

**Evaluación de cuatro cepas de micorriza
arbuscular en plantas de tomate en vivero,
Zamorano, Honduras**

Sindy Mariela Lagos Molina

Zamorano, Honduras

Diciembre, 2010

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**Evaluación de cuatro cepas de micorriza
arbuscular en plantas de tomate en vivero,
Zamorano, Honduras**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera Agrónoma en el Grado
Académico de Licenciatura

Presentado por

Sindy Mariela Lagos Molina

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2010

Evaluación de cuatro cepas de micorriza arbuscular en plantas de tomate en vivero, Zamorano, Honduras

Presentado por:

Sindy Mariela Lagos Molina

Aprobado:

Gloria Arévalo, M.Sc.
Asesora principal

Abel Gernat, Ph.D.
Director
Carrera Ciencia y Producción
Agropecuaria

Juan C. Rosas, Ph.D.
Asesor

Raúl Espinal, Ph.D.
Decano Académico

Erich C. Raddatz, Ph.D.
Asesor

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

Abelino Pitty, Ph.D.
Coordinador de Fitotecnia

RESUMEN

Lagos S. 2010. Evaluación de cuatro cepas de micorriza arbuscular en plantas de tomate en vivero, Zamorano, Honduras. Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería Agronómica, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras. 18 p.

Las micorrizas arbusculares son hongos benéficos que se asocian al sistema radicular de la mayoría de las plantas; esta asociación les permite mejorar su tasa de crecimiento y enfrentar las deficiencias nutricionales con mejor respuesta a situaciones adversas. El objetivo fue evaluar en plantas de tomate en semillero y vivero la eficiencia de las cepas de micorriza M7 y C4 (*Glomus* sp.), M8 (*Acaulosphora* sp.) y SE3 (*Entrophosphora* sp.), y el producto Mycoral[®] producido en 2008 y 2009. El estudio se realizó de marzo a julio de 2010. Se utilizaron 20 esporas de inoculante para cada planta, la unidad experimental, las cuales se aplicaron 20% en semillero y 80% en vivero. El mayor incremento de altura de planta, número de hojas maduras y en crecimiento, peso seco y esporulación se obtuvo con SE3 (*Entrophosphora* sp.), seguido de Mycoral[®] 2009. No hubo diferencias entre las cepas C4 (*Glomus* sp.) y M8 (*Acaulosphora* sp.), las cuales no fueron mejores que el testigo. La cepa M7 (*Glomus* sp.) no mostró claridad en su efecto en el crecimiento de la planta de tomate. No hubo relación entre el porcentaje de infección de raíces y el crecimiento de las plantas, pero sí entre la cantidad de esporas al final del experimento y el crecimiento de las plantas.

Palabras clave: Esporas, inoculante, Mycoral[®].

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	2
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	5
4. CONCLUSIONES.....	12
5. RECOMENDACIONES	13
6. LITERATURA CITADA.....	14
7. ANEXOS	16

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadro	Página
1. Contenido de esporas de micorriza arbuscular los inóculos previo al montaje del ensayo. Zamorano, Honduras.	2
2. Incremento en el número de hojas /planta en semillero en plantas de tomate inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular. Zamorano, Honduras.....	5
3. Incremento en número de hojas /planta en vivero en plantas de tomate inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular. Zamorano, Honduras.....	6
4. Incremento en altura (cm/planta) en plantas en semillero inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular. Zamorano, Honduras.	7
5. Incremento de altura (cm/planta) en plantas en vivero inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular. Zamorano, Honduras.	7
6. Pesos secos de hojas, tallos, raíces y total a la floración (semana 11) de plantas de tomate inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular. Zamorano, Honduras.....	9
7. Longitud, área superficial, diámetro promedio y volumen de raíces de plantas de tomate inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular, evaluadas a floración (semana 11). Zamorano, Honduras.	9
8. Esporas de micorriza en 100 g/sustrato en la orilla y centro de macetero, evaluadas durante crecimiento vegetativo (semana 9) y a la floración (semana 11) y porcentaje de infección de raíces evaluadas a la floración (semana 11). Zamorano, Honduras.	11
Figura	Página
1. Altura de las plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular en semillero y vivero. Zamorano, Honduras.....	8
Anexo	Página
1. Contenido del sustrato para germinación Kekkila.....	16
2. Método para clarificar y teñir muestras de raíces.....	16
3. Método para aislar esporas de micorriza	17

1. INTRODUCCIÓN

Las micorrizas arbusculares, anteriormente conocidas como VAM por sus siglas en inglés, son hongos benéficos que se asocian al sistema radicular del 80% de las especies de plantas del planeta (Dreyer 2010). Esta asociación les permite mejorar su tasa de crecimiento, enfrentar las deficiencias nutricionales con una mejor respuesta a las situaciones adversas, y tener mayor tolerancia al ataque de patógenos (Sieverding 1991). Las micorrizas actúan bien bajo condiciones adversas; en condiciones de sequía, la planta presenta tolerancia a bajos contenidos de humedad en el suelo, como resultado de efectos físicos, alimenticios, fisiológicos y celulares (Raddatz 2001).

Mycoral[®] es un producto biológico 100% natural y ecológico, compuesto por un sustrato de suelo de textura franca enriquecido con especies de micorrizas altamente eficaces, las cuales permiten mejorar significativamente el crecimiento de las plantas al aumentar la actividad de sus raíces y permitir una mayor absorción de agua y nutrientes. Las plantas se adaptan mejor en el campo y son altamente productivas (Medina Valdez 2003).

El Mycoral[®] contiene tres géneros de micorriza arbuscular, M7 (*Glomus* sp.), M8 (*Acaulosphora* sp.), y SE3 (*Entrophosphora* sp.). En el 2007 se introdujo a la Escuela Agrícola Panamericana (EAP) la cepa C4 (*Glomus* sp.) para evaluación de su efecto en diferentes plantas; esta cepa se ha probado en plantas de caoba, *Swietenia* sp. (Guerra González 2009).

El tomate es la hortaliza de mayor consumo en Honduras y en la mayor parte de los países de centroamérica. En Honduras, el tomate se cultiva en todo el país; las mayores aéreas de producción están establecidas en los departamentos de La Paz, Francisco Morazán, El Paraíso, Comayagua, Yoro y Copán. Los datos estadísticos en el país manifiestan que en el año 2007 se sembraron aproximadamente 3,800 ha de tomate que generaron 155,000 t, lo que representó 0.12% de la producción mundial (Portillo 2009). Honduras es el segundo productor de tomate en Centroamérica, después de Guatemala (Cuellar 2009).

El objetivo general de este ensayo fue evaluar en plantas de tomate la eficiencia individual de cuatro cepas de micorriza arbuscular. Los objetivos específicos fueron determinar la cepa que generara el mejor efecto en el comportamiento de las plantas de tomate en su etapa vegetativa; y la reactivación de las cepas M7 y C4 (*Glomus* sp.), M8 (*Acaulosphora* sp.) y SE3 (*Entrophosphora* sp.) para su mantenimiento y propagación en el programa Mycoral[®] de la EAP, Zamorano.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO

El experimento se realizó a partir de marzo de 2010 en los invernaderos del Programa de Investigaciones en Frijol (PIF) de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, ubicada a 30 km de Tegucigalpa, departamento de Francisco Morazán, Honduras. La misma se encuentra a 800 msnm, con una temperatura promedio anual de 24 °C y una precipitación anual de 1,100 mm.

2.2 INÓCULO

Antes de establecer las plantas en vivero y semillero se analizó el contenido de esporas de los inoculantes de las cepas de micorriza, con el fin de ajustar el inóculo a una dosis de 20 esporas por planta.

Cuadro 1. Contenido de esporas de micorriza arbuscular de los inóculos previo al montaje del ensayo. Zamorano, Honduras.

Cepa	Año de producción	Esporas en 100g de inóculo
SE3 (<i>Entrophospora</i> sp.)	2000	11
M7 (<i>Glomus</i> sp.)	2003	7
C4 (<i>Glomus</i> sp.)	2008	5
M8 (<i>Acaulospora</i> sp.)	2008	5
Mycoral [®]	2008	5
Mycoral [®]	2009	13

Las cepas SE3 y M7, estuvieron almacenadas en el cuarto frío del PIF (Programa de Investigaciones en Frijol) a 4°C a 60% de humedad relativa. Las cepas C4 y M8 y el producto Mycoral[®] 2008 y 2009, estaban almacenados en el cuarto de almacenamiento de Zona 3 a temperatura ambiente y con ventiladores.

- La cantidad total de los inóculos a aplicar por tratamiento se dividió en 20% en el semillero y 80% en el vivero.

2.3 MEDIO DE CRECIMIENTO

En semillero se usó el medio de crecimiento Kekkila, compuesto por turba de sphagnum y aditivos (dolomita cálcica, fertilizante base N-P₂O₅-K₂O) (Anexo 1).

En vivero, el medio que se usó para sembrar las plantas fue una mezcla suelo: arena en relación en volumen 2:1, con 18 ppm de fósforo según análisis realizado en el Laboratorio de Suelos, el cual fue adecuado para la reproducción de micorrizas debido a que estaba por debajo de los 30 ppm de fósforo que limita el desarrollo de estos hongos (Andrade *et al.* 2005). Para asegurar la esterilidad del medio se pasteurizó a 65.5°C por 2 horas. Se contaron las esporas en el sustrato previo al montaje del experimento y el resultado fue 0.5 esporas de micorriza/100 g de sustrato.

2.4 ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO EN SEMILLERO

Las semillas se sembraron el 4 de marzo de 2010 en el vivero de ornamentales donde permanecieron 21 días. Se utilizaron semillas de tomate de la variedad XP. Para la siembra se usaron bandejas para germinación, las cuales se llenaron con sustrato Kekkila. Se abrió un pequeño hueco de 2 cm de profundidad en cada pilón y se aplicó el inoculante hasta llenarlo. Las semillas se sembraron a 2 cm de profundidad en el inóculo de micorriza. Al sembrar se cubrió completamente la semilla con el inoculante para asegurar el contacto total y fueron regadas diariamente.

2.5 ETAPA EN VIVERO

Las plantas se trasplantaron a maceteros de plástico de 6" de diámetro por 4" de alto con capacidad de 1500 cm³, en el invernadero #3 del PIF. Se inoculó al trasplante colocándose el 80% a las raíces de las plántulas y alrededor del pilón, y el 20% al fondo del hueco de siembra.

La duración de la etapa de vivero fue de ocho semanas, hasta que las plantas llegaron a la floración, momento en que se espera que la simbiosis entre micorriza y la planta alcance su mayor desarrollo¹.

Durante el tiempo de vivero se controlaron las malezas manualmente, se regó cada dos días y fertilización con nitrógeno a razón de 20 kg/ha para 2 plantas/m² fraccionados a la cuarta y octava semana. También se aplicó contra mosca blanca *Bemisia tabaci*, en las semanas 8, 9 y 10 utilizando Confidor a razón de 1 g/L para 40 plantas.

¹. Rosas J.C. 2010. Programa de Investigaciones en Frijol, EAP, Zamorano, comunicación personal.

2.6 VARIABLES MEDIDAS

Las variables analizadas fueron el incremento de hojas (incluyendo las maduras y en proceso de crecimiento) de las plantas, incremento en altura de las plantas determinadas por la diferencia semanal de altura. Los datos se tomaron desde el establecimiento en semillero hasta la floración de las plantas en vivero. Se determinaron el peso seco de raíces, tallos, hojas y total de la planta, en muestras de plantas secadas en un horno a 80°C durante 48 horas.

La infección de raíces se determinó por medio del método de tinción de raíces (Jarstfer 1970) en el Laboratorio de Biotecnología Aplicada del PIF. Se determinó el número de esporas en el sustrato a las semanas 9 y 11. En la semana 9 se tomó la muestra de la orilla del macetero y en la semana 11 la muestra se tomó del centro y orilla del macetero.

A la floración se determinó el área superficial de las raíces (cm²), largo (m), diámetro promedio (mm) y volumen de raíz (cm³), mediante análisis de raíces usando el programa Winhrizo® en el Laboratorio de Biotecnología Aplicada del PIF.

2.7 TRATAMIENTOS

Se establecieron siete tratamientos que consistieron en plantas inoculadas con las cepas de micorriza arbuscular, M7, C4, M8, SE3, y Mycoral® producidas en el 2008 y 2009. El testigo contenía 0.5 esporas de micorrizas /100 gramos de sustrato, a pesar de ser pasteurizado.

2.8 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño en bloques completamente al azar (BCA) con los siete tratamientos (cepas) y tres repeticiones (bloques). La unidad experimental estuvo conformada por seis plantas; cinco fueron utilizadas para la medición de las variables de crecimiento y pesos secos, y una para el análisis de raíces con el Whirhizo® y para determinar la infección de raíces y el número de esporas.

2.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis de varianza (ANDEVA) y las separaciones de medias se hicieron mediante la prueba DMS a un nivel de significancia de $P \leq 0.05$, se realizaron con el programa Statistix 8.1.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 INCREMENTO EN NÚMERO DE HOJAS

En la semana 2 en el semillero se presentaron diferencias en el incremento en el número de hojas (incluyendo las maduras y en proceso de crecimiento) ($P \leq 0.05$) en plantas inoculadas con las cepas SE3 y Mycoral[®] 2009 y el resto de los tratamientos (excepto el que no fue inoculado). Las plantas inoculadas con las cepas C4 y M8 obtuvieron los valores más bajos de incremento de hojas maduras y en crecimiento en la semana 2 (Cuadro 2).

Cuadro 2. Incremento en el número de hojas /planta en semillero en plantas de tomate inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular. Zamorano, Honduras.

Cepa	Año de Producción	Semanas en semillero		
		1	2	3
SE3 (<i>Entrophospora</i> sp.)	2000	2.1	1.5 ^a	5.2
Mycoral [®] 2009	2009	2.3	1.6 ^a	5.1
Mycoral [®] 2008	2008	2.0	1.1 ^b	5.2
Sin inóculo		2.2	1.2 ^{ab}	5.6
M7 (<i>Glomus</i> sp.)	2003	2.1	0.9 ^{bc}	5.1
C4 (<i>Glomus</i> sp.)	2008	2.2	0.5 ^c	4.4
M8 (<i>Acaulospora</i> sp.)	2008	2.0	0.5 ^c	5.1
DMS ($P \leq 0.05$)		0.35 ^{ns}	0.00 ^{**}	0.10 ^{ns}

*Significativo ($P \leq 0.05$), **altamente significativo ($P \leq 0.01$) y ^{ns} no significativo.

En vivero hubo diferencia en el incremento en número de hojas en las semanas 6, 7 y 10; las plantas inoculadas con las cepas SE3 y Mycoral[®] 2009 tuvieron mayor incremento de hojas y no difirieron entre ellas. Las plantas inoculadas con Mycoral[®] 2008 en las semanas 6 y 7 tuvieron un incremento bajo de hojas, pero en la semana 10 alcanzaron un número de hojas igual a las plantas sin inocular y a las inoculadas con las cepas M7. El testigo no difirió de las plantas inoculadas con las cepas SE3 y Mycoral[®] 2009. Las plantas inoculadas con la cepa C4 tuvieron menor cantidad de hojas en la etapa de vivero y no difirieron de la cepa M8. En general, el incremento en el número de hojas fue mayor en la semana 10, antes de floración (cuadro 3).

Cuadro 3. Incremento en número de hojas /planta en vivero en plantas de tomate inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular. Zamorano, Honduras.

Cepa	Año de producción	Semanas en vivero							
		4	5	6	7	8	9	10	11
SE3 (<i>Entrophospora</i> sp.)	2000	7.8	6.9	10.0 ^a	13.9 ^{ab}	11.1	11.1	22.1 ^a	15.2
Mycoral [®] 2009	2009	8.2	6.7	7.5 ^{ab}	15.6 ^a	10.7	9.8	21.9 ^a	10.8
Mycoral [®] 2008	2008	8.6	6.2	5.5 ^b	11.1 ^{bc}	7.3	11.6	18.9 ^{ab}	9.5
Sin inóculo		8.4	6.9	5.1 ^b	13.7 ^{ab}	10.4	9.8	19.8 ^{ab}	15.2
M7 (<i>Glomus</i> sp.)	2003	7.6	5.5	7.5 ^{ab}	13.7 ^{ab}	10.4	9.1	18.4 ^{ab}	11.3
C4 (<i>Glomus</i> sp.)	2008	6.6	4.5	6.5 ^b	9.6 ^c	7.2	9.2	11.9 ^c	13.7
M8 (<i>Acaulospora</i> sp.)	2008	5.7	5.4	5.2 ^b	11.2 ^{bc}	8.2	9.4	14.4 ^{bc}	9.0
DMS (P≤0.05)		0.07 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.05*	0.01**	0.08 ^{ns}	0.81 ^{ns}	0.01**	0.09 ^{ns}

*Significativo (P≤0.05), **altamente significativo (P≤0.01) y ^{ns} no significativo.

Estos datos concuerdan con resultados obtenidos en plantas de tomate de 21 días que fueron inoculadas con *F. oxysporum* + Mycoral[®] + Trichozam[®]; las cuales mostraron mayor número de hojas en comparación con las que no recibieron inoculación (Córdova Zapata 2003). En plantas de palma aceitera, *Elaeis guineensis*, en vivero, no se encontró diferencia en el incremento en número de hojas entre plantas inoculadas y no inoculadas con Mycoral[®] (Cruz Ortiz 2007).

3.2 INCREMENTO DE ALTURA

Hubo diferencia significativa entre tratamientos en el incremento de altura en semillero. Las plantas inoculadas con las cepas SE3 y Mycoral[®] 2009 alcanzaron mayor incremento de altura, pero no se diferenciaron en las semanas 2 y 3 de las plantas inoculadas con M8 (Cuadro 4).

En vivero hubo diferencias en el incremento en altura en las semanas 4, 6, 8, 9 y 11. Hasta la semana 6, las plantas inoculadas con SE3 y Mycoral[®] 2009 obtuvieron el mayor incremento de altura. En las semanas siguientes, las cuatro cepas mostraron un buen efecto en el crecimiento de las plantas; en las semanas 8 y 9 las plantas inoculadas con las cepas de M7, SE3 y el producto Mycoral[®] 2008 alcanzaron los mayores incrementos en altura de planta (Cuadro 5).

En la semana 11, el efecto en el incremento de altura no siguió el mismo patrón de comportamiento, ya que la planta ha alcanzado la altura fenológica para esa etapa. Las plantas que no fueron inoculadas con micorriza arbuscular obtuvieron los menores incrementos de altura, hasta la semana 11 cuando mostraron un mayor incremento de altura. Los aumentos en altura obtenidas en plantas inoculadas con las cepas M8, C4 y Mycoral[®] 2008, no difirieron entre ellas. En general, el crecimiento de las plantas fue constante y alcanzó un pico en la semana 10 (Cuadro 5).

Cuadro 4. Incremento en altura (cm/planta) en plantas en semillero inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular. Zamorano, Honduras.

Cepa	Año de producción	Semanas en semillero		
		1	2	3
SE3 (<i>Entrophosphora</i> sp.)	2000	1.8 ^a	1.1 ^a	1.0 ^{bc}
Mycoral [®] 2009	2009	1.8 ^a	0.8 ^{bc}	1.5 ^a
Mycoral [®] 2008	2008	1.7 ^{ab}	0.7 ^c	1.0 ^{bc}
Sin inóculo		1.5 ^{ab}	0.9 ^{abc}	1.0 ^{bc}
M7 (<i>Glomus</i> sp.)	2003	1.4 ^b	0.9 ^{abc}	0.7 ^c
C4 (<i>Glomus</i> sp.)	2008	1.2 ^c	1.0 ^{ab}	0.8 ^c
M8 (<i>Acaulosphora</i> sp.)	2008	1.1 ^c	0.95 ^{ab}	1.2 ^{ab}
DMS (P≤0.05)		0.00**	0.02*	0.00**

*Significativo (P≤0.05), **altamente significativo (P≤0.01) y ^{ns} no significativo.

Cuadro 5. Incremento de altura (cm/planta) en plantas en vivero inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular. Zamorano, Honduras.

Cepa	Año de producción	Semanas en vivero							
		4	5	6	7	8	9	10	11
SE3 (<i>Entrophosphora</i> sp.)	2000	3.6 ^a	2.5	4.7 ^a	6.9	6.8 ^{abc}	7.1 ^{abc}	11.5	0.8 ^c
Mycoral [®] 2009	2009	2.8 ^{abc}	2.0	3.5 ^{ab}	5.0	5.5 ^{bc}	6.0 ^{bc}	9.1	2.9 ^{abc}
Mycoral [®] 2008	2008	2.3 ^{bc}	3.2	2.6 ^{bc}	4.5	7.1 ^{ab}	9.0 ^a	13.2	4.3 ^{ab}
Sin inóculo		2.9 ^{ab}	2.6	1.7 ^c	4.8	4.7 ^c	4.7 ^{cd}	10.3	5.4 ^a
M7 (<i>Glomus</i> sp.)	2003	2.9 ^{ab}	2.5	2.5 ^{bc}	4.7	8.1 ^a	5.6 ^{bcd}	10.7	3.1 ^{abc}
C4 (<i>Glomus</i> sp.)	2008	2.7 ^{bc}	2.6	2.7 ^{bc}	4.7	5.3 ^{bc}	3.6 ^d	13.2	4.9 ^{ab}
M8 (<i>Acaulosphora</i> sp.)	2008	2.0 ^c	1.5	2.2 ^{bc}	4.3	5.3 ^{bc}	7.9 ^{ab}	11.8	2.5 ^{bc}
DMS (P?0.05)		0.02*	0.06 ^{ns}	0.02*	0.33 ^{ns}	0.02*	0.00*	0.31 ^{ns}	0.01**

*Significativo (P≤0.05), **altamente significativo (P≤0.01) y ^{ns} no significativo.

En plantas de palma aceitera, en vivero no se encontraron diferencias en altura en plantas inoculadas y no inoculadas con Mycoral[®] (Cruz Ortiz 2007). En plantas de Caoba si se encontraron diferencias en altura con plantas inoculadas con las cepas M8, M7 y SE3 con respecto a las plantas que no fueron inoculadas (Guerra González 2009).

3.3 ALTURA DE LAS PLANTAS

El efecto de micorriza arbuscular se observa en conjunto en la altura de la planta, donde las plantas inoculadas con la cepa SE3 alcanzaron mayor altura en comparación con las plantas que no fueron inoculadas (Figura 1). Se observa que la mayoría de las otras cepas fueron inferiores al tratamiento sin inoculación.

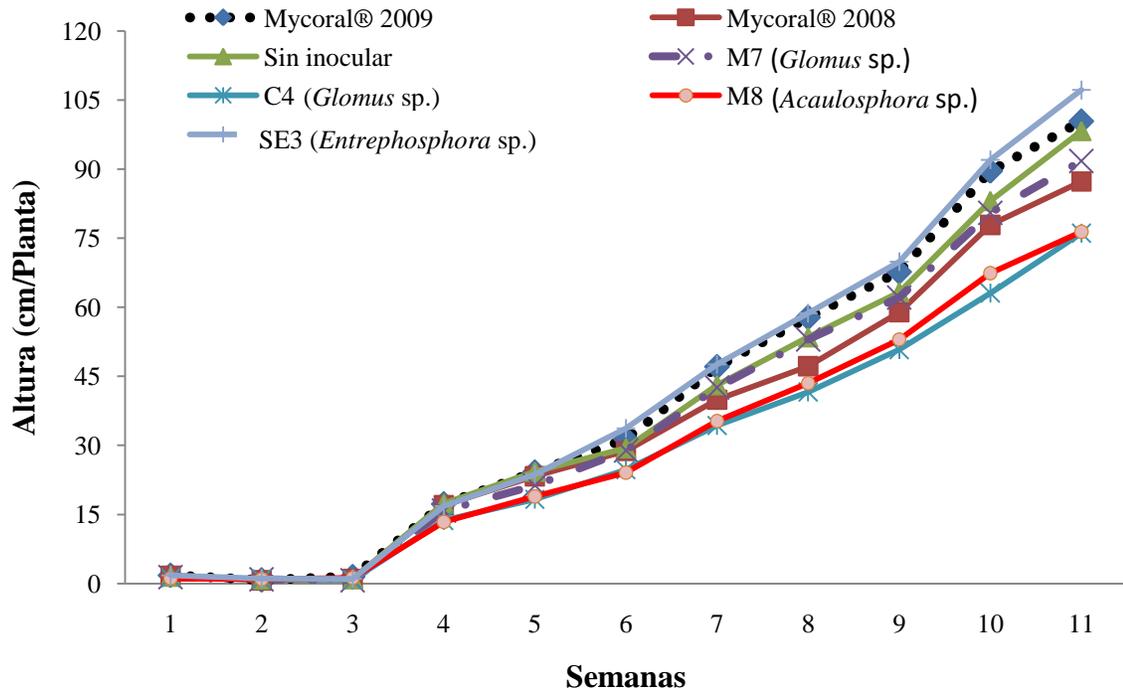


Figura 1. Altura de las plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular en semillero y vivero. Zamorano, Honduras.

3.4 PESO SECO DE LAS PLANTAS

Los mayores pesos secos de la planta, raíz, tallo y hoja, se obtuvieron con plantas inoculadas con las cepas SE3 y M7; sin embargo, estos no difirieron de los pesos secos de raíces y tallos de las plantas inoculadas con Mycoral® 2008, y de raíces y hojas de plantas inoculadas con Mycoral® 2009. Las plantas inoculadas con Mycoral® 2008 y 2009 no difirieron del testigo sin inocular. Los valores más bajos de peso seco de plantas, raíces, tallos y hojas fueron encontrados en las plantas inoculadas con cepas de C4 y M8 (Cuadro 6).

En plantas de caoba se encontraron diferencias en pesos secos en plantas inoculadas con las cepas M7 y C4 que fueron superiores a los pesos secos de la cepa M8 y similares a los de la cepa SE3 (Guerra González 2009). En plantas de palma aceitera se encontró que las plantas inoculadas con Mycoral® tuvieron mayor peso seco de raíz y aéreo que las que no fueron inoculadas (Cruz Ortiz 2007).

Cuadro 6. Pesos secos de hojas, tallos, raíces y total a la floración (semana 11) de plantas de tomate inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular. Zamorano, Honduras.

Cepas	Año de producción	Peso seco (g/planta)			
		Hoja	Tallo	Raíz	Total
SE3 (<i>Entrophospora</i> sp.)	2000	1.4 ^a	1.1 ^a	0.2 ^a	2.7 ^a
Mycoral [®] 2009	2009	1.2 ^{ab}	0.8 ^{bc}	0.1 ^{abc}	2.1 ^{bc}
Mycoral [®] 2008	2008	1.0 ^{bc}	0.9 ^{ab}	0.1 ^{abc}	2.1 ^{bc}
Sin inóculo		1.0 ^{bc}	0.8 ^{bc}	0.1 ^{ab}	2.0 ^{bc}
M7 (<i>Glomus</i> sp.)	2003	1.1 ^{ab}	0.8 ^{abc}	0.1 ^{ab}	2.2 ^{ab}
C4 (<i>Glomus</i> sp.)	2008	0.8 ^c	0.6 ^c	0.1 ^{bc}	1.5 ^c
M8 (<i>Acaulospora</i> sp.)	2008	0.8 ^c	0.6 ^c	0.09 ^c	1.5 ^c
DMS (P≤0.05)		0.00 ^{**}	0.01 ^{**}	0.01 ^{**}	0.00 ^{**}

*Significativo (P≤0.05), **altamente significativo (P≤0.01) y ^{ns} no significativo.

3.5 EVALUACIÓN DE RAÍCES

No hubo diferencia significativa en los tratamientos en longitud, área superficial, diámetro promedio y volumen de raíces; aunque en magnitud, todos los tratamientos inoculados fueron mayores que el testigo. Un mayor número de muestras a analizar para estas variables podría dar mejores diferencias en los resultados (Cuadro 7).

Cuadro 7. Longitud, área superficial, diámetro promedio y volumen de raíces de plantas de tomate inoculadas con cuatro cepas de micorriza arbuscular, evaluadas a floración (semana 11). Zamorano, Honduras.

Cepas	Año de producción	Longitud (m)	Área	Diámetro	Volumen (cm ³)
			Superficial (cm ²)	promedio (mm)	
SE3 (<i>Entrophospora</i> sp.)	2000	15.7	407.7	1.6	8.4
Mycoral [®] 2009	2009	10.9	264.9	1.6	5.2
Mycoral [®] 2008	2008	11.6	264.9	1.2	4.4
Sin inóculo		8.3	199.8	1.3	3.9
M7 (<i>Glomus</i> sp.)	2003	11.2	246.6	1.4	4.4
C4 (<i>Glomus</i> sp.)	2008	10.0	224.5	1.4	4.0
M8 (<i>Acaulospora</i> sp.)	2008	10.6	232.1	1.4	4.1
DMS (P≤0.05)		0.58 ^{ns}	0.47 ^{ns}	0.68 ^{ns}	0.37 ^{ns}

*Significativo (P≤0.05), **altamente significativo (P≤0.01) y ^{ns} no significativo.

Estos resultados difieren de los encontrados en plantas de palma aceitera inoculadas con Mycoral[®], donde se obtuvo mayor volumen de raíces con respecto a las plantas que no fueron inoculadas (Cruz Ortiz 2007).

3.6 ESPORAS EN EL SUSTRATO

Al final del ensayo no hubo diferencia significativa entre los tratamientos al contar las esporas en el sustrato, en muestras tomadas a la orilla del macetero en la semana 9 ni en el centro del macetero en la semana 11. Pero hubo diferencia significativa en el número de esporas en las muestras tomadas a la orilla del macetero en la semana 11; el mayor número de esporas lo obtuvieron las plantas inoculadas con las cepas de SE3, M7 y C4, Mycoral[®] 2009, Mycoral[®] 2008, pero estos valores no difirieron del número encontrado en M8. Los valores más bajos de esporas se obtuvieron en el sustrato que no fue inoculado con micorriza, lo que significa que todas las cepas de micorriza estaban esporulando. En todos los casos, la esporulación fue baja ya que estuvo por debajo de 5.3 esporas/gramo de sustrato² (Cuadro 8).

Estos datos concuerdan con los resultados encontrados en plantas de Caoba dónde se encontró mayor número de esporas de micorriza al final del experimento en plantas que habían sido inoculadas con las cepas M8 y M7, las cuales no diferían de la cepa SE3 (Guerra González 2009).

3.7 INFECCIÓN DE RAÍCES

No hubo diferencia significativa en porcentaje de infección de raíces entre los tratamientos. Esto indica que en otro estudio se deberá aumentar el número de muestras analizadas en laboratorio a fin de aumentar la precisión del experimento.

No se encontró relación entre la infección de raíces y el número de esporas en el sustrato a pesar de su efecto positivo en el crecimiento de las plantas, pero es claro que a mayor porcentaje de infección de raíces y mayor cantidad de esporas en el sustrato el resultado en el crecimiento de la planta fue mejor, como es el caso de la cepa SE3 (Cuadro 8).

² Laboratorio de Biotecnología Aplicada del PIF. Interpretación de resultados de esporas: Alto>7.5 esporas/g de sustrato, Medio 7.5-5.3 esporas/g de sustrato y Bajo<5.3 esporas/g de sustrato

Cuadro 8. Esporas de micorriza en 100 g de sustrato en la orilla y centro de macetero, evaluadas durante crecimiento vegetativo (semana 9) y a la floración (semana 11) y porcentaje de infección de raíces evaluadas a la floración (semana 11). Zamorano, Honduras.

Cepas	Año de producción	No. esporas			Infección (%)
		Orilla		Centro	
		9	11		
SE3 (<i>Entrophospora</i> sp.)	2000	2.7	4.0 ^a	2.7	22.7
Mycoral [®] 2009	2009	2.0	3.0 ^a	3.0	15.0
Mycoral [®] 2008	2008	2.0	2.7 ^a	2.7	16.7
Sin inóculo		0.3	0.6 ^b	1.0	0.0
M7 (<i>Glomus</i> sp.)	2003	2.0	3.0 ^a	2.3	4.0
C4 (<i>Glomus</i> sp.)	2008	1.3	2.7 ^a	2.0	10.0
M8 (<i>Acaulospora</i> sp.)	2008	1.7	2.3 ^{ab}	3.0	5.7
DMS (P≤0.05)		0.09 ^{ns}	0.03*	0.08 ^{ns}	0.08 ^{ns}

*Significativo (P≤0.05), **altamente significativo (P≤0.01) y ^{ns} no significativo.

Estos datos son contrarios con los resultados encontrados en pastos Tanzania y Trasvala, donde no se encontró una relación entre el porcentaje de infección de raíces de las plantas inoculadas con Mycoral[®] y el rendimiento de los pastos (Saenz Chauca 2001). En plantas de caoba hubo mayor infección de raíces de plantas que habían sido inoculadas con la cepa C4 en concordancia con mayor peso seco de plantas (Guerra González 2009).

4. CONCLUSIONES

- La cepa SE3 (*Entrophosphora* sp.) tuvo mayor afinidad con el cultivo de tomate *Lycopersicon esculentum* ya que produjo mayor incremento de hojas, peso seco de la planta y crecimiento más rápido que M8 (*Acaulosphora* sp.), M7 y C4 (*Glomus* sp.) en las primeras semanas del cultivo.
- Las cepas C4 y M8 tuvieron menor efecto en el crecimiento, desarrollo de raíces, peso seco de la planta e infección de raíces en plantas de tomate con respecto a SE3 M7 y el testigo sin inocular.
- La cepa M7 no mostró claridad en su comportamiento, ya que incrementó la altura más que las cepas C4 y M8 y el testigo solamente en la semana 8.
- La mayor esporulación se obtuvo con cepas SE3 (*Entrophosphora* sp.).
- El uso de Mycoral[®] incrementa la eficiencia en el crecimiento de la planta y otros parámetros agronómicos y es mejor cuando es de reciente producción (menos de 2 años de antigüedad).
- El sistema de almacenamiento en cuarto frío a temperatura y humedad relativa controlada (4°C y 60% HR) mantiene la viabilidad de las cepas por más de dos años.

5. RECOMENDACIONES

- Mantener el producto Mycoral[®] con la mezcla de las tres cepas que lo contienen y si es posible agregar la cepa C4 (*Glomus* sp.) y probar el efecto del nuevo producto en diferentes cultivos.
- En ensayos futuros se recomienda evaluar durante más tiempo el efecto de las cepas hasta llegar a producción de la planta y evaluar rendimientos.
- Mantener condiciones de almacenamiento de las cepas con refrigeración en ambiente controlado.
- Se recomienda realizar el experimento en campo e incluir variables de plagas en tomate y otros cultivos para validar los efectos que se atribuyen a las micorrizas arbusculares en la tolerancia a las plagas.

6. LITERATURA CITADA

Andrade, S.A.; Jorge, R.A.; Silveira, A.P. 2005. Cadmium effect on the association of jackbean (*Canavalia ensiformis*) and arbuscular mycorrhizal fungi. *Scientia Agrícola* 62:389-394.

Córdova Zapata, M. 2003. Biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersi* por Trichozam® (*Trichoderma harzianum*) y Mycoral® (micorriza vesículo arbuscular) en el cultivo de tomate. Proyecto de graduación para obtener el título de ingeniero agrónomo, EAP, Zamorano. 43p

Cruz Ortiz, E. 2007. Efecto de Mycoral® en las etapas de pre-vivero y vivero con dos niveles de fertilización en palma africana (*Elaeis guineensis*) en Atlántida, Honduras. Proyecto de graduación para obtener el título de ingeniero agrónomo, EAP, Zamorano. 27 p.

Cuellar, E. 2009. Promoción de cultivos de alto valor (en línea). La Lima, Honduras, La FHIA. Consultado el 10 de julio de 2010. Disponible en:
<http://www.hortalizas.com/noticias/?storyid=1836>

Dreyer, B. 2010. Importancia de las micorrizas. Congreso de micorrizas. San Salvador, El Salvador, 26 de Julio de 2010.

Guerra González, J. 2009. Evaluación de cepas de micorriza vesículo- arbuscular en plantas de caoba (*Swietenia* sp.) en etapa de vivero en Zamorano, Honduras. Proyecto de graduación para obtener el título de ingeniero agrónomo, EAP, Zamorano. 19 p.

Jarstfer, A. G. 1970. Método para tinción de raíces. University of Florida, Soil Science Department, 2171 Mccarty Hall, Gainesville, FL 32611-0151 USA.

Medina Valdez, R. 2003. Evaluación de la micorriza vesículo- arbuscular, Mycoral®, en cormos de banano y plátano en vivero. Proyecto de graduación para obtener el título de ingeniero agrónomo, EAP, Zamorano. 33 p.

Portillo, O. 2009. Promoción de cultivos de alto valor (en línea). FHIA La Lima, Honduras. Consultado el 10 de julio de 2010. Disponible en:
<http://www.hortalizas.com/noticias/?storyid=1836>

PROJAR S.A. 2010. Kekkila Turbas (En línea). Consultado el 20 de julio de 2010. Disponible en: <http://www.horticom.com/pd/imagenes/51/764/51764.pdf>

Raddatz, E. 2001. VAM y la resistencia de las plantas contra causantes de daño. Folleto 29p.

Rodríguez, W. 2005. Desarrollo de una metodología para demostrar los efectos benéficos de la micorriza arbuscular en la reducción de daños causados por *Rhizoctonia solani* en plantas cultivadas. Proyecto de graduación para obtener el título de ingeniero agrónomo, EAP, Zamorano. 31 p.

Saenz Chauca, V.L. 2001. Evaluación y caracterización de cuatro inoculantes comerciales de micorrizas en frijol, pasto Tanzania y pasto Trasvala. Proyecto de graduación para obtener el título de ingeniero agrónomo, EAP, Zamorano. 34 p.

Sieverding, E. 1991. Vesicular-Arbuscular micorriza Management. Revisión de traducción Kathryn Mulhern. Editoras Honrad Vielhauerm. República Federal de Alemania. 371 p.

7. ANEXOS

Anexo 1. Contenido del sustrato para germinación Kekkila.

Componentes del sustrato	Descripción
Materia prima	70% turba parda, grado humificación H 2-5 (Von post) 30% turba negra, grado humificación H 4-6 (Von post)
Granulometría	0-8 mm
Aditivos	4-6 kg/m ³ dolomita calcica 0.5 kg/m ³ Multi-mix N-P2O5-K2O (14-16-18) mas microelementos Agente humectante (W)
Peso	47 +/- 3 kg
Densidad en seco	95 kg/m ³

Datos suministrados por PROJAR S.A. 2010.

Anexo 2. Método para clarificar y teñir muestras de raíces (Jarstfer 1970).

Suposiciones de este procedimiento:

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

Etapas:

- Prepare los cassettes con muestras de raíces y manténgalos en agua hasta que esté listo para clarificarlas.
- Dispense en un beaker de 1 litro una cantidad suficiente que cubra todos los cassettes con un centímetro de 10% KOH.
- Caliente el KOH hasta que alcance 80°C.
- Ponga los cassettes en el KOH por el tiempo deseado: 30 minutos para la mayoría de raíces (p.e. maíz, gramíneas)
- Lave con agua cinco veces.

Nota: Si las muestras de raíces tienen pigmentos oscuros (p.e. café, negros, morados) aun después de clarificar con KOH, ponga los cassettes en un beaker con 30% de agua oxigenada a bajo calor (10 minutos a $\leq 50^{\circ}\text{C}$. Hasta que las muestras pierdan el color y se vuelvan más claras, revíselas constantemente para evitar daños en las estructuras de las raíces. Enjuague cinco veces y proceda a la etapa seis.

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 azul de Trypan (0.5%) en un beaker de 1 ó 2 litros para cubrir los cassettes con 1 centímetro de 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 en el beaker una vez con agua.
10. Coloque las muestras teñidas en una bolsa plástica con etiqueta en el refrigerador.

La preparación del 0.5% tinte azul de Trypan

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, 4.12 g de tinte azul de Trypan.

Anexo 3. Método para aislar esporas de micorriza (Jarstfer 1963).

1. Pese una porción (sub muestra) del suelo o medio de crecimiento colectado (p.e. 100 g) lo más pronto posible para evitar la desecación de las esporas.
2. Vacíe la submuestra en un envase de 2 litros y usando una manguera pequeña, asperje directamente al contenido del envase con un fuerte chorro de agua. Llénelo hasta un litro, y deje establecer las partículas de suelo por 15 a 30 segundos (nota: suelos arenosos requieren menos tiempo para establecerse). Vacíe la mezcla sin perturbar y pásela por filtros de tamaños corrientes. Repita todo el proceso una o dos veces. El tamaño de la maya 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 cuales estarán relativamente libres de material inerte si se usa un filtro con malla de 200 micrones arriba.
3. Transfiera 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 en los tubos de centrifugación. Use un embudo con chorro más fino para mejorar resultados. Si es necesario, añada agua hasta alcanzar aproximadamente un centímetro del borde del tubo.

4. Centrifugue a 3,000 rpm (1230x g) por 3 minutos; deje la centrífuga parar por sí sola. Vacíe la mezcla en solución sin perturbar el sedimento (Nota: las esporas están mezcladas con el suelo).
5. Suspnda las partículas de suelo en una solución de 40% (p/v) sacarosa. Sacarosa refrigerada es dispensada con una botella de un litro de capacidad. Mezcle bien y centrifugue inmediatamente a 3,000 rpm por 1 minuto. Presione el freno de la centrifuga. Vacíe la muestra en un filtro de malla de menor diámetro evitando salpicar agua. Enjuague las esporas cuidadosamente por 1 minuto para remover la sacarosa. Coloque las esporas en un plato petri de plástico, 5-cm capacidad, para ser observadas y añada suficiente agua para evitar desecación de las esporas. No llene el plato demasiado. Séllelo con cinta plástica y póngalo en el refrigerador a 4°C.

Notas

- Lave las mallas en agua con bastante presión para evitar contaminación entre muestras. Es recomendable usar jabón.
- Las esporas pueden ser contadas fácilmente en un plato petri marcando con líneas paralelas (aproximadamente 0.5 cm aparte una de otra).
- Recupere las raíces recolectadas de la malla más grande para observar los propágulos y el grado de colonización.
- Esporocarpios de *Sclerocystis* sp. pueden ser encontrados en las mallas de mayor diámetro.

Normalmente, nosotros usamos la malla de 425 micrones para coleccionar esporas de tamaños desconocidos provenientes de las muestras del campo.