entre productos comerciales, en cuanto altura de plantas, longitud de raíces y biomasa aérea. Mycoral[®] mostró el mayor promedio y no hubo diferencias entre los demás productos y el testigo no inoculado, con excepción de Bio/organics para biomasa aérea y longitud de raíces que fue igual a Mycoral[®]. En biomasa de raíces no se observan diferencias significativas entre los productos y el testigo no inoculado (Cuadro 3).

Cuadro 3. Respuesta a las variables analizadas estadísticamente durante la etapa de floración. Zamorano, Honduras, 2001

	Infección (%)	Nº esporas/cc	B A (g)	B R (g)	A P (cm)	L R (cm)
Testigo	27.00 c	9.37 d	1.37 c	0.69 a	29.88 b	34.90 b
Mycoral®	81.25 a	51.25 b	1.91 a	1.00 a	34.33 a	36.65 a
Burize	49.25 b	40.00 c	1.65 b	0.79 a	29.63 b	34.45 b
Biovam	43.25 bc	23.75 d	1.61 b	0.88 a	29.67 b	34.30 b
Bio/organics	34.75 bc	90.00 a	1.88 a	0.91 a	30.26 b	35.37 ab

Promedios con diferente letra, en la misma columna, son estadísticamente distintos. (SNK al 0.05).

B A= Biomasa aérea, B R= Biomasa radical, A P= Altura de planta, L R= longitud radical

4.2.1.2 Etapa de cosecha

En este período, las diferencias entre productos, para las variables analizadas, fueron significativas (cuadro 4). El experimento fue bien conducido (coeficientes de variación menores o iguales de 30). El ajuste del modelo (R^2) es bajo para porcentaje de infección y Nº de vainas; pero no para la variable de interés, que es rendimiento (Cuadro 7).

Cuadro 4. Análisis de varianza (cuadrados medios) para las variables analizadas en frijol durante la cosecha. Zamorano, Honduras, 2001.

	Infección (%)	Nº de vainas*	Rendimiento (g/pl)
Tratamiento	401.11 ***	1.56 ***	1.78 ***
Error	64.06	0.35	0.05
R^2	0.31	0.24	0.70
CV (%)	30	25	19

* = Número de vainas por planta.

*** = Altamente significativo ($P < 0.001$).

g/pl= gramos por planta.

Durante la cosecha se observaron también diferencias significativas en el porcentaje de infección, favoreciendo al producto Mycoral® ($p < 0.001$). Entre los demás productos, incluyendo al testigo no inoculado, no hubo diferencias significativas. Las diferencias encontradas pueden ser causa de la alta concentración de inóculo que se tenía al principio del ensayo. El producto Burize produjo menos vainas por planta que los demás tratamientos ($P < 0.001$), (Cuadro 5).

En cuanto a la variable rendimiento por planta, el producto que se comportó diferente a todos los demás fue Mycoral® ($p < 0.001$), mostrando un promedio superior en rendimiento (g/planta); que fue el doble del testigo. Entre todos los demás productos no hubo diferencias significativas (Cuadro 5).

Cuadro 5. Respuesta de las variables de frijol analizadas durante la cosecha. Zamorano, 2001.

	Infección (%)	Nº Vainas/pl	Rendimiento (g/pl)
Testigo	22.67 b	2.58 a	0.95 b
Mycoral®	35.08 a	2.58 a	1.90 a
Burize	21.00 b	1.75 b	0.99 b
Biovam	28.25 b	2.58 a	1.15 b
Bio/organics	22.83 b	2.30 a	1.14 b

* Promedios con diferente letra, en la misma columna, son estadísticamente distintos (SNK al 0.05)
g/pl= gramos por planta

4.2.2 Pastos

4.2.2.1 Primer corte

Al comparar el comportamiento de los dos pastos; Tanzania y Transvala, en este período se observó que para la mayoría de variables hay diferencias entre pastos (Cuadro 6).

El pasto Tanzania supera al pasto Transvala en casi todas las variables, excepto en infección (%) y en materia seca (%), (Cuadro 6).

Cuadro 6. Respuesta de cada pasto a las variables analizadas estadísticamente, durante el primer corte. Zamorano, Honduras, 2001

	Infección (%)	Nº Esporas/cc	MS (%)	B A (g)	B R (g)
Tanzania	31.20 a	127.12 a	27.60 b	26.28 a	12.25 a
Transvala	33.40 a	99.40 b	34.24 a	19.90 b	5.65 b

* Promedios con diferente letra, en la misma columna (SNK al 0.05).

MS = Materia seca, B A= Biomasa aérea, B R= Biomasa radical.

La diferencia existente entre pastos para la mayoría de las variables, es de esperarse por ser de géneros diferentes. El análisis conjunto es porque se analizaron las mismas variables en los dos pastos y porque el ensayo, para ambos, se realizó bajo las mismas condiciones. Las diferencias relevantes son las causadas por los tratamientos.

En el primer corte (60 días después de la siembra), se observaron diferencias significativas entre pastos para casi todas las variables, excepto para el porcentaje de infección. Entre productos hubo diferencias significativas para infección, Nº de esporas y materia seca; pero no se observaron diferencias en cuanto a biomasa aérea ni biomasa radical. La interacción pasto*tratamiento, fue significativa, quiere decir que el pasto

influye en el tratamiento en la infección (%) y el N° de esporas; para las demás variables, la interacción no fue significativa (Cuadro 7).

Cuadro 7. Análisis de varianza (cuadrados medios) para las variables analizadas durante el primer corte en los pastos. Zamorano, Honduras, 2001.

	Infección (%)	N° de esporas/cc	MS (%)	B A (g)	B R (g)
Pasto	60.5 ns	9604.98 ***	555 ***	508.8 ***	543.84 ***
Tratamiento	2705.75 ***	17244.23 ***	58.07 ***	42.46 ns	14.45 ns
Pasto × Tratamiento	144.25 ***	7665.23 ***	37.27 ns	23.33 ns	12.38 ns
CV (%)	21	18	14	30	37
R ²	0.86	0.86	0.56	0.27	0.60
Error	46.25	423.37	18.38	49.84	10.76

ns = No significativo (P>0.05)

*** = Altamente significativo (P<0.001)

N° = Número, MS = Materia seca, BA = Biomasa aérea, BR= Biomasa radical.

Durante el primer corte hubo diferencias significativas, entre tratamientos, en infección (%) y en el número de esporas. No hubo diferencias significativas, entre tratamientos, en cuanto a biomasa aérea y radical (Cuadro 8).

El producto Mycoral[®], tuvo el mayor porcentaje de infección y el producto Burize, presentó el mayor promedio en número de esporas (Cuadro 8).

Cuadro 8. Respuesta a las variables analizadas, en el primer corte, en los dos pastos. Zamorano, Honduras, 2001.

	Infección (%)	N° Esporas/cc	MS (%)	B A (g)	B R (g)
Testigo	16.5 c	51.5 d	32.0 a	21.9 a	10.1 a
Mycoral [®]	60.0 a	125.6 b	33.0 a	26.3 a	9.8 a
Burize	28.0 b	163.0 a	31.3 a	21.7 a	9.5 a
Biovam	25.5 b	98.1 b	26.8 ab	21.6 a	7.8 a
Bio/organics	31.5 b	153.3 a	26.8 b	24.8 a	7.6 a

* Promedios con letra diferente, en la misma columna, son estadísticamente distintos (SNK al 0.05)

MS = Materia seca, BA = Biomasa aérea y BR = Biomasa radical.

4.2.2.2 Rebrote

En esta etapa no se observaron diferencias en las respuestas, de los tratamientos, para la mayoría de las variables todas las variables según el pasto. Si comparamos los dos pastos, al momento del rebrote, hubo mayor cantidad de esporas en el pasto Tanzania que en

Pangola. Tanzania, supera en casi todas las variables a Pangola, excepto en el porcentaje de infección, pero no hay diferencia significativa (Cuadro 9).

Cuadro 9. Comportamiento de dos pastos como respuesta a la aplicación de productos comerciales de micorriza. Zamorano, Honduras, 2001.

	Infección (%)	Nº Esporas/cc	MS (%)	B A (g)	B R (g)
Tanzania	24.4 a *	90.6 a	18.6 a	3.4 a	12.4 a
Pangola	25.4 a	34.8 a	15.4 a	0.9 b	4.2 b

* Promedios con diferente letra, en la misma columna, son distintos estadísticamente (SNK al 0.05)

MS = Materia seca, BA = Biomasa aérea y BR = Biomasa radical.

El efecto de los tratamientos fue significativo en casi todas las variables, excepto en biomasa aérea (Cuadro 10).

En la cantidad de esporas en el suelo se observaron diferencias entre pastos, entre tratamientos y en la interacción pasto*tratamiento ($P < 0.001$), (Cuadro 10).

Hay diferencias en el pasto según el tratamiento, eso lo explica la significancia de la interacción. La interacción del pasto con el tratamiento fue significativa, quiere decir que hay diferencias entre tratamientos según el pasto (Cuadro 10).

Cuadro 10. Análisis de varianza del comportamiento de los dos pastos durante el rebrote (20 días después del primer corte). Zamorano, Honduras, 2001.

	Infección (%)	Nº esporas/cc	MS (%)	B A (g)	B R (g)
Pasto	3635.5 ***	8777.42 ***	20.65 **	79.38 ***	20.13 ***
Tratamiento	12.56 ***	38864.72 ***	92.48 ***	0.564 ns	852 ***
Pasto × Tratamiento	280 ***	11649 ***	19.13 ***	1.142 ***	12.26 **
CV (%)	1634	14	15	26	23
R²	0.95	0.97	0.48	0.87	0.83
Error	16.56	79.19	6.66	0.31	353

*** = Altamente significativo ($P < 0.001$).

ns = no significativo ($P > 0.05$)

MS = Materia seca, B A = Biomasa aérea, B R = Biomasa de raíces.

En cuanto al porcentaje de infección hubo diferencias significativas ($P < 0.001$), favoreciendo a Mycoral® con el mayor porcentaje de infección (Cuadro 11). El tratamiento que mostró mayor cantidad de esporas en el suelo fue Biovam (95 esporas/cc) en el pasto Tanzania y el de menor cantidad de esporas fue el testigo en Tanzania.

Las diferencias pueden deberse a la concentración de inóculo de cada producto al momento de iniciar el ensayo, al riego ya que no se tuvo un control en la cantidad de agua para cada tratamiento y pudo producirse un lavado del suelo en cualquier tratamiento. También a la viabilidad de las esporas según las cepas que contenga el producto.

Cuadro 11. Respuesta de las variables analizadas estadísticamente en los dos pastos, durante el rebrote (20 días después del primer corte). Zamorano, Honduras, 2001.

	Infección (%)	Nº Esporas/cc	MS (%)	B A (g)	B R (g)
Testigo	10.0 d	28.5 c	17.7 ab	2.1 a	7.6 bc
Mycoral®	58.0 a	81.8 b	18.8 a	2.2 a	10.1 a
Burize	16.5 a	34.1 c	16.5 b	1.9 a	9.4 ab
Biovam	17.0 c	94.7 a	16.7 ab	1.9 a	7.7 bc
Bio/organics	23.0 b	74.3 b	17.8 ab	2.1 a	9.4 ab

* Promedios con diferente letra, en la misma columna, son estadísticamente distintos (SNK al 0.05)

MS = Materia seca, BA= Biomasa aérea y BR = Biomasa radical.

4.3 Factor económico

4.3.1 Frijol

En vista que Mycoral® fue el único producto que mostró diferencias significativas del testigo no inoculado y es el más barato; el análisis es aplicable sólo para este producto comparándolo con el testigo.

4.3.1.2 Costos diferenciales

Para la evaluación económica, sólo se consideró como costos diferenciales el costo del producto comercial de micorriza (Mycoral®) y el costo de la mano de obra empleada para la inoculación con micorriza (Cuadro 12), ya que los demás costos son iguales tanto para el testigo sin inocular como para todos los tratamientos.

Cuadro 12. Costos diferenciales de producción de frijol utilizando el producto Mycoral. Zamorano, Honduras, 2001.

Costos diferenciales	Costo/unidad		Cantidad		Valor
	(\$/Kg)	(\$/hr)	(Kg/ha)	(hr/ha)	(\$/ha)
Mycoral®	2.00		2000		4000
Mano de obra (micorriza)		0.32		7.0	2.24

* El cambio es 1 \$ = 16.00 Lps

Considerando solamente los costos diferenciales, se observa que la inversión en Mycoral® por hectárea es elevada y por lo tanto no rentable, a pesar de que es el producto comercial más barato del medio.

4.3.1.3 Análisis de dominancia

El análisis de dominancia descartó la posibilidad de utilizar Mycoral® en el cultivo de frijol por sus bajos beneficios netos (Cuadro 13) a pesar de que Mycoral® y los otros tratamientos presentaron rendimientos superiores al testigo.

Cuadro 13. Análisis de dominancia del rendimiento de frijol, usando Mycoral®. Zamorano, Honduras, 2001

Tratamientos	RDTO (Kg/ha)	Beneficios brutos	Costos diferenciales	Beneficios netos
		(\$/ha)		
Mycoral®	1500	960	4002	-3042 D
Testigo	800	512	0	512

No es rentable el uso de la micorriza para un pequeño productor, considerando el inóculo como suelo micorrizado, ya que los costos y la cantidad requerida por hectárea son elevados y no se justifica a inversión. Se debería optar por otro tipo de inoculación como el peletizado o recubrimiento de la semilla, para ver la manera de reducir los costos.

Cabe mencionar que el inóculo Mycoral® utilizado en este estudio fue de una fase de producción en invernadero en potes para fines experimentales. Se estima que la producción en volúmenes comerciales usando otro tipo de estructuras, por ejemplo camas, permitiría bajar los costos significativamente.

4.3.2. Pastos

No se aplica realizar análisis económico, porque los rendimientos con los productos comerciales de micorrizas no son muy diferentes del testigo y los que lo son presentan valores inferiores. El alto costo de los productos y la dificultad para obtenerlos, hace que no sea factible su uso en agricultura extensiva en Honduras.

5. CONCLUSIONES

Mycoral[®] fue el producto comercial que mejor comportamiento tuvo en la mayoría de las variables analizadas. Por lo tanto, podemos inferir que este producto es tan bueno como los que están en el mercado y puede difundirse su uso en la región.

Según el análisis realizado, algunos productos comerciales no traen la concentración de inóculo garantizada en su empaque.

El suelo es el mejor sustrato para la viabilidad de las esporas.

No se podría concluir que un producto es mejor que otro, a pesar de los resultados estadísticos, porque no se uniformizaron características como: concentración de inóculo, presentación o tipo de inóculo, especificidad en las cepas (algunos son mezclas de cepas y otros contienen una cepa específica) y las dosis también fueron variables.

Existe en el mercado una gran cantidad de productos comerciales a base de micorrizas en distintas presentaciones y de distintos precios. El reto para el agricultor es poder encontrar un producto de calidad y que le garantice una mejora en la productividad de sus cultivos.

Una limitante para el uso de los productos de micorrizas en frijol es su alto costo, por la aplicación sugerida de inóculo al suelo.

Los resultados se limitan a condiciones de Zamorano, bajo condiciones controladas de medio y clima.

La variable que mide mejor el efecto de micorrizas, para un agricultor, es la que está involucrada con rendimiento.

6. RECOMENDACIONES

Deben realizarse más ensayos tomando en cuenta dos aspectos importantes: el primero es la uniformización de los productos, es decir conseguir productos que tengan los mismos géneros de micorrizas, misma presentación comercial y misma concentración de inóculo. El otro aspecto es considerar las condiciones de clima y suelo del agricultor.

Obtener mayor información de los productos que están certificados y garantizados por alguna institución que regule el uso de estos productos.

En vista del alto costo de los productos comerciales de micorrizas, se debe realizar la transferencia de tecnología para que el agricultor aprenda a reproducir el inóculo en su propia finca.

Continuar con la investigación basada en micorrizas para diferentes cultivos, sobre todo en cultivos de alto valor comercial.

El uso de las micorrizas puede constituir una alternativa para la agricultura orgánica.

7. BIBLIOGRAFIA.

AGRIPAC. 2001. Pasto tanzania (en línea). Consultado en septiembre del 2001.

Disponible en:

http://www.agripac.com.ec/productos/semillas/naterra/tanzania/body_tanzania.html

Brundett, M. 2000. Roles of mycorrhizas. Consultado el 18 de Junio del 2000

Disponible en: <http://www.ffp.csiro.au/research/mycorrhiza/roles.html>

CIMMYT. 1988. La formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos: Un manual metodológico de evaluación económica. México, D.F., México. CIMMYT. 79p.

Corbera, J. 1998. Coinoculación *Bradyrhizobium japonicum*_ micorriza vesículo-arbuscular como fuente alternativa de fertilización para el cultivo de la soya. Cultivos Tropicales 19(1): 17-20. 70p.

Corbera, J.; Nápoles M. 2000. Evaluación agronómica de la co-inoculación de *Bradyrhizobium japonicum* y hongos micorrizógenos arbusculares en el cultivo de la soya sobre suelo ferralítico rojo. Cultivos Tropicales 21(1): 21-25p.

Crowder, L.V. 1969. Las gramíneas y leguminosas comunes en los trópicos. Comayagua, Honduras. Centro Nacional de Agricultura y Ganadería . Patrocinado por Ministerio de Recursos Naturales y Agencia para e Desarrollo Internacional (AID). 134 p.

Echegaray, A. 1995. Ciclo del nitrógeno y fases que lo constituyen. p 7-35 *In* Agromicrobiología: Elemento útil en la agricultura sustentable. Eds. Ferrera-Cerrato, R., Pérez-Moreno. PROEDAF, IRN, CP. Montecillo, México.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 1992. Gramíneas tropicales. Eds. P.J Skerman y F. Riveros. Roma, Italia. 849 p. N 23

Gonzáles, M. 1995. Interacción de la simbiosis endomicorrícica y la fijación biológica de Nitrógeno.p.166-179 *In* Agromicrobiología: Elemento útil en la agricultura sustentable. Eds. Ferrera-Cerrato, R., Pérez-Moreno. PROEDAF, IRN,CP. Montecillo, México.

Guzmán, C. 1999. Efecto de dos biofertilizantes comerciales en la producción de plántulas de melón (*Cucumis melo* L.). Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Tecmán, Colima, México. 40p.

Hemard, sf. Aspectos generales de las micorrizas. Consultado el 26 de julio del 2001. Disponible en <http://www.forestal.uchile.cl/curso/fivegf/mico.htm>

Hernández, A. 2001. Las micorrizas. Consultado el 26 de junio del 2001. Disponible en: <http://www.terralia.com/revista14/pagina12.htm>

Hernández M., Cuevas F., 1999. Evaluación de diferentes cepas de micorriza arbuscular en el cultivo del arroz en condiciones de inundación. Cultivos Tropicales 20(4): 19-22.

Higa, T.; Parr, J. s.f. Microorganismos benéficos para una agricultura y ambiente sostenible. Servicio de Investigación Agrícola. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Beltsville, Maryland, U.S.A.

Linderman, R. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions *In*: Mycorrhizae in sustainable agriculture. Eds. G. J. Bethlenfalvay, R. G. Linderman. Madison, Wisconsin. USA. American Society of Agronomy. P. 45-64.

Manjarrez, M.J.; Alarcón, A.; Ferrera-Cerrato, R. 2000. Biotecnología de la producción de inóculo micorrízico arbuscular y su control de calidad *In*: Ecología, fisiología y biotecnología de las micorrizas arbusculares. Eds. A. Alarcón; R. Ferrera-Cerrato. Estado de México, Mx. MUNDI-PRENSA DE cv. p 239-250.

Mukerji, K.G., Varma, A. 1998. Mycorrhizosphere microorganisms: Screening and evaluation. Ed. A. Varma. Springer. New york. 419 p.

Ortiz, R., Fernández, F. 1998. Efectividad del recubrimiento de semilla de arroz pregerminado con inoculante micorrizógeno arbuscular (Ecomic). Cultivos Tropicales 19 (2): 15-18.

Read, D. 1993. Mycorrhizas. p. 121-131. *In* Tropical Soil Biology and Fertility: A handbook of methods. Eds. Anderson, J.M., Ingram, J.S.I. CAB International Wallingford, Oxon.

Restrepo, L.F. 1992. Rendimiento y calidad del forraje, capacidad de producción de leche y cambios en la composición botánica de una pradera de Transvala (*Digitaria decumbens* Stent) bajo pastoreo continuo y rotacional. Tesis Ing. Agr. Escuela Agrícola Panamericana, El zamorano, Honduras, 57 p.

Rockefeller Foundation. sf. Phaseolus vulgaris L. Consultado el 13 de agosto del 2001. Disponible en: <http://www.rockfound.org.mx/vulgarisbiesp.html>

Rosas, J.C. 1998. El cultivo del frijol en América tropical. Zamorano, Honduras, Zamorano Academic Press. 52p.

Sabando, L.F. 1989. Evaluación por rendimiento y calidad de los pastos elefante (*Pennisetum purpureum* Schumm) y guinea (*Panicum maximum* Jacq), solos y en asociación con soya forrajera (*Neonotonia wightii* Lackey), bajo condiciones de corte. Tesis Ing. Agr. Escuela Agrícola panamericana, El Zamorano, Honduras, 79 p.

Safir, G. 1990. Micorrizas arbúsculo-vesicular y la productividad agrícola. p 201-216. *In* Biología de la productividad de los cultivos. Ed. P.S. Carlson. AGT Editor, S.A. D.F, México.

Sánchez, C.; Rivera, R.; Gonzáles, C.; Cupull, R.; Herrera, R.; Varela, M. 2000. Efecto de la inoculación de hongos micorrizógenos (HMA) sobre la producción de posturas de cafetos en tres tipos de suelos del macizo montañoso Guamuhaya. Cultivos Tropicales 21(3): 5-13.

Schenck, N. 1982. Methods and principles of mycorrhizal research. The American Phytopathological Society. St. Paul. Minnesota, USA. 244p.

SAS INSTITUTE INC. 2001. SAS/STAT Users's guide (version 6.12). fourth edition. SAS Institute, Inc. Cary, N:C. 912p.

Sieverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Alemania. GTZ. 37p.

Villalba, V. 2001. El uso de las micorrizas en la agricultura tropical sostenible. Buckman Laboratories SA de CV. Morelos. México. 1p.

Villalba, V.; Rodríguez, A. 2000. Las micorrizas y su importancia en la agricultura de exportación. Buckman Laboratories SA de CV. Morelos, México. 3p.

Varela, L.; Estrada, A. 1999. El papel de los microorganismos de la rizósfera y de la micorriza en la absorción de nutrimentos minerales y agua. p 137-150 *In* Ecofisiología vegetal y conservación de recursos genéticos. Eds. R. Orellana, J. A Escanilla; A. Larqué – Saavedra. Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), AC, México.

Yates, P. 1987. Better pastures for the tropics. Printed and bound by William Brooks Queensland Brisbane. Queensland, Australia. 75p

8. ANEXOS

Anexo 1

METODO PARA AISLAMIENTO Y CONTEO DE ESPORAS

- 1) Pesar una porción (submuestra) del suelo o medio de crecimiento colectado (p.e. 100 g) lo más rápido posible para evitar la desecación de esporas.
- 2) Vaciar la muestra en un envase de 2 litros y, usando una manguera pequeña, asperje directamente el contenido del envase con un fuerte chorro de agua. Llénelo hasta un litro, y deje establecer la partículas de suelo por 15 – 30 segundos (nota: suelos arenosos requieren menos tiempo para establecerse).
- 3) Vaciar la mezcla sin perturbar el sedimento y pásela por filtros de tamaños corrientes . Repita todo el proceso 1 ó 2 veces . El tamaño de la malla del filtro debe reflejar el tamaño de las esporas deseadas. Por ejemplo, esporas de *Glomus etunicatum* pueden ser recolectadas en una malla de 63 micrones, las cuáles estarán relativamente libres si se usa una malla mayor de 200 micrones.
- 4) Transferir el material filtrado a un tubo de centrifugación de 50 ml de capacidad. Use un embudo pequeño para evitar pérdidas del material filtrado. Enjuague cuidadosamente para recolectar la mayoría de las esporas de los tubos de centrifugación . Use un embudo con chorro más fino para mejores resultados. Si es necesario, añada agua hasta alcanzar aproximadamente 1 cm del borde del tubo.
- 5) Centrifugar a 300 rpm (1230 x g) por 3 minutos. Dejar que la centrífuga se pare por sí sola. Vacíe la mezcla en una solución sin perturbar el sedimento (**Nota: las esporas están mezcladas con el suelo**).
- 6) Suspender las partículas de suelo en una solución de 40% (p/v) sucrosa. La sucrosa refrigerada es dispensada con una botella de un litro de capacidad. Mezcle bien y centrifugue inmediatamente a 3000 rpm por 1 minuto. Presione el freno de la centrífuga. Vacíe la mezcla en un filtro de malla de menor diámetro evitando salpicar agua. Enjuague las esporas cuidadosamente por 1 minuto para remover la sucrosa.
- 7) Colocar las esporas en un plato petri de plástico de 5 cm capacidad, para ser observadas, y añada suficiente agua para evitar la desecación de las esporas. No

llene demasiado el plato, s  llelo con cinta plástica y póngalo en el refrigerador a 4   C.

OBSERVACIONES:

- Lave las mallas en agua con bastante presión para evitar contaminación entre muestras. Se recomienda usar jabón.
- Las esporas pueden ser contadas fácilmente en un plato petri marcado con líneas paralelas (aproximadamente 0.5 cm aparte una de la otra).
- Recupere las raíces recolectadas de la malla más grande para observar los propágulos y/o el grado de colonización.
- Esporocarpios de *Sclerocystis sp.* pueden ser encontrados en las mallas de mayor diámetro.
- Normalmente, se usa la malla de 425 micrones para recolectar esporas de tamaños desconocidos provenientes de muestras del campo.

Iniciado el ensayo se hicieron otras evaluaciones, para determinar la infección de raíces por la micorriza en, utilizando el método de Phillips y Hayman, 1970 (Read, 1993).

Anexo 2

METODO PARA CLARIFICAR Y TEÑIR MUESTRAS DE RAICES

Suposiciones de este método:

- A. Uso de equipo apropiado para mayor seguridad y protección personal (anteojos, guantes y delantal).
- B. Uso de cassettes de plástico (denso polymer tissue cassettes de Fisher Scientific) para retener las muestras de raíces.
- C. Todas las etapas que incluyan calentamiento de químicos deben ser llevadas a cabo en una cámara especial para el manejo de reactivos químicos .
- D. Lea cuidadosamente todas las instrucciones antes de empezar el proceso.

Etapas:

1. Prepare los cassettes con muestras de raíces y manténgalos en agua hasta que estén listos para clarificar las raíces.
2. Dispense en un beaker de 1 litro una cantidad suficiente que cubra todos los cassettes con 1cm de 10% KOH.
3. Caliente el KOH hasta que alcance 80 °C.
4. Coloque los cassettes en el KOH por el tiempo deseado:
15 minutos para cebolla y otras raíces tiernas
30 minutos para la mayoría de raíces (p.e. maíz, gramíneas)
5. Lave con agua 5 veces.

NOTA: Si las muestras de raíces tienen pigmentos oscuros (p.e. cafés, negros, morados), después de clarificar con KOH ponga los cassettes en un beaker con 30% agua oxigenada a baja temperatura (10 minutos a no más de 50 °C) hasta que las muestras pierdan el color y se vuelvan más claras. Revíselas constantemente para evitar daños en las estructuras de las raíces. Enjuague 5 veces con agua y proceda con la etapa siguiente.

6. Cubra los cassettes con agua y aumente 5 ml de HCl por cada 200 ml de agua. Mezcle y desagüe. Repítalo una vez (No enjuague los cassettes con agua).
7. Dispense suficiente tinte de azul de Trypan (0.05%) en un beaker de 1 ó 2 litros para cubrir los cassettes con 1 cm del tinte (dependiendo del tamaño de la muestra).
8. Caliente el tinte azul hasta alcanzar 80 °C. No incluya los cassettes.
9. Coloque los cassettes en el tinte azul de Trypan. Mantenga la temperatura a 80 °C. Después de 30 minutos, déjelo enfriar hasta que la temperatura baje a 50 °C. Dispense el tinte en un frasco, filtrándolo para remover pedazos de raíces, para ser reusado dos veces al máximo. Enjuague los cassettes una vez con agua.
10. Coloque las muestras teñidas en una bolsa plástica con etiqueta en el refrigerador.

Preparación del tinte azul de Trypan (0.05%)

En un frasco añada y mezcle constantemente los ingredientes en el siguiente orden :

- 1) 800 ml glicerina
- 2) 800 ml de ácido láctico
- 3) 800 ml de agua destilada
- 4) 1.2 g de tinte de azul de Trypan

Anexo 3

CANTIDAD UTILIZADA DE INOCULO Y COSTOS POR DOSIS

Producto	Dosis utilizada/postura	Dosis total
Mycoral	10g	20g
Burize	4cc	8cc
Biovam	10g	20g
Bio/organics	10g	20g

Producto	Costos/dosis/planta (Lps.)
Mycoral	1
Biovam	10
Burize	2.8
Bio/organics	3.6