

**Producción de inoculante de micorriza
vesículo-arbuscular empleando sustratos
alternativos**

Jorge Mauricio Galarza Puga

Honduras
Diciembre, 2003

Producción de inoculante de micorriza vesículo-arbuscular empleando sustratos alternativos

Trabajo de graduación presentado como requisito parcial para
optar al título de Ingeniero Agronomo en el
Grado Académico de Licenciatura

presentado por:

Jorge Mauricio Galarza Puga

Honduras
Diciembre, 2003

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

Jorge Mauricio Galarza Puga

Honduras
Diciembre, 2003

**Producción de inoculante de micorriza vesículo-arbuscular empleando
sustratos alternativos**

Presentado por:

Jorge Mauricio Galarza Puga

Aprobado:

Juan Carlos Rosas, Ph.D.
Asesor Principal

Alfredo Rueda, Ph. D.
Coordinador Área Temática
Fitotecnia

Gloria Arévalo de Gauggel, M.Sc.
Asesor

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

Byron Reyes, Ing. Agr.
Asesor

Antonio Flores, Ph.D.
Decano Académico

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso.

A mis padres Jorge Galarza y Sarita Puga, por ser lo máspreciado que tengo en mi vida.

A mis hermanas Labeira y Stephania, por el amor, la confianza, y el apoyo brindado incondicionalmente.

A mis queridos abuelos, por su sabiduría, ejemplo y cariño que me brindaron.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por estar en todo momento y en todo lugar guiándome por el buen camino.

A mis padres les agradezco por este momento y por el resto de mi vida, por depositar todo su apoyo y confianza en mí, por dar lo mejor de ellos para mi bienestar, por su invaluable enseñanza brindada cada día.

A mis hermanas Labeira y Stephania por darme a pesar de la distancia todo de ellas, su cariño, su amor.

A mis familiares que se encuentran en Ecuador y en el extranjero, en especial a mis primos, por brindarme a la distancia su apoyo y aprecio.

Al Doctor Rosas por su importante aporte a esta investigación.

A la Ingeniera Gloria de Gauggel por su tiempo, paciencia y dedicación brindado en este estudio.

Al Ingeniero Byron Reyes por su apoyo en este proyecto y por su amistad brindada.

A la Ingeniera Hilda Flores por su aporte en este estudio.

A la Ingeniera Lubwia Aranda y al Ingeniero Jorge Venegas por ayudarme en cualquier momento en este estudio y por su gran amistad brindada.

A Tomasa Colindres y al Personal del Programa de Investigaciones en Frijol y del Proyecto de Micorriza por su apoyo y su amistad.

A mis amigos de Ecuador y de la clase '02 y clase '03 por haber formado una hermandad que nos deja grandes recuerdos.

RESUMEN

Galarza Puga, Jorge M. 2003. Producción de inoculante de micorriza vesículo-arbuscular empleando sustratos alternativos. Proyecto Especial de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 34 p.

En Zamorano, Honduras, se pretende validar y distribuir en Centroamérica la tecnología de fertilización con base en micorrizas vesículo-arbusculares, debido a los beneficios que estos hongos brindan al cultivo, además de reducir la dependencia de insumos externos como fertilizantes químicos. El objetivo del estudio fue desarrollar sustratos adecuados para el manejo de *Brachiaria decumbens* en la producción del inoculante Mycoral[®] (micorriza vesículo-arbuscular) con fines de comercialización, minimizando el uso de suelo agrícola, y determinando su factibilidad técnica, ecológica y económica. La investigación se llevó a cabo en Zamorano, Honduras, entre abril y septiembre de 2003. El ensayo tuvo dos fases. En la primera se seleccionaron y prepararon sustratos considerados para la producción de Mycoral[®]; y en la segunda se estableció el ensayo en el invernadero para determinar el desarrollo de la micorriza. Los tratamientos evaluados para la producción de inoculante de micorriza fueron vermiculita:compost (proporción volumétrica 5:1); arena:compost (5.8:1); suelo rojo:compost (3.8:1); vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) y el testigo (sustrato utilizado actualmente) compuesto por suelo agrícola:arena en la proporción por peso 2:1. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Todos los tratamientos se fertilizaron foliarmente a partir de la sexta semana, excepto el testigo. Se muestreó a las 6 y 13 semanas después de sembrado el pasto *B. decumbens*, evaluando volumen y peso seco de raíces, peso seco del follaje, número de esporas en el sustrato, infección de raíces e índice de infección de raíces. Los sustratos que incluyeron suelo rojo fueron eficientes en el crecimiento y desarrollo de *B. decumbens*, pero mantuvieron la calidad del inoculante en un nivel medio. Se determinó que el uso de compost en los sustratos fue efectivo para suplir los nutrimentos necesarios y retener las esporas del hongo. Los sustratos vermiculita:compost:arena y arena:compost son una buena alternativa ecológica para la producción del inoculante Mycoral[®], mantienen la calidad de inoculante, cumplen con los requisitos de comercialización local y la exportación en el ámbito regional. El análisis económico reflejó que los costos de producción en el sustrato arena:compost no se diferencia mayormente del sustrato de uso convencional. La segunda opción, el sustrato vermiculita:compost:arena es 0.12 USD/kg más caro que el sustrato actual.

Palabras clave: Calidad, costos, ecológico, Mycoral[®], sustratos.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Autoría.....	ii
Página de firmas.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Resumen.....	vi
Contenido.....	vii
Índice de Cuadros.....	ix
Índice de Figuras.....	xi
Índice de Anexos.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
UBICACIÓN.....	3
MATERIAL EXPERIMENTAL.....	3
METODOLOGÍA.....	3
PRIMERA FASE.....	4
Selección de los materiales base para la elaboración de los sustratos.....	4
Análisis físico y químico de los materiales.....	4
Formulaciones de los sustratos.....	4
Determinación de la necesidad de fertilización.....	4
SEGUNDA FASE.....	5
Establecimiento del ensayo en el invernadero.....	5
TRATAMIENTOS.....	6
MUESTREOS Y VARIABLES.....	6
DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	6
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
FORMULACIÓN DE SUSTRATOS.....	7
Efecto de la pasteurización.....	7
Necesidad de fertilización foliar.....	8
EFFECTO DEL SUSTRATO EN LA PRODUCCIÓN DE INOCULANTE.....	8
PRIMER MUESTREO: 6 SEMANAS DESPUÉS DE SIEMBRA.....	9
Peso seco del follaje y peso seco de las raíces.....	9
Volumen de raíces.....	10
Número de esporas e infección de raíces.....	10
Índice de infección de raíces.....	11

SEGUNDO MUESTREO: 13 SEMANAS DESPUÉS DE SIEMBRA...	12
Peso seco del follaje y peso seco de las raíces.....	12
Volumen de raíces.....	13
Número de esporas e infección de raíces.....	13
Índice de infección de raíces.....	14
COMPARACIÓN ENTRE EL PRIMER Y SEGUNDO MUESTREO...	14
Peso seco del follaje.....	16
Peso seco de las raíces.....	17
Volumen de raíces.....	18
Número de esporas.....	19
Infección de raíces.....	20
Índice de infección de raíces	21
ANÁLISIS ECONÓMICO.....	22
Costos diferenciales.....	22
CONCLUSIONES.....	23
RECOMENDACIONES.....	24
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
ANEXOS.....	26

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro

1.	Comparación nutricional de la fase soluble en medio pasteurizado de sustrato suelo agrícola:arena (2:1) y los sustratos propuestos. Zamorano, Honduras, 2003.....	7
2.	Diferencia en el aporte de nutrimentos de la fase soluble de los sustratos en comparación a la Solución Nutritiva (SN) requerida por la <i>Brachiaria decumbens</i> . Zamorano, Honduras, 2003.....	8
3.	Efecto de los sustratos en el Peso Seco del Follaje (PSF), Peso Seco de las Raíces (PSR), Volumen de Raíces (VR), Número de Esporas del hongo (NE), Infección de Raíces (IR) e Índice de Infección de Raíces (IIR) a las seis semanas después de la siembra del pasto <i>Brachiaria decumbens</i> . Zamorano, Honduras, 2003.....	9
4.	Efecto de los sustratos sobre el peso seco del follaje y peso seco de las raíces del pasto <i>Brachiaria decumbens</i> a las seis semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.....	10
5.	Efecto de los sustratos sobre el volumen de raíz del pasto <i>Brachiaria decumbens</i> a las seis semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.....	10
6.	Efecto de los sustratos sobre el número de esporas y el porcentaje de infección de raíces del pasto <i>Brachiaria decumbens</i> a las seis semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.....	11
7.	Efecto de los sustratos sobre el índice de infección de raíz del pasto <i>Brachiaria decumbens</i> a las seis semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.....	11

8.	Efecto de los sustratos en el Peso Seco del Follaje (PSF), Peso Seco de las Raíces (PSR), Volumen de Raíces (VR), Número de Esporas del hongo (NE), Infección de Raíces (IR) e Índice de Infección de Raíces (IIR) a las 13 semanas después de la siembra del pasto <i>Brachiaria decumbens</i> . Zamorano, Honduras, 2003.....	12
9.	Efecto de los sustratos sobre el peso seco del follaje y peso seco de las raíces del pasto <i>Brachiaria decumbens</i> a las 13 semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.....	13
10.	Efecto de los sustratos sobre el volumen de raíz del pasto <i>Brachiaria decumbens</i> a las 13 semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.....	13
11.	Efecto de los sustratos sobre el número de esporas y la Infección de Raíces del pasto <i>B. decumbens</i> a las 13 semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.....	14
12.	Efecto de los sustratos sobre el índice de infección de raíz del pasto <i>Brachiaria decumbens</i> a las 13 semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.....	14
13.	Efecto de los sustratos en el Peso Seco del Follaje (PSF), Peso Seco de las Raíces (PSR), Volumen de Raíces (VR), Número de Esporas del hongo (NE), Infección de Raíces (IR) e Índice de Infección de Raíces (IIR) a 6 y 13 semanas después de la siembra (SDS) de <i>B. decumbens</i> . Zamorano, Honduras, 2003.....	15
14.	Costos diferenciales de sustratos alternativos para la producción de inoculante de micorriza vesículo-arbuscular, Zamorano, Honduras, 2003.....	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura

1. Efecto de los sustratos en el incremento del peso seco del follaje de *Brachiaria decumbens* durante la producción de micorriza VAM entre la sexta y treceava semana después de la siembra. (V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa). Zamorano, Honduras, 2003..... 16
2. Efecto de los sustratos en el del peso seco de las raíces de *Brachiaria decumbens* durante la producción de micorriza VAM entre la sexta y treceava semana después de la siembra. (V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa). Zamorano, Honduras, 2003..... 17
3. Efecto de los sustratos en el volumen de raíces de *Brachiaria decumbens* durante la producción de micorriza VAM entre la sexta y treceava semana después de la siembra. (V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa). Zamorano, Honduras, 2003..... 18
4. Efecto de los sustratos utilizados para la producción de inoculante micorrízico en el número de esporas de micorriza vesículo-arbuscular entre la sexta y treceava semana después de la siembra. (V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa). Zamorano, Honduras, 2003..... 18

5. Efecto de los sustratos utilizados para la producción de inoculante micorrízico en la infección de raíces de *Brachiaria decumbens* entre la sexta y treceava semana después de la siembra. (V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa). Zamorano, Honduras, 2003..... 19
6. Efecto de los sustratos utilizados para la producción de inoculante micorrízico en el índice de infección de raíces de *Brachiaria decumbens* entre la sexta y treceava semana después de la siembra. (V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa). Zamorano, Honduras, 2003..... 20

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo

1.	Requisitos para la exportación de Mycoral [®] en Honduras C.A.	25
2.	Propiedades físicas de diferentes sustratos considerados para la producción de Mycoral [®] . Zamorano, Honduras, 2003.....	26
3.	Análisis químico de sustratos considerados para la producción de Mycoral [®] . Zamorano, Honduras, 2003.....	27
4.	Formulación de sustratos.....	28
5.	Comparación porcentual de las propiedades químicas por efecto de la pasteurización en la disponibilidad de elementos en diversos sustratos. Zamorano, Honduras, 2003.....	29
6.	Método para el aislamiento de esporas.....	31
7.	Método para clarificar y teñir muestras de raíces.....	33
8.	Contenido de pH en los sustratos utilizados para la producción de Mycoral [®] , en la etapa inicial y final del ensayo. Zamorano, Honduras, 2003.....	34
9.	Costos diferenciales de materiales usados para formular sustratos alternativos para la producción de inoculante de micorriza vesículo-arbuscular, Zamorano, Honduras, 2003.....	35

INTRODUCCIÓN

La producción de alimentos demanda un manejo eco-amigable para disminuir la contaminación ambiental. Una alternativa para dicho fin es el uso de biofertilizantes a base de micorrizas, que son hongos benéficos que han co-evolucionado en simbiosis con las plantas (Raddatz, 2001). La función más importante de las micorrizas es incrementar el volumen de suelo explorado mediante un sistema de absorción adicional (red de hifas), obteniendo mayor eficiencia en la absorción de agua y nutrimentos por la planta, además de tener un efecto fitosanitario beneficioso (Sieverding, 1991).

Actualmente, en Zamorano se produce el inoculante Mycoral® a base de micorrizas, en un sustrato de suelo agrícola y arena; las raíces infectadas del pasto *Brachiaria decumbens*, ofrecen excelentes resultados para la producción de esporas e hifas. Los hongos utilizados en la producción del inóculo corresponden a tres géneros de micorrizas vesículo-arbusculares (VAM), *Glomus*, *Acaulospora* y *Entrophospora*. Estas se conocen por formar vesículas y arbusculos; las primeras son estructuras que sirven como reserva de alimento (lípidos y carbohidratos) para el hongo, y las segundas para el intercambio bidireccional de carbohidratos y nutrimentos (Raddatz, 2001). Otras estructuras del hongo son las hifas, cuyo diámetro es menor que los pelos radiculares (2-5 µm vs 10-20 µm); estas estructuras obligan al hongo a ser un organismo biótrofo, ya que tienen que desarrollarse en las raíces.

El mecanismo y modo de acción de las micorrizas VAM consiste de la preinfección, infección primaria, formación de los arbusculos y vesículas, colonización de la rizósfera y formación de estructuras reproductivas del hongo (Mukerji *et al.*, 2000). Una vez desarrolladas las estructuras del hongo, a la cuarta semana aproximadamente, se pueden observar los efectos de la simbiosis, especialmente en condiciones adversas para las plantas, debido al aporte del hongo en el desarrollo de la planta (Allen, 1991).

Sáenz (2002) evaluó y caracterizó cuatro inoculantes comerciales de micorrizas (Bio/organics, Biotan, Mycoral® y Burize) en frijol (*Phaseolus vulgaris L.*), pasto Tanzania (*Panicum maximun Jacq*) y pasto Transvala (*Digitaria decumbens Stent*), obteniendo con el producto Mycoral® el mejor comportamiento simbiótico en la mayoría de las variables analizadas. La producción de Mycoral® en suelo es exitosa, pero con el inconveniente ecológico de la extracción de suelo agrícola para su producción y comercialización, por lo que es necesario evaluar otros sustratos que cumplan estos requisitos.

Considerando la necesidad de producir inoculante en un sustrato con fines ecológicos y económicos de comercialización, en Zamorano se han probado diferentes sustratos. Suárez (2001) evaluó medios compuestos por suelo rojo:suelo agrícola y suelo rojo:arena, ambos en proporción 3:1, con tres niveles de P (10, 30 y 60 ppm), con y sin variación de pH mediante la adición de cal (1.0 t/ha). La calidad del inóculo evaluado con estos dos medios sustitutos fue inferior a la utilizada en el sustrato normal (suelo agrícola:arena; 2:1). La adición de cal a los sustratos no mejoró la producción de esporas ni la infección de raíces. El incremento en el contenido de P (> 30 ppm) disminuyó la infección por el hongo. Moreta (2002) evaluó varios sustratos inorgánicos para la producción del inóculo VAM, obteniendo los mejores resultados con vermiculita, piedra de cantera y suelo rojo. El inoculante Mycoral® se produce actualmente en una mezcla de suelo agrícola y arena (2:1). El mismo autor obtuvo un buen crecimiento de la *B. decumbens* y desarrollo del hongo VAM al aplicar una solución nutritiva enriquecida a los sustratos inorgánicos; sin embargo, esta alternativa aumenta significativamente los costos de producción.

Se realizó este estudio debido a que se requiere utilizar sustratos alternativos que cumplan con los requisitos de la comercialización local y exportación del inoculante (Anexo 1), y que permitan reducir el empleo de suelo agrícola.

Los sustratos han sido caracterizados según su naturaleza, capacidad de degradación, origen (materiales orgánicos e inorgánicos), y propiedades (químicamente activos o inertes), entre otros. Las características para obtener un sustrato ideal dependen de varios factores incluyendo material vegetal, condiciones climáticas, programas de riego y fertilización, costos y otros (OIRSA, s.f.). Entre las propiedades físicas y químicas para obtener un medio favorable para el crecimiento del cultivo se citan las físicas (baja densidad aparente, elevada capacidad de retención de agua, fácilmente disponible, suficiente suministro de aire) y químicas (baja capacidad de intercambio catiónico, baja salinidad, capacidad de mantener constante el pH). Otras características importantes son la reproductividad y disponibilidad del sustrato, libre de semillas no deseadas, sustancias fitotóxicas, de nemátodos y otros patógenos no deseados y un bajo costo (INFOAGRO, 2003).

En este estudio se planteó desarrollar sustratos adecuados para el manejo de *Brachiaria decumbens* en la producción de inoculante de micorriza vesículo-arbuscular con fines de comercialización. Esto se realizó mediante la caracterización física y química de los sustratos a evaluar, así como la determinación del efecto de los sustratos y el manejo de la nutrición, para obtener un buen crecimiento y desarrollo de *B. decumbens*, y mantener la calidad del inoculante Mycoral®. También se estimó la relación costo-beneficio del uso de los sustratos y del manejo nutricional de las plantas de *B. decumbens* hospederas, y se identificaron alternativas ecológicas (sustratos) para la producción local de Mycoral®.

MATERIALES Y MÉTODOS

UBICACIÓN

El estudio se realizó en el invernadero N° 1 del Programa de Biotecnología de la Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria, Escuela Agrícola Panamericana/Zamorano; localizada en el Valle del Yeguaré, departamento de Francisco Morazán, Honduras, con una temperatura promedio anual de 23° C, 800 msnm y con una precipitación promedio anual de 1,200 mm.

MATERIAL EXPERIMENTAL

El material hospedero para la producción del inóculo fue el pasto *Brachiaria decumbens*. Esta planta presenta un sistema radical abundante, de rápido crecimiento y establece una simbiosis altamente efectiva con la micorriza vesículo-arbuscular (VAM). Para la inoculación de las semillas se utilizó el producto Mycoral[®] que consta de tres cepas de hongos VAM, de los géneros *Glomus*, *Acaulospora* y *Entrophospora*. Los materiales que se tomaron como base para la preparación de los sustratos fueron vermiculita (V), compost (C), suelo rojo (SR), arena (A) y suelo agrícola (SA). La vermiculita y el suelo rojo se seleccionaron a partir de los resultados obtenidos por Moreta (2002). A estos sustratos se adicionaron compost y arena; el primero para mejorar la retención de esporas y disponibilidad de nutrientes, y el segundo debido a su mayor disponibilidad y menor costo.

METODOLOGÍA

El ensayo fue llevado a cabo en dos fases. En la primera se seleccionaron y prepararon sustratos considerados para la producción de Mycoral[®]; y en la segunda se estableció el ensayo en el invernadero para determinar el desarrollo de la micorriza.

PRIMERA FASE

Selección de los materiales base para la elaboración de los sustratos

Con base en los resultados de estudios realizados anteriormente por Moreta (2002) y Suárez (2001), los materiales base de los sustratos a probar en el estudio fueron arena, suelo rojo, vermiculita y compost, debido al aporte físico, químico y ecológico que brindan, versus suelo agrícola:arena que se usan actualmente. Los materiales evaluados se obtuvieron de diferentes lugares; la arena, suelo agrícola y suelo rojo se recolectaron del área del valle de Zamorano; el compost se obtuvo de la compostera que maneja el Programa de Investigaciones en Frijol de Zamorano y la vermiculita fue importada de los Estados Unidos. Para obtener partículas de tamaño similar, se colaron los materiales individualmente (para quitar terrones y suciedades grandes) con una malla metálica. Debido a su naturaleza, la vermiculita no necesitó ser colada.

Análisis físico y químico de los materiales

Previo al uso de los materiales (vermiculita, compost, arena y suelo rojo) y del sustrato suelo agrícola:arena (2:1) y para poder establecer la proporción a usar de cada material, se realizó un análisis físico (densidad, porosidad y capacidad de retención de agua a saturación) (Anexo 2) en el Laboratorio de Biotecnología, y químico (materia orgánica, pH, macro y micro elementos) de los mismos. Estos sustratos se analizaron con y sin pasteurización para ver el efecto de la temperatura en la disponibilidad de los elementos contenidos en ellos. El análisis químico se realizó en las fases intercambiable y soluble (Anexo 3), llevado a cabo en el Laboratorio de Suelos de Zamorano.

Formulaciones de los sustratos

La formulación de los sustratos se realizó con base en los resultados de análisis en la fase soluble de sustrato pasteurizado; se establecieron las posibles proporciones de cada material para generar una mezcla o nuevo sustrato similar en composición química al sustrato testigo (suelo agrícola:arena, 2:1) (Anexo 4). Se tomaron los datos de la fase soluble ya que es en ella donde los nutrientes están disponibles inmediatamente para las plantas. Se tomaron los resultados del material pasteurizado debido a que ésta es una práctica normal realizada a los sustratos para producir Mycoral[®].

Determinación de la necesidad de fertilización

Moreta (2002), menciona que la solución nutritiva ideal para el pasto *Braquiaria decumbens* es N:100, P:15, K:60, Ca:80, Mg:22 ppm. Según Moreta (2002), en algunos sustratos se perdieron nutrientes por efecto de lixiviación o lavado, lo que hizo necesario la utilización de una solución nutritiva adicional, aumentando los costos de producción. Por el contrario, en el testigo (suelo agrícola:arena, 2:1) no se requirió fertilización adicional.

A fin de determinar la necesidad de fertilización adicional se comparó el aporte potencial de nutrientes de los sustratos propuestos y el testigo versus la solución nutritiva.

SEGUNDA FASE

Establecimiento del ensayo en el invernadero

Una vez determinadas las proporciones de materiales para los nuevos sustratos, se procedió a establecer el ensayo en invernadero donde se utilizaron maceteros plásticos de seis pulgadas (1.5 L) realizando las siguientes actividades:

- **Pasteurización de los sustratos:** todos los sustratos a excepción de la vermiculita, fueron pasteurizados por una hora a 87 °C. La vermiculita fue pasteurizada en un autoclave por 20 minutos a 121 °C y 15 PSI para evitar su ignición.
- **Esterilización de los maceteros y mesas de soporte:** se preparó una solución de cloro al 2% donde se sumergieron los maceteros por tres horas, enjuagándolos luego. Las mesas de soporte para los maceteros se lavaron con agua con detergente (en proporción 9:1), se enjuagó y luego se asperjó con la solución de cloro.
- **Esterilización de semillas:** con alcohol (95%) por 30 segundos, luego se las colocaron en cloro (1%) por 3 minutos y después se realizaron cinco enjuagues con agua estéril.
- **Inoculación:** al momento de la siembra se abrieron dos surcos en cada macetero donde se colocó el Mycoral[®] y las semillas sobre el inóculo; se utilizó aproximadamente 40 g de Mycoral[®] por macetero (20 g por postura).
- **Siembra:** las semillas limpias fueron sembradas a chorro corrido sobre el Mycoral[®], utilizando aproximadamente 40 semillas por macetero (en dos posturas).
- **Raleo:** para tener un número uniforme de plantas por macetero se practicó un raleo, tres semanas después de siembra, dejando aproximadamente 20 plantas por macetero.
- **Riego:** se regó al menos una vez al día, dependiendo del requerimiento hídrico que presentaron las plantas. A partir de la sexta semana se permitió un estrés, para favorecer el establecimiento del hongo en el hospedero, cambiando el régimen de riego a cada dos días durante la semana.
- **Fertilización foliar:** se realizó a todos los tratamientos, exceptuando al testigo, para compensar la falta de nutrimentos de los sustratos. Ésta se inició a los 49 días después de la siembra, tres veces por semana, por cuatro semanas, siempre que se observara deficiencias de nutrimentos en el follaje. Se fertilizaró foliarmente alternando urea y fertilizante 20-20-20 semanalmente.
- **Pruebas de laboratorio:** para comprobar el grado de infección de raíces y el número de esporas a las 6 y 13 SDS se realizaron muestreos siguiendo el procedimiento usado por el laboratorio de Biotecnología Aplicada (Anexos 5 y 6).

TRATAMIENTOS

A partir del análisis físico y químico realizado a cada material (Anexos 1 y 2), se propusieron las mezclas de sustratos a probar en las proporciones volumétricas siguientes: vermiculita:compost (5:1), arena:compost (5.8:1), suelo rojo:compost (3.8:1), vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1) y vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) más el sustrato usado convencionalmente suelo agrícola: arena (2:1).

MUESTREOS Y VARIABLES

Se realizaron dos muestreos de dos maceteros de cada repetición y de cada tratamiento por muestreo. El primero se realizó a las 6 SDS, y el segundo a las 13 SDS. En los muestreos se estimó volumen (cc) y peso seco de las raíces (g), peso seco del follaje (g) por macetero, número de esporas/ ml en 4 g de suelo y la infección de las raíces (%) para determinar la calidad del inoculante.

Para analizar integralmente los resultados, se utilizaron los datos de volumen de raíces con el de infección mediante un índice de infección de raíces (Volumen de raíz * Infección de raíz / 100). Este índice se aplicó en este estudio e indica en términos absolutos la cantidad de puntos de infección por unidad de volumen.

DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño experimental empleado fue de bloques completos al azar. La unidad experimental fue cada macetero. Se evaluaron seis tratamientos. Cada tratamiento constó de ocho maceteros y se tuvo cuatro repeticiones por tratamiento, para un total de 192 unidades experimentales.

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y una separación de medias utilizando el programa estadístico MSTAT[®]. También se realizó un análisis costo/beneficio de cada tratamiento para ver su factibilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FORMULACIÓN DE SUSTRATOS

Efecto de la pasteurización

En los resultados de los análisis químicos de los materiales empleados en los sustratos se observaron variaciones en la disponibilidad de elementos nutritivos por efecto de la pasteurización (Anexo 7). En la fase soluble hay un aumento de la disponibilidad de K, Ca y Mg en la vermiculita y compost, y de Ca, Mg en el suelo agrícola:arena. Para el P y N, en todos los materiales, excepto la vermiculita, el efecto de la pasteurización fue detrimental. Se compararon los resultados del sustrato suelo agrícola:arena (2:1) versus la composición estimada de las mezclas propuestas de los materiales que alcanzaran contenidos nutricionales parecidos a este sustrato base (Cuadro 1).

Cuadro 1. Comparación nutricional de la fase soluble en medio pasteurizado de sustrato suelo agrícola:arena (2:1) y los sustratos propuestos. Zamorano, Honduras, 2003.

Elemento (mg/kg)	SUSTRATOS PROPUESTOS*					
	SA:A	V:C	A:C	SR:C	V:C:A	V:C:SR
pH	6.0	6.8	6.9	3.8	7.4	4.2
N	25	74	85	77	140	147
P	1	1	1	2	5	2
K	105	107	88	104	127	184
Ca	221	149	193	153	373	298
Mg	34	44	40	36	63	75

*SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa; V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); vermiculita:compost:arena (1.2 : 1.1 : 1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8 : 2.7 : 1) en proporción volumétrica.

Como se observa en el Cuadro 1, el pH de los sustratos es el adecuado para crecimiento de la mayoría de especies vegetales, a excepción de los sustratos que contienen suelo rojo (SR:C y V:C:SR) que presentan pH ácidos debido a que este tipo de suelo aporta acidez al medio. El pH en todos los sustratos fue similar a inicio y al final del ensayo (Anexo 8). Aunque no se logró obtener una composición química igual en todos los elementos con las proporciones planteadas, se obtuvieron valores aproximados al contenido de nutrientes del sustrato suelo agrícola:arena, por lo cual se trabajó con estas proporciones en cada tratamiento.

El contenido de P en todos los casos se mantuvo por debajo de 30 ppm, el cual se considera que no es limitante para el establecimiento de la micorriza (Sieverding, 1991).

Necesidad de fertilización foliar

La necesidad de la fertilización adicional se estableció al comparar mediante el aporte potencial de nutrimentos de los sustratos propuestos y el testigo versus la solución nutritiva adecuada para la *Brachiaria decumbens* según Moreta (2002) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Diferencia en el aporte de nutrimentos de la fase soluble de los sustratos en comparación a la Solución Nutritiva (SN) requerida por la *Brachiaria decumbens*. Zamorano, Honduras, 2003.

Elemento	SN	SA:A	V:C	A:C	SR:C	V:C:A	V:C:SR
	ppm						
N	100	-75	-25	-15	-23	-20	43
P	15	-14	-14	-13	-14	-14	-14
K	60	45	47	28	44	37	123
Ca	80	141	69	113	72	91	215
Mg	22	12	22	18	14	20	52

SN = solución nutritiva; SA:A = suelo agrícola:arena (2:1); V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8 : 1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8 : 1); V:C:A = vermiculita:compost:arena (1.2 : 1.1 : 1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8 : 2.7 : 1); proporciones volumétricas.

Se aprecian valores negativos para N (excepto en el sustrato V:C:SR) y P, y positivos para los demás elementos. Esto implica que se debe hacer aplicaciones adicionales de N y P para suplir una deficiencia potencial de estos elementos en el desarrollo de la planta. Por esta razón se determinó hacer las aplicaciones foliares a partir de la novena semana con N-P-K, alternando urea y fertilizante 20-20-20 tres veces por semana. Mediante estas aplicaciones se aportaron 2,900; 260 y 520 ppm por semana de N,P y K, respectivamente.

EFFECTO DEL SUSTRATO EN LA PRODUCCIÓN DE INOCULANTE

El desarrollo de estructuras del hongo micorrízico VAM en simbiosis con la *Brachiaria decumbens* se observa aproximadamente a las 4 SDS (Allen, 1991). Con base en esta sugerencia en el ensayo se realizaron dos muestreos, a las 6 y 13 SDS. Las variables evaluadas en los dos muestreos fueron Peso Seco del Follaje (PSF), Peso Seco de las Raíces (PSR), Volumen de Raíces (VR), Número de Esporas del hongo (NE), Infección de Raíces (IR) e Índice de Infección de Raíces (IIR).

PRIMER MUESTREO: 6 SEMANAS DESPUÉS DE SIEMBRA

En todas las variables evaluadas en el primer muestreo se observaron diferencias significativas (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto de los sustratos en el Peso Seco del Follaje (PSF), Peso Seco de las Raíces (PSR), Volumen de Raíces (VR), Número de Esporas del hongo (NE), Infección de Raíces (IR) e Índice de Infección de Raíces (IIR) a las seis semanas después de la siembra del pasto *Brachiaria decumbens*. Zamorano, Honduras, 2003.

Tratamiento	PSF	PSR	VR	NE ^E	IR ^I	IIR
	(g/maceta)		(ml/maceta)	(ml/100 g)	(%)	(%)
V:C	19.5c*	3.6b	26.8b	48.0ab	30.1b	7.4bc
A:C	14.3e	3.3b	26.0b	44.0ab	73.8a	18.3ab
SR:C	20.3bc	7.1a	43.8a	21.9b	25.5b	11.0bc
V:C:A	16.6d	3.6b	24.9b	56.0a	40.5ab	8.8bc
V:C:SR	21.6a	4.0b	28.0b	42.0ab	29.6b	7.0c
SA:A	21.5ab	5.0b	31.6b	26.1ab	75.7a	25.3a
DMS (0.10)	1.06	2.40	61.1	649.9	1,009	78.88
CV (%)	5.45	35.30	25.92	66.45	69.25	68.49

V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A = vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa

*Valores con diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, $P \leq 0.10$)

^E Número de esporas Alto: ≥ 40 , Medio: 20-39, Bajo: ≤ 19

^I Infección de raíces Alto: ≥ 30 , Medio: 20-29, Bajo: ≤ 19

Peso Seco del Follaje y Peso Seco de las Raíces. El mayor PSF se obtuvo al cultivar el pasto en el sustrato V:C:SR, pero no se diferenció del sustrato testigo SA:A. El menor peso lo mostraron los sustratos V:C:A y A:C. La mayor respuesta en el PSR se observó en el sustrato SR:C; siendo los demás tratamientos menores y no significativos entre sí (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto de los sustratos sobre el peso seco del follaje y peso seco de las raíces del pasto *Brachiaria decumbens* a las seis semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.

Sustrato ^z	Peso seco (g/macetero)	
	Follaje	Raíces
V : C : SR	21.6 a *	4.0 b
SA : A	21.5 a b	5.0 b
SR : C	20.3 b c	7.1 a
V : C	19.5 c	3.6 b
V : C : A	16.6 d	3.6 b
A : C	14.3 e	3.3 b

^z V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A = vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa

*Valores con diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, P≤ 0.10).

Volumen de Raíces. El sustrato SR:C presentó un mayor desarrollo de raíces en el pasto, no se observaron diferencias significativas entre los demás tratamientos. Por otra parte los sustratos A:C y V:C:A presentaron los menores valores de VR (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto de los sustratos sobre el volumen de raíz del pasto *Brachiaria decumbens* a las seis semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.

Sustrato ^z	Volumen de raíz (ml/macetero)
SR : C	43.8 a *
SA : A	31.6 b
V : C : SR	28.0 b
V : C	26.8 b
A : C	26.0 b
V : C : A	24.9 b

^z V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A = vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa

*Valores con diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, P≤ 0.10).

Número de Esporas e Infección de Raíces. En cuanto al NE, no se observó una diferencia significativa entre los sustratos, a excepción del sustrato V:C:A y SR:C, donde en el primero hubo una mayor cantidad de esporas. El NE en la mayoría de los sustratos fue alto; las excepciones fueron con los sustratos SA:A y SR:C que presentaron un NE medio.

La IR fue mayor al utilizar el sustrato SA:A y el sustrato A:C; mientras que, no se observaron diferencias significativas entre los demás sustratos. Ningún sustrato obtuvo bajas tasas de infección (Cuadro 6).

Cuadro 6. Efecto de los sustratos sobre el número de esporas y el porcentaje de infección de raíces del pasto *Brachiaria decumbens* a las seis semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.

Sustrato ^z	Número de esporas ^E (ml/100 g de sustrato)	Infección de raíz ^I (%)
V : C : A	56.0 a *	40.5 a b
V : C	48.0 a b	30.0 b
A : C	44.0 a b	73.8 a
V : C : SR	42.0 a b	29.6 b
SA : A	26.1 a b	75.7 a
SR : C	21.9 b	25.5 b

^z V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa

*Valores con diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, $P \leq 0.10$).

^E Número de esporas Alto: ≥ 40 , Medio: 20-39, Bajo: ≤ 19

^I Infección de raíces Alto: ≥ 30 , Medio: 20-29, Bajo: ≤ 19

Índice de Infección de Raíces. El mayor IIR se observó en el sustrato testigo SA:A, pero no hubo diferencia significativa con el sustrato A:C. Por otra parte, el que IIR presentó fue el sustrato V:C:SR (Cuadro 7).

Cuadro 7. Efecto de los sustratos sobre el índice de infección de raíz del pasto *Brachiaria decumbens* a las seis semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.

Sustrato ^z	Índice de infección de raíces (ml/macetero)
SA : A	25.3 a *
A : C	18.3 a b
SR : C	11.0 b c
V : C : A	8.8 b c
V : C	7.4 b c
V : C : SR	7.0 c

^z V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa

*Valores con diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, $P \leq 0.10$).

SEGUNDO MUESTREO: 13 SEMANAS DESPUÉS DE SIEMBRA

En este muestreo se evaluaron las mismas variables que en el primer muestreo (Cuadro 8).

Cuadro 8. Efecto de los sustratos en el Peso Seco del Follaje (PSF), Peso Seco de las Raíces (PSR), Volumen de Raíces (VR), Número de Esporas del hongo (NE), Infección de Raíces (IR) e Índice de Infección de Raíces (IIR) a las 13 semanas después de la siembra del pasto *Brachiaria decumbens*. Zamorano, Honduras, 2003.

Tratamiento ^z	PSF (g/maceta)	PSR	VR (ml/maceta)	NE (ml/100 g)	IR (%)	IIR (%)
V:C	21.2c*	9.5c	55.4c	33.5b	48.7bc	26.5cd
A:C	14.6d	7.7c	49.8c	31.6b	73.3a	36.0bc
SR:C	24.0b	16.6a	79.6a	7.6c	40.2cd	32.5bc
V:C:A	20.6c	9.0c	57.1c	50.3a	75.6a	42.6ab
V:C:SR	29.4a	13.0b	68.5b	5.1c	27.0d	18.1d
SA:A	27.7a	14.0ab	72.8ab	8.5c	64.1ab	47.0a
DMS (0.10)	4.624	6.602	49.45	125.0	167.5	72.93
CV (%)	9.39	22.15	11.01	49.06	23.62	25.27

^z V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa

*Valores con diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, $P \leq 0.10$)

^E Número de esporas Alto: ≥ 40 , Medio: 20-39, Bajo: ≤ 19

^I Infección de raíces Alto: ≥ 30 , Medio: 20-29, Bajo: ≤ 19

Peso Seco del Follaje y Peso Seco de las Raíces. Las plantas cultivadas en los sustratos V:C:SR y SA:A presentaron el mayor PSF, sin encontrarse diferencia significativa entre ambos. Por otro lado el mayor PSR se obtuvo con el sustrato SR:C, sin mostrar diferencias significativas con el sustrato SA:A (Cuadro 9).

Cuadro 9. Efecto de los sustratos sobre el peso seco del follaje y peso seco de las raíces del pasto *Brachiaria decumbens* a las 13 semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.

Sustrato ^z	Peso seco (g/macetero)	
	Follaje	Raíces
V : C : SR	29.4 a *	13.0 b
SA : A	27.7 a	14.0 a b
SR : C	24.0 b	16.6 a
V : C	21.2 c	9.5 c
V : C : A	20.6 c	9.0 c
A : C	14.6 d	7.7 c

^z V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa

*Valores con diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, P≤ 0.10)

Volumen de Raíces. El pasto cultivado en SR:C ó en SA:A presentó el mayor VR, pero el SA:A no se diferenció estadísticamente del sustrato V:C:SR (Cuadro 10).

Cuadro 10. Efecto de los sustratos sobre el volumen de raíz del pasto *Brachiaria decumbens* a las 13 semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.

Sustrato ^z	Volumen de raíz (ml/macetero)
SR : C	79.6 a *
SA : A	72.8 a b
V : C : SR	68.5 b
V : C : A	57.1 c
V : C	55.4 c
A : C	49.8 c

^z V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa

*Valores con diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, P≤ 0.10).

Número de Esporas e Infección de Raíces. En el sustrato V:C:A se encontró el mayor NE siendo estadísticamente diferente al resto de tratamientos. En los sustratos SA:A, SR:C y V:C:SR se observó el más bajo NE. La mejor IR se observó en el V:C:A, siendo estadísticamente igual al sustrato A:C y SA:A, pero superó a éste último en un 15%. El sustrato V:C:SR fue el que presentó la menor IR (Cuadro 11).

Cuadro 11. Efecto de los sustratos sobre el número de esporas y la infección de raíces del pasto *B. decumbens* a las 13 semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.

Sustrato ^z	Número de esporas ^E (ml/100 g)	Infección ^I (%)
V : C : A	50.3 a *	75.6 a
V : C	33.5 b	48.7 b c
A : C	31.8 b	73.3 a
SA : A	8.5 c	64.1 a b
SR : C	7.6 c	40.2 c d
V : C : SR	5.1 c	27.0 d

^z V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa

*Valores con diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, P≤ 0.10)

^E Número de esporas Alto: ≥ 40, Medio: 20-39, Bajo: ≤ 19

^I Infección de raíces Alto: ≥ 30, Medio: 20-29, Bajo: ≤ 19

Índice de Infección de Raíces. El mayor IIR se observó en los sustratos SA:A y V:C:A, los cuales no fueron diferentes estadísticamente. Los sustratos A:C y SR:C no se diferenciaron estadísticamente del sustrato V:C:A (Cuadro 12).

Cuadro 12. Efecto de los sustratos sobre el índice de infección de raíz del pasto *Brachiaria decumbens* a las 13 semanas después de la siembra. Zamorano, Honduras, 2003.

Sustrato ^z	Índice de infección de raíces (ml/macetero)
SA : A	47.0 a *
V : C : A	42.6 a b
A : C	35.9 b c
SR : C	32.8 b c
V : C	26.52 c d
V : C : SR	18.13 d

^z V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa

*Valores con diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, P≤ 0.10)

COMPARACIÓN ENTRE EL PRIMER Y SEGUNDO MUESTREO

Los resultados de las variables evaluadas en los sustratos a las 6 y 13 semanas SDS se indican en el Cuadro 13 y Figuras 1-6.

Cuadro 13. Efecto de los sustratos en el Peso Seco del Follaje (PSF), Peso Seco de Raíces (PSR), Volumen de Raíces (VR), Número de Esporas del hongo (NE), Infección de Raíces (IR) e Índice de Infección de Raíces (IIR) a 6 y 13 semanas después de la siembra (SDS) de *B. decumbens*. Zamorano, Honduras, 2003.

Sustrato	PSF (g/maceta)		PSR (g/maceta)		VR (ml/maceta)		NE ^E (ml/100 g)		IR ^I (%)		IIR (%)	
	6 SDS	13 SDS	6 SDS	13 SDS	6 SDS	13 SDS	6 SDS	13 SDS	6 SDS	13 SDS	6 SDS	13 SDS
V:C	19.5c	21.2c	3.6b	9.5c	26.8b	55.4c	48.0ab	33.5b	30.1b	48.7bc	7.4bc	26.5cd
A:C	14.3e	14.6d	3.3b	7.7c	26.0b	49.8c	44.0ab	31.6b	73.8a	73.3a	18.3ab	35.9bc
SR:C	20.3bc	24.0b	7.1a	16.6a	43.8a	79.6a	21.9b	7.6c	25.5b	40.2cd	11.0bc	32.5bc
V:C:A	16.6d	20.6c	3.6b	9.0c	24.9b	57.1c	56.0a	50.3a	40.5ab	75.6a	8.8bc	42.6ab
V:C:SR	21.6a	29.4a	4.0b	13.0b	28.0b	68.5b	42.0ab	5.1c	29.6b	27.0d	7.0c	18.1d
Testigo SA:A	21.5ab	27.7a	5.0b	14.0ab	31.6b	72.8ab	26.1ab	8.5c	75.7a	64.1ab	25.3a	47.0a
ANDEVA	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
DMS (0.10)	1.068	4.624	2.406	6.602	61.14	49.45	649.9	125.0	1,009	167.5	78.88	72.93
CV (%)	5.45	9.39	35.30	22.15	25.92	11.01	66.45	49.06	69.25	23.62	68.49	25.27

V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa

*Significativo ($P \leq 0.10$). Valores con diferentes letras en la misma columna son diferentes estadísticamente (DMS, $P \leq 0.10$).

^E Número de esporas: Alto: ≥ 40 , Medio: 20-39, Bajo: ≤ 19 ^I Infección de raíces: Alto: ≥ 30 , Medio: 20-29, Bajo: ≤ 19

Peso Seco del Follaje

El tratamiento que mayor PSF del pasto *Brachiaria decumbens* obtuvo fue el sustrato vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1), tanto en el primer como en el segundo muestreo. Posiblemente debido a un alto contenido de N, K, Ca y Mg que posee este sustrato; siendo éste ligeramente superior al contenido de nutrientes del sustrato testigo SA:A (2:1). El incremento del sustrato A:C (5.8:1) fue el más bajo, posiblemente debido a que este sustrato presenta la menor cantidad de K y Ca (Figura 1).

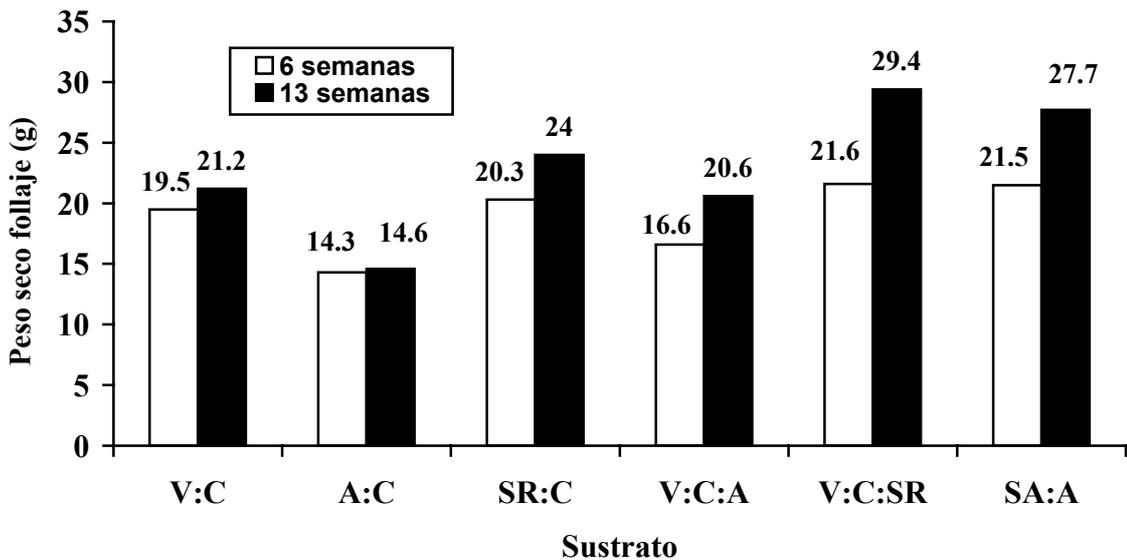


Figura 1. Efecto de los sustratos en el peso seco del follaje de *Brachiaria decumbens* durante la producción de micorriza VAM entre la sexta y treceava semana después de la siembra. (V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa). Zamorano, Honduras, 2003.

Peso Seco de las Raíces

El sustrato SR:C (3.8:1) presentó un desarrollo notable de raíces tanto en el primer como segundo muestreo. Este sustrato fue estadísticamente superior al sustrato testigo (SA:A; 2:1). En el primer y segundo muestreo el sustrato A:C (5.8:1) mostró los valores más bajos. A pesar de las diferencias estadísticas que se dieron en todos los tratamientos, los incrementos de estos fueron notables (Figura 2).

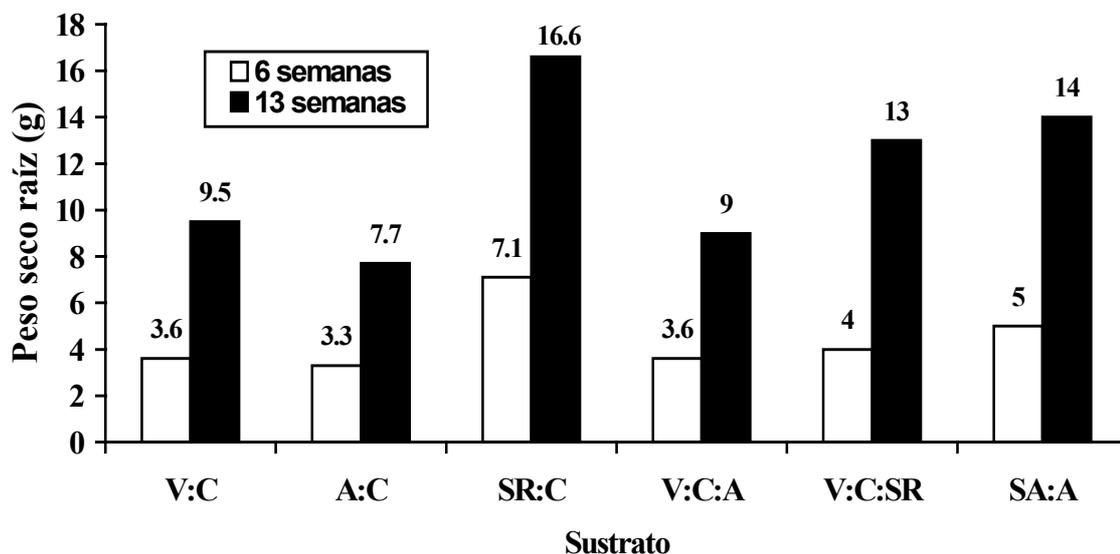


Figura 2. Efecto de los sustratos en el peso seco de las raíces de *Brachiaria decumbens* durante la producción de micorriza VAM entre la sexta y treceava semana después de la siembra. (V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa). Zamorano, Honduras, 2003.

Volumen de Raíces

Los mayores VR y PSR se obtuvieron al cultivar el pasto en el sustrato SR:C (3.8:1), tanto a la sexta como en la treceava SDS. Esto pudo deberse a la alta porosidad que presenta el SR, ya que su contenido nutricional fue muy similar al sustrato V:C (5:1), excepto en el pH. Sin embargo la V:C (5:1) no obtuvo los mismos resultados que SR:C (3.8:1), lo cual se pudo deber a que la *Brachiaria decumbens* se adapta muy bien a condiciones de acidez extrema (FAO, 2003). Los rendimientos de los sustratos SA:A (2:1) y V:C:SR (6.8:2.7:1) ocuparon el segundo y tercer lugar, sin mostrar diferencias significativas. A pesar de que los sustratos restantes con menores resultados no mostraron diferencias significativas, se observa un incremento en el volumen de raíces entre el primer y segundo muestreo (Figura 1).

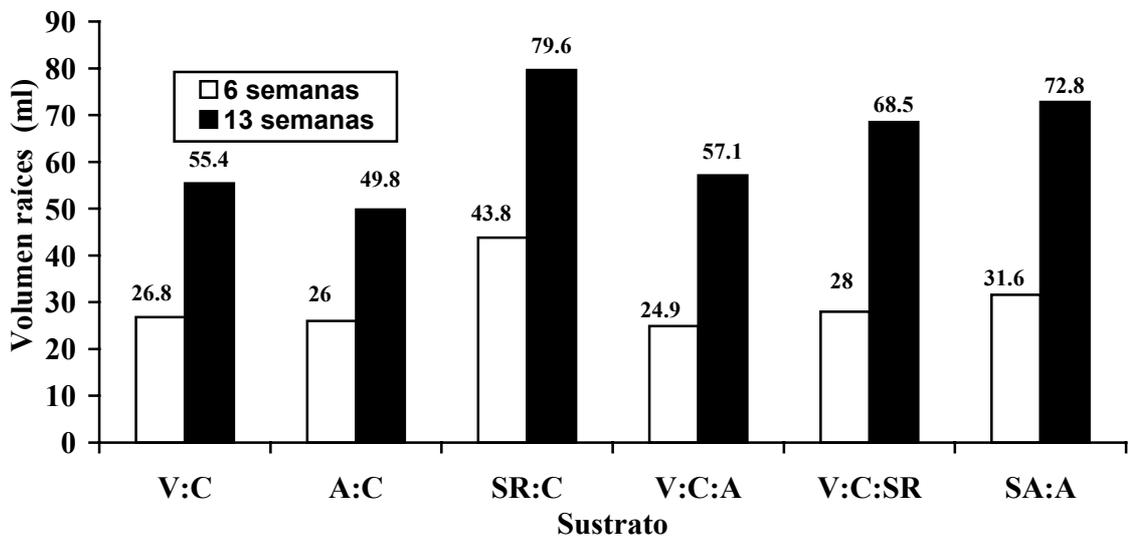


Figura 3. Efecto de los sustratos en el volumen de raíces de *Brachiaria decumbens* durante la producción de micorriza VAM entre la sexta y treceava semana después de la siembra. (V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa). Zamorano, Honduras, 2003.

Número de Esporas

Todos los tratamientos mostraron una reducción en el NE entre el primer y segundo muestreo, incluyendo al testigo. El NE es variable entre sustratos, siendo la V:C:A (1.2:1.1:1) el mejor tratamiento y estadísticamente diferente a los demás (Figura 4).

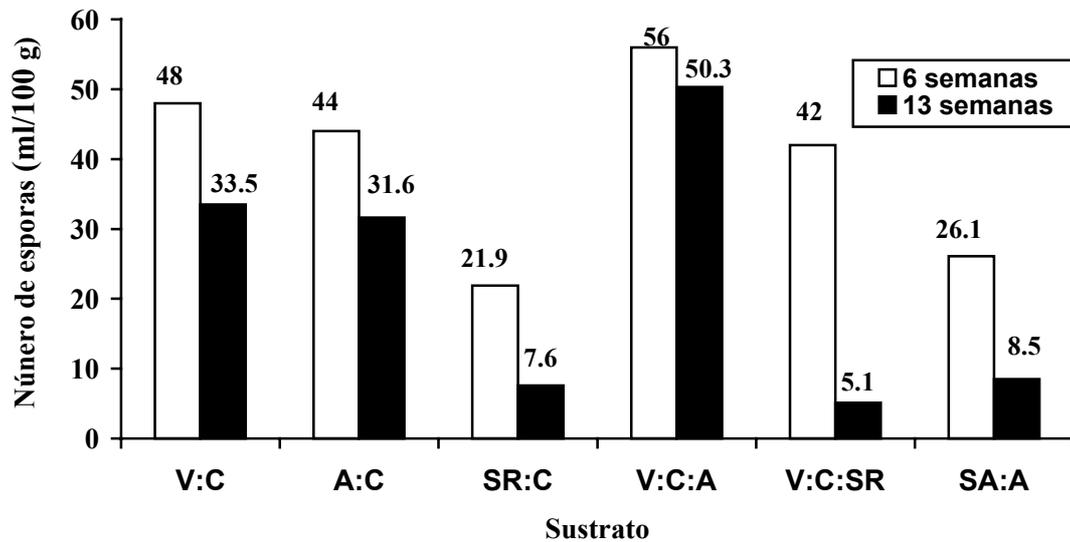


Figura 4. Efecto de los sustratos utilizados para la producción de inoculante micorrízico en el número de esporas de micorriza vesículo-arbuscular entre la sexta y treceava semana después de la siembra. (V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa). Zamorano, Honduras, 2003.

El NE observado en el ensayo fue bastante variable. Esta variación se puede atribuir a varias causas, entre ellas el pH del medio. Según Wu (2002), los suelos ácidos perjudican el desarrollo normal de las esporas del hongo micorrízico arbuscular. Los tratamientos SR:C (3.8:1) y V:C:SR (6.8:2.7:1) tenían un pH fuertemente ácido (3.8 y 4.2, respectivamente), pero su comportamiento fue similar al testigo en el número de esporas. En los demás tratamientos también se redujo el NE, pero éste fue mucho más alto que los anteriormente mencionados. Como se mencionó anteriormente, los niveles de P de cada tratamiento fueron adecuados para el establecimiento del hongo micorrízico (1 - 5 ppm). Otro factor que pudo haber afectado es el riego, ya que a partir de la sexta semana después de la siembra se regó cada dos días.

El único sustrato que obtuvo un NE aceptable fue el sustrato V:C:A (1.2:1.1:1); los demás tratamientos redujeron el NE de un nivel alto a medio o bajo. El sustrato testigo obtuvo uno de los menores resultados en NE (Figura 4). Suárez (2001) encontró que la adición de cal a sustratos con pH por debajo de 5.4 no aumentó la producción de esporas ni la IR.

Infección de Raíces

Los tratamientos que presentaron mayor IR fueron los sustratos A:C (5.8:1), V:C:A (1.2:1.1:1) y el sustrato testigo SA:A (2:1). Éstos no presentaron diferencias significativas entre sí y la IR fue alta, tanto en el primer como segundo muestreo ($\geq 40\%$). Los sustratos restantes obtuvieron una tasa intermedia de IR. Por otra parte, los sustratos que obtuvieron la menor IR fueron SR:C (3.8:1) y V:C:SR (6.8:2.7:1), sin embargo, estos sustratos habían obtenido los mayores resultados, junto con el testigo, en VR Y PSR (Figura 5).

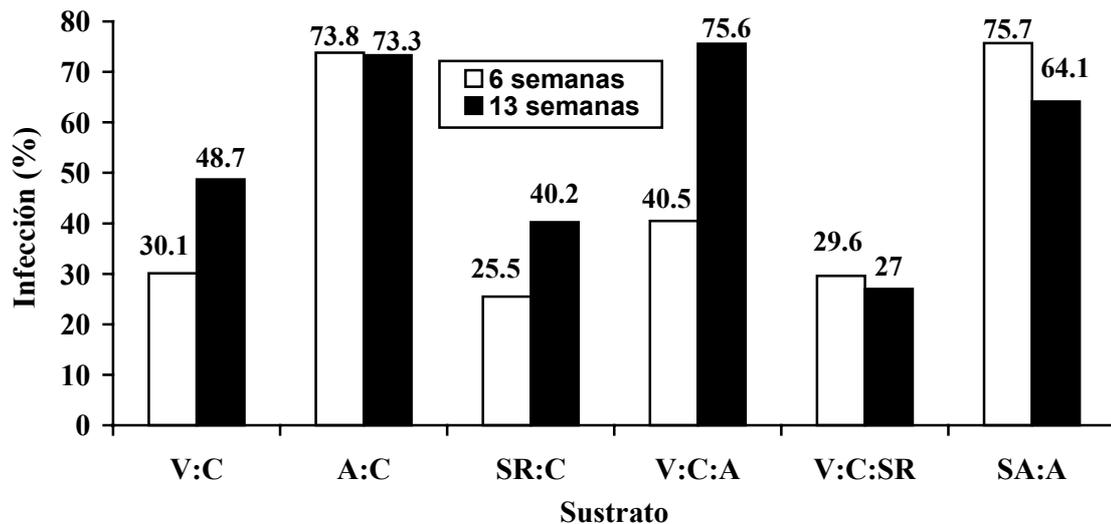


Figura 5. Efecto de los sustratos utilizados para la producción de inoculante micorrízico en la infección de raíces de *Brachiaria decumbens* entre la sexta y treceava semana después de la siembra. (V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa). Zamorano, Honduras, 2003.

Índice de Infección de Raíces

Los mayores IIR, tanto a las 6 como 13 SDS, se observaron en el sustrato testigo (SA:A). El sustrato A:C no se diferenció estadísticamente del testigo en el primer muestreo, y el sustrato V:C:A en el segundo muestreo fue igual estadísticamente del testigo. Esto nos quiere decir que el valor absoluto de la cantidad de puntos de infección por unidad de volumen, fue similar en los sustratos mencionados (Figura 6).

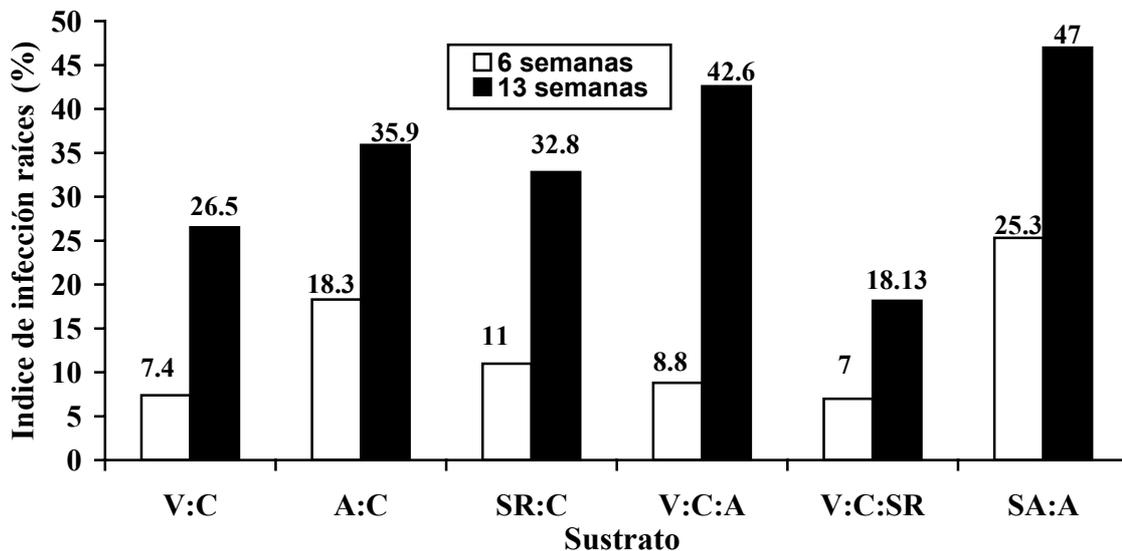


Figura 6. Efecto de los sustratos utilizados para la producción de inoculante micorrízico en el índice de infección de raíces de *Brachiaria decumbens* entre la sexta y treceava semana después de la siembra. (V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa). Zamorano, Honduras, 2003.

ANÁLISIS ECONÓMICO

Costos diferenciales

La evaluación económica del ensayo se realizó definiendo los costos diferenciales de cada sustrato para la producción de inoculante Mycoral®. Los costos detallados se muestran en el Anexo 9. No se incluyó los costos de pasteurización y de fertilización foliar debido a que esto se lo realiza a todos los sustratos, independientemente de su combinación de materiales y proporciones.

El mayor costo diferencial se dió con el sustrato V:C, debido a que la vermiculita es un material mas refinado y se tiene que importar de otro país. El compost es el segundo material más costoso, por el proceso de formación que tiene. Por lo tanto, los sustratos que estaban formados con estos dos materiales, reflejaron los costos más altos. Por otro lado, el sustrato que presentó un costo similar al testigo fue A:C. La diferencia de costos que se da entre cada sustrato se debe a que todos poseen una densidad aparente diferente, por lo tanto, diferente la cantidad de sustrato requerida para ajustar el kg de inoculante (Cuadro 14).

Cuadro 14. Costos diferenciales de sustratos alternativos para la producción de inoculante de micorriza vesículo-arbuscular, Zamorano, Honduras, 2003.

Sustrato ^z	Precio (US \$ /m ³) ^w	Precio (US \$ /kg) ^w
V:C	100.69	0.43
A:C	19.29	0.01
SR:C	23.84	0.02
V:C:A	69.94	0.11
V:C:SR	90.62	0.14
SA:A	19.58	0.005

^z V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa

^wL 16.63 / US \$ 1.0

CONCLUSIONES

- El análisis químico en la fase soluble de material pasteurizado permitió establecer proporciones similares en composición química de los sustratos en relación con el sustrato testigo SA:A (2:1).
- El tiempo influyó significativamente en las respuestas de las variables evaluadas. Se presentaron incrementos entre el primer y segundo muestreo, con excepción de la variable número de esporas, que decreció en el segundo muestreo, posiblemente debido a condiciones hídricas desfavorables a causa del estrés de humedad que se propició.
- La pasteurización modifica la composición de todos los sustratos. Hubo aumento y detrimento de las propiedades químicas de cada sustrato, evaluado tanto en fase intercambiable como en fase soluble.
- El número de esporas se redujo a las 13 semanas posiblemente debido a estrés hídrico al que se sometió. La reducción fue variable en todos los sustratos, siendo mayor en los que tenían suelo, incluyendo al testigo.
- El sustrato V:C:A es adecuado para el manejo de la *Brachiaria decumbens* en la producción de VAM, ya que permite un desarrollo de la micorriza y de la planta hospedera similar al testigo. El sustrato A:C presentó características favorables para el desarrollo de la micorriza pero no favorables para el desarrollo del pasto *B. decumbens*.
- El uso de SR como material para sustrato fue efectivo para el manejo del pasto pero afectó la simbiosis con VAM debido posiblemente a su pH ácido. Los sustratos que contenían este material (SR:C y V:C:SR) fueron deficientes en número de esporas.
- El uso de compost es efectivo, ya que mejora las características físicas que permiten la retención de esporas del hongo y suple las deficientes nutricionales que presentan los sustratos. Por otra parte, tenemos que ésta es una alternativa ecológica ya que se produce con base al reciclaje de residuos.
- El sustrato más barato para la producción de Mycoral[®] sigue siendo el sustrato utilizado actualmente por Zamorano (SA:A; 2:1); sin embargo, los costos de producción del sustrato A:C no se diferencia mayormente del sustrato actual. El sustrato V:C:A es 0.12 USD/kg más caro que el sustrato de uso convencional.

RECOMENDACIONES

- Determinar la efectividad del inoculante Mycoral® producido en los mejores sustratos, sobre la respuesta agronómica de cultivos hospederos.
- Realizar siempre análisis químicos en fase soluble de los sustratos pasteurizados, ya que se obtienen resultados más exactos de la composición nutricional.
- Evitar utilizar materiales que generan pH muy ácidos en el medio, ya que se reduce la producción de esporas. Caso contrario, se debe corregir el exceso de acidez en el sustrato antes de establecer la producción.
- Usar suelo rojo como material para sustratos siempre y cuando se corrija el pH ácido, que aunque no afecta al pasto hospedero, si reduce el desarrollo del hongo.
- Controlar las condiciones de estrés a las que son sometidas las plantas de *Brachiaria decumbens* al final del período de producción de inoculante para evitar la pérdida de esporas por excesivo estrés de sequía.
- Se recomienda llevar un registro del manejo de la compostera, para asegurar la producción de compost de buena calidad para su uso como material en la preparación de sustratos para la producción de Mycoral®.
- Evaluar la infección a las 8 semanas después de siembra en el sustrato suelo rojo:compost ya que se observó un buen desarrollo del volumen de raíz, número de esporas e infección de raíz a las 6 semanas pero a la treceava semana después de siembra las esporas disminuyeron. Si la calidad es adecuada, cosechar a esa edad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allen, M. 1991. The Ecology of mycorrhizae. Department of Biology, Systems Ecology Research Group, San Diego State University, San Diego, California, USA. Cambridge University Press. 1991. 152 p.

INFOAGRO. s.f. Tipos de sustratos de cultivo (en línea). S.l. Consultado 20 agosto 2003. Disponible en http://www.infoagro.com/industria_auxiliar/tipo_sustratos.asp

FAO. 2003. Pastos tropicales (en línea). Consultado 4 de octubre 2003. Disponible en <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/GBASE/data/pf000188.htm>

Moreta, D. 2002. Evaluación de sustratos inorgánicos para la exportación de inoculante de micorriza vesículo-arbuscular. EAP / Zamorano, Honduras. 44 p.

Mukerji, K.; Chamola, B.; Singh J. 2000. Mycorrhizal Biology. Kluwer Academic / Plenun Publisher. New York, USA. 329 p.

OIRSA. s.f. Medios de cultivo (en línea). Organismo Internacional de Sanidad Agropecuaria. Consultado 19 agosto 2003. Disponible en <http://ns1.oirsa.org.sv/Publicaciones/VIFINEX/Manuales-2002/Costa-Rica/Sustratos-para-Viveros-04.htm>

Raddatz, E. 2001. VAM y la resistencia de las plantas contra causantes de daños. Cali, Colombia. 17 p.

Sáenz, V. 2002. 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). EAP / Zamorano, Honduras. 32 p.

Sieverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Aschborn, Germany. Technical Cooperation-Federal Republic of Germany. 371 p.

Suárez, Q. 2001. Evaluación de sustratos para la producción de micorriza vesículo arbuscular. Escuela Agrícola Panamericana / Zamorano, Honduras. 38 p.

Wu, T. 2002. Screening of arbuscular mycorrhizal fungi for the revegetation of eroded red soils in subtropical China (en línea). Consultado el 30 de septiembre. Disponible en <http://mycorrhiza.ag.utk.edu/>

Anexo 1. Requisitos para la exportación de Mycoral® en Honduras C.A.

1. Permiso fitosanitario de exportación
2. Permiso de exportación si excede de los US\$ 5,000.00
3. Factura comercial
4. Análisis microbiológico de patógenos
5. Guía aérea o B/L
6. Certificado de origen si el país de importación lo solicita

Requisitos para la exportación de Compost en Honduras C.A.

1. Permiso fitosanitario de exportación (factura y análisis microbiológico)
2. Permiso de exportación si excede de los US\$ 5,000.00
3. Factura comercial
4. Guía aérea o B/L
5. Certificado de origen si el país de importación lo solicita

Anexo 2. Propiedades físicas de diferentes sustratos considerados para la producción de Mycoral[®]. Zamorano, Honduras, 2003.

Medios	Densidad aparente^z (g/cc)	Agua a saturación^y (ml/g)	Porosidad total volumétrica^x (%)
Vermiculita	0.11	4.29	47
Compost	0.91	0.30	27
Suelo Rojo	0.96	0.65	62
Arena	1.24	0.35	43
Suelo Agrícola /Arena (2:1)	1.17	0.22	25

^zDensidad aparente (Dap): En un beaker se colocó cada sustrato midiendo el volumen que ocupaba, se secó la muestra y la relación peso/volumen determinó la densidad aparente.

^yAgua a saturación (ASat): A un peso conocido de medio se agregó agua hasta el punto de saturación (pasta de saturación) midiéndola, la relación volumen de agua/peso de la muestra, determinó este parámetro.

^xPorosidad total volumétrica (PTV): se calculó con base en los datos anteriores así:

$$PTV (\%) = Dap * ASat * 100$$

Anexo 3. Análisis químico de sustratos considerados para la producción de Mycoral®. Zamorano, Honduras, 2003.

MATERIAL	ELEMENTO	FASE INTERCAMBIABLE		FASE SOLUBLE			
		mg/Kg		mg/L		mg/Kg	
		PASTEURIZACION					
		SIN	CON	SIN	CON	SIN	CON
VERMICULITA	pH	7,27	6,54	7,27	6,33	7,27	6,33
	% M.O.	1,86	0,63	nd	nd	nd	nd
	N	100	300	1,4	3	6	13
	P	53	26	1,2	0,5	5	2
	K	626	310	9,8	28	42	120
	Ca	660	370	0,6	1	3	4
	Mg	2200	1080	2,4	9	10	39
COMPOST	pH	6,84	6,72	6,84	6,64	6,84	6,64
	% M.O.	6,22	5,25	nd	nd	nd	nd
	N	2500	2600	881	715	264	215
	P	558	500	6,6	6	2	2
	K	1130	1040	404	815	121	245
	Ca	4180	3520	640	1480	192	444
	Mg	500	420	160	355	48	107
SUELO ROJO	pH	4,20	4,30	4,15	4,18	4,15	4,18
	% M.O.	1,14	1,02	nd	nd	nd	nd
	N	600	500	8	6	5	4
	P	2	2	0,4	0,3	0	0
	K	228	172	29	25	19	16
	Ca	240	150	3	5	2	3
	Mg	90	80	5	1	3	1
ARENA	pH	7,87	nd	7,87	nd	7,87	nd
	% M.O.	0,25	nd	nd	nd	nd	nd
	N	100	nd	15	nd	5	nd
	P	13	nd	1	nd	0,4	nd
	K	144	nd	7,4	nd	3	nd
	Ca	1450	nd	50	nd	18	nd
	Mg	120	nd	5,2	nd	2	nd
SUELO AGR/ ARENA (2:1)	pH	6,18	6,37	6,11	6,36	6,11	6,36
	% M.O.	2,97	2,02	nd	nd	nd	nd
	N	1500	1000	58	25	12	5
	P	17	16	1	1	0,2	0,2
	K	542	390	106	105	23	23
	Ca	1600	1550	130	221	28	48
	Mg	190	160	25	34	5	7

nd = no determinado

Anexo 4. Formulación de sustratos

Sustrato ^a		Proporción fase soluble ^b (ml)			Proporción en peso ^c (g)			Total (g)	
V	C	90	10		21	33	54		
A	C	90	10		257	33	290		
SR	C	90	10		138	33	172		
V	C	A	45	10	45	10.5	33	129	172
V	C	SR	40	20	40	9.3	67	62	138
SA:A		100			465			465	

Equivalencia % en peso ^d		Equivalencia proporción en peso ^e			Proporción en Vol ^f (cc)			Total (cc)	
39	61	4	6		189	37	226		
89	11	9	1		208	37	244		
81	19	8	2		144	37	181		
6	19	75	1	2	7	95	37	104	235
7	48	45	1	5	4	84	73	64	221
100			10			397		397	

Sustrato		Equivalencia ^g % en vol			Equivalencia proporción en volumen ^h			
V	C	84	16		8	2		
A	C	85	15		9	1		
SR	C	80	20		8	2		
V	C	A	40	16	44	4	2	4
V	C	SR	38	33	29	4	3	3
SA:A		100			10			

^a V = vermiculita; C = compost; SR = suelo rojo; SA:A = suelo agrícola; A = arena

^b Proporción con base en resultados de análisis químico/ fase soluble de material pasteurizado.

^c división de proporción fase soluble entre Agua a saturación (Anexo 1).

^d expresión porcentual de datos de proporción en peso.

^e división entre 10 de datos de equivalencia % en peso.

^f división de peso entre Densidad aparente de cada material.

^g expresión porcentual de datos de proporción en volumen.

^h división entre 10 de datos de equivalencia % en volumen.

Ejemplo: Sustrato V:C proporción fase soluble **V(90 ml) + C (10ml)**.

Peso de V= 90 ml / 4.29 ml/g = 21 g ; C= 10 ml / 0.3 ml/g = 33 g

V 21g + C 33 g = 51 g ; V (21g / 54g) *100= 39% y C: (33g / 54g) *100= 61% en peso

V=39/10 = **4** y C=61/10 = **6** lo que quiere decir que por cada 4 g de Vermiculita se usan 6 g de Compost

Para expresarlo en volumen: V= 21 g / (0.41g/cc)= 189 cc y C= 33 g / (0.912 g/cc)= 37 cc

V 189 cc + C 37 cc = 226 cc ; V: (189 cc / 226 cc) * 100= 84% y C: 37 cc / 226 cc *100= 16% en volumen

V= 84/10 = **8** y C: 16/10 = **2** lo que equivale a que por cada 8 cc de Vermiculita se usan 2 cc de Compost

Anexo 5. Comparación porcentual de las propiedades químicas por efecto de la pasteurización en la disponibilidad de elementos en diversos sustratos. Zamorano, Honduras, 2003.

	Diferencia porcentual*							
	Fase Intercambiable				Fase Soluble			
	V	C	SR	SA:A	V	C	SR	SA:A
PH	-10	-2	2	3	-13	-3	1	4
% M.O.	-66	-16	-11	-32	nd	nd	nd	nd
N	200	4	-17	-33	114	-19	-25	-57
P	-51	-10	0	-6	-58	-9	-25	0
K	-50	-8	-25	-28	186	102	-14	-1
Ca	-44	-16	-38	-3	67	131	67	70
Mg	-51	-16	-11	-16	275	122	-80	36

* Los valores positivos indican aumento al pasteurizar y los negativos detrimento
 V = vermiculita; C = compost; SR = suelo rojo; SA:A = suelo agrícola:arena
 nd = no determinado

Anexo 6. Método para el aislamiento de esporas

Sugerencias:

- A. Utilizar equipo apropiado para mayor seguridad y protección personal (anteojos, guantes y delantal).
- B. Todas las etapas que incluyan calentamiento de químicos deben ser manejadas y supervisadas cuidadosamente.

Procedimiento

1. Seleccione en el campo un cultivo de interés y obtenga una muestra compuesta (varias submuestras) de por lo menos 100 g de suelo o medio de crecimiento.
2. En el laboratorio, pese 100 g. de la muestra de suelo o medio de crecimiento recolectado para iniciar el proceso lo más pronto posible para evitar la desecación de las esporas.
3. Vacíe esta submuestra en un envase de 4.0 L y, utilizando una manguera delgada, aspérgela con un fuerte chorro de agua para separar las partículas de suelo. Llénelo hasta 3.0 L y deje reposar por 15–30 segundos (suelos arenosos requieren menos tiempo).
4. Coloque tres tamices (425, 250 y 75 micrometros) uno sobre otro con el de mayor número de micrometros encima, para extraer las esporas.
5. Vacíe la mezcla sin perturbar el sedimento y pásela por los tamices. Repita el proceso una vez. El tamaño del tamiz refleja el tamaño de las esporas deseadas; así, esporas de *Glomus etunicatum* pueden ser recolectadas en un tamiz de 63 micrones, las cuales estarán relativamente libres de material inerte si antes se usa un tamiz de 200 micrones.
6. Transfiera el material filtrado a un tubo para centrifugación con 50 ml de capacidad. Use un embudo pequeño de chorro fino para evitar pérdidas del material filtrado. Enjuague cuidadosamente el tamiz para recolectar la mayoría de las esporas en los tubos. De ser necesario, añada agua hasta aproximadamente un centímetro del borde del tubo.
7. Centrifugue a 3000 rpm por 3 minutos ó 2000 rpm por 5 minutos. No utilice el freno de la centrífuga. Vacíe la mezcla en solución sin perturbar el sedimento (**las esporas están mezcladas con el sedimento**).
8. Al tubo con sedimento, agregue una solución de sucrosa al 40% (p/v). Agite hasta que el sedimento quede en suspensión y centrifugue inmediatamente a 3000 rpm por un minuto. No utilice el freno de la centrífuga. Vacíe la solución en un tamiz de 45 micrometros evitando salpicar agua. Enjuague las esporas cuidadosamente durante un minuto para remover la sucrosa y evitar deshidratación. Elimine el sedimento.
9. Transfiera las esporas a un tubo para centrífuga y afore a 25 ml.

10. Coloque 1.0 ml de la solución con esporas en un plato de petri plástico de 5 cm de capacidad. Observe en el estereoscopio. Si desea guardar la solución con esporas, séllela con papel parafinado y almacénela en el refrigerador a 4 °C.

Método por:

JARSTFER, A.G. 1963. University of Florida, Soil Science Department, 2171 McCarty Hall, Gainesville, FL 32611-0151 USA. Plant Dis. Rep. 48:692.

Anexo 7. Método para clarificar y teñir muestras de raíces

Sugerencias:

- A. Utilizar equipo apropiado para mayor seguridad y protección personal (anteojos, guantes y delantal).
- B. Utilizar “cassettes” plásticos (denso polymer tissue “cassettes” de Fisher Scientific) para retener las muestras de raíces.
- C. Todas las etapas que incluyan calentamiento de químicos deben ser manejadas y supervisadas cuidadosamente.
- D. Lea cuidadosamente todas las instrucciones antes de empezar el proceso

Procedimiento de clarificación:

1. Prepare los “cassettes” con muestras de raíces y manténgalos en agua hasta que todo esté listo para iniciar el proceso.
2. En un “beaker”, vierta una solución de KOH al 10% de modo que cubra todos los cassettes.
3. Caliente el KOH hasta 80 °C de temperatura.
4. Coloque los cassettes en el KOH caliente durante:
15 minutos para cebolla y otras raíces tiernas,
30 minutos para la mayoría de raíces (p.e. maíz, gramíneas)
5. Lave con agua cinco veces.

NOTA: Si las muestras de raíces tienen pigmentos oscuros (p.e. cafés, negros, morados) después de clarificarlas con KOH, coloque los cassettes en un beaker con 30% de agua oxigenada a temperatura ambiente (10 minutos a ≤ 50 °C) hasta que las muestras se aclaren. Revíselas constantemente para evitar daños en las estructuras de las raíces. Enjuague cinco veces con agua y proceda. En caso de no tener agua oxigenada, cubra los cassettes con HCl (5.0 ml) y agua (200 ml). Mezcle y desagüe. Repítalo otra vez (**no enjuague los cassettes con agua**).

Procedimiento de tinción:

1. En un beaker, vierta suficiente cantidad de Azul de Tripiano (0.05%) para cubrir los cassettes.
2. Caliente el tinte azul sin los cassettes hasta 80 °C de temperatura.
3. Coloque los cassettes en el tinte caliente y mantenga la temperatura en 80 °C. Después de 30 minutos, deje enfriar hasta que la temperatura sea menor de 50 °C; luego filtre el tinte para remover pedazos de raíces y almacénelo bajo refrigeración en un frasco. Enjuague los cassettes una sola vez con agua.
4. En una placa, monte varias raíces para su observación y cúbralas con el cubreobjetos presionando levemente. Las raíces se deben manipular con pinzas y guantes ya que el tinte es cancerígeno. En caso de no visualizar claramente las estructuras del hongo, coloque las raíces en un plato de petri con agua para enjuagarlas y luego observe.
5. Si no se van a analizar las muestras el mismo día, colóquelas en el refrigerador en una bolsa plástica etiquetada.

Preparación del tinte azul de tripano (0.05%)

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

- 1) 800 ml glicerina
- 2) 800 ml ácido láctico
- 3) 800 ml agua destilada
- 4) 1.2 g del tinte Azul de Tripano

Método por:

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

Cuidados:

- Entre cada muestra, lave los tamices con agua a presión para evitar contaminación. En caso de ser necesario, use jabón.
- Las esporas pueden ser contadas fácilmente en un plato de petri dividido en cuadrículas.
- Recupere las raíces recolectadas en el tamiz más grande para observar los propágulos del hongo y/o el grado de colonización.
- Normalmente se usa el tamiz de 425 micrones para recolectar esporas de tamaños desconocidos provenientes de muestras del campo.
- El KOH y el Azul de Tripano pueden ser reutilizados.

Anexo 8. Contenido de pH en los sustratos utilizados para la producción de Mycoral[®], en la etapa inicial y final del ensayo. Zamorano, Honduras, 2003.

Sustrato	pH (%)	
	Etapa inicial	Etapa final
V:C	6.8	7.3
A:C	6.9	7.5
SR:C	3.9	4.3
V:C:A	7.4	7.3
V:C:SR	4.2	4.8
SA:A	6.0	6.0

V:C = vermiculita:compost (5:1); A:C = arena:compost (5.8:1); SR:C = suelo rojo:compost (3.8:1); V:C:A vermiculita:compost:arena (1.2:1.1:1); V:C:SR = vermiculita:compost:suelo rojo (6.8:2.7:1) en proporción volumétrica, y SA:A = suelo agrícola:arena (2:1) en proporción de masa

Anexo 9. Costos diferenciales de materiales usados para formular sustratos alternativos para la producción de inoculante de micorriza vesículo-arbuscular, Zamorano, Honduras, 2003.

Insumo	Unidad	Precio Unit		Peso (kg/m ³)	Precio (Lps/kg)
		(Lps)	DA ¹		
Vermiculita	m ³	1790,00	0,11	110,0	16,20
Compost	m ³	1487,50	0,91	910,0	1,60
Arena	m ³	116,00	1,24	1240,0	0,09
S. Agrícola	m ³	100,00	1,17	1170,0	0,09
S. Rojo	m ³	100,00	0,96	960,0	0,10

Sustrato ¹	Proporciones	Unidad	Precio (Lps/ m ³)	
			Precio (Lps/ m ³)	Precio (USD/ m ³)
V:C	5:1	m ³	1762.20	100.69
A:C	5,8:1	m ³	337.70	19.29
SR:C	3,8:1	m ³	417.29	23.84
V:C:A	1,2:1,1:1	m ³	1224.03	69.94
V:C:SR	6,8:2,7:1	m ³	1586.00	90.62
SA:A	2:1	m ³	342.80	19.58

Sustrato ^x	Proporciones		Cantidad	Precio (Lps/ Kg)	
	Volumen	Peso		Precio (Lps/ Kg)	Precio (USD/ Kg)
V:C	5:1	2:3	1,0	7.57	0.43
A:C	5,8:1	9:1	1,0	0.26	0.01
SR:C	3,8:1	4:1	1,0	0.42	0.02
V:C:A	1,2:1,1:1	1:2:7	1,0	2.04	0.11
V:C:SR	6,8:2,7:1	1:5:4	1,0	2.54	0.14
SA:A	2:05	2:1	1,0	0.10	0.005

¹ Densidad Aparente

^xV=Vermiculita; C=Compost; A=Arena; SR= Suelo Rojo; SA=Suelo Agrícola

1,0 USD= 17,50 Lps