



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA
DE MANABÍ "MANUEL FÉLIX LÓPEZ"**

"ESPAM - MFL"

INGENIERÍA AGRÍCOLA

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGRICOLA**

Tema:

**"EFECTO DEL BIOESTIMULANTE ECOFUNGI A BASE
DE MICORRIZAS SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DEL
CULTIVO DE MAÍZ, INIAP 528, ESPAM 2007"**

AUTOR:

LUIS VERA BUSTE

TUTOR: ING. ANGEL GUZMAN CEDENO

Calceta, Marzo 2009

DECLARACIÓN

El señor Luís Manuel Vera Buste, declaro bajo juramento, que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido presentado para ningún grado o calificación profesional; que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presenté declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí MFL, según lo establecido en la ley de propiedad intelectual y su reglamento.



LUIS MANUEL VERA BUSTE

CERTIFICACIÓN

Ing. Ángel Guzmán Cedeño, certifica haber tutorado la tesis titulada **"EFECTO DEL BIOESTIMULANTE A BASE DE MICORRIZAS SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DEL CULTIVO DE MAIZ, INIAP 528, ESPAM 2007"**, que ha sido desarrollado por Luis Manuel Vera Buste; previa a la obtención del título de Ingeniero Agrícola de acuerdo al **REGALMENTO PARA LA ELABORACION DE TESIS DE GREDO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "MFL".



**ING. ÁNGEL GUZMÁN CEDEÑO,
TUTOR DE TESIS**

APROBACIÓN

Quienes abajo firmamos, miembros del tribunal correspondiente, declaramos que hemos aprobado la tesis titulada "EFECTO DEL BSQESÜMULANTE ECOFUNGÍ A BASE DE MICORRIZAS SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DEL CULTIVO DE MAÍZ, INIAP 528, ESPAM 2007", que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por Luís Manuel Vera Buste, previa a la obtención del título de Ingeniero Agrícola, de acuerdo al REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCEL NIVEL de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "MFL".



Ing. Angel Prado Cedeño
MIEMBRO



Blg. Jhonny Navarrete Alava
MIEMBRO



Ing. Fernando Díaz Trelles

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "MFL" (ESPAM), en la persona, del rector el Ing. Leonardo Félix López, de la misma manera a la Carrera de Ingeniería Agrícola y su director el Ing. Byron Cevallos B.

Al Ing. Ángel Guzmán Cedeño por dirigir este trabajo como tutor del mismo,

A los honorables miembros del tribunal de esta investigación

Al todos los docentes de la carrera de ingeniería agrícola que han aportado con su conocimiento y su sabiduría.

Al los eternos compañeros de la carrera como son José Rodríguez, Milton Bermúdez, José Gonzáles, Juan vera.

Autor

Luis Manuel Vera Buste

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado la oportunidad de alcanzar mis objetivos.

A mis padres, Freddy Vera Carreño y Lety Buste Rendón, por apoyarme y darme la educación.

A Mi esposa Alexi Solórzano y mi hija Cintya por estar siempre a mi lado y ayudarme en los momentos difíciles.

A mis hermanos Willintong, Gorge, Jessica, quienes han sido los responsables de que la meta se haya alcanzado

A todas las personas que de una u otra manera me han ayudado a culminar con éxito mi carrera universitaria.

Autor

Luís M. Vera Buste

CONTENIDO.

	PAGINAS
CARÁTULA	i
DECLARACIÓN	ii
CERTIFICACION	iii
APROBACIÓN.	iv
AGREDECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
CONTENIDO	vii
INDICE DE CUADRO	ix
INDICE DE FIGURA	x
INDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	xii
SUMMARY	xiii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	2
1.2. JUSTIFICACIÓN.	3
1.3. HIPÓTESIS.	4
1.4. OBJETIVOS.	5
	6
CAPÍTULO II. MARCO TEORICO.	
2.1. HONGOS.	6
2.2. MICORRIZA.	7
2.2.1 ORIGEN DE LA MICORRIZA.	7
2.2.2 TAXONOMIA, MORFOLOGÍA Y DESARROLLO DE LA SIMBIOSIS DE LA MICORRIZA	8
2.2.3. PLANTAS QUE FORMAN MICORRIZA.	14
2.2.4. PRINCIPALES TIPOS DE HONGOS MICORRÍZICOS.	18
2.2.5 ECOLOGÍA DE LA MICORRIZA.	26
2.2.5.1. FACTORES ABIÓTICOS.	27
2.2.5.2. FACTORES BIÓTICOS.	28
2.2.6. BENEFICIOS DE LAS MICORRIZAS.	29
2.3. INOCULACIÓN DE MICORRIZAS.	36
2.4. TÉCNICAS DE INOCULACIÓN.	39
2.5. PROTOCOLO PARA LA OBSERVACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA MICORRIZA A NIVEL DE LABORATORIO. ACEDO, C. (2004-2007).	41

2.6. CARACTERÍSTICA DE LOS INSUMOS UTILIZADOS.	44
2.7. RESULTADO DEL USO DE MICORRIZAS EN CULTIVOS AGRÍCOLAS.	52
CAPÍTULO III.- DISEÑO METODOLÓGICO.	54
3.1. UBICACIÓN.	54
3.2. CARACTERÍSTICAS AGROCLIMATICAS Y PEDOLÓGICAS.	54
3.3. FACTORES EN ESTUDIO.	54
3.4. TRATAMIENTOS.	55
3.5. DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL.	55
3.6. CARACTERÍSTICA DE LA UNIDAD EXPERIMENTAL.	57
3.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO.	57
3.7. DATOS A TOMARSE Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN.	59
IV. REULTADOS.	63
4.1.- DATOS COMPLEMENTARIOS.	63
4.2.- VARIABLE ANALIZADAS ESTADÍSTICAMENTE.	64
4.3. ANÁLISIS ECONÓMICO.	70
V. DISCUSIÓN.	73
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	74
6.1. CONCLUSIONES.	74
6.2 RECOMENDACIONES.	75
VII. BIBLIOGRAFÍA.	76
ANEXOS.	81

INDICE DE CUADROS.

Cuadro 04.01. "Efecto del bioestimulante ecofungi a base de micorrizas sobre las variables complementarias del cultivo de maíz, Iniap 528".	63
Cuadro 04.02. "Efecto del bioestimulante ecofungi a base de micorrizas sobre el desarrollo vegetativo del cultivo de maiz, Iniap 528".	65
Cuadro 04.03. "Efecto del bioestimulante ecofungi a base de micorrizas sobre la Productividad del cultivo de maíz, Iniap 528".	67
Cuadro 04.04. "Efecto del bioestimulante ecofungi a base de micorrizas sp. Sobre la productividad del cultivo de maiz, Iniap 528".	69
Cuadro 04.05. Calculo del presupuesto parcial de la investigación "Efecto del bioestimulante ecofungi a base de micorrizas sobre la productividad del cultivo de maiz, Iniap 528, ESPAM 2008"	70
Cuadro 04.06. Análisis de dominancias de los tratamientos estudiados en la investigación "Efecto del bioestimulante ecofungi a base de micorrizas sobre la productividad del cultivo de maiz, Iniap 528".	71
Cuadro 04.07. Análisis marginal de los tratamiento no dominados en "Efecto de bioestimulante ecofungi a base de micorrizas sobre la productividad del cultivo de maíz, Iniap 528, ESPAM 2008".	72

INDICE DE FIGURAS.

Figura. 2.01. Descripción morfológica de ECM: Tipo de rificación:	11
Figura. 2.02. Descripción microscópica de la Red de Hartig.	12
Figura. 2.03. Dibujo Esquemático de los tipos de manto A-I Mantos plectenquimáticos. K-Q Mantos pseudoparenquimáticos.	13
Figura. 2.04. Representación esquemática de los distintos tipos de micorrizas, citada por Rosero, J. (2007).	19
Figura. 2.05. Representación esquemática de una micorriza en raíces.	42
Figura. 2.06. Rejilla para determinación del porcentaje de colonización radicular.	43

INDICES DE ANEXOS

Anexo 1.- Panorámica del ensayo Efecto del bioestimulante Ecofungi a base de Micorrizas sobre la productividad del cultivo de maíz, Iniap 528. ESPAM 2008."	85
Anexo 2- Plantas de maíz micorrizas.	86
Anexo 3.- Plantas de maíz con micorrizas y sin micorrizas.	87
Anexo'4.- Paréela de maíz testigo.	87
Anexo 5.- Parcela de maíz inoculada a la semilla.	88
Anexo Q.- Parcela de maíz inoculada a la planta.	88
Anexo 7.- Colonización de micorrizas en raíz de maíz.	89
Anexo 8.- Muestras de de raíces micorrizadas sobre una placa Petri.	89
Anexo 9.- Raíz de maíz con micorrizas tinada con el colorante (Azul Tripán 0,05% en lactoglicerol).	90

RESUMEN

En la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí MFL ubicada en Calceta, cantón Bolívar, de la provincia de Manabí se realizó la siguiente investigación durante la época lluviosa del 2008, tanto a nivel de campo como a nivel de laboratorio. El objetivo fue el de generar información respecto a la influencia del uso de micorrizas en la producción del maíz INIAP 528 en estado de choclo.

Los siete tratamientos estudiados fueron Inoculación a la semilla 100 gr. /ha, Inoculación a la semilla 200 gr. /ha, Inoculación a la semilla 300 gr. /ha, Inoculación a la planta 100 gr. /ha, Inoculación a la planta 200 gr. /ha, Inoculación a la planta 300 gr. /ha, además de un testigo. El diseño utilizado fue Diseño de Bloque Completos al Azar (DBCA), en un arreglo Bifactorial aditivo ($A \times B + 1$), con 4 réplicas.

Los datos tomados fueron los siguientes: Altura de plantas a los 15, 30, 45, días, altura de inserción de la mazorca, número de choclo comerciales/ha, longitud de mazorca, diámetro de mazorca, desarrollo radicular, determinación del porcentaje de colonización en raíces del hospedero (planta de maíz). Estos datos fueron analizados estadísticamente mediante el respectivo análisis de varianza (ADEVA), en aquellas variables con diferencias estadísticas se le aplicó la prueba de Tukey al 5%. Complementarios a esto se realizó un análisis económico.

Los resultados a nivel de campo determinaron que el tratamiento Inoculación a la semilla 100 gr. /ha logró un rendimiento del 45962 choclos comerciales / ha. En el trabajo de laboratorio se obtuvo el mayor porcentaje de colonización en las plantas inoculadas con la dosis mayor (300 g/ha), además en desarrollo radicular no se encontró diferencia.

En el análisis económico quien presentó mayor tasa marginal fue el tratamiento con la inoculación a la semilla con la dosis 100 g/ha (ISD1).

SUMMARY

In The Polytechnical Superior School of Farming of Manabí MFL located in Calceta, province of Manabí was realized the following investigation during the rain time of 2008, as a level of field as in laboratory. The objective was generate information as to influence of use "micorrizas" in the production of (corn) maize INIAP 528 in state of corncob.

Seven treatments studied were: Inoculation seed 100 gr. /ha, Inoculation to the seed 200 gr./ha, Inoculation to the seed 300 gr./ha, Inoculation to the plant 100 gr./ha, Inoculation to the plant 200gr./ha, Inoculation to the plant 300 gr./ha., addition to a witness the design utilized was a full block in a Bifactorial additive (TO XB+1), with 4 repeats.

The data taken was the following. Height plants at 15, 30, 45 days, Height of insertion of cob, roots development, determination of percentage of colonization in roots of provide his data were analyzed statistically to the respective analysis of number of commercial corncob/ha, length of cob, diameter of cob, the (maize plant). This data were analyzed statistically by means of the respective analysis of variances(AAEVA), in that variables with statistical differences that were applied the Tukey test at 5% complementary was made an economic analysis.

The result at field level determined that the treatment Inoculation to the seed 100 gr./ha obtained a yield of 45962 commercial corncob/ha. In the laboratory work was obtained the highest percentage of colonization in inoculated plants with the highest amount 300g/ha, 50 the rain addition developing was found the differences.

In the economic analysis that Represent a high greater was a treatment with the inoculation to the seed with the quantity 100 g/ha (ISAI)

I. ANTECEDENTES.

Se considera que el maíz fue una de las primeras plantas cultivadas por los agricultores entre los años 7000 y 10000 A.C, la evidencia más antigua proviene de algunos lugares arqueológicos en México donde pequeñas mazorcas de maíz estimadas en más de 5000 años de antigüedad fueron encontradas en cuevas de los habitantes primitivos, Paliwal, R. (2007).

El maíz es uno de los productos agrícolas más importantes de la economía nacional, tanto por su elevada incidencia social, y porque contribuye a la economía de subsistencia a familias campesinas, se constituye como materia prima para la elaboración de alimentos tanto, animal como para la elaboración de productos para el consumo humano, SICA, (2007).

La agricultura convencional ha ocasionado graves impactos ambientales, problemas de productividad y rendimiento y sin embargo todavía se mantiene en uso y no ha logrado solucionar los problemas de hambre y pobreza de la población sin embargo la tendencia actual, es conocer los efectos de los microorganismos los cuales producen efectos positivos sobre las plantas y disminuyen los posibles peligros de contaminación ambiental, Núñez, M. (2000).

Dentro de la agricultura sostenible, el estudio de las micorrizas cada vez tiene mayor relevancia, ya que se produce una simbiosis endofita, biotrófica y mutualista, prevaleciente en la mayoría de las plantas vasculares, que se caracteriza por el contacto íntimo y la perfecta integración morfológica entre el hongo y la planta, a través de la regulación funcional y el intercambio de metabolitos con beneficios mutuos, provocando de manera general un incremento en los procesos de absorción y traslocación de nutrientes, tales como macro y micro nutrientes que influyen positivamente en varios aspectos de la fisiología de la planta y nutrición mineral, absorción de agua, producción de hormonas y resistencias a patógenos, tolerancia a estrés, etc. Guerrero, E. *et al.*, (1996).

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El uso indiscriminado de agroquímicos en áreas agrícolas ha provocado la contaminación de los recursos naturales, además contaminación del producto final (alimentos), y deterioro de la salud de los agricultores y consumidores, traduciéndose en un alto costo social e impacto negativo hacia el medio ambiente.

La disyuntiva de incrementar la producción de alimentos sin atender contra los recursos agroproductivos nos plantea el desafío de generar o validar tecnologías para atender los requerimientos nutricionales y demás manejo agronomico de los cultivos. Indudablemente, las alternativas no deben ni pueden ser recetas predeterminadas como lo sostiene la agricultura de Revolución Verde, sino que debe responder a un enfoque ecosistemático donde se potencialice el uso de insumos naturales que coadyuven al restablecimiento de procesos sinérgicos a favor de una agricultura sostenible para la obtención de alimentos libres de contaminación de químicos de síntesis, tal como la enfatizan las agriculturas alternativas, el éxito de las cosechas está en el manejo ecológico del suelo; en este sentido el uso de biofertilizantes o bioestimulantes es una opción que merece ser estudiada localmente para establecer sus reales alcances agronómicos, ecológicos y económicos.

1.2 JUSTIFICACION.

El maíz es un cultivo muy importante en, Ecuador tanto por la superficie sembrada como por su utilidad; lo que a su vez ha permitido dar ocupación a trabajadores agrícolas y en otras actividades económicas (industria, alimentos, etc.)

Dentro de la agricultura orgánica o sostenible, el estudio de las micorrizas cada vez cobra mayor importancia, ya que mediante la asociación simbiótica en cultivos agrícolas se llega a un beneficio mutuo entre ambos organismos para lograr la sustentabilidad sin dañar la dinámica del suelo ni el medio ambiente y a través de este microorganismo se puede lograr una agricultura sustentable que resulte práctica y rentable para los agricultores.

Su importancia en la plantas cultivadas es que influye positivamente en varios aspectos de la fisiología, nutrición mineral, absorción de agua, producción de hormonas y resistencia a enfermedades de la raíz como alternativa en suelo degradado, la inoculación con micorriza provoca incremento en los procesos de absorción y traslocación de nutrientes, tales como: P, N, K, Mg, Zn, Cu, Mo, B y también al extender el área radical, facilita que la planta incremente su capacidad de sostenerse físicamente en dicho suelo, mejorando su resistencia, adaptabilidad, y capacidad de absorción.

Las micorriza son microorganismos que están orientados a favorecer la adquisición de nutrientes por parte de los cultivos, principalmente de gramíneas, a la vez de ejercer un efecto promotor del crecimiento que ayuda a superar situaciones de estrés o simplemente logre incrementar su tasa de crecimiento en alguna fase importante para la obtención de mayores rendimientos.

1.3 HIPOTESIS.

La mayor dosis de Ecofungi inoculado a la semilla mejorará la productividad y rentabilidad del cultivo de maíz INIAP - 528, en estado de choclo.

1.4 OBJETIVOS

A. GENERAL:

Generar información respecto a la influencia del uso de micorrizas en la producción de! maíz Iniap 528 en estado de choclo.

B, ESPECÍFICOS:

- 1, Establecer la dosis de Ecofungi (micorriza) que influya favorablemente en el desarrollo vegetativo y productivo del cultivo)
- 2, Determinar la forma más eficiente y eficaz de inoculación de la micorriza.
3. Realizar un análisis económico de los tratamientos en estudio.

II. MARCO TEÓRICO.

2.1 HONGOS.

Los hongos son organismos eucarióticos (con células nucleadas) que realizan una digestión externa de sus alimentos, secretando enzimas, y absorben luego las moléculas disueltas resultantes de la digestión, es decir, que se alimentan osmotróficamente (como las plantas) absorbiendo sustancias disueltas, pero a diferencia de aquéllas los nutrientes que toman son orgánicos. Los hongos son los descomponedores primarios de la materia muerta de plantas y de animales en muchos ecosistemas, y se ven comúnmente en el pan añejo. Wikipedia, la Enciclopedia Libre, (2007).

La mayoría de los hongos son pluricelulares, aunque también se encuentran unicelulares, las células de los hongos se organizan en filamentos denominados hifas, los cuales en conjunto conforman el micelio. Esta estructura no forma tejido, pues solo se agrupan y actúan independientemente. Pardo, L. (2005).

El mismo autor, afirma que todos los hongos son heterótrofos, es decir, no fabrican su alimento y lo deben tomar del sitio donde se encuentran. Estos microorganismos tienen gran importancia ecológica porque son organismos que degradan a seres que han muerto, devolviendo los minerales a la tierra para que pueda continuar su ciclo de vida.

Guzmán, S. (1991), manifiesta que las micorrizas, son estructuras que resultan de una asociación simbiótica entre las raíces de las plantas y de hongos especializados que habitan en los suelos, estos simbioses han sido originalmente agrupados en ecto, endo y ectoendomicorrizas, según el tipo de estructuras formadas en el sistema hongo-raíz.

2.2 MICORRIZA.

2.2.1 ORIGEN DE LA MICORRIZA.

Curtism, H. y Barnes, N. (2003), definen la palabra micorriza de origen griego, define la simbiosis entre un hongo (mycos) y las raíces (rhizos) de una planta. Como en toda relación simbiótica, los participantes obtienen beneficio. En este caso la planta recibe del hongo principalmente nutrientes minerales y agua, y el hongo obtiene de la planta hidratos de carbono y vitaminas que él por sí mismo es incapaz de sintetizar mientras que ella lo puede hacer gracias a la fotosíntesis y otras reacciones internas.

En la naturaleza esta simbiosis se produce espontáneamente. Se estima que entre el 90 y el 95% de las plantas superiores presentan micorrizas de forma habitual.

Es posible que un mismo hongo forme la micorriza con más de una planta a la vez, estableciéndose de este modo una conexión entre plantas distintas; esto facilita la existencia de plantas parásitas (algunas de las cuales ni siquiera realizan la fotosíntesis, como las del género *Monotropa*), que extraen todo lo que necesitan del hongo micobionte y las otras plantas con las que éste también establece simbiosis. Así mismo, varios hongos (en ocasiones de especies diferentes) pueden micorrizar una misma planta al mismo tiempo.

Alvarado, A. *et al.*, (2004), hace un recuento del origen de las micorrizas y manifiesta que fue usado por Frank en 1885, que lo clasificó en dos tipos: micorriza ectótrofa y endótrofa; posteriormente en 1917, Melin introdujo los términos de micorriza ectoendotrófica y pseudomicorriza; debido a la confusión que provocó esta terminología, Peyronel, *et al.*, 1969, propuso la siguiente división: ectomicorriza y ectoendomicorriza; en 1973 Lewis propuso el cambio por la de sheating-mycorrhizae (ectomicorriza= micorriza en vaina) y dividió la

endomycorriza en: vesículo-arbuscular (V-A), ericáceas, y orquidáceas. Diccionarios Digitales, (2007).

Fundación Eroski (2007), sostiene que el primero en observar las micorrizas y bautizarlas con el nombre que llevan actualmente fue el botánico alemán Albert Bernhard Frank, en 1885, tras detectar su presencia en varios árboles frutales. En 1900, el francés Bernard descubrió su extrema importancia en la vida y desarrollo de las orquídeas. En 1910 comenzó a extenderse su estudio en las plantas utilizadas en agricultura y jardinería. Curtism, H. y Barnes, N. (2003).

No obstante, Wikipedia, la Enciclopedia Libre, (2007), señala que no fue hasta 1955, con la publicación de los primeros estudios de Mosse en Inglaterra, cuando las micorrizas dejaron de considerarse como excepciones y se aceptó su importancia y generalidad reales. En tiempos más recientes, numerosos hallazgos fósiles han permitido determinar que el origen y presencia de las micorrizas son enormemente antiguos, pues se han llegado a encontrar esporas de *Glomeromycota* en estratos de hasta 460 millones de años de antigüedad, pertenecientes al período Ordovícico. Las formas arbusculares ya se encuentran bastante extendidas en el momento de aparición de las primeras plantas terrestres en el registro fósil, hace 400 millones de años. Estas plantas, como la especie *Rhynia major*, carecían de auténticas raíces, presentando únicamente un tallo subterráneo o rizoma del que sobresalían varios tallos aéreos. La absorción de nutrientes, por tanto recaía casi exclusivamente sobre el hongo micorrízico, por lo que se puede decir que la presencia de éstos fue imprescindible para la extensión de la vida vegetal a tierra firme, tras la cual llegarían posteriormente los animales.

2.2.2 TAXONOMIA, MORFOLOGÍA Y DESARROLLO DE LA SIMBIOSIS DE LA MICORRIZA.

Según Guerrero, E. (1996), ubica taxonómicamente a la micorriza de la siguiente manera.

División: *Eumycota*

Clase: *Zygomycetes*

Orden: *Glomales*

Familia: *Glomaceae*

Genero: *Glomus* y *Scutellospora*

Acaulosporaceae

Genero: *Acaulospora* y *Entrophospora*

Gigasporaceae

Genero: *Gigaspora* y *Scutellospora*.

Hernández, A. (1999), indica que la colonización del hongo se extiende por la epidermis y el parénquima cortical, nunca penetra en la endodermis ni en los tejidos vasculares y meristemáticos; estableciendo una marcada diferencia con las infecciones radicales de hongos patógenos que sí penetran en los haces conductores y meristemas, el proceso de formación de la simbiosis comienza con la germinación de las esporas de resistencia en el suelo, cuando las condiciones ambientales de temperatura y humedad son favorables. Tras la emisión del tubo o tubos germinativos, el micelio del hongo crece hasta encontrar una raíz hospedadora, donde forma entonces una estructura similar a un apresorio y penetra entre las células epidérmicas o a través de los pelos radicales. Después de la penetración comienza la colonización del tejido parenquimático de la raíz. En la capa interna de este tejido se forman los arbusculos, producidos por una ramificación masiva de la hifa después de penetrar la pared celular.

El mismo autor, afirma que vista al microscopio óptico de un fragmento de raíz colonizado por el hongo formador de micorrizas arbusculares *Glomus intraradices*; la hifa ramificada se encuentra rodeada por la membrana plasmática de las células del parénquima cortical, siendo el espacio apoplástico producido entre la membrana plasmática y el hongo la zona de intercambio de nutrientes. La vida de los arbusculos es muy corta, inferior a 15 días. Las vesículas se forman generalmente en los extremos de las hifas del hongo y pueden producirse a lo largo de todo el parénquima cortical colonizado; suelen aparecer más tarde que los arbusculos y son consideradas órganos de reserva, principalmente de lípidos.

La colonización del hongo puede extenderse también mediante hifas exteriores (runners) por la superficie de la raíz y penetrar en ésta a intervalos irregulares. Cuando la infección interna está bien establecida, las hifas del hongo pueden crecer externamente desde la raíz de la planta hacia el suelo (micelio externo) y explorar un volumen de suelo 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 nutrientes y de agua. Los hongos formadores de micorrizas arbusculares producen, normalmente, esporas a partir del micelio externo, y también en algunos casos, las forman en el interior de la raíz a partir de micelio interno. Las esporas de resistencia pueden permanecer inalteradas en el suelo por mucho tiempo, mientras que las hifas del hongo se colapsan tras una permanencia en suelo de 2 a 4 semanas si no encuentran una raíz hospedadora.

Para la evaluación a nivel de laboratorio de la infección de las micorrizas en raíces de las plantas hospedera, se utilizará la siguiente clave citada por Acedo, C. (2007).

1- Observar e Identificar las características morfológicas de ectomicorrizas, tanto a nivel macroscópico (ramificación) como microscópico (anatomía: características del manto, tipo de red,...) y endomicorrizas.

2- Valorar el grado de colonización de las raíces micorrizadas.

MATERIALES.

Colorante

Cubreobjeto

Cuchilla

HCl 0.1 N

KOH al 10 %

Lactoglicerol

Lupa binocular

Microscopio óptico

Pinzas

Placas Petri con base reticulada

Portaobjetos

Raíces micorrizadas

Tubos de ensayo.

A. ESTUDIO DE ECTOMICORRIZAS.

MORFOLOGÍA EXTERNA.

En primer lugar se observará la morfología externa de las ectomicorrizas; se podrá apreciar el aspecto, color, tipo de ramificación, etc; de las micorrizas en las raíces infectadas. Así mismo podrán observarse los rizomorfos (hifas emanantes del manto, alargadas y con fines exploratorios para la obtención de nutrientes) y los **esclerocios** (formas de resistencia del hongo).

MÉTODO DE OBSERVACIÓN.

Colocar distintas muestras de raíces micorrizadas sobre una placa Petri bajo la lupa teniendo cuidado de que esté sobrenadando ligeramente en agua para una mejor observación.

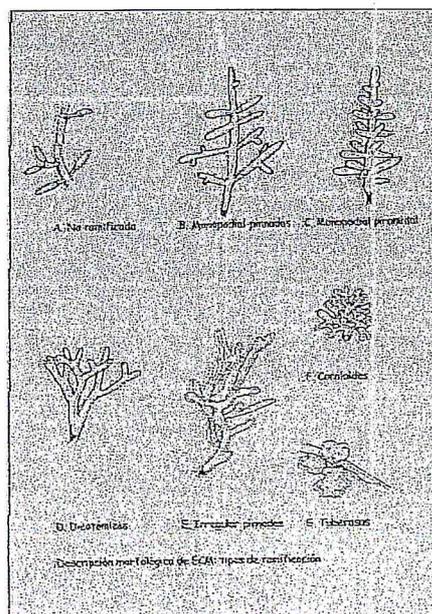


Figura. 02.01. Descripción morfológica de ECM: Tipo de rificación.

MORFOLOGÍA INTERNA DE LAS ECTOMICORRIZAS

1.- Se procederá a observar un corte transversal para apreciar las dos estructuras (manto y red de Hartig) que caracterizan a este tipo de micorrizas.

2.- Se realizará una observación más detallada del manto para ver su estructura.

MÉTODO DE OBSERVACIÓN: Hacer varios cortes transversales muy finos (del grosor del filo de la cuchilla) sobre un portaobjetos bajo la lupa, añadir una gota de agua y observar al microscopio.

En un corte transversal de una ECM se puede apreciar.

VAINA O MANTO: conjunto de hifas del hongo rodeando a la raíz.

RED DE HARTIG: hifas que a partir del manto penetran interiormente en la raíz disponiéndose entre las células epidérmicas (red epidérmica) y en muchos casos también penetrando entre las células corticales (red cortical).

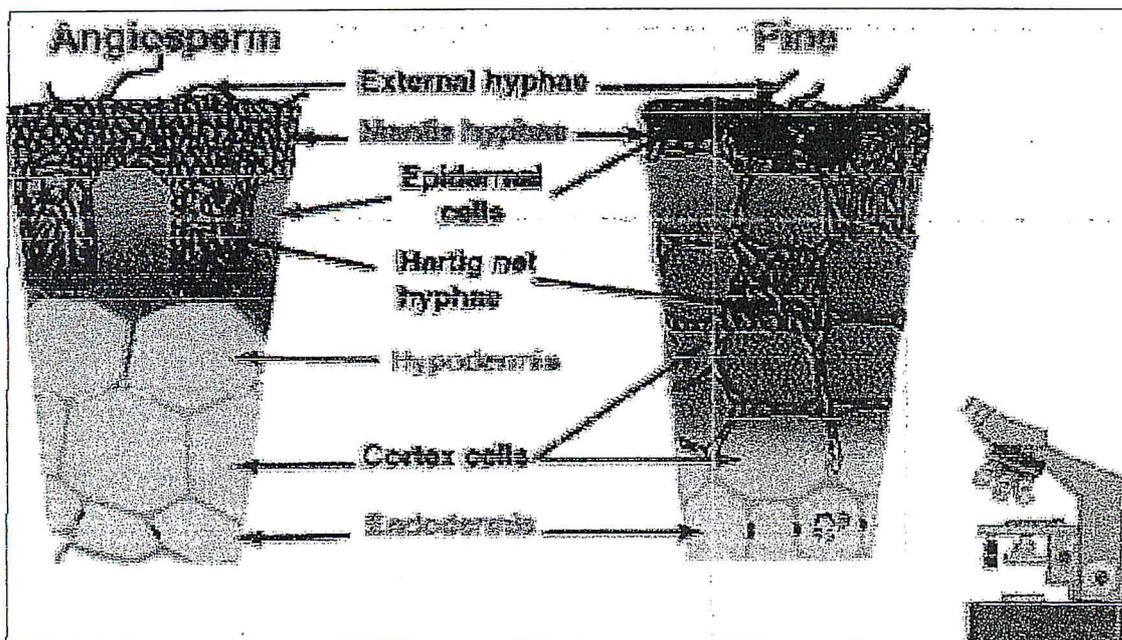


Figura. 02.02. Descripción microscópica de la Red de Hartig.

Es interesante observar la estructura del manto ya que sus características anatómicas sirven para la identificación de ectomicorrizas recolectadas en el campo.

Existen dos tipos básicos: **PLECTENQUIMÁTICOS** Y **PSEUDOPARENQUIMÁTICOS**.

MÉTODO DE OBSERVACIÓN DEL MANTO: Se extrae un pequeño fragmento del manto de una ECM con unas pinzas o con la cuchilla, se depositará sobre un portaobjetos añadiendo una gota de agua y se observa al microscopio.

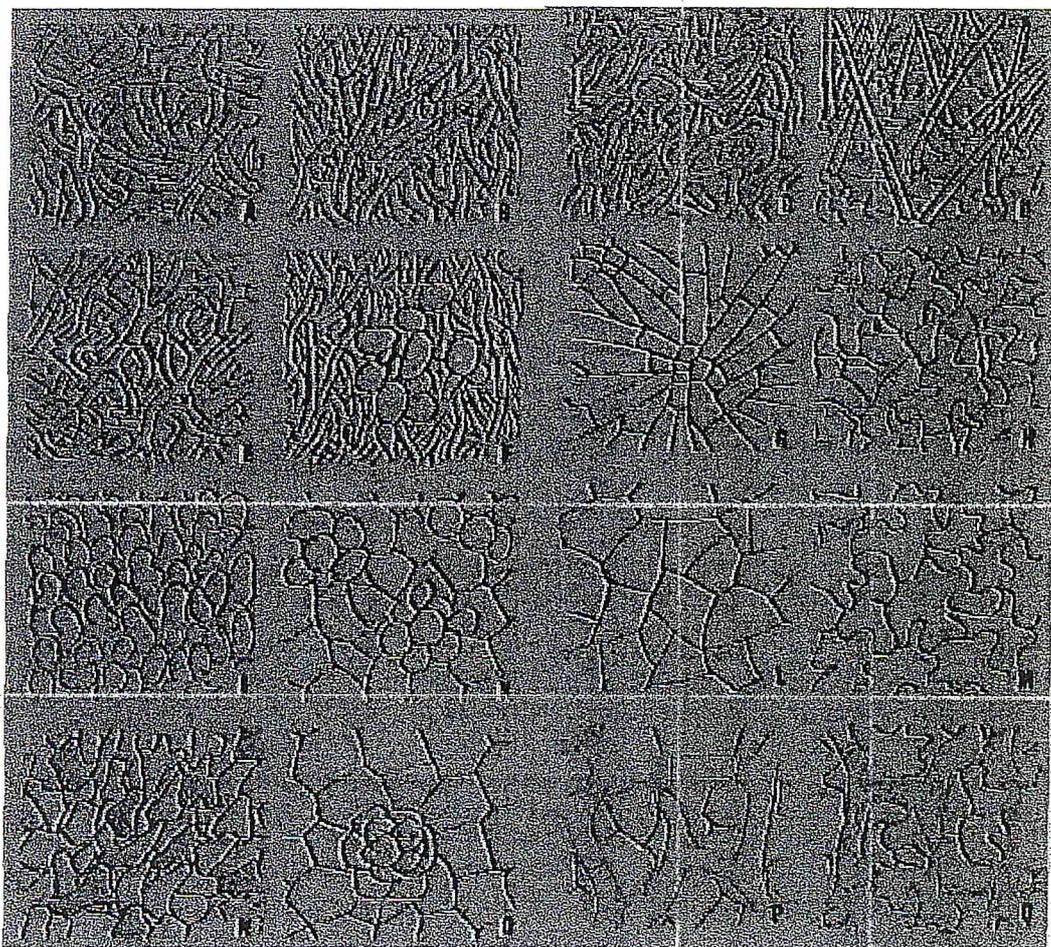


Figura. 02.03. Dibujo Esquemático de los tipos de manto. A-I Mantos plectenquimáticos. K-Q Mantos pseudoparenquimáticos.

B. OBSERVACIÓN ENDOMICORRIZAS.

La observación de micorrizas VAM resulta más complicada ya que este tipo de micorrizas no presentan estructuras externas que evidencien su existencia, como es el caso de la vaina en las ECM. Por lo tanto, para poder comprobar que una raíz está micorrizada con hongos VAM es necesario recurrir a la tinción y observación microscópica de la misma. Así mismo, se puede estimar fácilmente el porcentaje de colonización radicular.

2.2.3. PLANTAS QUE FORMAN MICORRIZA.

Guzmán, S. (1991), respecto a los hospederos, menciona que alrededor del 95 % de las plantas del mundo pertenecen a familias que son típicamente micorrizables, la excepción la constituyen las familias **Cruciferae**, **Chenopodiaceae**, **Fumariaceae**, **Cyperaceae**, **Commelianaceae**, **Urticaceae**, **Poligonaceae**, que en general no forman ningún tipo de asociación micorrízica.

El mismo autor, agrega que alrededor del 80 % de las plantas que presentan la simbiosis en cuestión, forman el tipo de asociación endomicorrízica conocida como micorriza vesículo-arbuscular (MVA) reportándose en más de 200 familias y más de 1000 géneros de plantas, distribuidas en el grupo de las Briofitas, Pteridofitas, Angiospermas y Gimnospermas.

López, C. y Barceló, A. (2007), sostienen que las asociaciones micorrízicas se producen sobre casi todas las plantas vasculares con algunas excepciones como las familias **Crucíferas**, **Quenopodiáceas**, **Ciperáceas**, **Cariofiláceas** y **Juncáceas** y también se establecen en **Briofitas** y **Pteridofitas**, aunque existe poca información sobre estas simbiosis con plantas no vasculares. Entre las plantas vasculares colonizadas por micorrizas se encuentran todas las especies leñosas de interés forestal (**Fagáceas**, **Betuláceas**, **Pináceas**), todas las especies de interés hortícola (**Solanáceas**, **Gramíneas**), y muchas familias de importancia ornamental (**Orquidiáceas**, **Rosáceas**).

De acuerdo a Fernández, F. (2003), con secciones de las familias básicamente ectomicorrizas (*Fagáceas, Betuláceas, Pináceas*), las que forman endomicorrizas con hongos perfectos, (*Orquidiáceas, Ericaceae*) y unas pocas familias que han sido reportadas como no micorrizas (*Chenopodiáceas, Crucíferas, Fumariaceae, Cyperáceas, Commelinaceae, Urticaceae, Polygonaceae*), el resto de las especies vegetales conocidas forman el tipos arbuscular, sin embargo, no debemos ser muy categóricos, pues solo 3% de la Angiospermas han sido analizadas.

ESPECIFICIDAD EN LA FORMACIÓN DE MICORRIZAS.

Si bien las asociaciones micorrízicas se consideran en general no específicas, es decir que cualquier hongo simbiote puede colonizar cualquier planta receptiva, existen sin embargo preferencias o una mejor afinidad compatibilidad entre determinadas parejas hongo/planta. En contraste existen también casos como en *Eucalyptus, Malus, Arbutus*, en que la total inespecificidad asociativa hace que estas y otras especies estén colonizadas al mismo tiempo por formaciones tan distintas como ectomicorrizas y endomicorrizas. López, C. y Barceló, A. (2007).

RELACIÓN SIMBIOTE.

CÓMO SE PRODUCE LA COLONIZACIÓN.

En una primera instancia se produce una identificación mutua planta - hongo en la rizosfera, en regiones próximas a las raíces nutricias; este reconocimiento parece mediado por sustancias exudadas por la raíz que provocan el crecimiento del micelio y un biotropismo positivo del mismo hacia la raíz, luego se produce el contacto intercelular al formarse una estructura llamada apresorio, En tercer lugar se producen cambios morfológicos y estructurales tanto en los tejidos colonizados por el hongo, como en la organización de la pared celular del simbiote fúngico. Posteriormente se produce la integración fisiológica de ambos simbiotes, y por último se produce una alteración de la actividades enzimáticas, que se coordinan

entre los simbioses para integrar sus procesos metabólicos. López, C. y Barceló, A. (2007).

EFFECTOS DE LAS ASOCIACIONES MICORRÍZICAS.

Los autores antes señalados, manifiestan que las micorrizas actúan a varios niveles, provocando alteraciones morfológicas y anatómicas en las plantas hospedadoras como cambios en la relación tallo raíz, en la estructura de los tejidos radicales, en el número de cloroplastos, aumento de la lignificación, alteración de los balances hormonales, efectos que no son sólo explicables como una simple mejora nutritiva de la planta debida al aumento de eficacia en la absorción de nutrientes por la raíz gracias a la formación de la micorriza, sino que responde a cambios metabólicos más profundos y complejos debidos a la integración fisiológica de los simbioses.

Estos mismo autores, indican que otro de los efectos mas interesantes de las micorrizas es su papel en relación con el ecosistema en el que se desarrollan; así interaccionan con diversos microorganismos de la micorrizosfera estableciendo provechosas cooperaciones con unos y compitiendo con otros generalmente de tipo patógeno, e incluso interactuando con la microfauna de la rizosfera, aunque su papel aparentemente protector es relativo.

CÓMO FUNCIONAN.

AGRI-BIOTECH, (2005), indica que las micorrizas son asociaciones entre la mayoría de las plantas existentes, con hongos benéficos, que permiten incrementar el volumen de la raíz y por tanto permiten una mayor exploración de la rizósfera y son consideradas los componentes más activos de los órganos de absorción de nutrientes de la planta, la que a su vez provee al hongo simbiote, de nutrientes orgánicos y de un nicho protector.

El término Micorrizas describe globalmente toda una serie de estructuras formadas por las asociaciones que se establecen entre varios géneros de hongos

de suelo y las raíces de la mayoría de las plantas vasculares, e incluso se han descrito sobre plantas no vasculares, López, C. y Barceló, A. (2007). La simbiosis mutualista que se lleva a cabo entre las raíces de las plantas superiores y los hongos, es lo que se conoce como micorriza, esta asociación proporciona beneficios a ambos organismos. Diccionarios Digitales, (2007).

Alarcón, A. y Cerratin, F. (2000), sostienen que la micorriza, simbiosis que se establece entre algunos hongos del suelo y algunas plantas superiores, ha sufrido a través del tiempo diferentes grados de atención. Originalmente fue considerada como un fenómeno básico que se debía estudiar desde el punto de vista morfológico. En la actualidad esta simbiosis ha pasado desde estudios morfológicos, ecológicos, taxonómicos, moleculares hasta biotecnológicos, siendo este último el que está recibiendo mayor atención debido a que inducen mayor capacidad de absorción nutrimental, sanidad, vigor y producción en las plantas.

Marx, D. (2007), manifiesta que las micorrizas son asociaciones mutuamente benéficas entre las raíces no leñosas de las plantas y un número importante de especies de hongos altamente especializados, su presencia es tan común en las raíces como lo es la clorofila en las hojas, por lo cual uno no debe preguntarse si una planta está micorrizada o no, sino más bien que tipo de micorriza está presente y cual es su grado de colonización en la raíz, en suelos pobres se encuentra el mayor impacto en la respuesta de los árboles debido a los beneficios causados por la micorriza.

Sunseed Tecnología del Desierto, (2004), plantea que las micorrizas son una asociación entre un hongo que reside en la tierra y las raíces de una planta superior, las micorrizas existen naturalmente en una gran cantidad de entornos. Forman una relación simbiótica con las raíces de la mayoría de las plantas, aportan agua y nutrientes del suelo para la planta, así la planta tiene un acceso más eficaz llegando hasta los poros más pequeños de la tierra.

López, C. y Barceló, A. (2007), indican que en estas simbiosis de tipo mutualista, el hongo suministra a la planta compuestos inorgánicos (sales minerales) que

esta necesita para su nutrición (micotrofia) y la planta aporta al hongo heterótrofo los compuestos orgánicos (fotosintetatos).

Estos mismo autores, manifiestan que el establecimiento de estas asociaciones implica la creación de fuertes interdependencias, tanto es así que el hongo pasa a ser una parte más del sistema radical, tan perfectamente integrado en el mismo que ve muy dificultado o incluso imposibilitado su desarrollo sin el concurso de su planta hospedadora, y ésta puede tener un rango de dependencia del hongo, que va desde absoluto hasta relativo en mayor o menor grado.

Molina, M. *et al.*, (2005), definen a las micorrizas (mikes=hongo, rhiza=raíz) como asociaciones mutualistas entre un hongo y las raíces de la planta, en la que ambos miembros de la asociación se benefician y participan activamente en el transporte y absorción de nutrientes, influyendo tanto en la estructura como en la estabilidad de las comunidades vegetales, en la asociación mutualista que se establece con la micorriza, el hongo coloniza biotróficamente la corteza de la raíz, sin causar daño a la planta, llegando a ser, fisiológica y morfológicamente, parte integrante de dicho órgano. A su vez, la planta hospedera proporciona al hongo simbiote (heterótrofo), compuestos carbonados procedentes de la fotosíntesis, y un hábitat ecológico protegido.

2.2.4. PRINCIPALES TIPOS DE HONGOS MICORRÍZICOS.

Aguilar, S. (1988), manifiesta que en la actualidad se tienen establecidas tres tipos de micorrizas, ectomicorriza, ectoendomicorriza y endomicorriza.

López, C. y Barceló, A. (2007), coinciden en describir como principales a las ectomicorriza, ectoendomicorriza y endomicorriza.

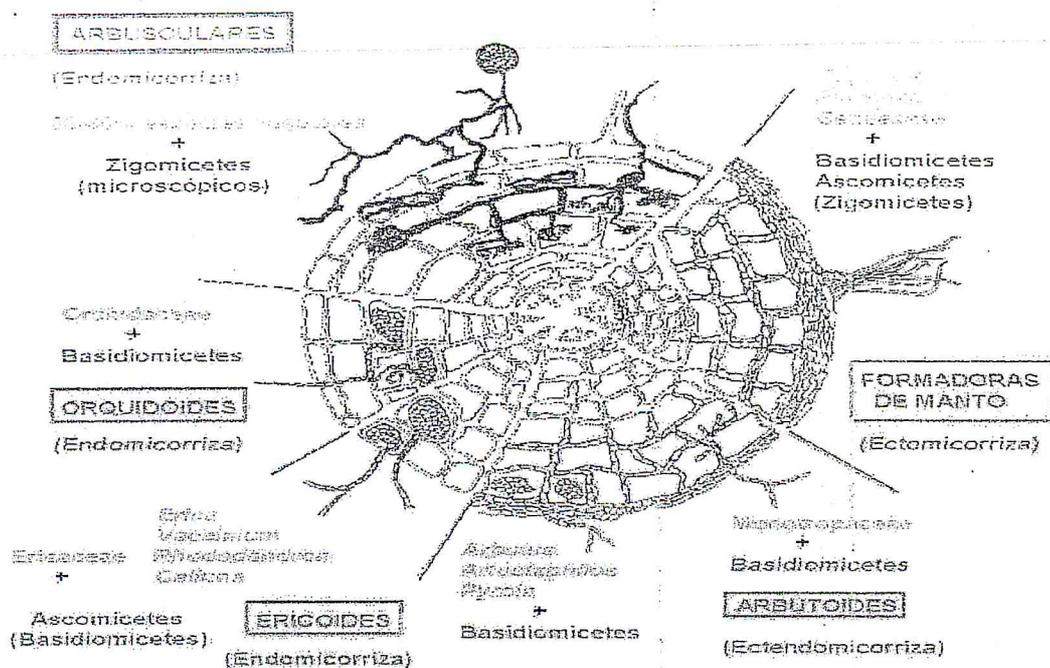


Figura. 02.04. Rrepresentación esquemática de los distintos tipos de micorrizas, citada por Rosero, J. (2007).

A continuación se presenta información puntual de los grupos señalados anteriormente, además otros tipos de hongo micorrizicos con alguna consideraciones particular, según otros autores.

- **ECTOMICORRIZA O MICORRIZAS ECTOTRÓFICA.**

Farfán, G., Reyes, C. (2003), afirma que la ectomicorriza, desarrolla una espesa capa de micelio sobre la zona cortical de las raíces nutricias de la planta, denominado manto. El micelio fungoso penetra intercelularmente formando una red de hifas dentro de la corteza (red de Karting). Principalmente se forma en raíces de árboles y plantas leñosas, son de color blanco, café, amarillo, negro, dependiendo del color del hongo que se desarrolle sobre la raíz.

Lampkin, N. (2001), indica que las ectomicorriza, rodea la superficie de la raíz y cuyo micelio penetra sólo en las células de la capa externa. Guerrero, E. (1996), sostiene que es el tipo más conspicuo de micorriza, ya que se puede evidenciar a simple vista, la ectomicorriza, se produce principalmente en coníferas de latitud templada y algunas especies arbóreas tropicales de las familias *Dipterocarpaceae*

y *Caesalpinaceae*. Es después de la MA, el segundo tipo más distribuido en los ecosistemas terrestres, la ectomicorriza es formada por algunos basidiomicetes (*Amanita*, *Boletus*, *Lactarius*, *Russula*, *Tricholoma*, *Pisolithus*, *Rhizopogon*, *Suillus* y *Scleroderma*, entre otros), *ascomicetes* (eg. *Tuber*) y hongo imperfecto (eg. *Cenococcum*).

Marx, D. (2007), manifiesta que en la naturaleza se encuentran alrededor de 5,000 especies de hongos formadores de ectomicorrizas, las cuales se asocian con unas 2,000 especies de árboles como el pino, roble, abedul, haya, abeto, sauce, tilo, cicuta, cedro, nogal, castaño y eucalipto entre otros, en un bosque maduro pueden encontrarse más de 25 especies de hongos formando ectomicorrizas en un solo árbol. O bien, una especie de hongo puede establecer la asociación en varias especies de árboles en el mismo sitio al mismo tiempo (v. gr.; pino, roble, tilo, nogal).

López, C. y Barceló, A. (2007), indican que ectomicorriza crece habitualmente en los espacios intercelulares de la parte externa de la corteza de la raíz y forma un grueso manto de tejido alrededor de la punta de la raíz. Algunas hifas (filamentos finos) se extienden desde las raíces hasta el suelo circulante para conseguir agua y nutrientes. La red de filamentos intercelulares, la red de Harting, forma los lugares de intercambio donde el huésped intercambia nutrientes que aporta el hongo por carbohidratos.

Molina, M. *et al.*, (2005), manifiestan que las hifas del hongo se envuelven los segmentos de raíces colonizadas y se entretejen alrededor de ellas formando una estructura anatómica denominada manto, característica de esta simbiosis; a partir del manto, se desprenden hifas que colonizan el medio y cordones hifales denominados rizomorfos, los cuales pueden dar origen a cuerpos fructíferos epígeos o hipógeos.

Guerrero, E. (1996), plantea que en la ectomicorriza, el hongo forma sobre la superficie de la raíz un manto micelial y las hifas que penetra la corteza radical se distribuye de manera intercelular ofreciendo, al microscopio, un aspecto de red

que se ha bautizado como red de Hartig. En cambio Guzmán, S. (1991), agrega que este tipo de micorriza forma un manto que encierra las raíces y las hifas penetran entre las células de la raíz para formar una red intercelular, conocida como "red de Hartig".

Páez, O. (2006), plantea que las hifas fúngicas permanecen (que es lo más común), en la superficie epidérmica, alrededor de la cual forman una vellosidad que reemplaza a los pelos radicales. Rodean de una densa capa de micelios (Red de Hartig), las partes más finas de las raíces, hasta envolverlas por completo, incluso en el ápice vegetativo de la misma. Las hifas de los hongos envuelven las raíces de las plantas, penetran intracelularmente en el parénquima de la corteza, sin infectar sus células. Los hongos que las forman son: *Basidiomicetes* y *Ascomicetes* principalmente.

Las ectomicorrizas, en general sobreviven solo durante cortos períodos de tiempo si no están sobre una raíz viva y además aunque sus esporas pueden germinar (con dificultad), sin contacto con una raíz, su crecimiento es muy limitado y si no encuentra enseguida una raíz, mueren. Para simplificar supondremos que: La micorriza solo sobrevive en raíces o trozos de raíz cortados, por períodos muy cortos de tiempo (2 a 10 días). Regés, R. (1999).

El mismo autor, sostiene que las esporas sólo germinan en contacto con una raíz y las esporas sin germinar tienen un período de viabilidad también corto. Además los hongos de este grupo son además específicos a la planta, en general específicos al medio (suelo, clima, etc.) y en general mucho más sensibles a las agresiones externas que las endomicorrizas.

Marx, D. (2007), indica que las ectomicorrizas solo se conocen 150 especies de hongos VAM. Sin embargo este tipo de hongos se asocian con unas 300,000 especies de plantas. Entre las plantas que se asocian con hongos VAM se encuentran los cultivos agrícolas, frutales y plantas ornamentales, enredaderas, pastos, árboles como el maple, olmo, fresno, sicomoro, nogal, cerezo, acacia, magnolia, ginkgo, palmito, laurel. Los hongos VAM no tienen asociaciones

específicas, cualquier especie de hongo puede establecer micorrizas con todas las plantas que se asocian naturalmente con VAM.

Regés, R. (1999), manifiesta que sus esporas germinan con facilidad alejadas de raíces vivas y pueden crecer considerablemente sin contacto con ninguna raíz, lo que les permite localizar a éstas y pueden sobrevivir durante dilatados períodos de tiempo (meses) sobre trozos de raíz si otras condiciones no son adversas. Como su nombre indica viven en el interior de la raíz, en los espacios intercelulares y si emiten hifas al interior de las células que se subdividen formando estructuras en árbol (arbusculo) dan origen al grupo de hongos mycorrizicos.

- **LAS ENDOMICORRIZAS O MICORRIZAS ENDOTRÓFICAS.**

Lampkin, N. (2001), señala que la endomicorriza, atraviesa las paredes de las células y forma finas ramificaciones en las células del huésped, las interacciones entre los mecanismo de defensa de la planta y el hongo mantiene la asociación bajo control, de forma que no se vuelva patógena. En cambio, Aguilar, S. (1988), dice que se caracteriza porque sus hifas invaden únicamente las células corticales de la raíz y da lugar a una serie de ramificaciones múltiples provenientes de un tronco común formando lo que se conoce como arbusculo los cuales son intracelulares y estructuras globosas llenas de lípidos localizadas inter e intracelularmente vesículas.

Guzmán, S. (1991), indica que las endomicorrizas no presentan el manto hifal, pero las hifas penetran dentro de las células corticales de la raíz sin causar daño visible a la raíz invadida. Molina, M. *et al.*, (2005), indica que se caracterizan por la penetración del hongo inter e intracelularmente, la ausencia de manto y las acentuadas modificaciones anatómicas en las raíces no visibles a simple vista.

López, C. y Barceló A. (2007), plantean que la endomicorriza crece principalmente dentro de las células corticales (espacios intracelulares). No forman un manto externo así que no son detectables a simple vista, pero también extienden sus

hifas en el suelo cercano. Algunas endomicorrizas forman vesículas y arborescencias entre las células de las raíces corticales. Este es el tipo de micorrizas que encontramos en un 90% de los tipos de plantas más corrientes del mundo. Se llaman de forma resumida VAM.

Páez, O. (2006), indica que una gran cantidad de hifas fúngicas (hongos), existentes en el terreno invaden las partes jóvenes de las raíces y penetran, a veces, hasta las células del parénquima sub epidérmico (debajo de la epidermis). Esta acción no afecta a las células de los tejidos y se establece el intercambio a ese nivel celular.

El mismo autor sostiene que el micelio de los hongos penetra en el tejido cortical de la raíz de la planta y provoca una infección progresiva de las células de la corteza. Un ejemplo de este proceso, se puede ver en la micorriza vesículo-arbuscular (MVA), que forma en las células de la corteza extremos de micelios ramificados, similares a un árbol (arbusculos), actuando en calidad de órganos nutritivos, mediante los cuales tiene lugar el metabolismo simbiótico entre hongo y planta. Además, se forman vesículas como órganos de reserva.

- **LAS ECTOENDOMICORRIZAS O MICORRIZAS ECTOENDOTRÓFICAS.**

Aguilar, S. (1988), manifiesta que hay un tercer grupo llamado las ectoendomicorriza, se consideran intermedias entre la ectomicorriza y la endomicorriza. En cambio Páez, O. (2006), agrega que constituyen una estructura intermedia: pequeño grupo de plantas y micelios. Es un grupo menos numeroso, sus funciones son similares al grupo de ectomicorrizas, aunque también desarrollan funciones similares a algunas endomicorrizas.

Molina, M. *et al.*, (2005), sostiene que generalmente presentan las características de ectomicorrizas, con la diferencia que hay penetración intracelular. Algunos autores las localizan como endomicorrizas, mientras que otros, basándose en la

cercanía filogenética de los hongos asociados con los Asco y Basidiomycotina, las ubican como ectomicorrizas.

- **MICORRIZAS ARBUSCULAR.**

Guerrero, E. (1996), sostiene que la micorriza arbuscular (MA), también conocida como micorriza vesículo-arbuscular (MVA), es para muchos el tipo más extendido en el reino vegetal, puesto que se estima que coloniza más 80% de especies de plantas con raíz, y ha sido descrita en Briofitas, Pteridofitas, gimnospermas y angiospermas.

El mismo autor, manifiesta que la MA se forma a partir de hongos bastante localizados taxonómicamente, puesto que todos pertenecen al orden *Glomales* de la clase *Zygomycetes*. Los *Glomales* u hongos formadores de micorriza arbuscular conforman un grupo monofilético caracterizado por la formación de arbuscúlo interradales en las plantas hospederas, se trata de una simbiosis obligado de raíces que, sin embargo, no son hospederas específicas. Dicho hongo está distribuido en tres familias: *Glomales*, *Sclerocytis*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora* y *Scutellospora*.

Luna, L. (2006), plantea que las micorrizas arbusculares son unas estructuras microscópicas formadas por la asociación de determinados hongos del suelo con raicillas vivas de la gran mayoría de las especies vegetales (80% de las especies), donde el hongo y raicillas forman un equipo de trabajo y entre ambos desarrollan intercambio de sustancias así: el hongo suministra a la planta compuestos inorgánicos que necesita para su nutrición y la planta aporta al hongo compuestos orgánicos. Molina, M. *et al.*, (2005), indica que deben su nombre a las estructuras que producen; son organismos que se asocian con las especies vegetales en el área de vegetación nativa y cultivos comerciales.

- **MICORRIZAS DE ORQUÍDEAS.**

Las semillas de las *orquídeas*, de tamaño característicamente pequeño, dependiera para su germinación de la asociación con hongo del complejo *Rhizoctonia*. Esta simbiosis es determinante para el desarrollo del protocormo y desarrollo temprano de la plantula, se ha demostrado que el hongo suministra carbono a los protocormos, situación contraria a lo usual en otros tipos de micorrizas. La distribución de las orquídeas estarían influenciada por la disponibilidad de los hogos apropiados para inducir lo que podría llamarse una germinación simbiótica de las semillas, en la etapa de madurez de la planta, sin embargo, la micorriza parece ser opcional de las orquídeas para que sea considerada como una simbiosis micorrízica particular. Guerrero, E. (1996).

- **MICORRIZAS ERICOIDE.**

Son del grupo de hongos *ascomyetos*, afectan a las plantas del orden Ericales, que son plantas leñosas arbustivas que viven en suelos ácidos y pobres en nutrientes; también afectan a plantas del orden *Monotropacea*. Molina, M. *et al.*, (2005).

Guerrero, E. (1996), plantea que el tipo ericoide desarrollo una infección predominante intracelular ocasionada por micobiontes como el *ascomicetes* *Pezizella ericae* (*Hymenoscyplrus ericae*) o como *Oidiodendron ssp.*, se ha evidenciado en algunos géneros de las familia *Ericaceae*, *Empetraceae*, y *Epacridaceae* como *calluna*, *Vaccinium*, *Erica*, *Empetrum* *Lysinema*, los cuales crecen característicamente en ambiente extremos con suelo anegados, orgánicos ácidos.

El mismo autor, sostiene que la infección de micorriza ericoide se caracteriza por la presencia de hifas septados y el desarrollo de ensortijamientos ("coils") intracelulares en las células epidérmicas de la raíz.

- **OTRO TIPO DE MICORRIZA.**

Guerrero, E. (1996), además de las formas dominantes de micorriza, se han descrito otros tipos de menor distribución y cobertura en el mundo vegetal. Entre ellos, las micorrizas *arbutoide* y *monotropoide* que, al igual que la micorriza ericoide, se desarrollan en plantas del orden *Ericales*.

Los tipos *arbutoide* y *monotropoide* presentan manto y red de Hartig, además de infección intracelular, por lo cual representan una situación intermedia entre micorriza ericoide y ectomicorriza, de otro lado, algunos trabajos describen una asociación, no muy bien caracterizados, como micorriza tipo "*Rhizoctonia*".

En general, estas modalidades representan simbiosis en las cuales el endosito es de hifas septadas, por lo cual pueden considerarse como variantes de la ectomicorriza. En sentido amplio, y atendiendo a sus características morfológicas, podrían agruparse en la categoría de las ectoendomicorriza.

2.2.5 ECOLOGÍA DE LA MICORRIZA.

Antes de que podamos utilizar ampliamente los hongo micorrizogenos en la agricultura comercial, necesitamos entender mejor su ecología.

Guerrero, E. (1996), plantea que las múltiples interacciones ecológicas que ocurren en el suelo son responsables del comportamiento de la micorriza y explican las diferencia observadas en la respuesta de las plantas a la inoculación en invernadero (condiciones controladas), en comparación con la inoculación en el campo.

El mismo autor, manifiesta que el desarrollo de la micorriza se puede ver afectada por el comportamiento de las siguientes variables ambientales: a) factores abióticos: propiedades físico-químicas del suelo, variaciones climáticas; y b) factores bióticos: tipo de comunidad vegetal; condiciones fisiológicas de las

plantas hospedera, interacción con otros organismo del suelo, practicas antrópicas (deforestación, sistemas de cultivo, aplicación de agroquímicos.

2.2.5.1. FACTORES ABIÓTICOS.

EL pH.

Fernández, F. (2003), sostiene como factor relevante las condiciones de acidez de los suelos expresadas a través del pH, que determina en mucho casos la eficiencia del endofito, el porcentaje de germinación de las esporas y el desarrollo de la micorriza. Guerrero, E. (1996), plantea en una investigación realizadas en Brasil, que la mayoría de especies de *Gigaspora* ocurrían en suelo con pH 5.3 o menor, mientras que la mayoría de especies de *Glomus* y *Acaulosporas* ocurrían a pH de 6.

VARIACIÓN CLIMÁTICA.

En relación con el clima, trabajos realizados con algunas plantas agrícolas de ciclo corto indican que la abundancia de esporas del hongo MA en el suelo, así como el porcentaje de colonización micorriza en raíz se ven afectados por el patrón estacional de lluvias y por el régimen hídrico del suelo, estableciendo que bajo condiciones de sequía las plantas micorrizadas son más tolerantes que las no micorrízicas. Guerrero, E. (1996).

Alvarado, A. *et al.*, (2004), sostienen que se han realizado numerosos trabajos experimentales donde se han puesto de manifiesto las ventajas que se le atribuyen a las micorrizas, entre las cuales se encuentran: Las plantas soportan condiciones de clima adversas, la elevación de la temperatura en el suelo, la presencia de agentes contaminantes y además mejoran la resistencia al transplante. En cambio Guerrero, E. (1996), añaden que otras condiciones climáticas, como temperatura e intensidad lumínica altas, así como el fotoperíodo de 12 horas o más, conducen generalmente a incrementos en la colonización de la raíz y en la esporulación de los hongos micorrizógenos.

FACTORES FÍSICO – QUÍMICO.

Fernández, F. (2003), otros factores claves es el contenido de agua presente en los suelos. A pesar de que los hongos MA se forman simbiosis con algunas plantas en ambiente semiacuático se admite que su desarrollo es muy lento bajo estas condiciones, la influencia que tiene la falta de agua sobre la infección micorrízica dentro y fuera de la raíz es diferente, el contenido de agua por encima de la capacidad de campo favorece la germinación de esporas de hongo micorrizógeno.

El mismo autor plantea que la relación que se establece entre los rangos de pH del suelo y el efecto de la colonización micorrizógena es verdaderamente compleja, dependiendo no solo de la especie micótica, sino también el tipo de suelo, la forma en que se encuentran los nutrientes (fundamentalmente P, N y otros elementos como Cu, Zn, Mo, B, etc.).

2.2.5.2. FACTORES BIÓTICOS.

TIPO DE COMUNIDAD VEGETAL.

Guerrero, E. (1996), tratándose de una asociación obligada entre hongo - planta, la ecología de micorriza está condicionada en buena parte por la ecología de la planta misma. No obstante, el análisis se hace complejo cuando se intenta evaluar las múltiples interacciones hongo-planta-suelo propias de esta simbiosis.

Fernández, F. (2003), la zona más cercana a esta asociación es sin duda la rizosfera, que no es más que volumen de suelo adyacente a la superficie radical (0.01 mm – 3 mm) y que se encuentra afectado por la actividad de la planta (toma de agua y nutriente, exudados radicales, respiratorio de la raíz, etc).

El mismo autor, dice que el área que abarca la rizósfera difiere de los alrededores del suelo en algunos factores físico – químico, tales como pH bajo, a la expulsión de protones, toma de cationes y producción de ácidos orgánico; un bajo

potencial de agua promovido por la absorción de esta y una baja presión parcial de O₂ y alta de CO₂, debido a la respiración radicular. A causa del suministro constante de exudados, lisados y sustancia estimulamente, el número de microorganismo por gramo de suelo es dos ó tres veces superior en la rizósfera que en los alrededores y las especies allí encontradas difieren producto de las diferentes condiciones ambientales.

2.2.6. BENEFICIOS DE LAS MICORRIZAS.

- **AL SUELO.**

Páez, O. (2006), indica que Los efectos benéficos de las micorrizas en el suelo están muy relacionados con sus efectos sobre las plantas por estar éstos (suelo – planta), estrechamente relacionados. Sin embargo, podemos declarar que las micorrizas, realizan varias funciones en el suelo que incrementan mucho su potencial agro productivo y sus posibilidades de sostén y mantenimiento de las diferentes especies vegetales, a modo de resumen declaramos los siguientes efectos:

Las micorrizas prolongan el sistema radical de las plantas, y ello facilita una mayor retención física de partículas del suelo, limitando los efectos dañinos de la erosión causada por el agua.

Son las micorrizas regeneradoras de suelos degradados, ya que al facilitar el mejoramiento de la estructura de éste, se incrementa sus posibilidades de retención de humedad, aireación y descomposición de la materia orgánica. La presencia de Micorrizas en los suelos, moviliza una gran cantidad de nutrientes que antes no estaban a disposición de las plantas, por lo que incrementa la fertilidad de éstos. En la medida que los suelos sean menos fértiles se necesitarán mas estructuras fúngicas para lograr una mayor eficiencia micorrízica. Las micorrizas mejoran la capacidad productiva de suelos poco productivos, como los afectados por la desertificación, la salinización, la erosión hídrica y eólica. Otro de los efectos mas interesantes de las micorrizas en el suelo, es su papel en

relación con el ecosistema en el que se desarrollan; así interactúan con diversos microorganismos del suelo, estableciendo provechosas cooperaciones con unos y compitiendo con otros generalmente de tipo patógeno, e incluso interactuando con la microfauna de la rizósfera (nematodos, áfidos, acaros, entre otros).

En zonas áridas y semiáridas las micorrizas, pueden ayudar a las plantas simbiotas a captar agua para tolerar el estrés hídrico.

Las micorrizas generan sustancias aglomerantes (glomalina), que actúan como cemento o aglutinantes, promoviendo una mayor capacidad y estabilidad física, química y biológica de los suelos.

Antón, R. (2006), indica que la micorrización aparece como una atractiva práctica para recuperar suelos degradados mediante la introducción de plantas preparadas para la adaptación a esos suelos. Sin embargo para lograr la máxima eficacia es necesario identificar de antemano la micorriza autóctona de la zona, e inocular las plantas con este hongo, para evitar la competitividad con los hongos nativos del suelo.

El mismo autor, dice que una de sus características más importantes consiste en que las plantas micorrizadas pueden superar situaciones de estrés sobre todo en suelos degradados, por la erosión, incendios forestales, escasez de nutrientes, estrés hídrico, suelos contaminados con metales pesados, etc. Se estudia actualmente su capacidad para activar factores antioxidantes en las plantas de tipo enzimático: catalasa, peroxidasa, superóxido dismutasa, etc. De este modo la planta podría superar condiciones adversas.

López, C. y Barceló, A. (2007), indica que esta es todavía un área de investigación que está en sus primeras fases de vida. Los científicos están investigando lo que parece ser la capacidad de la micorriza de asistir a las plantas a colonizar suelos que de otra forma serían tóxicos para ellas, en cambio

Guerrero E. *et al.*; (1996), sostienen que la micorriza hace destoxificación de metales pesados.

Siguen sosteniendo que las micorrizas aceleran la descomposición de los minerales primarios y segregan un "pegamiento" orgánico (polisacaridos extracelulares) que unen pequeñas partículas del suelo en otras mayores más estables hídricamente.

La salinidad es un factor limitante de la producción agrícola, los estudios sobre micorrizas y tolerancia de las plantas a este estrés es relativamente reciente, resultados demuestran el efecto inducido por la micorrización en la disminución de la deficiencia nutritiva provocada por antagonismos iónicos, efecto secundario del estrés salino, lo que permite el mayor crecimiento de las plantas micorrizadas, concretamente, las micorrizas mejoran diversos procesos fisiológicos (incremento del ritmo de intercambio de CO₂, transpiración, cambios en la conductancia estomática, eficacia en el uso de agua), aparte del derivado de la captación de nutrientes. Molina, M. *et al.*, (2005).

- **A LAS PLANTAS.**

Guzmán, S. (1991), afirma que incrementar la absorción de nutrientes, principalmente N, P, Zn, y Cu. Mayor crecimiento de las plantas principalmente en suelo con bajo contenido de nutriente. Guerrero, E. *et al.*, (1996). Mayor capacidad de absorción de nutriente poco móviles del suelo (fósforo, zinc, cobre) y mayor capacidad de absorción de agua y tolerancia a la sequía.

Los hongos con su micelio externo ocupa una superficie de suelo que llega a ser 100 veces el de las raíces, mejorando notablemente la cantidad de agua que se pone a disposición de las plantas, y resistencia a la desecación. Las raíces micorrizadas además resisten mucho mejor la desecación que aquellas que no lo están. Hernández, A. (1999).

Antón, R. (2006), afirma que la mayoría de las plantas presentan micorrizadas sus raíces, los hongos micorrizicos hacen disponibles para las plantas los nutrientes del suelo y las protegen contra efectos ambientales adversos, bióticos y abióticos.

IDEMA, (2007), manifiesta que la micorriza Incremento notable en la superficie de absorción de los pelos radicales más la que se produce por la cobertura producida por el hongo, mejoramiento de la absorción iónica y acumulación más eficiente y selectiva, especialmente en el caso del fósforo. Solubilización de minerales que se encuentran en el suelo, facilitando su absorción por las raíces de las plantas, incremento de la vida útil de las raíces absorbentes; las raíces micorrizadas persisten durante mayor tiempo que las raíces no micorrizadas.

Las micorrizas incrementan notablemente la eficiencia de las raíces en la absorción de agua y nutrientes como consecuencia del incremento del área de absorción, la superficie combinada de millones de hifas es muy superior a la de una planta no micorrizada. Además las hifas extendidas son capaces de alcanzar a más distancia fuentes de alimentos donde las raíces no llegan.. Usando nutrientes marcados radioactivamente, los científicos han mostrado que las ectomicorrizas son especialmente hábiles absorbiendo fosfato y potasio así como metales alcalinos. Las VAM (endomycorrizas) han mostrado su eficiencia absorbiendo fósforo, cobre, hierro y calcio. López, C. y Barceló, A. (2007).

Es evidente que el hongo con su larga red de filamentos es capaz de explorar mayor volumen de terreno y de absorber mayor cantidad de agua y de sales minerales, especialmente de fósforo que suele presentarse en forma de sales muy insolubles difícilmente aprovechables por los pelos absorbentes de las raíces de las plantas ectomicorrízicas, con lo que estas presentan un mayor grado de tolerancia a los suelos con baja fertilidad y a las condiciones de extrema sequedad. Cuesta, J. (2007).

De acuerdo con las pruebas y las investigaciones realizadas en varios cultivos, los beneficios obtenidos con la micorrización, se manifiestan en una mayor absorción del fósforo, aún en los suelos ácidos. Diccionarios_Digitales, (2007).

Esta misma fuente, señala que la humedad disponible también registra un incremento en los suelos micorrizados y quizá el aspecto más importante, se relaciona con el efecto protector de las micorrizas, que al envolver las raíces, y ocupar un espacio, evitan que los organismos patógenos invadan la raíz. Finalmente, el resultado es una precocidad, con plantas más sanas.

Mayor disponibilidad de nutrientes, en general en un bosque natural, la cantidad de nutrientes a disposición de la planta es de unas 20 veces inferior a las existentes en un terreno de cultivo y sin embargo los árboles crecen vigorosamente y en general sin muestras de carencias. Esto es especialmente cierto en lo que respecta al fósforo que como sabemos es el elemento que por su falta y poca movilidad es el elemento que limita el crecimiento. Hernández, A. (1999).

Curtism, H. y Barnes, N. (2003), señalan que las ventajas proporcionadas por la micorrización para las plantas son numerosas. Gracias a ella, la planta es capaz de explorar más volumen de suelo del que alcanza con sus raíces, al sumársele en esta labor las hifas del hongo; también capta con mayor facilidad ciertos elementos (fósforo, nitrógeno, calcio y potasio) y agua del suelo. La protección brindada por el hongo hace que, además, la planta sea más resistente a los cambios de temperatura y la acidificación del suelo derivada de la presencia de azufre, magnesio y aluminio. Por si todo esto fuera poco, algunas reacciones fisiológicas del hongo inducen a la raíz a mantenerse activa durante más tiempo que si no estuviese micorrizada.

- **ALIVIO DEL ESTRÉS Y DISMINUCIÓN DEL RIESGO DE ENFERMEDADES.**

Guzmán, S. (1991), afirma que la micorriza aumenta la tolerancia al estrés hídrico. El entorno y el cultivo estresan a las plantas, este estrés influencia a los vegetales en su capacidad para defenderse de enfermedades causadas tanto por bacterias como por otros factores, las VAM reducen en un alto grado el estrés ambiental nutricional causa de por sequía, enfermedades de las raíces, toxicidad del suelo

etc. que predisponen a la planta a las enfermedades. El incremento de nutrientes, particularmente micronutrientes, que están encerrados en las partículas del suelo y que son inaccesibles si no es a través de las micorrizas, hacen que la planta sea menos susceptible a la entrada de patógenos, y más resistente a otros tipos de estrés ambiental como frío y calor. López, C. y Barceló, A. (2007).

- **PRODUCCIÓN DE REGULADORES DE CRECIMIENTO.**

Los hongos ectomicorrízicos producen diversas hormonas como auxinas, citoquininas, y otros compuestos que afectan positivamente al desarrollo de la planta micorrizada, (movilización de nutrientes, iniciación de la suberización, iniciación del crecimiento de las raíces después de la parada invernal. Cuesta, J. (2007).

- **LAS MICORRIZAS EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS.**

Diccionarios Digitales, (2007), informa que al germinar las semillas en sustratos micorrizados, se desencadena un proceso simbiótico que comienza cuando las esporas son atraídas por las sustancias que segregan las raicillas de la plántula, la relación se establece de la siguiente manera.

- Las hifas forman una tupida red de tubos que envuelven a las raíces como un guante.
- Las esporas de las micorrizas maduran, se convierten en hifas e inician la aproximación a las raíces.
- Las raicillas de la plántula segregan sustancias en su metabolismo, que son atractivas para las micorrizas.
- Las hifas invaden el interior de las raíces, bordean a las células que la forman.
- Las hifas forman una cabellera adicional de absorción, en torno a las raíces, de varios kilómetros por hectárea.
- La redcilla, extrae el fósforo, el nitrógeno y otros minerales del suelo, y lo transporta junto con el agua hacia las células de las raíces.

- En el interior de las células, se forman las estructuras arbusculares que almacenan las sustancias que han extraído las hifas del suelo.
- La planta absorbe estos nutrientes por medio de su sistema vascular de conducción y lo distribuye por los tejidos de acuerdo a sus necesidades.
- **PROTECCIÓN CONTRA LOS ELEMENTOS PATÓGENOS DE LAS RAÍCES.**

Guerrero, E. *et al.*, (1996), sostienen que la planta colonizada ayuda en la protección contra patógeno en cambio Hernández, A. (1999), manifiesta que ejercen una acción defensora de las raíces frente a ataques de parásitos, siendo especialmente importante la que presentan frente a los nemátodos, López, C. y Barceló, A. (2007), agrega que la ectomicorriza, en particular, ha demostrado ser resistente al ataque de los patógenos del suelo. En cambio IDEMA, (2007), indica que la resistencia de raíces micorrizadas a infecciones causadas por hongos patógenos, tales como *Phytophthora spp.*, *Pythium spp.*, *Fusarium spp.* Y *Rhizoctonia*, especialmente en coníferas en época de lluvia.

Existen diferentes mecanismos por los que pueden llegar a actuar las micorrizas contra los diversos agentes patógenos; en primer lugar se podría considerar que antes que nada actúan como una barrera física, impidiendo que en el lugar ocupado por ellas se instale cualquier otro agente perjudicial. Otro mecanismo es la producción de compuestos fungistáticos y antibióticos que pueden eliminar al patógeno en caso de que consiguiera instalarse. Aunque tal vez, el efecto más importante sea el aumento de la tolerancia de la planta contra los patógenos como consecuencia de los cambios fisiológicos causados por la simbiosis micorríza en la planta. Cuesta, J. (2007).

- **ALTERACIÓN DE LA FISIOLOGÍA DE LA RAÍZ.**

López, C. y Barceló, A. (2007), manifiestan que a investigaciones han demostrado que la Ectomicorriza produce una serie de hormonas y reguladores que son responsables de la alteración del metabolismo y crecimiento de las raíces. Esas

sustancias mejoran la producción de raíces finas (alimenticias) el alargamiento de las células, y mejora de crecimiento en raíces cortadas.

Molina, M. *et al.*, (2005), concuerdan en que las micorrizas pueden contribuir a la salud de la planta y a su productividad al aumentar el desarrollo de tolerancia a enfermedades y parásitos, las ectomorrizas protegen la raíz ya que reciclan los carbohidratos, aminoácidos y otros compuestos producidos por las raíces, capaces de atraer agentes patógenos, además proveen una barrera física a patógenos debido a la formación del manto, en el cual las hifas individuales o cordones de hifas crecen hacia afuera, introduciéndose en el suelo, y hacia adentro, intercalándose entre las células del córtex de la raíz a través de la lámina media, formando un entramado denominado red de Harting. En esta red el micelio deja de estar tabicado, es xenobiótico, lo que se interpreta como ventaja para acelerar los procesos de intercambio. La red de Harting puede sintetizar compuestos como el diatretinenitrilo, con efecto de tipo antibiótico.

2.3. INOCULACIÓN DE MICORRIZAS.

SELECCIÓN-DE HONGOS COMO INOCULANTES.

Según la Biblioteca Digital de Universidad de Chile (2007), indica las características fundamentales que debe poseer un hongo para ser utilizado como inoculante son las siguientes.

INFECTIVIDAD.

Esta propiedad viene dada por la capacidad del hongo para producir rápidamente infecciones bajo un amplio margen de condiciones, especialmente en compatibilidad con ciertas dosis de P soluble.

EFFECTIVIDAD.

El hongo debe ser eficaz en la captación, translocación y transferencia de nutrientes desde el suelo a la planta. Esto debe ser compatible, igualmente, con las condiciones físicas, químicas y microbiológicas del medio. Un funcionamiento correcto, en colaboración con un nivel adecuado de P, es crítico para obtener una cosecha máxima. También desde el punto de vista de la efectividad es importante que el desarrollo intrarradical sea «equilibrado» en el sentido de que no suponga un excesivo sumidero de fotosintato y el crecimiento del micelio externo extensivo y bien distribuido, colonizando un gran volumen de suelo.

CAPACIDAD DE COLONIZACIÓN Y DISPERSIÓN DEL INÓCULO.

Es conveniente que el inoculante tenga una capacidad reproductiva elevada, sus propágulos germinen con facilidad y sus hifas crezcan y se extiendan abundantemente en el suelo. De esta forma, aumentan las posibilidades de contacto entre el hongo y distintas raíces del suelo, facilitándose así la colonización de nuevas raíces y la dispersión del inóculo.

SUPERVIVENCIA DEL INÓCULO Y PERSISTENCIA DE SUS EFECTOS.

Esta característica, que enlaza con la anterior, está asociada con la capacidad de producir estructuras (esporas, esporocarpos, vesículas intrarradicales, etc.) que le confiera resistencia a una amplia gama de condiciones ambientales adversas, con lo cual se asegura el mantenimiento del inóculo sin necesidad de tener que practicar reinoculaciones en el inicio de cada período de crecimiento. En cuanto a la selección de hongos, lo lógico y recomendable es que cualquier método debe efectuarse en suelos no estériles y en condiciones lo más similares posible a las naturales. Ello permite investigar simultáneamente las interacciones con micorrizas indígenas y establecer así la necesidad o no de inocular en cada situación concreta.

López, C. y Barceló, A. (2007), manifiestan que deberían haber suficientes esporas, clamidoesporas, esclerotia, partes de rizoma e hifas en las raíces que quedan como para colonizar diez veces el tiesto. Un punto clave en el proceso será entonces asegurarse que al introducir las raíces cortadas estas tengan el mayor contacto posible con las raíces alimenticias nuevas, para que al germinar las micorrizas vayan a las raíces.

PREPARACIÓN DE INÓCULOS.

Según la Biblioteca Digital de Universidad de Chile (2007), indica la preparación de un inóculo masivo de alta calidad y libre de patógenos es un factor que actualmente limita la inoculación de MVA a escala agrícola, responden a los siguientes tipos:

RIZOSFERA: de plantas que han sido previamente micorrizadas en condiciones controladas con propágulos de una sola especie de hongo («stock» de inóculo). El inóculo consiste en una mezcla de raíces micorrizadas y suelo adherido en el que existe micelio, esporas maduras, etc. Es lo que suele denominarse normalmente como «inóculo bruto»

MICORRIZA LIMPIA: Es decir raíces bien infectadas, libres de suelo, obtenidas normalmente en cultivo hidropónico. Tiene la ventaja de ser un material bastante más limpio que el anterior, con lo cual el riesgo de introducir contaminantes disminuye. Además, es menos pesado y, por tanto, más manejable.

ESTRUCTURAS DEL HONGO: Fundamentalmente esporas. Este inóculo es el propuesto para *Glomus epigaeus*, dada la capacidad de esporulación tan extraordinaria de esta especie y la facilidad de recolección de las esporas producidas. Efectivamente, este hongo forma en la superficie del suelo esporocarpos observables a simple vista, que contienen miles de esporas. Este material, sin embargo, no resulta práctico, por el momento, para otras especies.

2.4 TÉCNICAS DE INOCULACIÓN.

INOCULACIÓN NATURAL.

La mayoría de las plantas, especialmente las que llevan en el suelo más de un año, presentan micorrización establecida naturalmente, la inoculación natural se facilita cuando el vivero se ubica cerca de plantaciones forestales, beneficiándose de las esporas que producen los cuerpos fructíferos que emergen cerca de los árboles. Se ha demostrado que la inoculación natural es diferente cada año y la distribución en el vivero es bastante irregular, para asegurar una repuesta positiva en el establecimiento de la ectomicorriza, el hongo inoculado debe estar por encima del 50%. Orozco, C. (1996).

TRASPLANTE DE PLÁNTULAS PREINOCULADAS.

Este método es de gran utilidad para los cultivos que emplean el trasplante como técnica ya que permite una micorrización controlada antes de exponer las raíces al contacto con endofitos de efectividad dudosa presentes en el suelo de cultivo definitivo, este sistema presenta la ventaja de un ahorro considerable de inóculo, ya que éste va a ser aplicado a una superficie pequeña que puede ser desinfectada previamente cuando se procede al trasplante, la micorriza que se pretende introducir suele estar bien establecida, aparte de las ventajas ya descritas, que proporcionan una adecuada micorrización, hay que añadir en este caso una mayor resistencia a los riesgos de trasplante, obviamente, esta técnica no es factible en los sistemas agrícolas que normalmente no utilizan fase de vivero. Biblioteca Digital de Universidad de Chile (2007).

INOCULACIÓN CON SUELO HUMUS.

Es el método más comúnmente empleado para el desarrollo de la micorriza por su fácil obtención y manipulación, pero presenta desventajas como riesgos de incorporación de otros organismos que pueden ser patógenos para la planta, la

17

18

19

20

21

22

incertidumbre de que el inóculo contenga la especie de hongo deseable para la planta que se va a inocular, además la dificultad de establecer el volumen de suelo requerido para lograr la infección. Orozco, C. (1996).

INCORPORACIÓN DEL INÓCULO DIRECTAMENTE AL SURCO, BAJO LAS SEMILLAS.

Este procedimiento se ha practicado utilizando inóculo bruto, lo cual tiene el inconveniente de que se trata de un material bastante pesado (se calcula que se necesitarían 2 o 3 ton /Ha) lo que hace que el método sea impracticable en una dimensión agronómica. Biblioteca Digital de Universidad de Chile (2007).

INOCULACIÓN A RAÍZ Y PLÁNTULA MICORRIZADA.

La siembra de planta micorrizadas en semilleros proporciona un efectivo sistema de inoculación. Las plántulas abundantemente micorrizadas se coloca a intervalos de uno a dos metro en semilleros y de esta forma la simbiosis se establece en las plántulas. Orozco, C. (1996).

APLICACIÓN DIRECTAMENTE AL SURCO DE SIEMBRA DE UNA ESPECIE DE PASTA FLUIDA.

Obtenida a partir de un inóculo concentrado que se suspende, junto con las semillas, en un medio viscoso tal como la metil celulosa, Su factibilidad en agricultura es también limitada. Biblioteca Digital de Universidad de Chile (2007).

APLICACIÓN, COMO EN EL CASO ANTERIOR, DE GRÁNULOS («PELLETS») DE INÓCULO QUE LLEVAN ADSORBIDOS EN SU SUPERFICIE LAS SEMILLAS.

Esta técnica, que ha mostrado resultados esperanzadores, utiliza un material portador obtenido mediante una mezcla de lignito, turba o suelo estabilizado con

arcilla y un suelo muy infectivo procedente de un «stock» de micorrizas. Con este material, a humedad adecuada, se obtienen unos gránulos de 1 cm de diámetro, aproximadamente, sobre los que se adhieren las semillas. Es obvio que también tiene dificultades para su uso extensivo. Biblioteca Digital de Universidad de Chile (2007).

2.5. PROTOCOLO PARA LA OBSERVACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA MICORRIZA A NIVEL DE LABORATORIO. Acedo, C. (2004-2007)

PREPARACIÓN DE LAS RAÍCES:

1. Se lavan las raíces de la planta con el fin de eliminar los restos de suelo que aún permanecen unidos a ellas.
2. Se corta la parte aérea de la planta justo en el punto donde comienzan las raíces.
3. Se introducen las raíces en un tubo de ensayo.
4. Para favorecer la visualización de las hifas, vesículas y arbuscúlos del hongo micorrizógeno, se debe someter a la raíz a un proceso de aclarado que deberá durar más o menos tiempo en función del tipo de raíz (más cuanto más vieja sea, mayor cantidad de materias tánicas contenga etc.).
 - 4.1 Cubrir las raíces con una solución KOH al 10%.
 - 4.2 Calentar los tubos con las raíces durante 20 minutos (más tiempo si éstas son gruesas o tienen mucho tanino, ya que necesitarán un mayor aclarado).
 - 4.3 Una vez enfriados los tubos se elimina la solución y se vuelven a lavar las raíces con agua.
 - 4.4 Echamos nuevamente en el tubo, cubriendo las raíces, una solución de HCl (0,1 N) con pH de 1, para neutralizar el KOH que haya podido quedar en la raíz.

5. Dejamos actuar durante 2 minutos y eliminamos el líquido. Si la raíz no ha quedado blanca (por ejemplo, mantiene colores amarillentos) habrá que repetir el proceso de aclarado, dejando actuar más tiempo al KOH.
- 5.1 Tinción Utilizaremos 1 litro de colorante específico para teñir las hifas del hongo (Azul Tripán 0,05%, Clorazol Negro, Fucsina etc.)
- 5.2 Bañamos las raíces del tubo con el colorante (Azul Tripán 0,05% en lactoglicerol) y calentamos durante 5 minutos.
- 5.3 Después sacamos los tubos y dejamos enfriar.
- 5.4 Eliminamos el colorante y añadimos lactoglicerol para quitar el exceso, mezclando bien y haciendo que salga el colorante.
- 5.5 La operación se repite hasta que las raíces no tiñan el lactoglicerol.

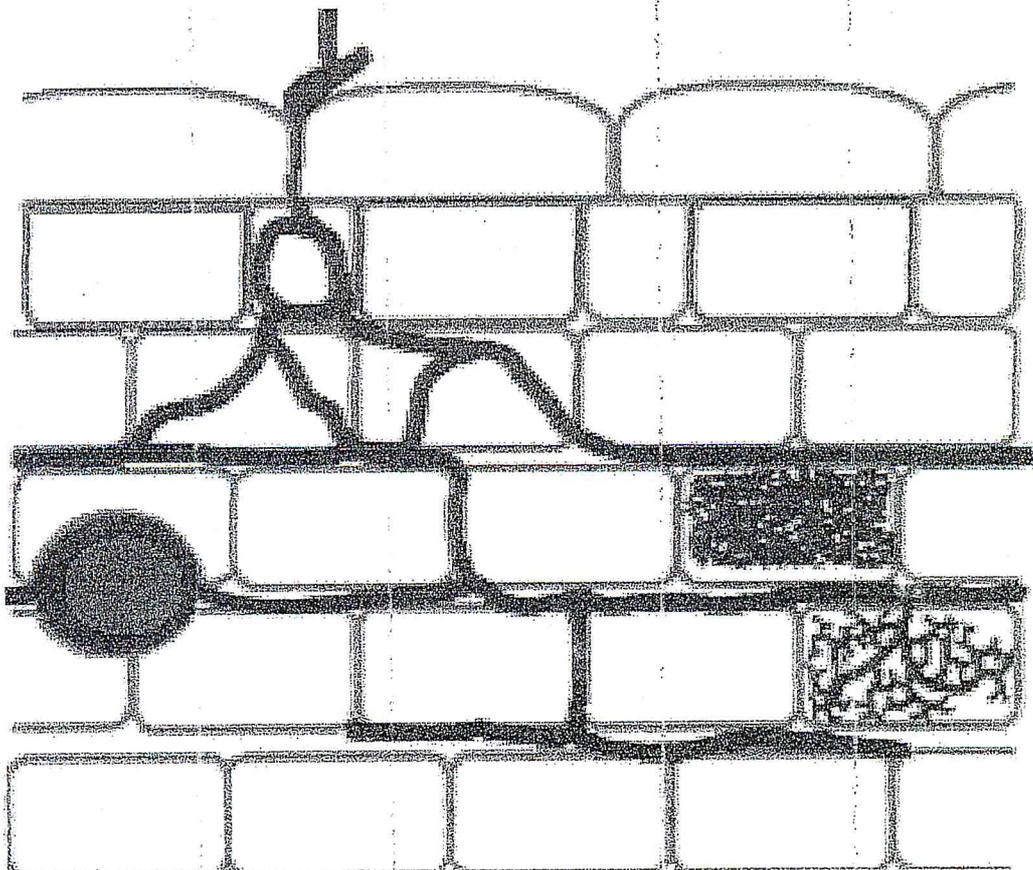


Figura. 02.05. Representación esquemática de una micorriza en raíces.

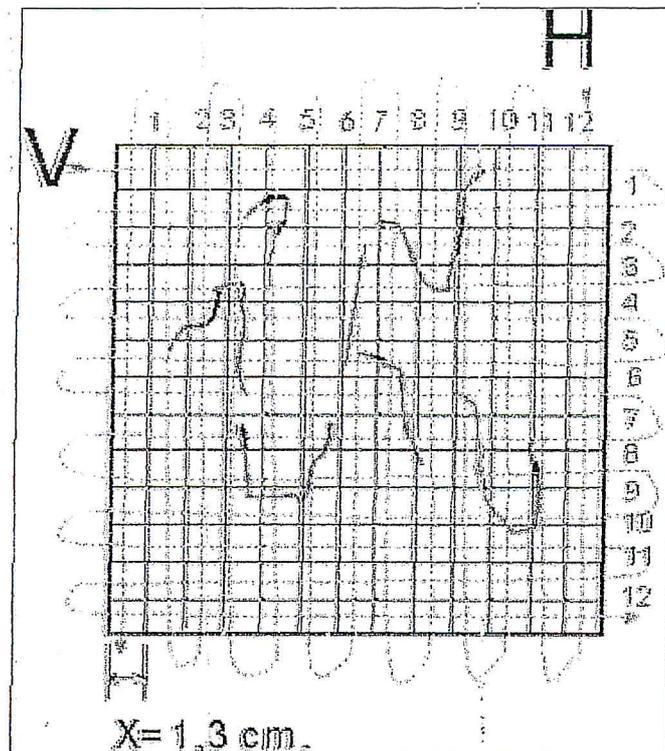


Figura. 02.06. Rejilla para determinación del porcentaje de colonización radicular.

1. Una vez lavadas las raíces ECM o teñidas las raíces VA, se extienden aleatoriamente sobre una placa de petri que tiene dibujada una rejilla. La rejilla puede tener el tamaño de cuadrícula que deseemos pero es conveniente que el lado de cada cuadro mida 1,3 cm.
2. A continuación observamos de manera cuidadosa y ordenada cada una de las líneas verticales y horizontales que conforman la rejilla, anotando.
 - Los contactos que se producen entre las raíces y las líneas anteriores.
 - Los puntos anteriores que además de contacto (intersección), presentan colonización por un hongo (ya sea ECM o hifa, arbúsculo o vesícula en VAM). Un ajuste más fino nos obligaría a separar cada uno de estos tipos de contacto.
 - Se calcula el sumatorio de todas las intersecciones producidas y de todas aquellas que además contaban con presencia fúngica.

- El porcentaje de colonización radicular (CR) se obtiene a partir del cociente: Ni / Ti , siendo Ni = número de intersecciones infectivas, y Ti = Total de intersecciones producidas.

2.6 CARACTERÍSTICA DE LOS INSUMO UTILIZADO.

a. MAÍZ VARIEDAD Iniap -- 528 (Agripac, 2006).

CONDICIONES DEL CULTIVO.

Clima tropical seco – tropical húmedo

Zona de la provincia de Manabí y otras similares a la región Litoral.

CARACTERÍSTICA DE LA VARIEDAD.

- Libre polinización.
- Altura de la planta: 2.48 m.
- Inserción de mazorca: 1.27 m.
- Forma de la mazorca: Cónica cilíndrica.
- Grano: Blanco dentado.
- Días de cosecha: 75 días y grano secos 120 días.
- Resistencia: Acame.
- Tolerancia: principales enfermedades.
- Densidad de siembra: 50000 plantas/ha.
- Rendimiento: 37000 choclos comerciales/ha, 5300 kg/ha, 116 quintales/ha de grano seco.

- Recomendación: Distancia de siembra 1.00 m x 0.40 con dos plantas por sitio.

b. ECOFUNGI, Biosertech (2007).

INOCULANTE DE MICORRIZA.

Ecofungi es un concentrado de espora de micorriza en polvo. El tamaño de partícula es inferior a 0.2 milímetro lo que lo hace apto para la aplicación por roció, por inmersión de raíces o por irrigación en suelo poroso. Tiene una concentración mínima garantizada de 280.000 esporas de micorriza por kilogramo.

Las micorrizas, son hongos que forman asociaciones simbióticas con más del 90% de las plantas. Las micorrizas de Ecofungi son compatibles con gran variedad de especies de flores, hortalizas, frutales y gramíneas. La respuesta a la inoculación difiere según la especie de planta y características del suelo. Las micorrizas colonizan el corte de la raíz y desarrollan una matriz de micelio que se extiende en el suelo e incrementa hasta mil veces el área de absorción de las raíces.

VENTAJAS DE LAS MICORRIZAS DEL ECOFUNGI.

Mejoran la adaptación de plántulas estériles, micro-propagadas y plantas procedentes de viveros a las condiciones de campo.

Favoreces el crecimiento de plantas.

Incrementa la uniformidad del cultivo.

Estimulan la formación temprana de flores y frutos.

Reducen la aplicación de fertilizantes y plaguicidas.

Mejoran la calidad del suelo.

MECANISMO UTILIZADO POR LAS MICORRIZAS DE ECOFUNGI PARA LA MEJORA DEL CULTIVO.

Producen sustancias que estimulan el crecimiento de raíces.

Mejoran la absorción de nutrientes limitantes (P, Zn, Cu,).

Mejoran la estructura de suelo.

Reducen los efectos estresantes causadas por sequía, sales, pesticidas, temperaturas extrema, metales pesados (Al), organismo patógenos.

FORMA DE APLICACIÓN Y DOSIS.

Las forma de aplicación mas efectivas son la inoculación de semillas o la inmersión de las raíces en una suspensión de Ecofungi. Se recomienda inocular plantas que van a ser trasplantadas 2 semanas antes de la siembra para asegurar buena colonización y protección de raíces al ser transferidas. Ecofungi puede ser mezclado en seco con tierra, también puede ser diluido en agua puede ser roseado sobre semillas, semilleros, bandejas de propagación, raíces de transporte, o inyectado al suelo con plantas ya establecidas. En cultivo de cereales (arroz, maíz, soya), se deben aplicar 150 = 250 gr. /ha.

c. ECOFLORA.

ECOFLORA: Es un concentrado seco de microorganismos benéficos (*Bacillus subtilis*, *B. Polymyxa*, *B. Pumilus*, *Penibacillus exotofixans*: *Pseudonomas aureofaciociens*: *Streptomyces lybicious* y *Tricoderma harzianum*), aminoácidos esenciales, biotina, vitaminas, ácido fólico y azúcares naturales. Ecoflora es 100 % orgánico, promueve la supervivencia y el crecimiento de plantas recién sembradas y las ya establecidas; incrementa el rendimiento de cultivos y reduce las aplicaciones de productos tóxicos.

ECOFLORA MEJORA SUELO Y CULTIVOS.

Ecoflora fue formulado para restablecer poblaciones benéficas de microorganismos proporcionar los componentes necesarios para promover el crecimiento saludable de las plantas. Los microorganismos de Ecoflora se encargan de:

- Solubilizar minerales (incluyendo alfósforo).
- Reciclar nutrientes, absorber y retiene estos nutrientes en el suelo.
- Estimular el crecimiento de las plantas a través de la excreción de fitohormonas.

Ecoflora controla poblaciones de microorganismos patógenos, a través de mecanismos independientes:

- Exclusión competitiva: disminuyen los nutrientes de organismos patógenos.
- Excreción de quitinazas: enzimas que degradan la quitina en insectos y hongos
- Exudación de antibióticos: Inhiben la síntesis de proteínas en insectos y hongos patógenos.

DOSIS METODOS A DE APLICACIÓN.

Las dosis dependerán de la variedad de cultivo. Pueden ir de 250 gr. a 1 kg. ha/mes.

EDÁFICO: puede ser aplicado por fertiriego, drench, riego por goteo o inyección.

FOLIAR: aplicaciones con bombas manuales, a motor o por avión.

En períodos de incidencia de hongos patógenos mezclar con Ecofoliar (500cc x ha). Aplicar el producto temprano en la mañana, al final de la tarde o en un día nublado. No aplicar ningún tipo de bactericidas luego de aplicar Ecoflora.

d. FOSSIL SHELL AGRO MINERALES Y MICRONUTRIENTES.

PARA EL DESARROLLO DE LAS PLANTAS.

La agricultura moderna sólo se ocupa de aportar macro elementos inorgánicos, que en ausencia de los microelementos, no pueden ser asimilados por las plantas; FOSSIL SHELL AGRO es un tipo especial de microalgas de agua dulce, refinada y con un alto nivel de pureza, posee minerales y microelementos muy importantes y básicos en el desarrollo nutricional de las plantas, los cuales consiguen suplir carencias en las desmineralizadas tierras de cultivos. Es totalmente inocuo para plantas, animales y seres humanos.

COMO ACTUA FOSSIL SHELL AGRO.

FOSSIL SHELL AGRO provee los componentes necesarios para fortalecer y estimular el crecimiento de las plantas, su gran riqueza en minerales y microelementos, que generalmente están ausentes en suelos empobrecidos o agotados, penetran en el plasma de la planta, circulando por su savia, nutriendo y fortaleciendo los tejidos. **FOSSIL SHELL AGRO**, posee además un efecto fungicida, impidiendo la formación de mohos y carbones en las plantas. Otra interesante aplicación es para proteger granos y semillas, de hongos, virus y bacterias. En este caso se aplica en polvo sobre los granos a conservar, notándose en las semillas una mejor germinación posterior al momento de la siembra.

Galio, Vanadio y Titanio, son elementos vitales para el metabolismo de los tejidos, pero generalmente están ausentes en suelos empobrecidos o agotados.

Cuadro. 02.01. Minerales y microelementos.

Aluminio	5.59%	Boro	0.06%
Calcio	0.02%	Cobre	0.02%
Cloruros	0.067%	Estroncio	0.01%
Fósforo	0.04%	Galio	0.002%
(como P205)	0.04%	Magnesio	0.3%
Hierro	2.26%	Potasio	0.16%
Manganeso	0.002%	Sulfatos y Sulfuros	0.06%
Sodio	5%	Titanio	3%
Sílice	84.4%	Zirconio	0.005%
Vanadio	0.002%	Zinc	0.002%

APLICACIÓN Y BENEFICIOS

FOLIAR: 1.5 a 2k. x Ha x mes El éxito depende en cubrir uniformemente toda la planta: hojas (haz y envés), tallo, ramas, etc.

- Disminuye el ataque de enfermedades, insectos y hongos.
- Aporta más de 14 micronutrientes esenciales para el desarrollo de la planta.
- Incrementa la concentración de clorofila por unidad de área en los tejidos de las hojas.

EDÁFICA: Incorporar al suelo 10k por Ha. una vez por ciclo. En plantaciones permanentes aplicar 10 a 20 g por árbol, a 30 o 50 cm del tronco 2 veces por año.

- Restaura los suelos degradados e incrementa sus niveles de fertilidad.
- Incrementa la nutrición de P entre 40 y 60%, e incrementa la eficiencia de roca fosfórica de 100 a 200%.
- Reduce la lixiviación de P, N y K en su cultivo.
- Neutraliza la toxicidad en suelos ácidos y salinos.
- Mejora la capacidad de adsorción de los suelos.

Al mezclarlo al 2% con fertilizantes químicos u orgánicos reduce la lixiviación y evaporación.

e. ZUMSIL

ÁCIDO MONOSILÍCICO IONIZADO + HIDROGENO.

ZUMSIL es un potencializador agrícola, 100% natural; incrementa la producción de los cultivos, optimizando la fertilización de fosfato al acentuar la presencia de este y otros nutrientes en el suelo, además reduce las pérdidas de nutrientes que se dan por evaporación o lixiviación, incrementando la tolerancia de las plantas al estrés producido por la mala calidad de agua y temperaturas altas, lo que incrementa la eficiencia en el uso de agua y reduce la necesidad de proteger las plantas con químicos. El uso continuo permite fortalecer la planta y reducir las aplicaciones de fertilizantes edáficos y pesticidas (insecticidas, funguicidas, herbicidas).

IMPORTANCIA DE ACIDO MONOSILICICO EN LA AGRICULTURA.

La deficiencia de Ácido monosilícico en los cultivos, reduce considerablemente la resistencia de las plantas al ataque de plagas, enfermedades y varias tensiones abióticas. ZUMSIL disminuye la lixiviación de P, N y K, optimiza la retención de agua en suelos y plantas, influyendo positivamente en la fertilidad de los suelos y la nutrición de la planta.

SUELO.

Aumenta la conductividad eléctrica, generando una mayor CEC; incorpora minerales insolubles presentes en el suelo al medio líquido; provee nutrientes esenciales y restaura los ya existentes en el suelo; estimula la actividad microbiana en el suelo; detiene la interferencia de elementos como el Al; mejora la estructura de los suelos y por ende el manejo del agua (hasta en un 30%).

PLANTAS.

Incrementa la fortaleza y rigidez de las células del tejido epidermal de las hojas; incrementa el rango de fotosíntesis por unidad de área; Incrementa la tolerancia de los cultivos a altas concentraciones de sales de Mn y Na; Incrementa los niveles de oxígeno mejorando los procesos de respiración; Estimula la actividad quitinasa, peroxidasa, polyfenoxidasas, Glucosidasa y B-glucosidasa; puede sustituir al fosfato en moléculas de ARN y ADN.

PRODUCCIÓN.

Fija nutrientes y eleva el grado brix (contenido de glucosa-fructosa) en las frutas; Incrementa la floración y producción.

USO.

Puede ser usado en todo tipo de cultivos, como vehículo de compuestos u otros químicos especiales donde los cationes y aniones fallan en su propósito por sus propiedades ácidas al utilizar aguas duras.

DOSIS Y APLICACIÓN.

50 cc por Ha. En arroz y caña de azúcar duplicarla dosis (100cc). En cultivos sanos aplicar cada 10 o 15 días. En cultivos afectados por plagas o enfermedades duplicar la dosis y aplicar cada 5 días, hasta la recuperación de las plantas.

En árboles frutales, adicionalmente, aplicar cada semana 1 mes antes de la floración y de la cosecha. Para potenciar sus efectos prediluir (1:20) 24 horas previo a la aplicación.

OBSERVACIÓN.

ZUMSIL potencializa los efectos de otros productos agrícolas ya que incrementa la penetración dentro de la superficie de las hojas. Aplique únicamente de acuerdo a las especificaciones técnicas.

2.7. RESULTADO DEL USO DE MICORRIZAS EN CULTIVOS AGRÍCOLAS.

Melgares, J. *et al.* (2004), los resultados obtenidos sobre el vigor y la producción, mediante la aplicación del hongo micorrízico *Glomus intraradices* tiene un efecto positivo sobre la producción de lechuga, ya que se ha aumentado el peso fresco bruto y neto de las piezas de lechuga y su calibre. Las producciones medias equivalentes obtenidas se han visto aumentadas entre unos 3.000 y 4.400 kg/ha de lechuga comerciales.

Cuevas, F. *et al.* (2000), al evaluar el efecto de la inoculación con micorriza y fertilización mineral en fase de semillero y relaciones nutricionales en fase de transplante, sobre el rendimiento agrícola del cultivo del tomate, se aprecian resultados muy favorables, destacándose la cepa *Glomus fasciculatum* + NP con relaciones NP y NPK en trasplante, superando estos tratamientos en 5 toneladas al testigo de producción. Al determinarse la influencia de varias cepas de hongos MA solas o combinadas sobre el crecimiento de tres variedades de tomate por Ferrer, R. *et al.*, (1992), se llegó a la conclusión de que las cepas *Glomus fasciculatum* y *Glomus manihotis* produjeron las mejores floraciones; en cambio *Glomus mosseae* no se destacó como productiva.

Ferraris, G. Couretot, L. (2006), afirma que al evaluar la Inoculación con micorrizas en maíz bajo diferentes ambientes de fertilidad, mediante la inoculación con micorrizas y el agregado de fertilizantes químicos lograron incrementar significativamente los rendimientos del cultivo de maíz. Dicho incremento alcanzó en promedio al 9 % en el caso de la inoculación, y un rango del 13 al 21 % por el agregado de fertilizantes.

Machado, A., Novella, R. (2001), dice que una evaluación del efecto biofertilizantes en el policultivo frijol – maíz, donde se manifiesta la eficiencia biológica del policultivo, resultando más provechoso para la asociación el tratamiento rhizobium/ micorriza, con un rendimiento de (1.90 y 2.3) t.ha, para el frijol y el maíz respectivamente, correspondiéndose con el mayor índice de eficiencia de la tierra (IET) 4.60.

Campos, L. *et al.*, (2007), plantean que al evaluar fertirriego y micorriza en frambuesa roja abastecido con la solución nutritiva Steiner a una concentración iónica total equivalente a 0.54 atm de presión osmótica, sin modificar su concentración original de fósforo, permite producir frambuesa con una calidad que está dentro de las normas internacionales, mejorando la calidad, particularmente el índice de madurez y la firmeza del fruto, mejora al aumentar 50% los fosfatos de la solución nutritiva Steiner. Al incrementar la presión osmótica de dicha solución de 0.36 a 0.54 atm, solamente aumentan los sólidos solubles totales del fruto. La micorriza arbuscular mejora el rendimiento del fruto cuando la planta es alimentada con la solución nutritiva Steiner, enriquecida con el doble de fosfatos de la solución original. En esta forma también se incrementa el rendimiento, el número total de frutos, la firmeza y los sólidos solubles totales. Se recomienda tener dos cañas por planta para mejorar la calidad del fruto y tener un mayor rendimiento, sin detrimento del número de frutos grandes.

Montaño, N. *et al.*, (2001), evaluó la colonización micorrízica arbuscular nativa de dos genotipos de maíz (Negro y V-23) y dos de trigo (Berros y San Cayetano) caracterizados como menos eficientes y más eficientes, donde sostuvo determinó el porcentaje de longitud radical colonizada por el método de las intersecciones. Se encontró que los genotipos con baja eficiencia nutrimental, para ambas especies, presentaron mayor colonización de micorriza arbuscular, con 75% para el maíz y 71% para el trigo.

III. DISEÑO METODOLÓGICO.

3.1 UBICACIÓN.

La presente investigación se realizó durante la época lluviosa del 2008 (desde el 14 enero hasta 28 de marzo), en el Campus experimental de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "MFL", ubicada en el sitio El Limón, parroquia Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí, situado geográficamente entre las coordenadas 0°49'27,9" de Latitud Sur y 80°10'47,2" de Longitud Oeste y una altitud de 15 msnm. /¹⁾

3.2 CARACTERÍSTICAS AGROCLIMATICAS /²⁾ PEDOLÓGICAS. /³⁾

Precipitación media anual:	650 mm
Temperatura media anual:	25,6 °C
Humedad relativa:	78%
Heliofanía anual:	1392,3 (hcras sol)
Topografía:	plana
Textura del suelo:	Franco arenoso, limo, arcilla.
pH :	6.5 a 7.5.

3.3 FACTORES EN ESTUDIO.

FACTOR A:	Dosis Ecofungi.	D1. 100 g. /ha
		D2. 200 g. /ha
		D3. 300 g. /ha

1/. Vera L. (2006). Etiología monitoreo y control de enfermedades fúngicas de papaya maradol (*Carica papaya*) en postcosecha en el cantón Bolívar 2005. Tesis de Grado. Manabí Ecuador. ESPAM. P, 37.

2/. Sistema Carrizal Chone: actualización y Complementación del Estudio de impacto y Plan de manejo Ambiental 2003.

3/. Vera A. (2006). Determinación de las curvas de retención de agua de los suelos agrícolas en el campus de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "ESPAM" Tesis de Grado. Manabí Ecuador. ESPAM. P, 37.

IS. Inoculación a la semilla.

FACTOR B: Forma de inoculación.

IP. Inoculación a la planta.

3.4 TRATAMIENTOS.

La combinación de los factores en estudio dio como resultado los siguientes tratamientos.

Cuadro 03.01. Descripción de los tratamientos a utilizar en el estudio experimental sobre el uso de micorrizas en la productividad del maíz Iniap 528

TRATAMIENTO	NOMENCLATURA	FORMA INOCULACIÓN	DOSIS/ha
1	IS D1	Inoculación a la semilla.	100 g.
2	IS D2	Inoculación a la semilla.	200 g.
3	IS D3	Inoculación a la semilla.	300 g.
4	IP D1	Inoculación a la planta	100 g.
5	IP D2	Inoculación a la planta	200 g.
6	IP D3	Inoculación a la planta	300 g.
7	Testigo Absoluto.	_____	_____

3.5 DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL.

• DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó el Diseño de Bloque Completos al Azar (DBCA), en un arreglo Bifactorial aditivo (A x B + 1). Con cuatro (4) réplicas.

- **ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

ANÁLISIS DE VARIANZA.

ADEVA.

FUENTE DE VARIACIÓN	G.L.
Total	27
Tratamiento	6
Replica	3
Error	18
Factor A (I)	1
Factor B (D)	2
A x B	2
Testigo vs. tratamiento	1

PRUEBAS FUNCIONALES.

COEFICIENTE DE VARIACIÓN.

Con este indicador se midió la variabilidad de las características muestrales con respecto a la media. Se expresa porcentualmente.

PRUEBA DE MEDIAS.

Las diferencias de medias encontradas en las variables respuestas analizadas estadísticamente fueron sometidas a la prueba de Tukey al 5% de probabilidades de error, para categorizarlas.

- **ANÁLISIS ECONÓMICOS.**

Se procedió de acuerdo a la metodología descrita por el CIMMYT (1988), que considera los costos variables y beneficios netos de cada tratamiento.

3.6. CARACTERÍSTICA DE LA UNIDAD EXPERIMENTAL.

Número:	28
Tamaño: total:	48 m ² (6m x 8m)
Útil:	22.4 m ² (4m x 5.6m)
Número de hileras/parcelas:	6
Número de hileras útiles:	4
Efecto bordes.	Se eliminaron una hilera por cada lado de la unidad experimental, más 1.20 m. en cada extremo de la longitud de la hilera.
Separación entre hilera:	1m
Distanciamiento de siembra:	1m x 0.4m (dos plantas/sitio)
Separación entre bloques:	2m
Tamaño del ensayo:	2052 m ² (54m x 38m)
Población:	50.000 plantas/ha
Población por parcelas:	(240 plantas)
Población útil.	(112 plantas)

3.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO.

• PREPARACIÓN DEL TERRENO.

Se preparo mecánicamente, para lo cual se rozó la maleza y se incorporo como biomasa vegetal, luego se efectuó una labranza mínima mediante un pase de arado, y el respectivo surcado.

• SIEMBRA.

Para homogenizar las condiciones de humedad del suelo, debido a que habían caído las primeras lluvias de la época humedad, se hizo un riego de presiembra, luego se sembró manualmente utilizando espeques para realizar hoyos de 0.05 mt de profundidad a un distanciamiento de 1m entre surcos y 0.40 m entre sitio,

depositando tres semillas por sitio y posteriormente se realizó un raleo dejando dos plantas/sitio con lo cual se obtuvo una población de 50000 plantas/ha.

- **INOCULACIÓN DEL BIOESTIMULANTE.**

Los niveles de este factor en estudio se expresan por hectárea, por ello se hicieron las conversiones respectivas para determinar la cantidad de inoculo a emplear por variante y sus replicas.

INOCULACION A LA SEMILLA.

El ecofungi se mezcló homogéneamente con el equivalente a 30 ml/ha zunsil (Ácido monosilísico ionizado + hidrogeno) + 1000ml de agua, dejando en reposo por 24 horas. Al cabo de este tiempo se adiciono 1kg/ha Fossil Shell Agro (Microalgas + mineral + microelemento). Después de 10 minutos el material quedo listo para sembrar.

INOCULACIÓN A LA PLÁNTULA.

Al igual que el procedimiento anterior, las dosis de ecofungi en estudio se mezclaron homogéneamente con el equivalente a 30 ml/ha zunsil (Ácido monosilísico ionizado + hidrogeno) + 1000ml de agua, dejando en reposo por 24 horas. Cumplido este tiempo se adicionó 1kg/ha Fossil Shell Agro (Microalgas + mineral + microelemento). Esta solución se vertió en agua, procurando una dilución referencial de 200l/ha. La aplicación se hizo en drench al pie de planta, ocho días después de la siembra, cuando estas tenían entre 3 – 5 hojas.

- **CONTROL DE MALEZA.**

Esta practica se realizo en forma manual (machete), durante el ciclo del cultivo se hicieron cuatro deshieras a los 7, 16, 30, 45, días después de la siembra.

- **FERTILIZACIÓN.**

Consistió en la aplicación de una mezcla de 50 kg/ha del abono compuesto 15-15-15 + 50 kg/ha de nitrato de amonio a los 8 días de edad del cultivo, enterrando 4 g a 10 cm del sitio de siembra. Posteriormente a los 21 días se realizó una segunda aplicación de 100 kg/ha de nitrato de amonio correspondiéndole 4 g a cada sitio de siembra, que igualmente fue depositado en un hoyo ubicado a 10 cm de las plantas.

- **CONTROL DE INSECTOS – PLAGAS.**

Existió problemas de insectos plaga como *Spodoptera exigua* a los 21 día después de la siembra, llegando a un nivel infestacion del 15%; se lo trato con Ecoflora en dosis 500 ml/ha en 200 lt de agua. Después se presento el cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda*, aunque su ataque no fue severo se hicieron controles con cebos a base de neem (Azodhiraactina), que mezclado con arena de río en una proporción 1 lt en 10 kg: Aplicando directamente al cogollo de cada planta la cantidad adherida entre la yema de los dedos pulgar y medio.

- **COSECHA.**

Esta labor se realizo a los 72 días después de la siembra.

3.7. DATOS A TOMARSE Y METODOS DE EVALUACION.

DATOS COMPLEMENTARIOS.

- **DÍAS A GERMINACIÓN.** Este dato se tomo al contar los días transcurridos desde la siembra al día en el cual el cultivo tuvo un porcentaje de germinación de más del 50% dentro de cada una de las unidades experimentales. (Ver Cuadro 03.029).
- **DÍAS A FLORACIÓN.**

Este dato se tomo, al contar los días transcurridos desde la siembra al día en el cual el cultivo tuvo un porcentaje de presencia de flores (espigas) en más del 50% de la población de cada unidad experimental. (Ver Cuadro 03.029).

- **CICLO DE CULTIVO.**

Este dato se tomo, al contar los días transcurridos desde la siembra al día de cosecha en cada tratamiento o unidades experimentales. (Ver Cuadro 03.029).

DATOS ANALIZADOS ESTADÍSTICAMENTE.

ALTURA DE PLANTAS A LOS 15, 30, 45, DÍAS.

A los 15, 30,45 días posteriores a la siembra, se midió la altura de diez plantas tomadas al azar dentro del área útil de cada parcela, desde la base del tallo hasta la inserción de la última hoja. Utilizando una cinta métrica se saco el promedio por planta y se expreso en metro.

- **ALTURA DE INSERCIÓN DE LA MAZORCA.**

Este dato se registro a los 60 días después de la siembra, en diez plantas tomadas al azar del área útil, considerando la altura existente entre la base del tallo y la inserción de la mazorca utilizando una cinta métrica se saco el promedio por planta y se expreso en metro.

- **NÚMERO DE CHOCLO COMERCIALES/HA.**

Al momento de la cosecha se contó el número de mazorcas cosechadas en el área útil de cada parcela, este valor se trasformo a hectárea para su análisis.

- **LONGITUD DE MAZORCA.**

A diez mazorcas tomadas al azar del área útil de cada parcela, se le determinó la longitud en centímetro, considerando la distancia entre la base y el ápice utilizando una regla métrica, se obtuvo el promedio y se expresó en metro.

- **DIÁMETRO DE MAZORCA.**

Con el uso de un calibrador se registró el diámetro de las mazorcas cosechadas en el área útil de cada unidad experimental, de allí se sacó la media aritmética expresando la medida en cm.

- **DESARROLLO RADICULAR.**

A los 50 días después de la siembra se escogieron al azar cuatro plantas del área útil de cada parcela, se cortó la parte superior del tallo y luego de esto se humedeció el suelo que abarca el sistema radicular de cada planta para ser extraídas sin dificultad, las raíces fueron separadas, lavadas y medidas en centímetro con ayuda de un flexómetro. La masa radicular se determinó mediante una escala 1- 5, las mismas muestras sirvieron para analizar las otras variables en el laboratorio.

Cuadro 03.02. Ponderación de las diferentes escalas para determinar cualitativamente la masa radicular de las plantas.

NUMERO	ESCALA
1	Muy pobre
2	pobre
3	normal
4	vigorosa
5	Muy vigorosa

- **DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN EN RAICES DEL HOSPEDERO (PLANTA DE MÁIZ).**

Para la evaluación a nivel de laboratorio la colonización de micorrizas en raíces de las plantas hospedera, se realizo el siguiente proceso: Se tomaron 112 muestras, cuatro por cada unidad experimental, la misma que estuvo conformada por el material radicular a los 50 días después de la siembra, esta raíces fueron llevadas a laboratorio en donde se lavaron y se cortaron en pedazos de 3 – 5 cm de longitud; en adelante se sometieron al protocolo para la observación y cuantificación propuesto por Acedo, C. 2007 (pag. 41 – 43 del Marco Teórico), se observaron y se determinaron el porcentaje de colonización de micorriza en raíces de las plantas de maíz dentro de cada uno de los tratamientos.

En el laboratorio se coloco las raíces en tubos de ensayo y se la sometió un proceso de aclarado y se cubrió las raíces con una solución KOH al 10% y se calentó los tubos con las raíces durante 20 minutos una vez enfriados los tubos se elimino la solución y se lavo las raíces con agua y se le coloca nuevamente en el tubo en una solución de HCl (0,1 N), para neutralizar el KOH durante 2 minutos y se elimino el líquido, luego se realizo la tinción con Azul Tripán 0,05 bañando las raíces del tubo con el colorante (Azul Tripán 0,05% en lactoglicerol) y se volvió a calentar durante 5 minutos, después se saco los tubos y dejo enfriar y se elimino el colorante y se añadió lactoglicerol para quitar el exceso, mezclando bien para que salga el colorante, la operación se repitió hasta que las raíces no tiño el lactoglicerol, luego se lo coloco en caja petri 10 raíces en el estereoscopio para determinar el porcentaje de colonización en raíces.

IV. RESULTADOS.

4.1.- DATOS COMPLEMENTARIOS.

Como se puede observar en el cuadro 04.01.- la influencia de las *Micorrizas* sp en las variables días a la germinación, días a floración y ciclo de cultivo a la cosecha del maíz, en estado de choclo, no mostraron diferencias algunas.

Cuadro 04.01. "Efecto del bioestimulante Ecofungi a base de micorrizas sobre las variables complementarias del cultivo de maíz, Iniap 528".

Tratamientos	Días a germinación.	Días a fleración.	Ciclo de cultivo.
ISD1	4	53	72
ISD2	4	53	72
ISD3	4	53	72
IPD1	4	53	72
IPD2	4	53	72
IPD3	4	53	72
T	4	53	72

4.2.- VARIABLES ANALIZADAS ESTADISTICAMENTE.

ALTURAS DE PLANTAS A LOS 15 DÍAS.

Como se puede apreciar en el cuadro (04.02) no hubo diferencias estadísticas para las fuentes de variación de interés. El coeficiente de variación fue de 6.48% y el promedio de esta variable respuesta alcanzó 0.26 m.

ALTURA PLANTA A LOS 30 DÍAS.

El análisis de varianza de esta variabilidad biológica entre las plantas de maíz dio como resultado diferencias no significativas para las fuentes de variación en estudio; sin embargo el promedio general de esta variable dependiente fue de 1.15 m y el coeficiente de variación de apenas 1.90%. Cuadro (04.02)

ALTURA DE LA PLANTA A LOS 45 DÍAS.

El cuadro (04.02) muestra el resultado del análisis estadístico del desarrollo vegetativo de las plantas de maíz 45 días después de la siembra; se observa que todas las fuentes de variación tienen diferencias no significativas al nivel del 5% y 1% de probabilidades de error. El promedio de altura de planta a esta edad del cultivo fue de 1.89 m, correspondiéndole un coeficiente de variación de apenas 1.83%.

Cuadro (04.02). "Efecto del bioestimulante Ecofungi a base de micorrizas sobre el desarrollo vegetativo del cultivo de maíz, Iniap 528".

FUENTES DE VARIACION	Altura de plantas a los 15 días (m)	Altura de plantas a los 30 días (m)	Altura de plantas a los 45 días (m)
INOCULACIÓN DE MICORRIZAS SP.	NS	NS	NS
Inoculación a la semilla (IS)	0.26	1.16	1.89
Inoculación a la planta (IP)	0.26	1.15	1.88
DOSIS DE MICORRIZAS SP. (D)	NS	NS	NS
100g/ha Micorrizas sp. (D1)	0.26	1.17	1.88
200g/ha Micorrizas sp. (D2)	0.26	1.14	1.89
300g/ha Micorrizas sp. (D3)	0.27	1.16	1.89
INTERACCION A X B	NS	NS	NS
ISD1	0.26	1.16	1.89
ISD2	0.25	1.15	1.89
ISD3	0.27	1.17	1.88
IPD1	0.26	1.17	1.87
IPD2	0.27	1.13	1.89
IPD3	0.26	1.14	1.89
T	0.26	1.15	1.89
C.V	6.48 %	1.90 %	1.83 %
—			
X	0.26	1.15	1.89

ALTURA DE INSERCIÓN DE LA MAZORCA.

De acuerdo con los valores obtenidos para esta variable no se encontró diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variación fue de 12.74% y el promedio altura de inserción de mazorca alcanzó 1.24m. (Cuadro 04.03.)

DIAMETRO DE MAZORCA/PARCELA ÚTIL

Como se puede observar para esta variable no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre las fuentes de variación, por lo tanto los tratamientos son iguales entre sí, alcanzando un promedio general de 44.18 mm. Y el coeficiente de variación de 4,49 %. (Cuadro 04.03.)

LONGITUD DE LA MAZORCA.

El análisis estadístico de esta variable dio como resultado la no significativa entre los tratamientos estudiados. El promedio general de esta variable dependiente fue de 19.56 cm. y el coeficiente de variación es de 6.22 %. (Cuadro 04.03.)

Cuadro 04.03. "Efecto del bioestimulante Ecofungi a base de micorrizas sobre la productividad del cultivo de maíz, Iniap 528".

FUENTES DE VARIACION	Altura de inserción de la mazorca (mt)	Diámetro de mazorca/ parcela útil. (mm)	Longitud de mazorca (cm)
INOCULACIÓN DE MICORRIZAS SP.	NS	NS	NS
Inoculación a la semilla (IS)	1.25	43.82	19.96
Inoculación a la planta (IP)	1.25	44.96	19.52
DOSIS DE MICORRIZAS SP. (D)	NS	NS	NS
100g/ha Micorrizas sp. (D1)	1.30	43.76	18.82
200g/ha Micorrizas sp. (D2)	1.24	44.64	20.19
300g/ha Micorrizas sp. (D3)	1.17	44.78	20.22
INTERACCION A X B	NS	NS	NS
ISD1	1.28	43.26	19.17
ISD2	1.21	45.28	20.49
ISD3	1.25	42.92	20.22
IPD1	1.31	44.25	18.47
IPD2	1.26	43.99	19.88
IPD3	1.09	46.63	20.21
T	1.25	43.20	18.47
G.V	12,74%	4.49%	6.22 %
X	1.24	44.18	19.56

NÚMEROS DE CHOCLOS COMERCIALES/HA.

De acuerdo con los valores obtenidos para estas variables, no se encontró diferencias estadísticas significativas para las fuentes de variación de interés. El promedio general de esta variable dependiente fue 44189.71 choclos comerciales por hectárea. El coeficiente de variación es de 1.84 %. (Cuadro 04.04).

Finalmente en la interacción entre el tratamiento dosis Ecofungi (factor A) por forma de inoculación (factor B), el análisis estadístico dio como resultados diferencias significativas entre los tratamientos (cuadro 04.04) con tres rangos de igualdad estadística, el mejor promedio lo obtuvo la inoculación a la semilla con 100 g./ha (ISD1) con 45962.00 choclos /ha, siendo estadísticamente igual a los tratamientos inoculación a la semilla con 200 g./ha (ISD2), inoculación a la planta con 100 g./ha (IPD1), inoculación a la planta con 200 g./ha (IPD2), inoculación a la planta con 300 g./ha (IPD3) y diferente al resto de tratamientos. El promedio mas bajo lo obtuvo el testigo con 40865.00 choclos /ha.

DESARROLLO RADICULAR.

Como se puede observar en el Cuadro 04.04, no se encontró diferencia estadísticas para las fuentes de variación de interés. El coeficiente de variación es de 10.11% y el promedio de esta variable respuesta alcanzó 4.51 en escala de 1-5.

PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN.

De acuerdo con los valores obtenidos para esta variable, no se encontró diferencias estadísticas significativas para los tratamientos. Sin embargo se obtuvo un promedio general de porcentaje de colonización del 70.57 %. Y un coeficiente de variación de 20.55%. (Cuadro 04.04).

Si embargo al observar muestra de raíz a nivel de laboratorio, se encontró una tasa de infección de micorrizas muy alta en la planta hospedera sin someterla al colorante (Azul Tripán 0,05% en lactoglicerol). (Anexo 7).

Cuadro 04.04. "Efecto del bioestimulante Ecofungi a base de micorrizas sp Sobre la productividad del cultivo de maíz, Iniap 528".

FUENTES DE VARIACION	Número de choclo comerciales/ha.	Desarrollo radicular. (Escala 1-5)	Porcentaje de colonización
INOCULACIÓN DE MICORRIZAS SP.	NS	NS	NS
Inoculación a la semilla (IS)	44712.00	4.63	82.60
Inoculación a la planta (IP)	44775.67	4.51	82.04
DOSIS DE MICORRIZAS SP. (D)	NS	NS	NS
100g/ha Micorrizas sp. (D1)	45240.50	4.45	79.22
200g/ha Micorrizas sp. (D2)	44615.50	4.63	79.75
300g/ha Micorrizas sp. (D3)	44375.50	4.63	87.97
INTERACCION A X B	*	NS	NS
ISD1	45962.00 a	4.75	74.38
ISD2	44135.00 ab	4.63	85.00
ISD3	44039.00 b	4.51	88.44
IPD1	44519.00 ab	4.14	84.06
IPD2	45096.00 ab	4.63	74.58
IPD3	44712.00 ab	4.75	87.50
T	40865.00 c	4.19	00.00
C.V	1.84 %	10.11 %	20.55%
Tukey	1902.43		
X	44189.71	4.51	70.57

4.3. ANÁLISIS ECONOMICO.

El cuadro 04.05. muestra los datos del presupuesto parcial en la investigación cuyo resultados obtenidos determino que la mejor opción es el tratamiento inoculación a la semilla con la dosis 100 gr/ha (ISD1) el cual obtuvo el mayor beneficio neto.

Cuadro 04.05. Calculo del presupuesto parcial de las variantes en la investigación "Efecto del bioestimulante Ecofungi a base de micorrizas sobre la productividad del cultivo de maíz, Iniap 528, ESPAM 2008".

numero	tratamientos	Rendimiento promedio (Unid/ha)	Rendimiento ajustado (15%) (Unid/ha)	Beneficio bruto (Unid/ha)	Costo variables (Unid/ha)	Beneficio neto (Unid/ha)
1	ISD1	45962	39067.70	2344,06	14.40	2329.66
2	ISD2	44135	37514.75	2250,89	28.80	2222.09
3	ISD3	44039	37433.15	2245,99	43.20	2202.79
4	IPD1	44519	37841.15	2270,47	24.40	2246.07
5	IPD2	45096	38333.60	2299,90	38.80	2261.10
6	IPD3	44712	38005.20	2280,31	53.20	2227.11
7	T	40865	34735.25	2084,12	0.00	2084.12

Precio de campo 0.06 USD/Uni.

Los resultados obtenidos de acuerdo al análisis de dominancia del (cuadro 04.06) muestran como tratamientos no dominados, Testigo Absoluto (T), Inoculación a la semilla con 100 g. (ISD1).

Cuadro 04.06. Análisis de dominancia de los tratamientos estudiados en la investigación "Efecto del bioestimulante Ecofungi a base de micorrizas sobre la productividad del cultivo de maíz, Iniap 528".

numero	tratamientos	Costo variables totales (Unid/ha)	Beneficio neto (Unid/ha)
7	T	0.00	2084.12 *
1	ISD1	14.40	2329.66 *
2	ISD2	28.80	2202.79
3	ISD3	43.20	2202.79
4	IPD1	24.40	2246.07
5	IPD2	38.80	2261.10
6	IPD3	53.20	2227.11

De acuerdo a los tratamiento no dominados, el análisis marginal reportó que tratamiento, Inoculación a la semilla con la dosis 100 g/ha (ISD1) alcanzo 17.05 % de tasa de retorno marginal, lo que equivale a que por cada dólar invertido en la compra y aplicación de la micorrizas se tiene una rentabilidad de 17 centavo de dólar

Cuadro 04.07. Análisis marginal de los tratamiento no dominados en el estudio del "Efecto del bioestimulante ecofungi a base de micorrizas sobre la productividad del cultivo de maíz, Iniap 528, ESPAM 2008".

N.	tratamientos	Costo variables totales (Unid/ha)	IMCV (Unid/ha)	Beneficio neto (Unid/ha)	IMBN (Unid/ha)	TRM (%)
7	T	0.00		2084.12		
1	ISD1	14.40	14.40	2329.66	245.54	17.05

IMCV Incremento Marginal de Costo Variables.

IMBN Incremento Marginal de Beneficio Neto.

TRM Tasa de Retorno Marginal.

V. DISCUSIÓN.

Las variantes en estudio no ejercieron mayor influencia en el desarrollo vegetativo de las plantas, sobre todo en lo relacionado a la morfología aérea. Sin embargo a nivel de rizósfera se aprecia que la presencia de la micorriza incide sobre el desarrollo radicular de las planta, guardando una relación directamente proporcional entre la dosis del inoculo y crecimiento de las raíces, sin llegar a manifestar significación estadística.

La tasa de infección de micorrizas en las raíces de las plantas hospederas fué ligeramente mayor en aquellas plantas inoculadas directamente a la semillas con un porcentaje de colonización de 82.60 % frente al 82.04 % alcanzada por la inoculación a la planta. En todo caso estos valores superan a los encontrados por Montaña, N. *et al.* (2001), quien determinó el porcentaje de raíces colonizada por micorriza arbuscular, con 75% para el maíz y 71% para el trigo.

La inoculación con Micorrizas tuvo un efecto positivo sobre la productividad de choclo en el cultivo de maíz cuyo datos concuerda con Ferraris G. Couretot, L. (2006), quien manifiesta que la inoculación con micorrizas y el agregado de fertilizante químico, lograron incrementar significativamente los rendimiento de maíz en un 9%. Machado, A., Novella, R. (2001), quien manifiesta la eficiencia biológica rhizobium/ micorriza en policultivo fríjol – maíz.

De acuerdo con análisis económico, se menciona que la mejor tasa de retorno marginal a obtuvo el tratamiento, Inoculación a la semilla con la dosis 100 g./ha (ISD1) con 17.05 %. Por lo tanto se obtuvo un beneficio neto favorable debido a la variación de los costos.

Los resultados del análisis de laboratorio realizadas a las muestras de raíces del tratamiento testigo dio 0.0 % de colonización de micorrizas, lo cual demuestra que la infección a las otras variantes es producto de inculación practicadas.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

6.1 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en la presente investigación, permite establecer las siguiente conclusiones.

1. El tipo o forma de inocular las micorrizas es indistinto para la manifestación de los beneficios en el cultivo
2. Las características morfológicas de las plantas no fueron beneficiadas con la inoculación de las micorrizas a excepción del desarrollo radicular y el rendimiento en numero de choclo comerciales/ha.
3. El mayor porcentaje de colonización se obtuvo en plantas inoculadas con la dosis mayor (300 g/ha).
4. Las micorrizas lograron incrementar los rendimientos del cultivo de maíz, alcanzando mayor productividad en unidades experimentales que se sometieron al tratamiento ISD1 (100 gr. Inoculadas a la semillas), con un rendimiento de 45962 choclos comerciales / ha.
5. Al observar la muestra proveniente de la parcela testigo, se comprobó que el porcentaje de colonización fue de 0%, por lo que se concluye que no existe micorrizas nativas asociadas a la planta del maíz en el terreno donde se realizo el ensayo.
6. El tratamiento Inoculación a la semilla con la dosis 100 g/ha (ISD1) resulto como la mejor opción económica al brindar la mejor tasa de retorno marginal, con un 17.05%.

6.2 RECOMENDACIONES.

En base a las conclusiones se recomienda.

1. A la siembra del cultivo de maíz inocular a la semilla 100 gr. /ha de micorrizas como parte del plan de fertilización en condiciones similares a las de este ensayo experimental.
2. Ensayar la micorrización en suelo con diferentes niveles de fertilidad natural y/o planes de fertilización para apreciar en mayor medida los aportes de las micorrizas en el cultivo.
3. Realizar estudios que permita conocer métodos de multiplicación de micorrizas en diferentes ambientes.
4. Evaluar la influencia de las micorrizas sobre el desarrollo vegetativo y productivo de otras especies de ciclo corto cultivados
5. Realizar este tipo de investigación en otras clases de cultivos.

VII. BIBLIOGRAFÍA.

- Acedo, C. (2004-2007). Botánica en la Web.
<http://www3.urileon.es/personal/wwdbvcac/index.htm>.
- Agri-biotech. (2005). Beneficios por aplicación de micorrizas.
<http://www.ithec.fr/es/articles/article>.
- Agripac, S.A. (2006). Vademécum agrícola: Diccionario de semilla. Novena Edición P, 1109.
- Aguilar, S. (1988). Caracterización de la Micorriza Vesículo-Arbuscular en Limón *Citrus aurartifolia* Swin, Asociados con Palma de coco *Cocos nucifera* L. en Cinco Agroecosistemas en el Estado de Colima. Tesis Maestro en Ciencias. Estado de Colima México. Universidad de Colima, División de Estudios de Postgrado.
- Alarcón A. y Cerratin F. (2000). Ecología y fisiología micorriza arbuscular
<http://decompras.agroterra.com/scripts/prodView.asp?idproduct=45>.
- Alvarado A., Cavaría M., Guerrero R., Boniche J., Navarro J. (2004). Características edáficas y presencia de micorrizas en plantaciones de teca (*Tectona grandis* L.f.) en Costa Rica. Publication: Agronomía Costarricense. Universidad de Costa Rica.
http://www.accessmylibrary.com/coms2/summary_0286-5063247_ITM.
- Antón, R. (2006). Biotechnologías limpias en agricultura. Centro de Ciencias Medioambientales. CSIC. P, 16-17.
- Biblioteca digital de universidad de Chile. (2007). Aplicaciones prácticas de las MVA.
http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas.

- Biosertech S.A. (2007). Catálogo de Producto. Mundo Verde: Soluciones Orgánica. Portoviejo, Ecuador. P, 5, 6, 9, 10, 13, 14, 17, 18.
- Campos L., Baca G., Jaén D., Muratalla A., Acosta R. (2007). Fertirriego y micorriza En frambuesa roja cultivada en tepetate. Programa en Fruticultura. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad. Programa en Edafología. Programa en Hidrociencias. Instituto de Recursos Naturales. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México.
- CIMMY T. (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo). (1988). Formulación de recomendaciones a partir de datos agronómico. Un manual metodológico de evaluación económica. México D.F. México. P, 79.
- Cuesta J. (2007). Guía Micológica Ecología y hábitat de los hongos. http://www.amanitacesarea.com/guia_ecologia3.
- Cuevas F., Medina N., día G., Morejón R. (2000). Efecto de la biofertilización con Hongos micorrizogenos (ma) en e cultivo del tomate. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana , Cuba. <http://www.ciget.pinar.cu/No.%202000-4/tomate>.
- Curtism H. y Barnes, N. (2003), Micorrizas, De Wikipedia, la enciclopedia libre. <http://es.wikipedia.org/wiki/Micorriza>.
- Diccionarios_digitales, (2007). Botánica-9, MICORRIZAS <http://www.diccionariosdigitales.net/>. <http://www.fundaciondoctordepando.com/>.
- Farfán, G. Reyes, C. (2003). Aislamiento, Colonización Artesana l e identificación de Micorrizas Nativa Asociadas a la Rizosfera de las Planta de Café (*Coffea arabica* L.) en dos localidades de la Provincia de Manabí. Tesis de Grado. Manabí Ecuador. UTM. P, 8.

- Fernández F. (2003). El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible: capítulo 1. La simbiosis micorrízica arbuscular. Edición inca, Caribe México. P, 186.
- Ferraris G., Couretot L. (2006). Evaluación de la Inoculación con Micorrizas en Maíz Bajo diferentes Ambientes de Fertilidad. Área de Desarrollo Rural INTA EEA Pergamino: Proyecto Regional Agrícola, CERBAN. <http://www.elsitioagricola.com/articulos/ferraris/Evaluacion%20de%20la%20Inoculacion%20con%20Micorrizas>.
- Ferrer R., Furrázola E., Herrera R., García M. (1992). Influencia de varias cepas de hongos MVA solas o combinadas sobre el crecimiento de tres variedades de tomate. VIII Seminario Científico del INCA Y I Taller de Biofertilizantes en los Trópicos. La Habana. Pg 48.
- Fundación Eroski. (2007). Medio ambiente - energía y ciencia. http://www.consumer.es/accesible/es/medio_ambiente/energia.
- Hernández A. (1999). Morfología y desarrollo de la simbiosis MA. Centro de Estudio Ecológico Argentino. www.cdeea.com/micorrizas.
- IDEMA. (2007). Red de acción en alternativas al uso de agroquímico, Biofertilización. Instituto de Defensa del Medio Ambiente.
- Guerrero, E. (1996). Micorrizas recurso biológico del suelo. Capítulo 1. Fundamento biológicos y estado del arte. Edición FONDO FEN, Bogota, Colombia. P, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 18, 22, 23, 24.
- Guerrero, E., Rivillas C., Rivera E. (1996). Micorrizas recurso biológico de l suelo. Capítulo 7. Perspectivas de manejo de la micorriza arbuscular en ecosistema tropicales. Editorial FONDO FEN, Bogota, Colombia. P, 186.

- Guzmán S. (1991). Influencia del fósforo sobre la colonización y producción de Esporas de hongos micorrízicos vesículo-arbusculares en tres hospederos a diferentes tiempos de desarrollo. Tesis de Maestría en biología de la producción Universidad de Colima. Facultad de Ciencias Biológicas Agropecuarias.
- Lampkin N, (2001). Agricultura ecológica. Editorial Mundi-prensa. Madrid, Barcelona México. P, 75, 76.
- López C. y Barceló A. (2007). Sobre micorrizas.
<http://www.encuentros.uma.es/encuentros55/micorrizas.html>.
- Luna L. (2006). Micorrizas arbusculares en la agricultura ecológica. Hoja Divulgativa. CORPOICA, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. SAP, Secretaria de Agricultura y Pesca. Palmira.
- Machado A., Novella R. (2001). Evaluación del efecto de algunos biofertilizantes en cultivos asociados. Universidad de Granma.
- Marx, D. (2007). Micorrizas y Rhizobacterias: Su Potencial en los Programas de Reforestación.
- Melgares J., González M., Gutiérrez A., Honrubia M., Morte A. (2004). Efectos del hongo endomicorrízico *Glomus intraradices* en el cultivo ecológico de lechuga tipo Iceberg. VI Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica. Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo 30100 Espinardo, Murcia - España.
- Montaño N., Quiroz V., Flores G. (2001). Colonización micorrizica arbuscular y fertilización mineral de genotipos de maíz y trigo cultivados en un andisol. P, 337 - 344.

- Molina M., Mahecha L., Medina M. (2005). Importancia del manejo de hongos Micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles: Revista Colombiana de Ciencia Pecuaria. Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Agrarias.
- Núñez M. (2000). Manual de técnicas agroecológicas. Primera Edición. México P, 96.
- Orozco C. (1996). Micorrizas recurso biológico del suelo. Capítulo 4. Ectomicorriza en plantaciones forestales. Edición, FONDO FEN, Bogota, Colombia. P, 116,117.
- Pardo L. (2005). Enciclopedia temática ilustrada: la aventura del conocimiento. Editorial Norma S.A., Bogota Colombia. P, 845.
- Páez O. (2006). Las Micorrizas: Alternativa Ecológica para una Agricultura Sostenible. <http://www.soil-fertility.com/micorhize/espagnol/index>.
- Paliwal R. (2007). Origen, evolución y difusión del maíz. FAO. <http://www.fao.org>.
- Regés R. (1999). Micorrizas y el bonsái. Centro de estudio ecológico Argentino. www.cdeea.com/micorrizas.
- Rosero J. (2007). Los efectos simbióticos Micorrizas – Plantas. Mundo Verde: soluciones natural.
- SICA. (2007). Evaluación del acuerdo de complementación Chileno Ecuatoriano. http://www.sica.gov.ec/comext/docs/14acuerdos_comerciales/144acuerdo_ece1.
- Sunseed Tecnología del Desierto. (2004). inóculos de micorrizas para la plantación de árboles en zonas áridas. <http://www.sunseed.org.uk>.
- Wikipedia, la enciclopedia libre. (2007). Fungí. <http://es.wikipedia.org/wiki/Fungil>

ANEXOS

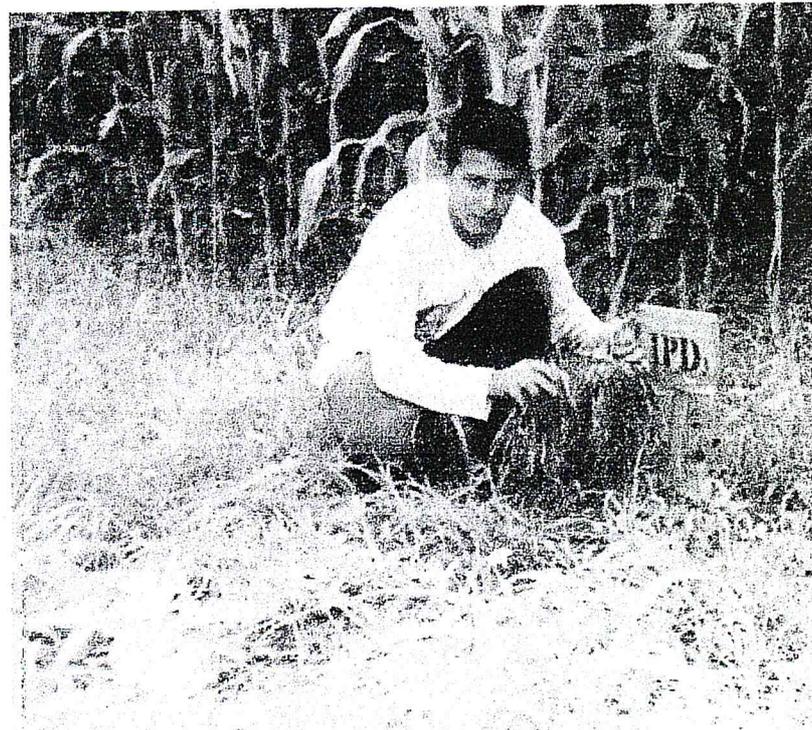
**ANEXO 1.- COSTO DE PRODUCCION POR HECTÁREA DEL TRATAMIENTO
RECOMENDADO INOCULACION DE ECOFUNGI (MICORRIZA) A
LA SEMILLA 100 g/ha.**

RUBROS	UNIDAD	CANTIDAD	COSTO UNITARIOS	COSTO TOTAL USDS
COSTO DIRECTO				
PREPACION DE SUELO				
Arada	ha	1	30.00	30.00
Rastrada	ha	1	30.00	30.00
Sub -Total				60.00
INSUMOS				
Semillas	Kg	15	2.00	30.00
Ecofungi	g	100	0.12	12.00
Fossil Shell Agro	Kg	1	0.03	3.00
zumsil	ml	100	0.03	3.00
Fertilizante 15-15-15	Kg	50	0.72	36.00
NEEM	Kg	1	4.00	4.00
Nitrato de amonio	Kg	150	0.72	108.00
Ecoflora	g	500	0.10	50.00
sub -Total				246.00
MANO DE OBRA				
Siembra	Jornal	4	7.00	28.00
Control de maleza	Jornal	16	7.00	112.00
Fertilización	Jornal	8	7.00	56.00
Fumigación	Jornal	2	7.00	14.00
Sub -Total				210.00
TOTAL DE C. INDIRECTO				516.00
COSTO INDIRECTO				
10% de impreviso				51.40
10% administrativo				51.40
TOTAL DE C. INDIRECTO				102.80
T. SUMATORIA DE COSTOS				618.00
Producción (nº choclos comerciales/ha)				39068
Costo/Almu (150 choclos)				7.55
Ingresos				1953.40
Utilidad				1335.40

ANEXO 2.- Panorámica del ensayo "Efecto del bioestimulante Ecofungi a Base de Micorrizas sobre la productividad del cultivo de maiz, Iniap 528, ESPAM 2008".

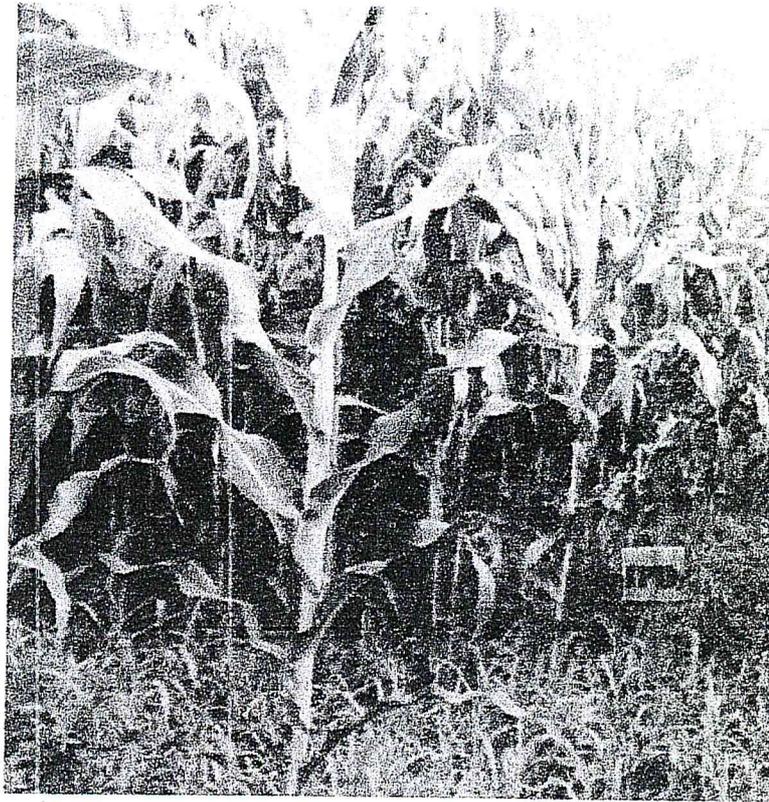


ANEXO 3.- Plantas de maíz micorrizadas.

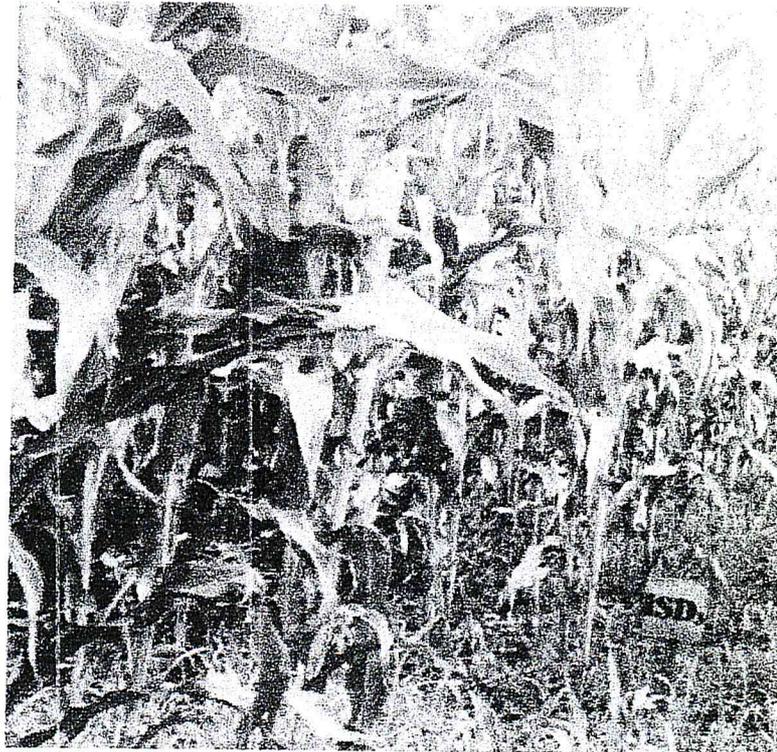


ANEXO 4.- Plantas de maíz con micorrizas y sin micorrizas.**ANEXO 5.- Parcela de maíz testigo.**

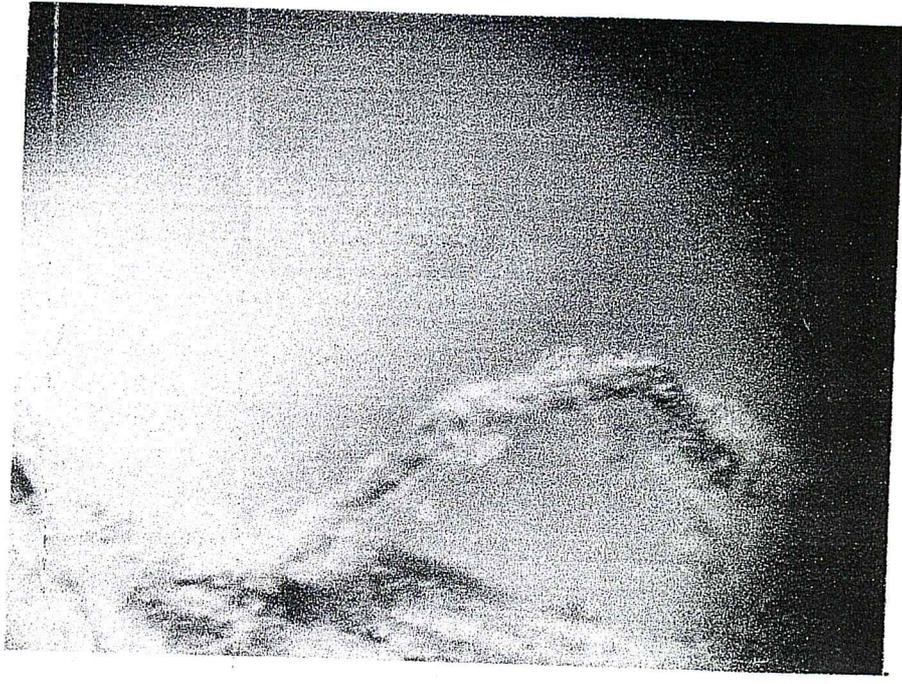
ANEXO 6.- Parcela de maíz inoculada a la semilla



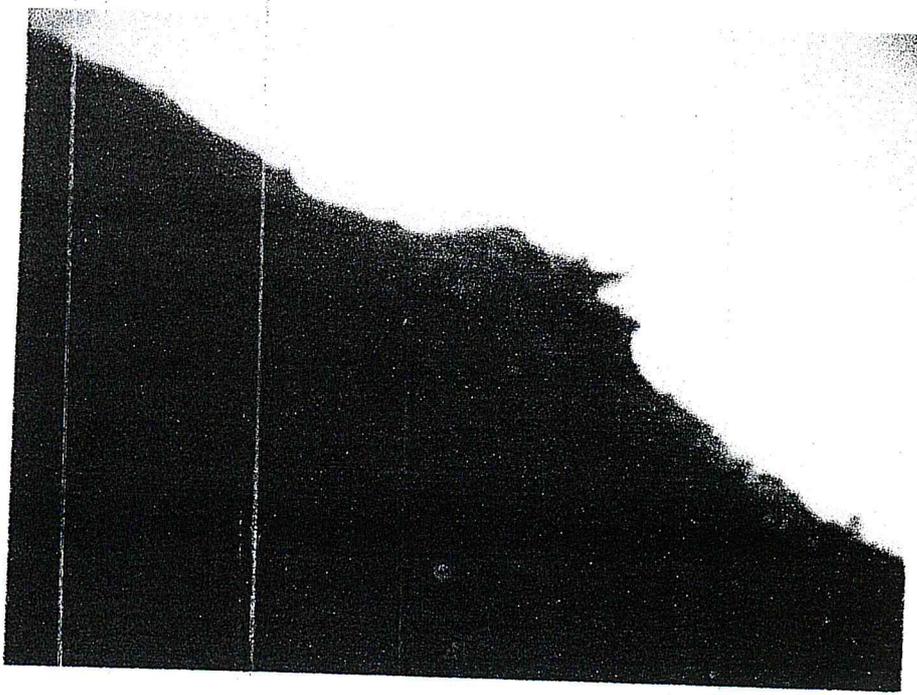
ANEXO 7.- Parcela de maíz inoculada a la planta.



ANEXO 8.- Colonización de micorrizas en raíz de maíz.



ANEXO 9.- Muestras de raíces micorrizadas sobre una placa Petri bajo la lupa.



ANEXO 10.- Raíz de maíz con micorrizas tiñada con el colorante (Azul Tripan 0,05% en lactoglicerol).

