

Evaluación del Mycoral[®] en tres variedades de cocotero resistentes al Amarillamiento Letal para mejorar crecimiento en condiciones de vivero.

**Proyecto especial como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura**

presentado por:

Carlos Lenin Sabio González

**Zamorano, Honduras
Mayo, 2002**

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

Carlos Lenin Sabio González

Zamorano, Honduras
Mayo, 2002

**Evaluación del Mycoral[®] en tres variedades de cocotero
resistentes al Amarillamiento Letal para mejorar crecimiento
en condiciones de vivero.**

Presentado por:

Carlos Lenin Sabio González

Aprobada:

Maria Mercedes Doyle, Ph.D
Asesora Principal

Alfredo Rueda, Ph.D
Coordinador área temática
Fitotecnia

Odilo Duarte, Dr. Sci. Agr.
Asesor

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

Mario Bustamante, Msc.
Asesor

Antonio Flores, Ph.D
Decano Académico

Aracely Castro, Msc.
Asosora

Keith L. Andrews, Ph. D.
Director

Pablo Emilio Paz, Ph.D.
Coordinador PIA

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso.

A mis padres con todo el cariño del mundo.

A toda la familia Sabio-González.

A mi querida Alma Mater

A mi querida patria Honduras.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser mi guía en todo momento y ser la fuerza para culminar esta importante etapa de mi vida.

A Loyola González, por el apoyo, comprensión y todo el amor de madre que siempre me ha dado.

A mi padre Juan Ambrosio Sabio por el esfuerzo y confianza depositada en mi estos años.

A mis abuelos Dolores Jaime e Isidro Sabio por su apoyo.

A mis hermanos Jerry, Felix, Silvia y Kristian , por su amistad , por comprenderme, apoyarme y ser parte importante para el logro de esta meta.

A Sulma Vanessa, por su amistad y paciencia.

A la familia Guardiola-Goméz, por su amistad de todos estos años.

A mis asesores Dra. M.M. Doyle, Ing. Mario Bustamante, Ing. Aracely Castro y Dr. Odilo Duarte, por su apoyo, consejos, comprensión y paciencia en la realización de este estudio.

A Estela Aguilar, por sus consejos y amistad.

Al Ing Byron Reyes, Ing. Luwbia Aranda y Luz por sus consejos y apoyo durante la realización de este proyecto.

A mis compañeros de laboratorio; Andres García, Edith Bermeo y Gladys.

A mis compañeros Carlos de Leon, Mario Renderos, Carlos Lopes, Alfredo Martinez, Kevin Soto, Luis Landaverde, Victor Lopes, Jaime Cajilema, Hector Cuestas, Alejandra Lara, Dulce Espinoza, Ana Posas, Gulliermo Arce, Cecilia Ramos, Romulo Alvarado, Cristina Iglesias, Carolina Villareal, Jenny Castillo, Christian Cruz, Alex Alvarez, Fernando Paucar ; Esteban Cifuentes, Luis Vasconez , Dayske Shoji, Javier Guzman , Mariano Peñate y todos aquellos con los que compartí gratos momentos en Zamorano y que hoy se me olvidan, por su especial amistad.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

A mis padres por el esfuerzo durante todos mis estudios.

A la Escuela Agrícola Panamericana por el apoyo económico durante mis estudios del Programa Agrónomo.

A la Secretaría de Agricultura y Ganadería de gobierno de Honduras.

A la Fundación W. K. Kellogg por el financiamiento de mis estudios en el Programa de Ingeniería Agronómica.

RESUMEN

Sabio, C. 2002. Evaluación de Mycoral[®] en tres variedades de cocotero resistentes al Amarillamiento Letal del Cocotero para mejorar crecimiento en condiciones de vivero. Proyecto Especial del Programa Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 37 p.

La replantación con variedades tolerantes es la solución más viable para el manejo de la devastadora enfermedad del Amarillamiento Letal del Cocotero (ALC). En Honduras los programas de replantación no han tenido el éxito esperado debido a problemas de manejo del material plantado, reportándose hasta un 40% de mortalidad. Esto sugiere que con la introducción de variedades resistentes es necesaria la incorporación de nuevas tecnologías de manejo, una opción es el uso de la biofertilización con micorriza. El objetivo de este estudio fue evaluar el Mycoral[®], una mezcla comercial de tres especies de micorrizas, la micorriza se asocia con las raíces mejorando la absorción de nutrientes y agua lo que resulta en una planta más vigorosa y tolerante a condiciones adversas. El material experimental utilizado fue el Mycoral[®], las variedades resistentes al Amarillamiento Letal, “Alto del Pacífico”, “Enano Malayo Rojo” y “Enano Malayo Amarillo”. Se establecieron dos ensayos, el primero comparó el efecto de inocular la mezcla de suelo versus no inoculo sobre el crecimiento. El segundo ensayo comparó el efecto de la biofertilización contra fertilización tradicional sobre el crecimiento y el grado de inoculación. Se evaluaron las siguientes variables: altura de la planta, perímetro del tallo, volumen radicular, peso fresco, peso seco de la biomasa aérea y efectividad de la inoculación: porcentaje de infección de raíces y el número de esporas en 100g de suelo. En el primer ensayo, la variedad Alto del Pacífico con micorriza presentó valores superiores en todas las variables. En el segundo ensayo el efecto del fertilizante fue superior en las variables de crecimiento pero no en la efectividad de la inoculación. En vista del buen crecimiento observado en las tres variedades con el uso de Mycoral[®] se recomienda establecer estudios similares en sitios actualmente expuestos al ALC y evaluar su desempeño.

Palabras claves: Hongos, condiciones de playa, adaptación, biofertilización.

Abelino Pitty, Ph.D.

NOTA DE PRENSA

Biofertilización, una opción para mejorar el crecimiento de las plantas de cocotero

Actualmente Honduras atraviesa por una fuerte epidemia de la terrible enfermedad del Amarillamiento Letal del Cocotero, la que ha terminado con la mayoría de las palmas de coco en la zona norte.

La replantación con variedades tolerantes al Amarillamiento Letal del Cocotero es la solución más viable que se ha encontrado, por lo que a partir de 1994 organizaciones del sector público y privado de la sociedad hondureña han desarrollado programas de rehabilitación del coco en las zonas más afectadas. Lastimosamente estos programas no han alcanzado el éxito esperado debido a las condiciones adversas a las que las plantas son expuestas, resultando esto en una alta mortalidad del material plantado.

Para mejorar el crecimiento y reducir la mortalidad de las plantas es necesario incorporar nuevas tecnologías de manejo en la replantación de cocoteros. Se realizó un estudio en la El Zamorano con el objetivo de evaluar el efecto de micorrizas en tres variedades de cocotero resistentes al Amarillamiento Letal: “Enano Malayo Amarillo” y “Alto del Pacífico” en condiciones de vivero; el inoculante de micorriza utilizado fue el MYCORAL[®]. En el estudio se evaluó la altura y el perímetro de las plantas durante 5 meses. Los resultados indican un incremento en el crecimiento de las plantas inoculadas con micorriza.

El estudio concluye que las tres variedades tuvieron una respuesta positiva a la micorriza, pero la “Alto del Pacífico” fue la que tuvo el incremento en crecimiento más significativo. Por lo que se recomienda exponer estas plantas a condiciones de playa y evaluar su desempeño.

Licda. Sobeyda Alvarez

CONTENIDO

	Portadilla.....	ii
	Página de firmas.....	iii
	Autoría.....	iv
	Dedicatoria.....	v
	Agradecimientos.....	vi
	Resumen.....	vii
	Nota de prensa.....	viii
	Contenido.....	ix
	Indice de Cuadros.....	xi
	Indice de Figuras.....	xii
	Indice de Anexos.....	xiii
1.	INTRODUCCION.....	1
1.1	IMPORTANCIA DEL COCOTERO EN HONDURAS.....	1
1.2	DEFINICION DEL PROBLEMA.....	1
1.3	ANTECEDENTES.....	2
1.4	JUSTIFICACION.....	3
1.5	OBJETIVO GENERAL.....	3
1.6	OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	4
2	REVISION DE LITERATURA	5
2.1	COCOTERO.....	5
2.1.	Generalidades.....	5
2.1.2	Importancia del cocotero.....	6
2.2	MICORRIZAS.....	6
2.2.1	Definición.....	6
2.2.2	Tipos de micorriza.....	7
2.3	MICORRIZA VESICULO ARBUSCULAR (MVA).....	8
2.3.1	Desarrollo de la MVA.....	8
2.4	FUNCIONES DE LA MICORRIZA.....	8
2.4.1	Absorción de nutrimentos.....	8
2.4.2	Absorción de agua.....	9
2.4.3	Micorrizas y enfermedades de en plantas.....	9
2.5	MICORRIZAS EN LA AGRICULTURA.....	10
2.6	FACTORES QUE AFECTAN A LAS MICORRIZAS.....	11
2.7	MICORRIZAS EN OTROS CULTIVOS.....	11

3	MATERIALES Y METODOS.....	13
3.1	UBICACIÓN.....	13
3.2	MATERIAL EXPERIMENTAL.....	13
3.3	METODOLOGIA.....	13
3.3.1	Experimento I.....	14
3.3.1.1	Medio de crecimiento.....	14
3.3.1.2	Tratamientos.....	14
3.3.1.3	Variables evaluadas.....	14
3.3.2	Experimento II.....	15
3.3.2.1	Tratamientos.....	19
3.3.2.2	Medio de crecimiento.....	16
3.3.2.3	Variables evaluadas.....	16
3.3.3	Análisis estadístico.....	16
4.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	17
4.1	EXPERIMENTO I.....	17
4.1.1	Germinación.....	17
4.1.2	Altura de la planta.....	18
4.1.3	Perímetro del tallo.....	18
4.1.4	Peso fresco de la biomasa aérea.....	18
4.1.5	Peso seco de la biomasa aérea.....	19
4.1.6	Volumen radical.....	19
4.1.7	Número de esporas en el suelo.....	20
4.1.8	Porcentaje de infección de raíces.....	20
4.2	EXPERIMENTO II.....	22
4.2.1	Altura de la planta.....	22
4.2.2	Perímetro del tallo.....	22
4.2.3	Peso fresco de biomasa aérea.....	22
4.2.4	Volumen radical.....	22
4.2.5	Porcentaje de infección de raíces.....	23
4.2.6	Número de esporas en el medio.....	23
5	CONCLUSIONES.....	25
6.	RECOMENDACIONES.....	26
7.	BIBLIOGRAFIA.....	27
8.	ANEXOS.....	29

INDICE DE CUADROS

Cuadro		
1	Tratamientos experimento I.....	14
2	Tratamientos experimento II.....	17
3	Promedios de altura y perímetro del tallo (cm) en tres variedades de coco con y sin micorriza, El Zamorano, Honduras.....	19
4	Promedios de peso fresco de la biomasa aérea (PFBA), peso seco de la biomasa aérea (PSBA) y volumen de raíces (Vol.R.). EL Zamorano, Honduras.....	20
5	Efectividad de la inoculación con micorriza, evaluada mediante el número de esporas en el medio y el porcentaje de infección de raíces. Zamorano, Honduras.....	21
6	Correlación entre variables por tratamiento. El Zamorano, Honduras.....	22
7	Promedios de altura de planta, perímetro del tallo, peso fresco de la biomasa aérea (PFBA) y volumen radicar (Vol. R.) en la variedad Enano Malayo Amarillo fertilizada e inoculada con MVA. El Zamorano, Honduras.....	24
8	Promedios de infección de raíces (IR) y número de esporas en la variedad Enano Malayo Amarillo fertilizada e inoculada con MVA. El Zamorano, Honduras.....	24
9	Correlación de variables por tratamiento. El Zamorano, Honduras.....	25

INDICE DE FIGURAS

Figura		
1	Variedades plantadas en condiciones de playa.....	2
2	Sistema Micorriza Vesículo Arbuscular (MVA).....	10
3	Establecimiento del ensayo.....	16
4	Porcentaje de germinación de tres variedades de coco tolerantes al ALC. El Zamorano, Honduras.....	18
5	Vesículas en raíces de cocotero.....	22

INDICE DE ANEXOS

Anexo		
1	Análisis del medio de crecimiento.....	30
2	Método para clarificar y teñir muestras de raíces.....	31
3	Método para el aislamiento de esporas.....	33
4	Arreglo espacial del ensayo para el experimento I.....	35
5	Arreglo espacial del ensayo para el experimento II.....	36

1. INTRODUCCIÓN

1.1 IMPORTANCIA DEL COCOTERO EN HONDURAS

El cocotero (*Cocos nucifera*) es una planta monocotiledónea de la familia Arecaceae, de amplia dispersión geográfica con mayor concentración en las islas y regiones tropicales de todo el mundo. Históricamente este cultivo ha jugado un papel muy importante para las sociedades costeras, ya que se ha utilizado en el sustento diario de poblaciones de diferentes culturas.

En Honduras, la costa caribe y el territorio insular cuentan con más de 300 poblados de importancia ligados cotidianamente de alguna manera al consumo, industrialización doméstica y comercialización de productos de coco (Ardón *et al.*, 2001).

Ardón *et al.* (2001) establecen que el cocotero es de gran importancia en la vida diaria de los pobladores de la costa caribe hondureña, lo que se refleja en la diversidad de utilidades que dan a los productos y subproductos del coco. Estudios más detallados han reportado alrededor de 80 aplicaciones diferentes en una sola comunidad incluyendo aceite, pan dulce y simple, leche, tabletas, caballitos, sopas, salsas, pan de yuca y de maíz, tortillas de harina, tamales, bono, agua de coco, coco seco, pastel, laxantes, jarabes, alimento para cerdos, cáscara como combustible, tambores, esculturas de figuras cómicas con el fruto seco, fibra para fertilizantes y macetas, entre otros. En la comunidad de Cuero y Salado, la Standard Fruit Company posee una planta de extracción de fibra de la nuez, para utilizarla como sustrato en las “biofábricas” de cultivo *invitro* de banano.

1.2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Actualmente Honduras afronta una severa epidemia de Amarillamiento Letal del Cocotero (ALC), enfermedad que amenaza con destruir la totalidad de los cocoteros susceptibles de la costa caribe hondureña y de las Islas de la Bahía. La enfermedad, reportada por primera vez hace más de un siglo en las islas del Gran Caimán, es causada por un fitoplasma (microorganismo parecido a una bacteria) del grupo mollicutes y transmitido por el insecto vector *Myndus crudus* (Doyle *et al.*, 2001).

Las actividades de lucha contra el ALC en Honduras se concentran principalmente en la replantación de las áreas afectadas, con variedades tolerantes identificadas y desarrolladas en Jamaica en la década de los setenta (Doyle *et al.*, 2001). Sin embargo, existen reportes del poco vigor de estas plantas y su alta mortalidad debido a problemas de adaptación, principalmente relacionados con un débil anclaje asociado con la baja fertilidad, falta o exceso de agua y alta incidencia de luz solar (Figura 1).



Figura 1. Variedades plantadas bajo condiciones de playa

Según Doyle *et al.* (2001), la alta mortalidad de los híbridos, otras variedades resistentes y el manejo de las mismas sigue siendo una limitante importante para el éxito de los programas de replantación. Proyectos ejecutados por CARITAS reportan hasta el 40% de mortalidad en híbridos provenientes de Costa Rica¹. Según estudios y visitas a los lugares replantados, se han identificado cuatro factores principales para este problema:

1. Calidad del material importado es de baja.
2. Deterioro del material, por el estrés durante el transporte.
3. Deterioro del material de buena calidad por estrés natural o manejo inadecuado durante el período de almacenamiento, antes de llevarlo al campo. Este período puede durar de semanas a meses y depende de la logística de los programas para la distribución en las comunidades. También se han reportado casos de material repartido en las comunidades que no ha sido plantado durante varios meses. El tiempo que permanecen las plantas sin replantar está directamente relacionado con su deterioro.
4. Mal manejo del material plantado por las comunidades, específicamente replantación en época seca, a profundidad inadecuada y, o, en lugares (playas) expuestos a daño mecánico por animales y personas; deterioro por falta de irrigación y, o, fertilización; y la incidencia de enfermedades e insectos.

1.3 ANTECEDENTES

La resistencia al ALC fue reportada por primera vez en Jamaica, en campos plantados con la variedad “Enano Malayo Rojo” que habían sobrevivido a pesar de la continua exposición

¹Figuroa, F. 2001. Proyecto CARITAS (comunicación personal)

a la enfermedad. Mas tarde, se detectó una alta resistencia en las variedades “Enano Malayo Amarillo” y “Enano Malayo Verde”. En una evaluación de campo establecido en los años 60, las tres variedades presentaron un porcentaje de sobrevivencia de 96% (Robert y Zizumbo, 1990).

La resistencia y productividad del Enano Malayo Rojo fue evaluada y posteriormente verificada en miles de plantas madres seleccionadas para la producción de semilla. A partir de los resultados observados se empezaron a desarrollar programas de hibridación combinando la alta resistencia de las variedades enanas con el largo de la fruta de las variedades altas, dando como resultado el híbrido Maypan (Enano Malayo x Alto de Panamá) .

1.4 JUSTIFICACIÓN

Con la introducción de variedades tolerantes al ALC, se ha sentido la necesidad de desarrollar paquetes tecnológicos para el manejo adecuado de las plantaciones considerando distanciamientos mayores a los tradicionales, control de malezas, monitoreo .3

Oy control de plagas, riego y fertilización (Morales, 2001), para que estas variedades tengan un buen desempeño en las condiciones adversas de las zonas playeras a replantar.

Entre las actividades de investigación del programa de manejo del ALC conducido por la Escuela Agrícola Panamericana / Zamorano, está el uso de la biofertilización con micorriza vesicular-arbuscular (MVA) para mejorar la adaptación de las variedades plantadas en suelos subóptimos, como son las playas. La micorriza ayuda a mejorar la capacidad de absorción de agua y nutrientes, dando como resultado plantas más sanas y vigorosas, con mejor potencial de tolerar condiciones adversas.

Zamorano promueve la biofertilización con micorriza desde 2000, utilizando el inoculante comercial MYCORAL[®], producto biológico 100% natural que se ha evaluado en cultivos forestales, frutales, hortícolas, industriales, de pastos y granos, obteniéndose resultados favorables en su crecimiento (EAP/Zamorano, 2001).

1.5 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la inoculación con micorriza vesicular-arbuscular (MVA) en el crecimiento y desarrollo bajo condiciones de vivero de tres variedades de cocotero tolerantes al Amarillamiento Letal (ALC).

1.6 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la respuesta a la inoculación con MVA bajo condiciones de vivero de Zamorano, de plantas de tres variedades de cocotero tolerantes al ALC .
- Comparar el efecto en el desarrollo de plantas de una variedad de cocotero tolerante al ALC, de la inoculación con MVA y de la fertilización química bajo condiciones de vivero en Zamorano

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 COCOTERO

2.1.1 Generalidades

El origen de la especie *Cocos nucifera* no se ha determinado con precisión, siendo un cultivo excepcional por no conocerse plantaciones silvestres. Sin embargo, resalta que el 90% de los insectos específicos del coco se hallan en la Melanesia (islotos en el suroeste del Pacífico, al noreste de Australia), mientras únicamente hay un 4% en África y 20% en América, sugiriendo su origen en aquella región (Fremond, 1969).

A pesar de no saberse su origen exacto, el cocotero es conocido universalmente y está ampliamente diseminado en islas y zonas costeras tropicales de todo el mundo, entre los 26° de latitud norte y sur (los trópicos de Cáncer y de Capricornio están a 23°), siendo sus frutos o drupas el principal alimento para habitantes de muchas de esas áreas, que lo cultivan desde hace 3,000 ó 4,000 años (Cañizo, 1991). En América, la presencia del cocotero se registra con la llegada de los españoles.

Así como el cocotero está ampliamente diseminado en el mundo, también presenta numerosas formas fenotípicas no muy bien definidas. Según Baraona (1992) en este cultivo no existen variedades clonales (propagadas vegetativamente); sin embargo, existen formas bien caracterizadas a las que se conocen como variedades. Las principales variedades conocidas la región centroamericana son las siguientes:

1. **“Alto del Atlántico”**. Es el equivalente al “Jamaica Tall”, es una variedad alógama, es decir que requiere de polinización cruzada para su fertilización. Comienza a producir aproximadamente al octavo año, su fruto es verde, largo y angular. El tallo es delgado y curvado; las cicatrices de las hojas son irregulares. Su resistencia al ALC oscila entre 4 y 10%.
2. **“Alto del Pacífico”**. Es el equivalente al “Panamá Tall”. También presenta polinización cruzada, produciendo un fruto color verde o bronce amarillo cuando esta maduro, de forma esférica. El tallo es robusto y erecto, con base amplia. Su resistencia al ALC es de un 50% a un 80%.
3. **“Cocoteros Enanos Malayos”**. Estas variedades se denominan “Roja”, “Amarilla” y “Verde”. Además de su pequeño porte, son más precoces que las anteriores produciendo las primeras cosechas a los cuatro años. Presentan el problema de una inferior calidad de copra debido a la pequeñez de la nuez, pero su rendimiento constante las hace recomendables para programas de replantación (Robert y Zizumbo, 1990). El uso de estas variedades enanas es recomendable en regiones donde existen problemas por la incidencia del ALC, pues presentan una resistencia promedio de 80%.

El cocotero es una planta monoica, con los órganos sexuales femeninos y masculinos en flores distintas pero reunidas en una misma inflorescencia. Cada hoja tiene en la axila un esbozo floral, el que se convierte o no en inflorescencia fructífera según las condiciones de nutrición y clima.

2.1.2 Importancia del cocotero

Aunque el coco fresco y seco (copra) es un buen alimento por su contenido proteico y de lípidos, es escaso en vitaminas y sales minerales. El cocotero es una planta de múltiples usos. Prácticamente toda la planta puede ser aprovechada (se citan casi 400 productos y subproductos), empezando por la fruta en desarrollo que es muy apreciada en las zonas calientes por su bebida refrescante, que puede sustituir el suero en casos de deshidratación (Barahona, 1992). A pesar de su declive en los últimos años como cultivo para la producción de aceite, Illingworth (2000) establece que actualmente se producen 1.5 millones de toneladas de este producto al año.

Por ahora el aceite continúa siendo su producto más importante, siendo insustituible en la industria confitera (INIFAP, 1999). Aunque más de 150 países importan algún producto o subproducto del coco, su sobrevivencia como cultivo económico importante probablemente sería garantizada por su diversificación en productos y subproductos no tradicionales, además de aumentos en el consumo de todos los aceites vegetales por el crecimiento de la población mundial (Illingworth, 1999).

En Honduras, la extensión superficial de las plantaciones de cocotero es de aproximadamente 650 kilómetros cuadrados más islas y cayos, teniendo una importancia de dimensión ambiental, social y económica. En resumen, la producción, consumo, procesamiento doméstico, comercialización de subproductos y exportación de frutos, han constituido actividades de suma importancia para el país (Ardón *et al.*, 2001).

El ALC constituye un serio problema para la producción sostenible del coco y sus derivados, debido a la velocidad con que las plantaciones han sido afectadas y a la baja efectividad alcanzada para su renovación con variedades resistentes a este fitoplasma. Morales (2001) establece que a nivel de campo, la baja fertilidad del suelo a la orilla de la playa es un problema para la adaptación de plantas importadas de Costa Rica, aunque recalca también que un 7% de mortalidad es debido a daños por plagas, *Phytophthora* sp. y marchitez por falta de riego, entre otras.

2.2 MICORRIZAS

2.2.1 Definición

La palabra micorriza proviene de los vocablos griegos *mike* (hongo) y *rrhiza* (raíz). Se conoce con el nombre de micorriza a la asociación mutualista entre las raíces de la mayoría de las plantas (tanto cultivadas como silvestres) y ciertos hongos del suelo (Gopi y Douds, 2000; Raddatz, 1997). Se trata de una simbiosis prácticamente universal, no sólo porque casi todas las especies son susceptibles a ser micorrizadas sino también porque los hongos

micorrizales pueden estar presentes en la mayoría de los hábitats naturales (Hernández, 2001).

2.2.2 Tipos de micorriza

Existen siete tipos de micorriza, que han sido clasificadas siguiendo criterios estructurales, funcionales y taxonómicos. Estas son la ectomicorrizas, endomicorrizas o micorrizas arbusculares (MA), ectendomicorrizas, arbutoides, monotropoides, ericoides y orquidioides (Hernández, 2001); sin embargo, son las ectomicorrizas y endomicorrizas las que más se han estudiado y de las que hay más información disponible.

Agrios (1988) las describe de la siguiente manera:

Ectomicorriza. En este tipo de micorriza las raíces son comúnmente hinchadas. Las ectomicorrizas se forman principalmente en árboles forestales. Las esporas de estos hongos se forman sobre el suelo y son diseminadas por el viento. Las ectomicorrizas también penetran las raíces, pero sólo crecen en torno a las células corticales, reemplazando parte de la lámina media entre células y formando la denominada “Red de Hartig”.

Endomicorrizas. Estas raíces tienen una forma y color similares a las raíces no micorrizadas, pero internamente las raíces infectadas con ésta. Las hifas del hongo crecen en la células corticales de la raíz alimentadora tanto al formar hifas del hongo como al formar hifas alimentadoras especializadas denominadas arbusculos; o al formar grandes hifas hinchadas denominadas vesículas. La mayoría de las endomicorrizas contienen tanto vesículas como arbusculos, por lo que se les denomina Micorrizas Vesículo-Arbusculares (MVA). A diferencia de las ectomicorrizas, las endomicorrizas no se encuentran rodeadas de un manto fungoso sino por una masa micelial laxa que se forma sobre la superficie de la raíz, a partir de la cual se forman subterráneamente hifas y grandes zygosporas de color perla. Las endomicorrizas se forman en la mayoría de las plantas cultivadas y en algunos árboles forestales, principalmente del género *Endogone*, aunque también con otros hongos como el *Glomus*.

2.3 MICORRIZA VESÍCULO-ARBUSCULAR (MVA)

Actualmente, el uso comercial de los hongos formadores de micorrizas es más intenso, tanto en el campo como en invernaderos y viveros de cultivos de alto rendimiento. Los hongos vesiculares de la micorriza son un grupo importante de microorganismos del suelo, que contribuyen sustancialmente en el establecimiento, productividad y longevidad de ecosistemas naturales o artificiales, por lo que se consideran organismos benéficos (Rodríguez, 2001).

2.3.1 Desarrollo de la MVA

Hernández (2001) señala que el proceso de formación de la simbiosis comienza con la germinación de las esporas en el suelo, cuando las condiciones de temperatura y humedad

son favorables. De igual manera, la germinación de esporas puede ser afectada por factores edáficos como el pH, humedad, contenido de nutrimentos o cantidad de materia orgánica. Adicionalmente, prácticas como la aplicación de químicos pueden influir en el crecimiento y fisiología de la planta hospedera (Linderman, 1991).

A medida que el proceso de asociación simbiótica madura, se producen esporas que pueden presentarse aisladas, en grupos o de ambas formas, dependiendo del hongo involucrado. El desarrollo hifal puede ser inter o intra celular en la corteza, con el desarrollo de arbusculos producidos dentro de las células corticales poco después de la entrada del hongo a la raíz. El promedio de vida de estas estructuras es de 4 días, tiempo después del cual son digeridos por su hospedero (Safir, 1990).

Las vesículas se forman generalmente en los extremos de las hifas del hongo y suelen aparecer más tarde que los arbusculos. Son consideradas estructuras de almacenamiento, principalmente de lípidos (Hernández, 2001). La colonización del hongo puede extenderse también mediante hifas exteriores por la superficie de la raíz, y penetrarla a intervalos irregulares (Sieverding, 1991).

Cuando la infección interna está bien establecida, las hifas del hongo pueden crecer externamente desde la raíz hacia el suelo explorando un área inaccesible a las raíces. Con ello la planta aumenta considerablemente su superficie de absorción de 100 a 1000 veces, y por tanto su capacidad de captación de nutrimentos y agua es mayor y más eficiente.

2.4 FUNCIONES DE LAS MICORRIZAS

2.4.1 Absorción de nutrimentos

Es claro que las infecciones micorrícicas pueden mejorar la capacidad de las raíces de las plantas para tomar nutrimentos. Existen informes de que esta infección incrementa el consumo de potasio, hierro, calcio, nitrógeno, azufre, zinc y fósforo (Read, 1993).

Para Hernández (2001) el efecto más importante de la MVA en las plantas es el incremento en la absorción de nutrimentos minerales del suelo, lo que se traduce en su mayor crecimiento y desarrollo. La expansión del micelio externo del hongo es la causa principal de este efecto, permitiendo la captación de nutrimentos más allá de la zona de agotamiento que se crea alrededor de las raíces, por la absorción por la planta. Muchas veces, el incremento en la absorción de minerales está relacionado con un mejor crecimiento cuando un nutrimento se encuentra de forma limitante (Smith y Read, 1999).

El principal énfasis en investigación ha sido la gran influencia de colonización micorrícica en el crecimiento y la nutrición del fósforo. Safir (1990) hace ver que el aumento de la absorción de fósforo por las raíces con micorrizas es de particular importancia, ya que la mejoría del desarrollo de las plantas micorrícicas está a menudo relacionado con la mejoría en la nutrición fosforada. Este nutrimento frecuentemente limita el crecimiento de la planta, porque casi siempre se encuentra en forma no disponible cuando se añade o está presente en el suelo, siendo sólo parcialmente utilizable por las raíces de la planta.

La absorción de nitrógeno también se favorece con la micorrización (Hernández, 2001). Estudios recientes han demostrado que la relación entre la infección micorrícica y la fijación del nitrógeno puede ser compleja. Se ha encontrado que la fijación de nitrógeno es a menudo estimulada por la introducción de hongos micorrícicos (Safir, 1990). Smith y Read (1999) establecen que las altas concentraciones de nitrógeno reportadas en plantas inoculadas con MVA, se deben a que también existe una asociación simbiótica con las bacterias fijadoras de nitrógeno o actinomicetos. Se cree que este incremento en los niveles de nitrógeno de la planta es inducido como efecto secundario del incremento en la disponibilidad del fósforo.

2.4.2 Absorción de agua

Las plantas micorrícicas han demostrado recobrase más rápido de moderados déficits de agua que las plantas no micorrizadas. El aumento en la velocidad de recuperación de las plantas micorrizadas es aparentemente causado por la disminución de la resistencia al transporte hídrico en sus raíces (Safir, 1990), sugiriendo que la colonización micorrícica tiene efectos sobre la tolerancia a sequía Smith y Read (1999). Los nutrientes se vuelven menos disponibles a medida que el suelo está seco. Bajo estas condiciones, las plantas no micorrizadas crecen de forma limitada por la baja disponibilidad de nutrientes y el reducido crecimiento de raíces, impidiendo la absorción eficiente de agua.

La relación planta-agua es modificada de varias formas por la interacción con las micorrizas. Los mecanismos son difíciles de determinar, pero muchos efectos se relacionan con cambios en el estado nutricional de la planta. Existen evidencias sobre el transporte de agua a través de las hifas del hongo y de alteraciones en las propiedades hidráulicas de las raíces (Smith y Read, 1999).

2.4.3 Micorrizas y enfermedades en plantas

Las MVA también tienen un significativo efecto en la fisiología e interacciones biológicas en la rizósfera, lo que lleva a decir que podrían tener un efecto en la incidencia y severidad de enfermedades de plantas. La infección con MVA puede promover o inhibir el desarrollo de enfermedades de plantas de diferentes maneras incluyendo la alteración de la rizósfera para beneficiar o perjudicar a los organismos patógenos, y, o, la alteración de la planta hospedera para atenuar el desarrollo del patógeno (Safir, 1990). Las MVA contribuyen a la supresión de enfermedades de diferentes maneras, pero la más obvia es mediante el incremento en el consumo de fósforo, resultando una planta más vigorosa con mayor capacidad de tolerar enfermedades de raíz (Linderman, 1991).

Conociendo que los hongos MVA son los mayores componentes de la rizósfera, es lógico decir que estos afectan la incidencia y severidad de enfermedades de la raíz. Un ejemplo claro es que generalmente la infección patogénica de nematodos es menor en plantas micorrizadas, aunque las respuestas pueden variar y los mecanismos involucrados son controversiales. Síntomas relacionados con la infección por nematodos son generalmente reducidos, pero no siempre la población de nematodos es reducida (Linderman, 1991). Raddatz (1997) explica que existe una influencia directa de la micorriza sobre los nematodos; en muchos ensayos se ha comprobado que la población de nematodos es

bastante reducida, si las plantas están infectadas con micorriza. En realidad no se conoce la causa exacta de este efecto. Una hipótesis plausible supone que la simbiosis es una convivencia muy estrecha e íntima, en la cual ocurren cambios en el metabolismo de los dos socios. Estos cambios se expresan en un contenido variado de compuestos en las células, incluyendo fitohormonas. Aparentemente esta “dieta variada” no es del gusto de los nematodos, por lo que su tasa de reproducción de estos se reduce.

Mediante experimentos con inoculaciones foliares con *Pseudomonas syringae*, Linderman (1991) establece que mientras las enfermedades bacterianas y del suelo son reducidas con la aplicación de MVA, las enfermedades vírales y otras del follaje generalmente se incrementan en plantas micorrizadas. Aparentemente, los virus se multiplican más rápido en plantas micorrizadas que en no micorrizadas.

2.5 MICORRIZAS EN LA AGRICULTURA

La incorporación de la tecnología MVA en los programas de producción agrícola debe considerar un sinnúmero de parámetros, comenzando por determinar el grado al cual las plantas hospederas son dependientes de la infección y el beneficio potencial de la inoculación micorrícica (Safir, 1990).

El grado de colonización de la raíces por medio de la MVA y los efectos de la simbiosis pueden variar, dependiendo de la interacción entre el hospedero, el simbionte y el ambiente (Linderman, 1991). Johnson y Pflerger (1992) señalan que esta interacción se puede mejorar mediante el control directo del suelo, cultivares o variedades y plagas. Estos autores describen que la agricultura debe manejar tres componentes del sistema MVA: 1) la manipulación de la secuencia de cultivos, cruzamientos, plaguicidas y medidas de control biológico; 2) la manipulación de los suelos por medio de la labranza, fertilización e irrigación; y 3) la manipulación ocasional de la MVA mediante inoculación (Figura 3).

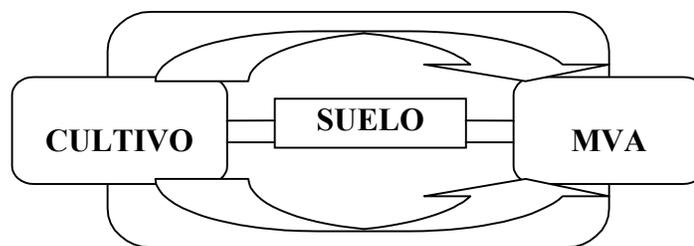


Figura 3. Sistema Micorriza Vesículo Arbuscular (MVA). Johnson y Pflerger, 1992.

2.6 FACTORES QUE AFECTAN A LAS MICORRIZAS

Hay algunos factores que favorecen o inhiben las asociaciones con la MVA. Como se ha mencionado, los suelos que favorecen la infección micorrícica son aquellos con moderada a baja fertilidad. Por el contrario, suelos de fertilidad elevada, particularmente con altos niveles de fósforo y nitrógeno, casi siempre retardan el establecimiento de las micorrizas. No obstante, está demostrado que cuando se usan cantidades de inóculo relativamente grandes, a veces la infección puede establecerse en suelos ricos en fósforo en tiempos medianamente cortos (Safir, 1990).

Linderman (1991), menciona que muchas esporas de la MVA pueden germinar en algunos suelos y en otros no, pero que este efecto inhibitorio puede ser eliminado mediante la pasteurización del suelo. Algunos reportes indican que algunos nematodos micofagos comunes en la rizósfera, pueden reducir el potencial de inoculación de la MVA. El hecho de que existan muchos organismos relacionados con la dinámica poblacional de la MVA no necesariamente significa que su efecto sea el reducir la influencia potencial de la micorriza en el crecimiento y salud de las plantas. Tampoco se sabe con precisión si las prácticas agrícolas pueden cambiar el efecto de estos organismos sobre la MVA (Linderman, 1991).

2.7 MICORRIZAS EN OTROS CULTIVOS

En los últimos años, a partir de la necesidad de encontrar un equilibrio entre la economía y la ecología, ha sido necesario un mejor entendimiento de la interacción suelo-planta-organismos-atmósfera, es decir, del ambiente ecológico de la producción agrícola.

El beneficio del uso de las asociaciones MVA en el crecimiento de las plantas cultivadas resulta de gran importancia, particularmente en suelos tropicales cuyo potencial de explotación es mucho mayor que en regiones de clima templado, pero que generalmente son deficientes de fósforo asimilable.

En cereales como el arroz, se ha reportado el beneficio de la biofertilización con micorrizas. Ortiz y Fernández (1998) evidenciaron un marcado efecto positivo mediante el recubrimiento de la semilla de arroz con el inoculante, logrando un rendimiento superior y una mejor calidad industrial del cultivo. Cobrera (1998) realizó un estudio con soya, encontrando influencia positiva de los tratamientos con micorriza en el crecimiento y rendimiento de las plantas.

Los duraznos que crecen en viveros fumigados, también sufren de deficiencias nutricionales. Para superar estos problemas, en la mayoría de los viveros para este cultivo se aplican quelatos de zinc y ácido fosfórico en el período de injerto, aunque dichas aplicaciones no son 100% efectivas. Se ha comprobado que la inoculación con hongos endomicorrícicos mejora la nutrición de zinc para permitir al duraznero crecer mejor en los viveros (Safir, 1990).

Por medio de la tecnología de biofertilización con MVA, probablemente las plantas utilizadas en los programas de replantación de coco que actualmente se conducen en

Honduras podrían presentar un mayor vigor en el crecimiento, mediante una mayor eficiencia en la absorción de nutrimentos y agua que contribuiría a que el cocotero tolere condiciones adversas de mejor forma. Esto resultaría en menor costo de suplementación de fertilizante e hídrica, disminución en las tasas de mortalidad y mayor éxito en los programas de replantación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN

El estudio se realizó en los viveros de plantas frutales de la Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria (CCPA) de la Escuela Agrícola Panamericana / Zamorano (EAP/Zamorano), situada en el Valle del Yeguaré, departamento de Francisco Morazán, a 800 msnm, con una temperatura y precipitación promedio anual de 23 °C y 1200 mm, respectivamente.

3.2 MATERIAL EXPERIMENTAL

El estudio se dividió en dos experimentos. En el primero se evaluó la respuesta de tres variedades, ‘Enano Malayo Amarillo’ (EMA), ‘Enano Malayo Rojo’ (EMR) y ‘Alto del Pacífico’ (AP), a la inoculación con micorrizas. En el Experimento II únicamente se utilizó la variedad Enano Malayo Amarillo, a la que se aplicó fertilizante químico para compararlo con la inoculación con micorrizas y el tratamiento testigo. Todas las nueces utilizadas provinieron de Costa Rica.

En ambos casos se inoculó con MYCORAL[®], producto biológico 100% natural y ecológico, formado por la mezcla de tres especies seleccionadas de micorrizas altamente eficaces: *Glomus*, *Acaulospora* y *Entrophospora*. El sustrato de suelo de textura franca, esporas e hifas del hongo y segmentos de raicillas infectadas. Este producto no pierde su eficacia por lo menos durante 2 años, siempre que se almacene en un lugar seco y bajo sombra.

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1 Experimento I (Julio 2001)

Se sembraron 80 semillas de la variedad “Alto del Pacífico”, 120 del “Enano Malayo Amarillo” y 100 de la “Enano Malayo Rojo”.

Se establecieron 3 camas de germinación, una por variedad, utilizando como medio de crecimiento arena de río, la que se colocó sobre plástico de polipropileno para el control de malezas. Cada cama tenía una longitud de 1.30 m y un ancho de 5 m.

Se colocaron las nueces horizontalmente y en posición correcta para facilitar su germinación, es decir, con el lado más plano en el suelo y con la superficie más convexa hacia arriba, ya que esta es la forma natural en que germina la fruta caída. Se cubrió el 80%

de cada semilla con aserrín, para mantener la humedad en la nuez, facilitar su germinación y para el control de malezas.

Después de dos a tres meses se seleccionaron las plantas germinadas mas uniformes, para constituir la segunda fase de este experimento.

3.3.1.1 Medio de crecimiento

El medio de crecimiento utilizado en este experimento estaba constituido por arena traída de la playa de Tela, Atlántida (60%) y casulla de arroz (40%). Esto permitió mejorar la estructura del medio y aumentar la retención de humedad y drenaje, para procurar un desarrollo óptimo de las raíces. Este es el medio recomendado por técnicos de la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA). Los análisis del medio indicaron bajos niveles de fósforo, condición que es favorable para la infección de ls micorrizas (Anexo 1).

Las plántulas fueron trasplantadas a bolsas plásticas de polipropileno de 40 x 40 cm, que se llenaron con 0.0139 m³ del medio de crecimiento.

3.3.1.2 Tratamientos

Una vez seleccionadas cuarenta plantas de cada variedad, se podó drásticamente las raíces para asegurar que los rebrotes tuvieran contacto en primera instancia con el MYCORAL[®]. De cada variedad se inoculó el 50% de las plantas (20), aplicándoles 600 g de inoculante por planta (Anexo 6). Los tratamientos fueron los siguientes:

Cuadro 1. Tratamiento experimento I

No.	Tratamiento	Descripción
T1	AP+M	Alto del Pacífico con MYCORAL [®]
T2	AP-M	Alto del Pacífico sin MYCORAL [®]
T3	EMR+M	Enano Malayo Rojo con MYCORAL [®]
T4	EMR-M	Enano Malayo Rojo sin MYCORAL [®]
T5	EMA+M	Enano Malayo Amarillo con MYCORAL [®]
T6	EMA-M	Enano Malayo Amarillo sin MYCORAL [®]

3.3.1.3 Variables Evaluadas

El experimento tuvo una duración de 9 meses, en los que se evaluó las siguientes variables agronómicas:

- **Germinación (%):** se evaluó la germinación de las variedades durante los 2 meses que se mantuvieron las nueces en el semillero, previo a la inoculación con micorriza.
- **Altura (cm):** se tomó la altura de la planta desde la base del tallo hasta el punto medio del área foliar. Este parámetro se evaluó mensualmente durante 5 meses.

- **Perímetro (cm):** se midió el perímetro del tallo de la planta enrollando una cinta en su base. Este parámetro se evaluó mensualmente durante 5 meses.
- **Peso fresco de la biomasa aérea (g):** esta variable se evaluó cortando toda la parte aérea de la planta, picándola y luego pesándola.
- **Peso seco de la biomasa aérea (g):** la parte aérea de la planta se colocó en bolsas de papel con capacidad para 5 lb.; luego se colocaron en hornos de secado a una temperatura promedio de 50 °C, por tres días, tras lo cual se pesó.
- **Volumen radicar (ml):** para evaluar esta variable se utilizó una probeta con un volumen de 700 ml de agua, para luego sumergir las raíces cortadas de la planta en la probeta y por diferencia de volumen obtener el dato deseado.

Así mismo se evaluó las siguientes variables para determinar el grado de infección de las raíces:

- **Infección de raíces (%):** evaluada con el protocolo de porcentaje de infección de raíz, el que consiste en la observación microscópica de un conjunto de raicillas, al que se le atribuye un porcentaje de infección de acuerdo con la porción que ocupan las estructuras de la micorriza en las raíces observadas (Anexo 2). Se modificó el protocolo diluyendo al tinte a un 50% de la concentración normal utilizada y dejando mayor tiempo las raíces en el clarificador, dado que estas se teñían mucho y no se podía observar claramente si existía infección por micorrizas..
- **Número de esporas (No. / ml / 100 g de suelo):** se realizó de conteo de esporas por medio del protocolo utilizado en Programa de Biotecnología Aplicada de Zamorano (Anexo 3). Este protocolo consiste en la extracción de esporas del medio de crecimiento por a través de un porcedo de filtrado y centrifugación de una solución del suelo, para luego observar y contar las esporas con un estereoscopio.



Figura 3.Establecimiento del ensayo. (A. Llenado bolsas, B.Inoculación con Mycoral[®], C. Exparsimientto del inoculo, D. Colocación de la semilla, E. Planta inoculada F. Vista general)

3.3.2 Experimento II (Septiembre,2001)

En este experimento se evaluó plantas de la variedad Enano Malayo Amarillo, las cuales se seleccionaron en los viveros de (PROLANSATE) en la ciudad de Tela, Atlántida.

3.3.2.1 Tratamientos

Se evaluaron tres tratamientos: plantas de la variedad EMA con y sin micorriza (testigo), y con fertilizante químico (12-24-12), del que se aplicó 20 g/planta/mes, como se detalla a continuación:

Cuadro 2. Tratamiento experimento II

No.	Tratamiento	Descripción
T1	M+	Tratamiento A con micorriza
T2	F+	Tratamiento B sin micorriza
T3	T	Plantas testigo(ningún tratamiento)

Cada tratamiento estuvo compuesto por 48 plantas.

3.3.2.2 Medio de crecimiento

Se empleó el mismo medio de crecimiento usado en el Experimento I.

3.3.2.3 Variables evaluadas

Al igual que en el Experimento I, se midieron las siguientes variables:

- **Altura (cm)**
- **Perímetro del tallo (cm)**

Las siguientes variables fueron tomadas al momento del muestreo destructivo:

- **Volumen radicar (ml)**
- **Peso fresco de la biomasa aérea (g)**
- **Peso seco de la biomasa aérea (g)**

De igual forma que en el Experimento I, se evaluó la infección micorrícica con las siguientes variables:

- **Infección de raíces (%)**
- **Número de esporas (No. / ml / 100g de suelo)**

3.3.3 Análisis estadístico

Para ambos experimentos, se analizó e interpretó los datos obtenidos por medio de un análisis de separación de medias (SNK) y correlación entre las variables. Los parámetros altura y perímetro del tallo se analizaron como medidas repetidas en el tiempo, utilizando el programa “Statistical Analysis System” (SAS 6.12).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 EXPERIMENTO I

4.1.1 Germinación

El promedio de germinación por variedad se midió previo a la inoculación con micorriza, durante un período de dos meses, plazo promedio para obtener un nivel óptimo de germinación. Morales (2001), reporta un porcentaje de germinación global aproximado de 45%, el que concuerda con el que presentan las variedades utilizadas en este experimento.

Bajo las condiciones de este ensayo, la variedad que presentó el mayor porcentaje de germinación fue la “Alto del Pacífico” (AP), seguida por la “Enano Malayo Rojo” (EMR) y la “Enano Malayo Amarillo” (EMA), (Figura 4). Los porcentajes de germinación de estas variedades se consideran buenos, lo que se atribuye al suministro y mantenimiento efectivo de agua en las camas de germinación durante la etapa de semillero.

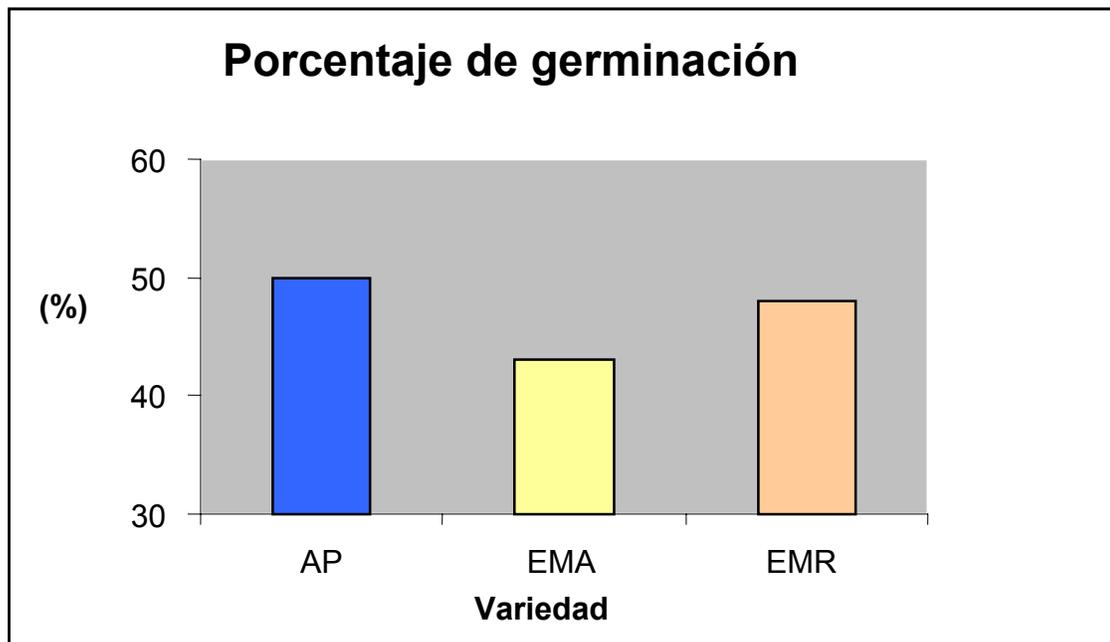


Figura 4. Porcentaje de germinación de tres variedades de cocotero tolerantes al ALC. El Zamorano, Honduras.

Cuadro 3. Promedios de altura y perímetro del tallo (cm) en variedades de coco con y sin micorriza. El Zamorano, Honduras.

Tratamiento	Altura (cm)	Perímetro (cm)
Alto del Pacífico + MYCORAL [®]	39.0 a	8.8 a
Alto del Pacífico MYCORAL [®]	36.9 b	7.7 b
Enano Malayo Amarillo + MYCORAL [®]	35.4 c	7.4 c
Enano Malayo Amarillo - MYCORAL [®]	35.1 c	7.1 d
Enano Malayo Rojo + MYCORAL [®]	25.9 d	7.0 d
Enano Malayo Rojo - MYCORAL [®]	25.9 d	6.5 e
Con micorriza	33.3 a	7.7 a
Sin micorriza	32.7 b	7.1 b
CV (%)	4.84	5.35
R ²	0.96	0.95

Medias con letra diferente en la misma columna difieren estadísticamente ($p \leq 0.05$).

4.1.2 Altura

En general, las plantas inoculadas con MVA presentaron mayor altura promedio que las no micorrizadas, siendo la variedad AP la que presentó un mejor crecimiento (Cuadro 3). En cambio, para las variedades “Enano Malayo Amarillo” y “Rojo” no se encontró diferencia significativa entre plantas con y sin micorriza.

4.1.3 Perímetro

El perímetro del tallo fue superior en las plantas micorrizadas. Se encontró diferencias significativas en todas las variedades, presentando la AP el mayor perímetro, seguida por la EMA y la EMR. Se observa este mismo patrón en plantas no micorrizadas, aunque la variedad EMA sin micorriza fue estadísticamente igual que la EMR micorrizada.

La variación observada entre las respuestas de grosor del tallo de las variedades podía esperarse, ya que en general la variedad AP es más robusta que las dos variedades enanas.

4.1.4 Peso fresco de la biomasa aérea

La variedad AP infectada con micorriza tuvo el mayor promedio de peso fresco de la parte aérea (Cuadro 4). Las variedades EMA y EMR no presentaron diferencias significativas entre ellas, con y sin plantas micorrizadas.

Cuadro 4. Promedios de peso fresco de la biomasa aérea (PFBA), peso seco de la biomasa aérea (PSBA) y volumen de raíces (Vol R). El Zamorano, Honduras.

Tratamiento	PFBA (g)	PSBA (g)	Vol. R. (ml)
AP + MYCORAL [®]	159.5 a	55.8 a	244.0 a
AP - MYCORAL [®]	106.1 b	39.1 b	140.0 b
EMA + MYCORAL [®]	101.1 bc	38.0 b	148.0 b
EMA - MYCORAL [®]	109.5 b	34.9 b	133.0 b
EMR + MYCORAL [®]	82.3 bc	29.1 b	133.0 b
EMR - MYCORAL [®]	66.4 c	26.7 b	113.5 b
Con micorriza	114.3 a	39.9 a	175.0 a
Sin micorriza	94.0 b	34.6 b	128.8 a
CV (%)	21.7	21.1	28.6
R ²	0.67	0.64	0.54

Medias con letra diferente en la misma columna difieren estadísticamente ($p \leq 0.05$).

4.1.5 Peso seco de la biomasa aérea

El mejor promedio de acumulación de biomasa aérea fue obtenido por la combinación AP con micorriza, la que presentó un peso seco de 55.8 g, valor significativamente diferente a la misma variedad sin micorriza (39.05). En las variedades EMA y EMR no se encontraron diferencias en plantas con y sin inoculación micorrícica.

Exceptuando el caso de la variedad AP, en promedio la biomasa seca de las plantas micorrizadas no fue significativamente diferente a la de las plantas no micorrizadas.

4.1.6 Volumen radical

En promedio, la infección con micorrizas no tuvo un efecto significativo sobre el volumen radical, exceptuando en las plantas de la variedad AP. fueron estadísticamente iguales

En general, el no encontrar diferencias significativas en estas variables no representa una inoculación o acción inefectiva de las micorrizas, ya que el tiempo de evaluación fue relativamente corto desde la aplicación de MYCORAL[®] y se siguió un sistema de inoculación estandarizado para otros cultivos, morfológica y fisiológicamente diferentes al coco. Según Sieverding (1991), las plantas frutales y los árboles forestales requieren una estrategia de inoculación diferente a la de cultivos anuales.

Cuadro 5. Efectividad de la inoculación con micorriza, evaluada mediante el número de esporas en el medio y el porcentaje de infección de raíces. El Zamorano, Honduras.

Tratamiento	No. esporas (100 mg de suelo)	Infección (%)
AP + MYCORAL [®]	242.6 a	6.0 a
AP - MYCORAL [®]	66.1 b	3.6 ab
EMA + MYCORAL [®]	37.9 b	3.5 ab
EMA - MYCORAL [®]	13.2 b	1.6 b
EMR + MYCORAL [®]	18.2 b	4.0 ab
EMR - MYCORAL [®]	17.6 b	1.0 b
Con micorriza	99.6 a	4.5 a
Sin micorriza	32.3 b	2.1 b
CV (%)	94.5	69.2
R ²	0.65	0.39

Medias con letra diferente en la misma columna difieren estadísticamente ($p \leq 0.05$).

4.1.7 Número de esporas en el suelo

En cuanto al número de esporas por 100 g de suelo, hubo diferencias significativas únicamente en la variedad AP con micorriza, la que presentó la mayor cantidad comparada con el testigo de esta variedad y con el resto de los tratamientos (Cuadro 5).

No se encontraron diferencias significativas para las variedades EMR y EMA con y sin MYCORAL[®], lo que sugiere que el medio de crecimiento no pasteurizado contenía cierto grado de infección natural antes de establecer el ensayo; que pudo haber existido contaminación por salpique al momento del riego; y, o, que estas variedades tienen un afecto negativo sobre la tasa reproductiva del hongo, considerando el bajo número de esporas comparado con los de la variedad AP.

Aunque la concentración de la dosis del inoculante fue similar para todos los tratamientos, este pudo haberse reducido por el tipo de riego utilizado en el experimento, con el cual no se tuvo control de la cantidad de agua suministrada a cada planta; y por la alta porosidad del medio de crecimiento, que permitía el fácil lavado del inoculante. En el caso de la variedad AP, la diferencia tan marcada en el número de esporas en comparación con las otras variedades pudieron deberse a la conservación de la cantidad del inóculo, ya que el tamaño de la nuez permitió que el riego lo lavase fácilmente.

4.1.7 Infección de raíces

La efectividad de la inoculación con micorrizas, evaluada mediante el porcentaje de infección de raíces, resultó mejor en la variedad AP, que fue diferente a las variedades EMA y EMR pero similar a su testigo (AP sin micorriza). En las variedades EMA y EMR la infección en las plantas micorrizadas fue mayor, pero no significativamente diferente de

las plantas de estas variedades sin inoculación con micorriza. La variedad EMR presentó el porcentaje de infección más bajo.

El mayor porcentaje de infección de la variedad AP concuerda con el alto número de esporas encontrado en su medio de crecimiento, lo que sugiere una alta efectividad de asociación de la micorriza con esta variedad.

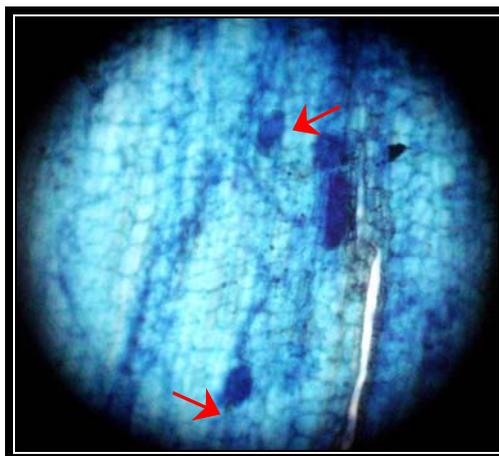


Figura 5. Vesículas en raíces de cocotero.

En el análisis de correlaciones efectuado con las variables evaluadas, no se encontró interacción significativa en el tratamiento AP inoculada con micorriza (Cuadro 6). En el caso de esta variedad sin inoculación, se observó una correlación positiva entre el peso fresco y seco de la biomasa aérea, es decir que a un mayor peso fresco podría esperarse una mayor acumulación de biomasa en la planta.

Cuadro 6. Correlación de variables por tratamiento. El Zamorano, Honduras.

Correlación	Tratamientos					
	AP+	AP-	EMA+	EMA-	EMR+	EMR-
PFBA*PSBA	0.85	0.96**	0.37	0.92*	0.89*	0.62
PFBA*VR	-0.14	0.24	0.89*	-0.01	0.16	0.48
PFBA*IR	-0.34	-0.17	-0.29	-0.26	-0.42	0.22
PFBA*NE	-0.24	-0.19	-0.34	-0.14	0.65	0.66
PSBA*VR	0.35	0.01	-0.05	0.02	0.25	0.48
PSBA*IR	-0.70	-0.24	-0.12	-0.30	-0.60	0.51
PSBA*NE	0.07	-0.23	-0.24	-0.25	0.38	0.10
VR*IR	-0.73	0.57	0.01	0.08	0.17	-0.33
VR*NE	0.27	-0.07	0.01	0.86*	0.17	0.32
IR*NE	-0.39	0.12	0.98**	0.40	0.39	-0.53

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$)

* Significativo ($p \leq 0.05$)

La variedad EMA inoculada con micorriza, presentó una correlación alta y positiva entre las variables peso fresco de la biomasa aérea y el volumen radical, lo que sugiere un mayor volumen de raíces a mayor peso de la biomasa aérea; y entre el porcentaje de infección de raíces y el número de esporas en 100 g de suelo/ml, sugiriendo que a mayor infección de raíces mayor será el número de esporas en el medio.

En los tratamientos EMA sin micorriza y EMR con micorriza, se encontró una asociación alta entre el peso seco y el fresco de la biomasa aérea. Adicionalmente, en la variedad EMA sin micorriza se encontró relación entre el volumen de las raíces y el número de esporas.

4.2 EXPERIMENTO II

4.2.1 Altura de la planta

La aplicación de fertilizante en la variedad Enano Malayo Amarillo (EMA) no tuvo efecto significativo sobre la altura de la planta, en comparación con las plantas micorrizadas y el testigo (Cuadro 7).

4.2.3 Perímetro del tallo

Las plantas tratadas con fertilizante y las inoculadas presentaron un mayor crecimiento perimetral del tallo, siendo ambas estadísticamente iguales superando a las plantas testigo.

4.2.3 Peso fresco de la biomasa aérea

Las plantas suplementadas con fertilizante y las del tratamiento testigo presentaron los mayores valores de peso fresco, los que fueron significativamente superiores a los de las plantas micorrizadas.

4.2.4 Volumen radical

Las plantas fertilizadas presentaron el mayor volumen radical, aunque este no fue distinto al de las plantas micorrizadas, que a su vez no fue diferente con el tratamiento testigo.

Cuadro 7. Promedios de altura de planta, perímetro del tallo, peso fresco de la biomasa aérea (PFBA) y volumen radicar (Vol. R.) en la variedad Enano Malayo Amarillo fertilizada e inoculada con MVA. El Zamorano, Honduras.

Tratamiento	Altura (cm)	Perímetro (cm)	PFBA (mg)	Vol R. (ml)
Fertilizante	29.7 a	11.6 a	155.8 a	235.0 a
Micorriza	26.9 a	11.5 a	107.6 b	212.0 ab
Testigo	24.1 a	10.9 b	156.1 a	178.5 b
C.V. (%)	39.8	6.6	21.7	22.6
R ²	0.13	0.74	0.45	0.33

Medias con letra diferente en la misma columna difieren estadísticamente ($p \leq 0.05$).

4.2.5 Porcentaje de infección de raíces

Se obtuvo el mayor porcentaje de infección con micorriza en las plantas inoculadas y el menor en las fertilizadas, sugiriendo la inhibición de la acción del hongo por efecto del fertilizante (Cuadro 8).

4.2.6 Número de esporas en el suelo

El tratamiento con mayor concentración de esporas en el medio fue el de las plantas inoculadas con micorriza, en las que se encontraron en promedio 23 esporas más que las tratadas con fertilizante. El tratamiento con menor número de esporas en el medio fue el testigo.

Tanto el porcentaje de infección de las raíces como el número de esporas en el medio fueron bajos en este ensayo, lo que se asocia con el tipo medio (altamente poroso favoreciendo el lavado) y riego (con manguera favoreciendo el salpique) utilizado.

Cuadro 8. Promedios de infección de raíces (IR) y número de esporas en la variedad Enano Malayo Amarillo fertilizada e inoculada con MVA. El Zamorano, Honduras.

Tratamiento	Infección	No. esporas
Fertilizante	0.54 b	13.2 b
Micorriza	3.00 a	36.1 a
Testigo	0.90 b	9.7 c
C.V. (%)	58.1	54.4
R ²	0.61	0.57

Cuadro 9. Correlación de variables por tratamiento. El Zamorano, Honduras.

Correlación	Tratamiento		
	Fertilizante	Micorriza	Testigo
PFBA*PSBA	0.63*	0.46	0.85**
PFBA*VR	-0.15	0.30	-0.21
PFBA*IR	-0.10	0.29	-0.10
PFBA*NE	-0.50	0.43	-0.38
PSBA*VR	-0.20	0.03	0.13
PSBA*IR	-0.42	-0.27	-0.09
PSBA*NE	0.08	-0.06	-0.30
VR*IR	0.43	0.43	-0.14
VR*NE	0.02	0.11	0.54
IR*NE	-0.64	0.57	0.09

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$).

* Significativo ($p \leq 0.05$).

En el análisis de correlación, se encontró una asociación alta y positiva en las plantas tratadas con fertilizante químico y en las del tratamiento testigo, entre las variables peso seco y fresco de la biomasa aérea. En las plantas micorrizadas no se encontraron variables con asociación significativa. (Cuadro 9).

5. CONCLUSIONES

1. Bajo las condiciones de vivero de Zamorano, la variedad de coco tolerante al ALC que presentó mejor respuesta a la inoculación con MYCORAL® fue la Alto del Pacífico.
2. En todas las variedades de coco evaluadas, las plantas micorrizadas obtuvieron mejores promedios en los índices de adaptación (crecimiento y desarrollo) evaluados, exceptuando el peso seco de la biomasa aérea.
3. En términos generales, el desarrollo de la variedad Enano Malayo Amarillo fue similar entre plantas fertilizadas e inoculadas con MVA.

6. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio en el que se evalúe la respuesta a la inoculación con MVA combinada con diferentes niveles de fertilización, en condiciones de vivero.
2. Evaluar otros medios de crecimiento para el establecimiento del coco, de modo que estos favorezcan el crecimiento vegetativo de la planta bajo la influencia de la MVA y no presenten efectos negativos sobre su desarrollo.
3. Evaluar la respuesta agronómica y económica a la biofertilización con bokashi y micorriza de forma independiente y asociada, para establecer comparaciones sobre sus efectos en el crecimiento y desarrollo del cocotero
4. Trasplantar para su evaluación el remanente de las plantas de este estudio a condiciones de playa en lugares del litoral atlántico de Honduras afectados por ALC, donde las condiciones son adversas para el crecimiento.
5. Para futuros estudios determinar la presencia o ausencia de micorriza en el medio de crecimiento a utilizar.

7 BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. 1988. Fitopatología. 2 Ed. México D.F., México, Limusa. 838 p.
- Ardón, M.; Doyle, M.; Bustamante, M. 2001. Estudio preliminar sobre la percepción del impacto ambiental y socio-económico del Amarillamiento Letal del Cocotero en la costa caribe e islas de Honduras. Ed. M. Doyle; M. Bustamante. Zamorano Honduras. C.A. 69 p.
- Baraona, M. 1992. Coco, Pejibaye, Guayaba y Cas. EUNED. San José, Costa Rica. 74 p.
- Cañizo, J. 1991. Palmeras: 55 especies con sus características, clima, suelo, cuidados y viveros donde encontrarlas. Bilbao, España MUNDI-PRENSA. 301 p.
- Cobrero, J. 1998. Coinoculación *Bradyrhizobium japonicum*- micorrizas vesículo arbuscular como fuente alternativa de fertilización para el cultivo de la soya. Cultivos Tropicales 19(1): 17-20.
- Doyle, M.; Bustamante, M.; Castillo, G.; Aguilar, E.; García, A.; Sabio, C. 2001. Reporte final. Proyecto Amarillamiento Letal, Zamorano. Honduras. C.A. 70 p.
- EAP/Zamorano. 2001. Trifolio informativo. Biofertilización con MYCORAL[®].
- Fremond, Y. 1969. El cocotero. Madrid. Editorial Blume. España. 232 p.
- Gopi, K.; Douds, D. 2000. Current advances in mycorrhizae research. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA, APS Press. 193 p.
- Hernández, A. 2001. Las micorrizas. Consultado el 30 de agosto del 2001. Disponible en: <http://www.terralia.com/revista14/pagina12htm>.
- Illingworth, R. 2000. Colección de artículos técnicos y guías para el establecimiento de coco híbrido. Guapiles, Limón, Costa Rica. 210p
- Illingworth, R. 1999. El mejoramiento del cocotero para resistencia al Amarillamiento Letal. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. 40 p.
- INIFAP. 1999. Manual para el manejo práctico del cocotero (*Cocos nucifera*). México, México. 86 p.
- Johnson, N.; Pflieger, F. 1992. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae and Cultural Stresses *In: Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. Ed R. Linderman. Crop Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA. 241 p.

- Linderman, R. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions *In: Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Ed. G.J. Bethlenfalvay, E.G. Linderman. Madison Wisconsin. USA. American Society of Agronomy. p. 45-64.
- Morales, J. 2001. Informe de evaluación del proyecto a 8 meses de ejecución. Proyecto de "Replantación de cocoteros resistentes al ALC en la bahía de Tela" COSUDE/ZAMORANO/PROLANSATE. 14 p.
- Ortiz, R.; Fernández, F. 1998. Efectividad del recubrimiento de semilla de arroz pregerminada con inoculante micorrizógeno arbuscular (ECOMIC). *Cultivos Tropicales*. 20 (4): 19-22. La Habana, Cuba.
- Raddatz, E. 1997. Nuevas tecnologías para reforestar. Resumen de Conferencia. Calí, Colombia. 6 p.
- Read, D. 1993. Micorrizas. *In: Tropical Soil Biology and Fertility; A handbook of methods*. Ed.: Anderson, J.M., Ingram. J.S.I. CAB International, Weallingworth, Oxon. 310 p.
- Robert, M.; Zizumbo, D. 1990. La problemática del amarillamiento letal del cocotero en México. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, México. 197 p.
- Rodríguez, J. 2001. Efecto del biofertilizante Mycoral en el desarrollo del café (*Coffea arabica* L.) en vivero. Tesis Ing. Agr. Zamorano, Honduras. 44 p.
- Safir, G. 1990 Micorrizas arbúsculo-vesicular y la productividad agrícola. *In: Biología de la productividad de los cultivos*. Ed.:P.S. Carlson. AGT, S.A.México. p 201-216.
- Sieverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Alemania. GTZ. 37 p.
- Smith, S.; Read D. 1999. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press. New York. USA. 160 p.

8 ANEXOS

Anexo1

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCION AGROPECUARIA
LABORATORIO DE SUELOS

Solicitante: CARLOS SABIO	Fecha de entrada: 4/10/2001
Institución: CCPA - E. A. P.	Fecha de salida: 8/10/2001
Localización: Aldea Municipio	
de la muestra: TELA	
Departamento: ATLANTIDA	
Cultivo a sembrar:	
Recomendación: Si No X	

RESULTADO DE ANALISIS

Interpretación:

A=Alto
M=Medio
B=Bajo

pH
MAL = Moderadamente Alcalino

# Lab.	Muestra	Textura	% Arena	% Limo	% Arcilla	pH (H ₂ O)	M.O.	%	N _{total}	ppm (Disponible)											
										P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn	B		
1416	Arena lavada					MAL 8.34	0.06	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
1417	Arena					MAL 8.28	0.18	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

Responsable: 
Ing. Lidia Flores

Jefe Lab: 
Dra. Ana Margoth de Andrews

Anexo 2

MÉTODO PARA CLARIFICAR Y TEÑIR MUESTRAS DE RAÍCES

SUGERENCIAS:

1. Utilizar el equipo apropiado para mayor seguridad y protección persona (anteojos, guantes y delantal).
2. Utilizar cassetes plásticos (denso polymer tissue “cassettes” de Fisher Scientific) para retener las muestras de raíces.
3. Manejar y supervisar cuidadosamente todas las actividades que incluyan calentamiento de químicos.
4. Leer cuidadosamente todas las instrucciones antes de empezar el proceso.

PROCEDIMIENTO DE CLARIFICACIÓN:

1. Preparar los “cassettes” con muestras de raíces y mantener en agua hasta que todo este listo para iniciar el proceso.
2. En un “beaker”, vertir una solución de KOH al 10% de modo que cubra todos los “cassettes”.
3. Calentar el KOH al 10% hasta 80 °C de temperatura.
4. Colocar 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. Lavar con agua cinco veces.

NOTA: Si las muestras de raíces tienen pigmentos oscuros (p.e. café, negros o morados) después de clarificarlas con KOH, coloque los cassettes en un beaker con 305 de agua oxigenada a temperatura ambiente (10 minutos a 50 °C) hasta que las muestras se aclaren,. Revisar constantemente para evitar daños en las estructuras de las raíces. Enjuagar cinco veces con agua y proceder. En caso de no tener agua oxigenada, cubrir los cassettes con HCL (5.0) y agua (200 ml). Mezclar y desaguar. Repetir otra vez (no enjuagar los cassettes con agua).

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN:

- En un beaker, vertir la suficiente cantidad de Azul de Tripano (0.05%) para cubrir los cassettes.
- Calentar el tinte azul sin los cassettes hasta 80 °C de temperatura.
- Colocar los cassettes en el tinte caliente y mantener la temperatura en 80 °C. Después de 30 minutos, dejar enfriar hasta que la temperatura sea menor de 50 °C; luego filtrar el tinte para remover pedazos de raíces y almacenelo bajo refrigeración en un frasco. Enjuagar los cassettes una sola vez con agua.
- En una placa, montar varias raíces para su observación y cubrir con el cubreobjetos presionando levemente. Las raíces se deben manipular con pinzas y guantes ya que el

tinte es cancerígeno. En caso de visualizar claramente las estructuras del hongo, coloque las raíces en un plato de petri con agua para enjuagarlas y luego observe.

- Si no se van a analizar las muestras el mismo día, colocarlas en el refrigerador en una bolsa plástica etiquetada.

PREPARACIÓN DEL TINTE AZUL DE TRIPANO (0.05%)

En un frasco, añadir y mezclar constantemente los ingredientes en el siguiente orden:

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

Método por:

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

CUIDADOS:

- Entre cada muestra, lavar los tamices con agua a presión para evitar la contaminación. En caso de ser necesario, usar jabón.
- Las esporas pueden ser contadas fácilmente en un plato petri dividido en cuadrículas.
- Recuperar 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 de campo.
- El KOH y el Azul de Tripano pueden ser reutilizados.

Anexo 3

MÉTODO PARA EL AISLAMIENTO DE ESPORAS

SUGERENCIAS:

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

PROCEDIMIENTO

1. Seleccionar en el campo un cultivo de interés y obtener una muestra compuesta (varias submuestras) de por lo menos 100 g de suelo o medio de crecimiento.
2. En el laboratorio, pesar 100 g de la muestra de suelo o medio de crecimiento recolectado para iniciar el proceso lo mas pronto posible para evitar la desecación de las esporas.
3. Vaciar esta submuestra en un envase de 4.0 L y utilizando una manguera delgada, asperjar con un fuerte chorro de agua para separar las partículas de suelo. Llenar hasta 3.0 L y deje reposar por 14-30 segundos (suelos arenosos requieren menos tiempo).
4. Colocar tres tamices (425, 250 y 74 micrómetros) uno sobre otro con el de mayor numero de micrómetros encima, para extraer las esporas
5. Vaciar la mezcla sin perturbar el sedimento y pasar por 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. Transferir material filtrado a un tubo para centrifugación con 50 ml de capacidad. Usar un embudo pequeño de chorro fino para evitar perdidas del material filtrado. Enjuagar cuidadosamente el tamiz para recolectar la mayoría de las esporas en los tubos. De ser necesario, añadir agua hasta aproximadamente un centímetro del borde del tubo.
7. Centrifugar a 3000 rpm por 3 minutos o 2000 rpm por 5 minutos. No utilizar el freno de la centrifuga. Vaciar la mezcla en solución sin perturbar el sedimento (las esporas están mezcladas con el sedimento)
8. Al tubo con sedimento, agregar una solución de sacarosa al 405 (p/v). Agitar hasta que el sedimento quede en suspensión y centrifugar inmediatamente a 3000 rpm por un minuto. No utilizar el freno de la centrifuga. Vaciar la solución en un tamiz de 45 micrómetros evitando salpicar agua. Enjuagar las esporas cuidadosamente durante un minuto para remover la sacarosa y evitar la deshidratación. Eliminar el sedimento.
9. Transferir la esporas a un tubo para centrifuga y aforar a 25 ml.
10. Colocar 1.0 ml de la solución con esporas en un plato de petri plástico de 5 cm de capacidad. Observar en el estereoscopio, Si se desea guardar la solución con esporas, sellar con papel parafinado y almacenar en el refrigerador a 4 °C.

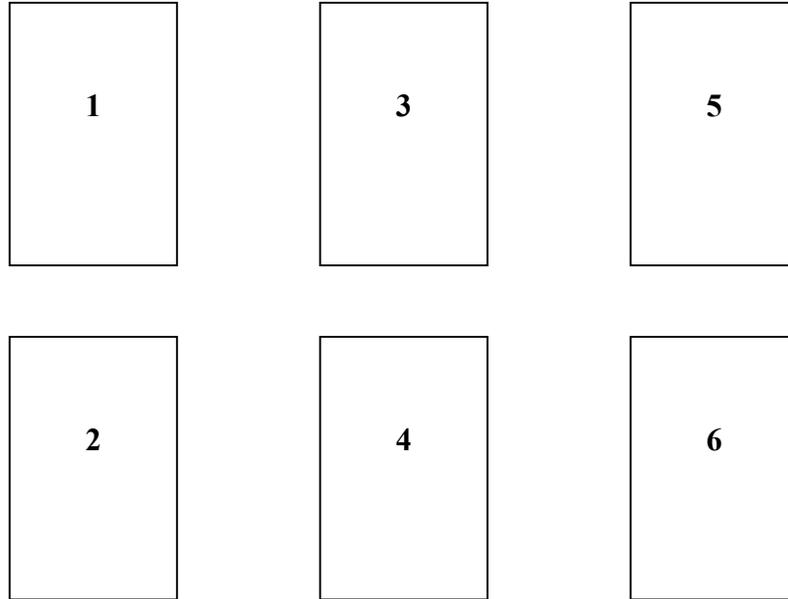
Método adaptado por:

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

Anexo 4

Arreglo Espacial

Ensayo I

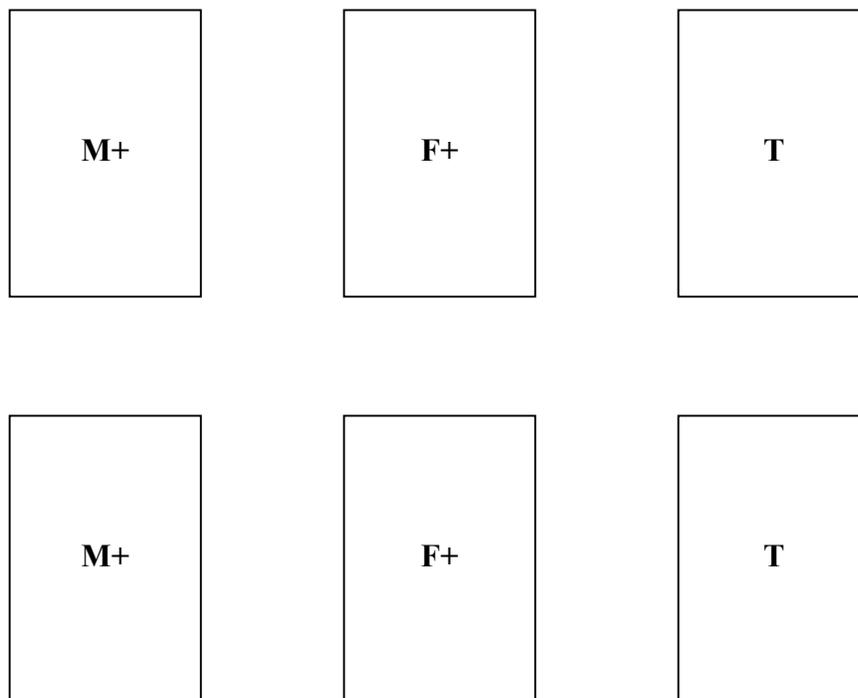


1. **AP-M.**-Alto del Pacífico sin micorriza
2. **AP+M.**- Alto del Pacífico con micorriza
3. **EMA-M.**- Enano Malayo Amarillo sin Micorriza
4. **EMA+M.**- Enano Malayo Amarillo con micorriza
5. **EMR-M.**- Enano Malayo Rojo sin micorriza
6. **EMR+M.**- Enano Malayo Rojo con micorriza

Anexo 5

Arreglo Espacial

Ensayo 2



M+:-Tratamiento con micorrizas
F+.- Tratamiento con fertilizante
T.- Testigo

