



ESPE
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
CAMINO A LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA**

EVALUACIÓN DEL DESARROLLO DE PLANTAS DE AVENA (*Avena sativa*) Y DE LA MICROBIOTA DEL SUELO TRATADO CON HONGOS MICORRÍDICOS Y AJO (*Allium sativum*), EN LOS PRIMEROS MESES DE CULTIVO.

AUTOR: NATHALY KATHERINE HERNÁNDEZ ENDARA

DIRECTORA: Dra. María Emilia Medina

**SANGOLQUÍ
Enero, 2017**



INTRODUCCIÓN

Problema



Justificación



Objetivos



Marco teórico



PROBLEMA



Agricultura → revolucionando → Fertilizantes, abonos y productos químicos



Uso excesivo: consecuencias negativas a nivel ambiental



Actualidad: alternativas ecológicas



«Enemigos naturales de las plagas» o Biofertilizantes

PROBLEMA

BIOFERTILIZANTES

Producción a bajo costo

Protección del medio ambiente

Conservación de la biodiversidad y fertilidad del suelo

Mejora de la resistencia y nutrición de la planta



Acción
fertilizante

Relación simbiótica

Hongos
micorrícicos

Investigaciones
limitadas

Elaboración del
inóculo

Necesidad de
determinar compuestos
que mejoren la
colonización





JUSTIFICACIÓN



Interés → HMA

- Interacción con las raíces de las plantas



Obtención de nutrientes del suelo

- Prolongación de hifas radicales



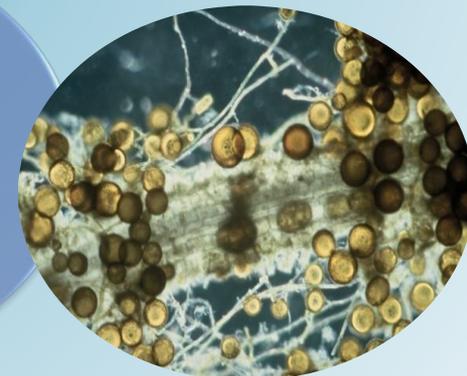
Resistencia a patógenos

- Mayor producción

Grado de dependencia

Propiedades del suelo

Especificidad



JUSTIFICACIÓN

¿POR QUÉ SE EMPLEA AJO?

Acción
fertilizante
natural,
insecticida y no
tóxico para el
medio
ambiente.



Compuestos
azufrados:
desarrollo de los
hongos
micorrícicos.



Ajo



OBJETIVOS



Objetivo general

Evaluar el desarrollo de plantas de avena (*Avena sativa*) y de la microbiota del suelo tratado con hongos micorrícicos y ajo (*Allium sativum*), en los primeros meses de cultivo.

OBJETIVOS

Objetivos específicos

Analizar la población de esporas de micorrizas en diferentes suelos.

Montar un ensayo de propagación de esporas de hongos micorrícicos (HMA) en plantas huésped de avena.

Obtener un extracto hidroalcohólico de bulbos de ajo (*Allium sativum*)

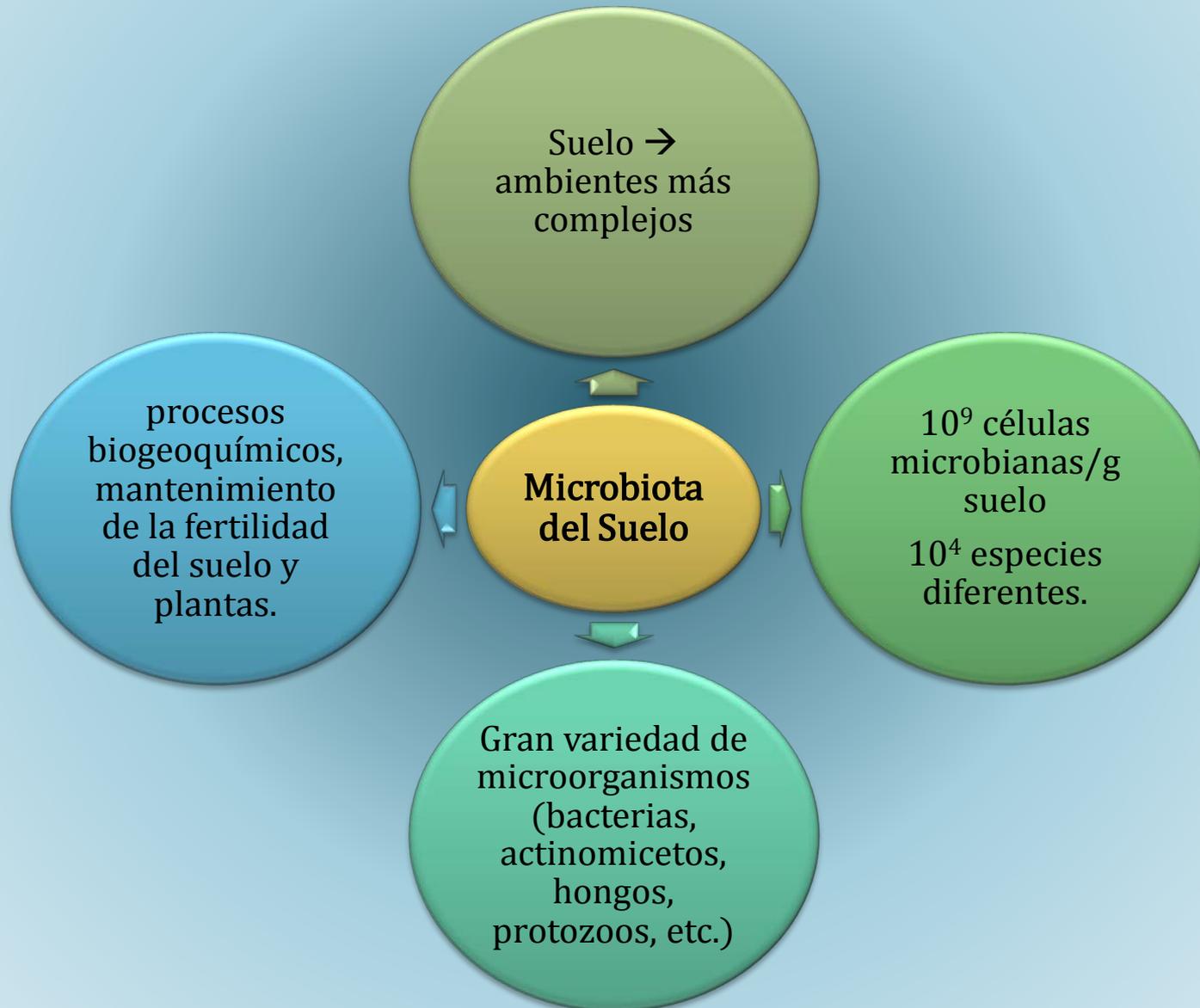
Evaluar las variables de crecimiento de las plantas y establecer diferencias entre los tratamientos

Cuantificar el número total de esporas de hongos micorrícicos y el porcentaje de micorrización.

Determinar las poblaciones de bacterias y hongos, existentes en cada uno de los tratamientos.



MARCO TEÓRICO



MARCO TEÓRICO

BACTERIAS DEL SUELO

Se distribuyen extensamente

- Agregados del suelo, raíces, exudados y concentración de nutrientes.

Principales → Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal

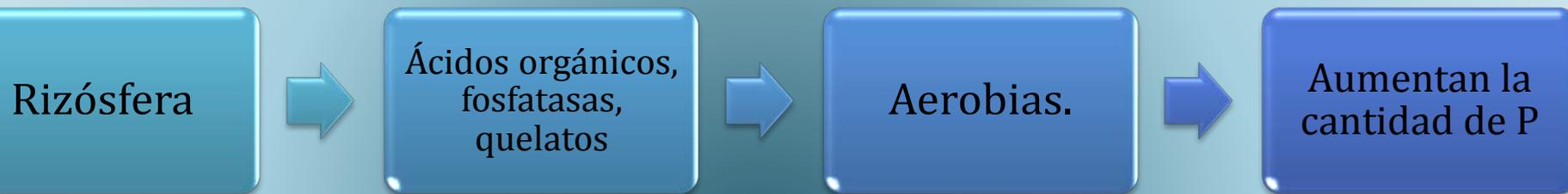
- *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR)



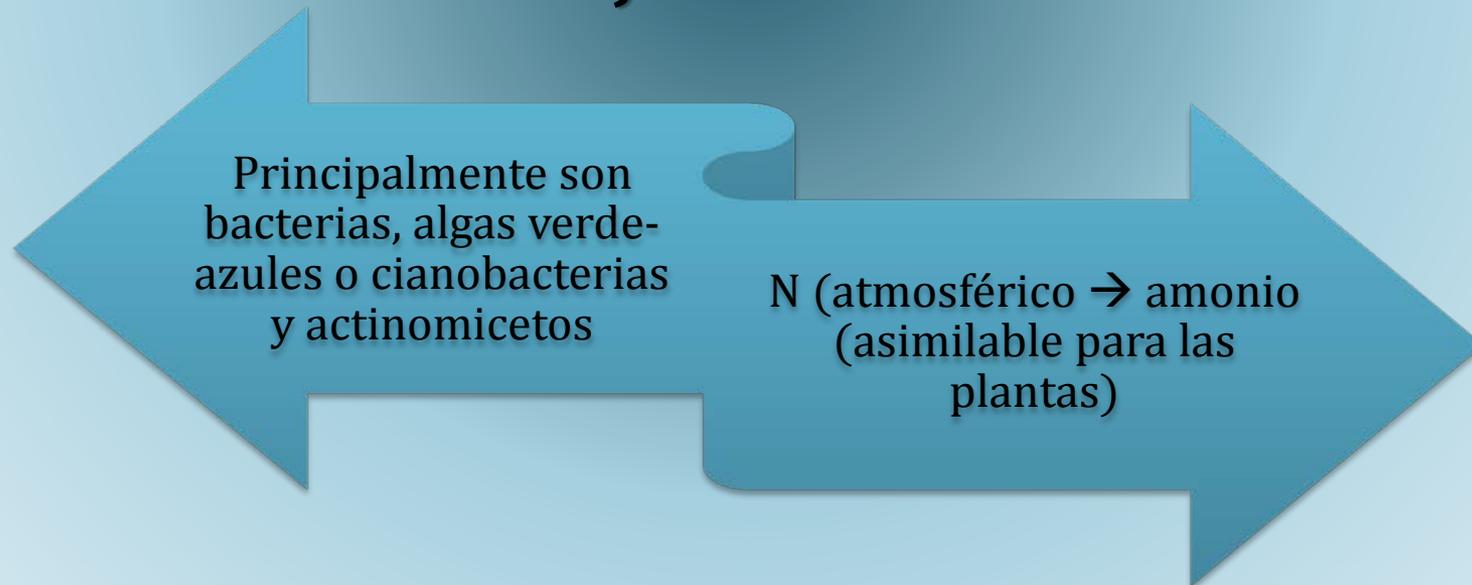


MARCO TEÓRICO

BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO



MICROORGANISMOS FIJADORES DE NITRÓGENO





MARCO TEÓRICO

HONGOS DEL SUELO

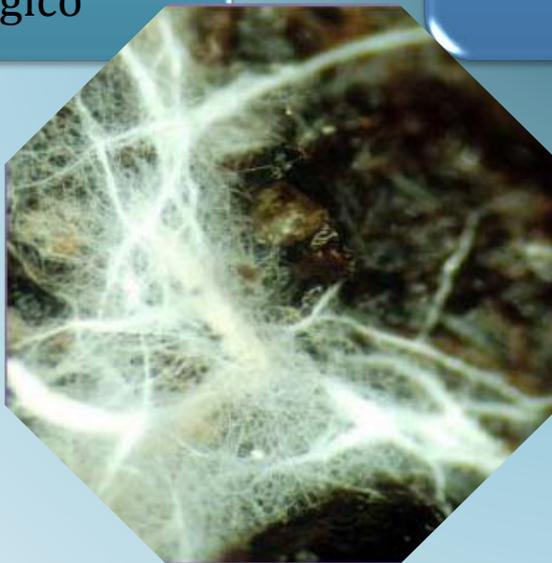
Funciones:
Mineralización y
reciclaje de
nutrientes,
Descomposición de
compuestos
Agentes de control
biológico



Gran variedad
taxonómica
(géneros y
especies)



Eucarióticos
Heterótrofos



MARCO TEÓRICO

HONGOS MICORRÍDICOS



1885 Albert Bernhard Frank

- voz griega '*miko*': hongo y '*rhiza*': raíz

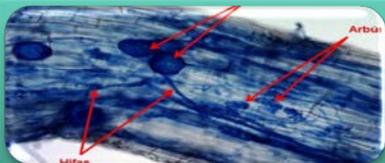


Alta ubicuidad → Ecosistemas acuáticos y terrestres
Plantas terrestres → relación simbiótica con hongos micorrízicos → 96% Versículo-Arbuscular



HMA

- Phylo: Zigomicetes
- Orden: Glomales



Forman vesículas y arbusculos

- micelio micorrízico → proteína Glomalina

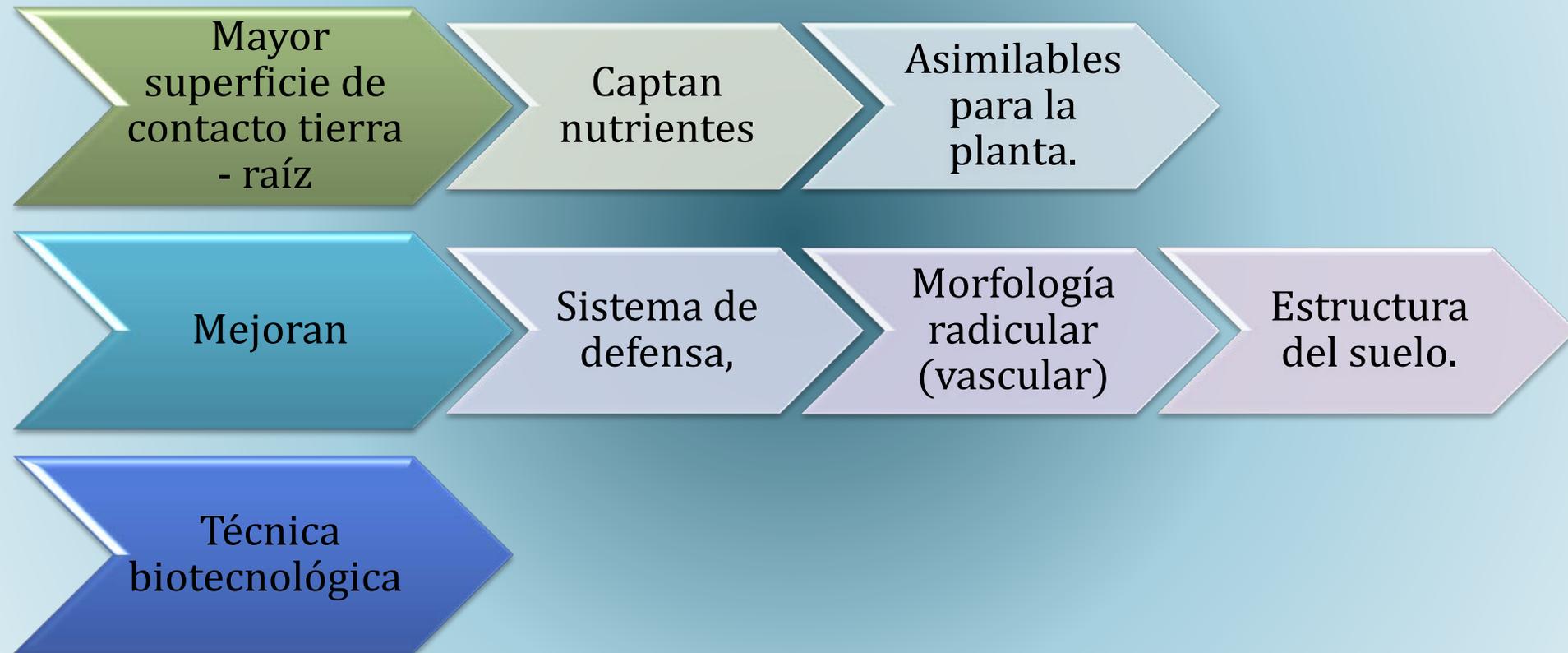


Biofertilizantes, bioprotectores y biorreguladores



MARCO TEÓRICO

BENEFICIOS DE LOS HMA



MARCO TEÓRICO

AJO (*Allium sativum*)



Insecticida natural

- plagas vegetales: ácaros, babosas, áfidos, pulgones,

Mecanismo de acción: causa trastornos digestivos

No genera resistencia

Ingredientes activos: Alicina y compuestos azufrados



MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental



Metodología





EVALUACIÓN DEL DESARROLLO DE PLANTAS DE AVENA (*Avena sativa*) Y DE LA MICROBIOTA DEL SUELO TRATADO CON HONGOS MICORRÍCICOS Y AJO (*Allium sativum*), EN LOS PRIMEROS MESES DE CULTIVO.

DISEÑO EXPERIMENTAL

COMPOSICIÓN	CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO DE AJO (%)		
	0	0.1	0.5
Sustrato (Inóculo micorrícico + Tierra negra estéril + Turba)	T1	T2	T3
Sustrato (Inóculo micorrícico + Tierra negra estéril + Turba) + Semillas de Avena	T4	T5	T6
Sustrato (Inóculo micorrícico estéril + Tierra negra estéril + Turba) + Semillas de Avena	T7	T8	T9
Sustrato (Inóculo micorrícico estéril + Tierra negra estéril + Turba)	T10	T11	T12



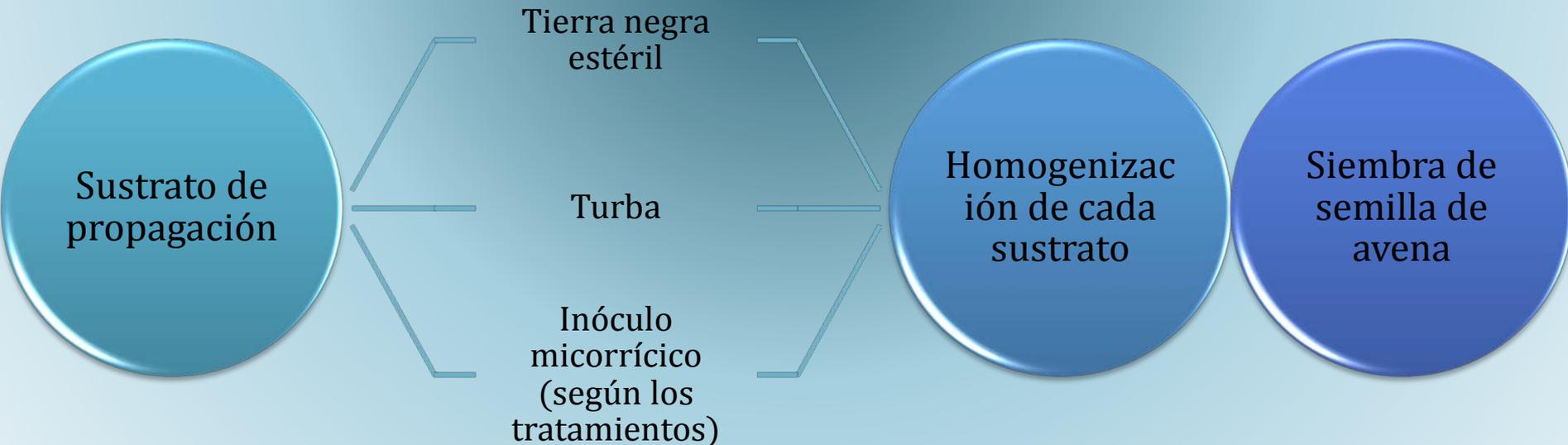
METODOLOGÍA

Elección del inóculo micorrícico



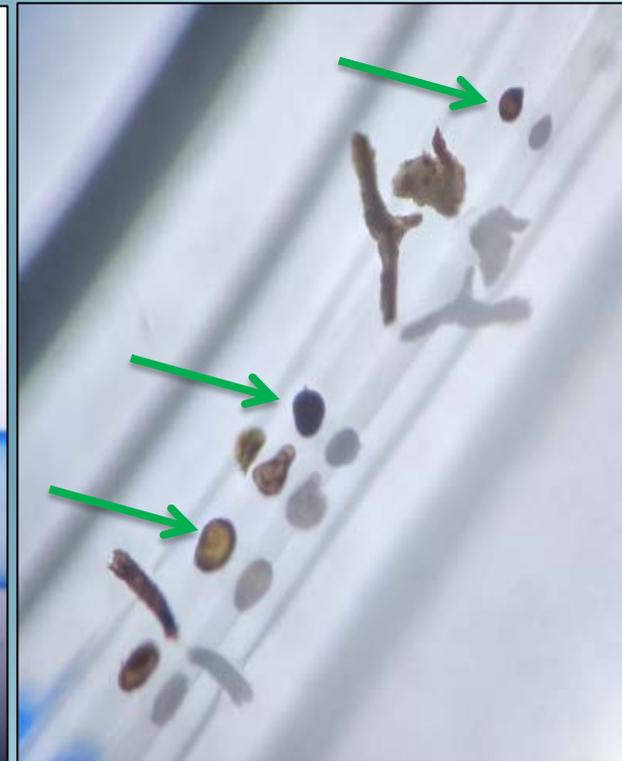
Tratamiento inicial

- Técnica de tamizado y decantación en húmedo con centrifugación



EVALUACIÓN DEL DESARROLLO DE PLANTAS DE AVENA (*Avena sativa*) Y DE LA MICROBIOTA DEL SUELO TRATADO CON HONGOS MICORRÍCICOS Y AJO (*Allium sativum*), EN LOS PRIMEROS MESES DE CULTIVO.

METODOLOGÍA



METODOLOGÍA

MANTENIMIENTO Y CONTROL DEL ENSAYO

90 días

Primer mes

Solución nutritiva formulada por E. J. Hewitt

Tiempo restante

agua destilada





METODOLOGÍA

EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL AJO



EVALUACIÓN DEL DESARROLLO DE PLANTAS DE AVENA (*Avena sativa*) Y DE LA MICROBIOTA DEL SUELO TRATADO CON HONGOS MICORRÍDICOS Y AJO (*Allium sativum*), EN LOS PRIMEROS MESES DE CULTIVO.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

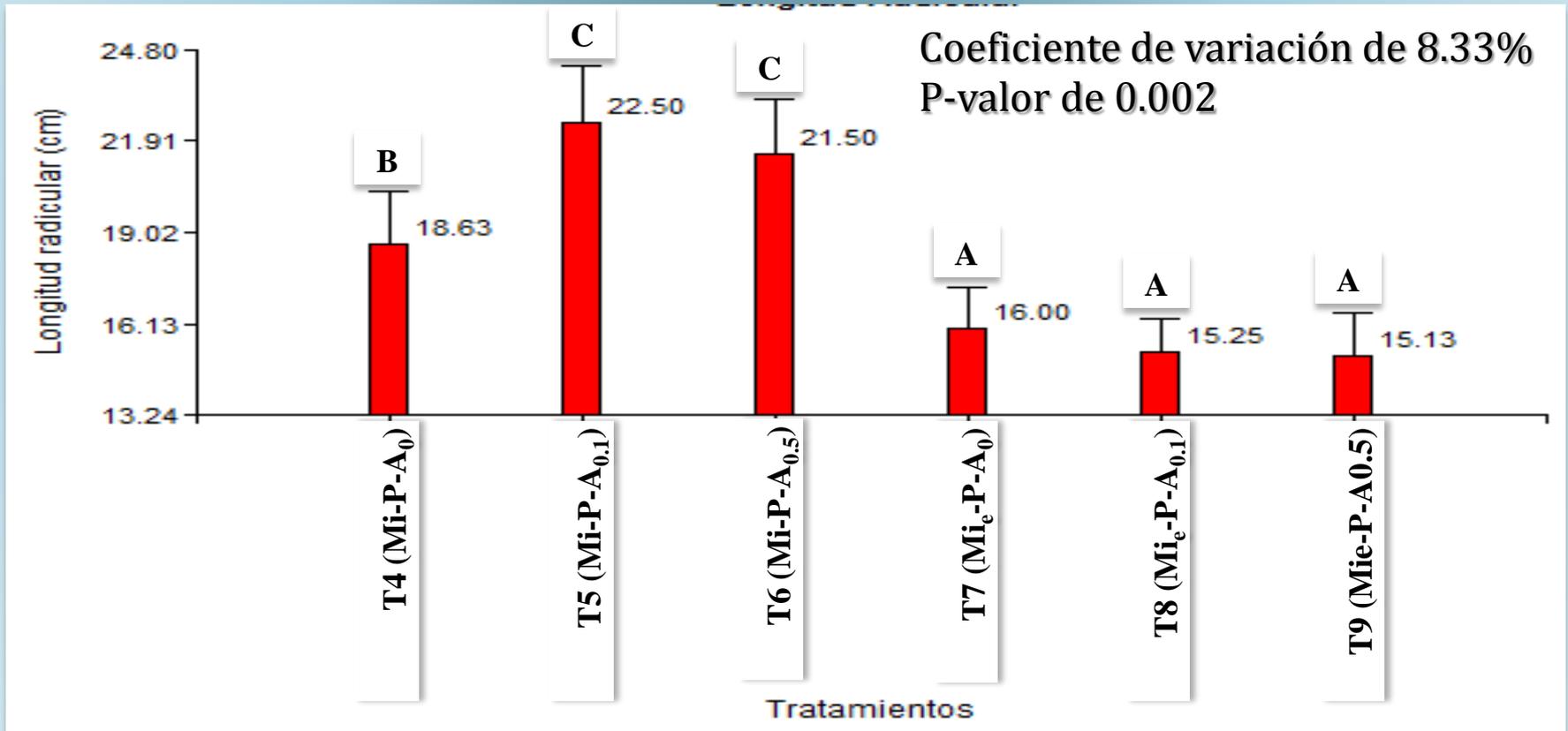
EVALUACIÓN DEL DESARROLLO DE PLANTAS DE AVENA (*Avena sativa*) Y DE LA MICROBIOTA DEL SUELO TRATADO CON HONGOS MICORRÍCICOS Y AJO (*Allium sativum*), EN LOS PRIMEROS MESES DE CULTIVO.

ELECCIÓN DEL INÓCULO MICORRÍCICO

# Muestreo	Sector	Cultivo	# esporas / 100 g suelo	# esporas / g suelo
1	Santa Teresa	Maíz	460	4.6
		Maíz	390	3.9
		Papa	950	9.5
		Cebolla	1220	12.2
2	Cotogchoa	Cebolla	1260	12.6
		Apio	1180	11.8
		Papa	1350	13.5
3	IASA (Hacienda El Prado)	Papa	1510	15.1
		Quinua	1100	11
4	Ecuaquímica	Papa	1090	10.9
		Papa	1170	11.7

RESULTADOS Y DISCUSIONES

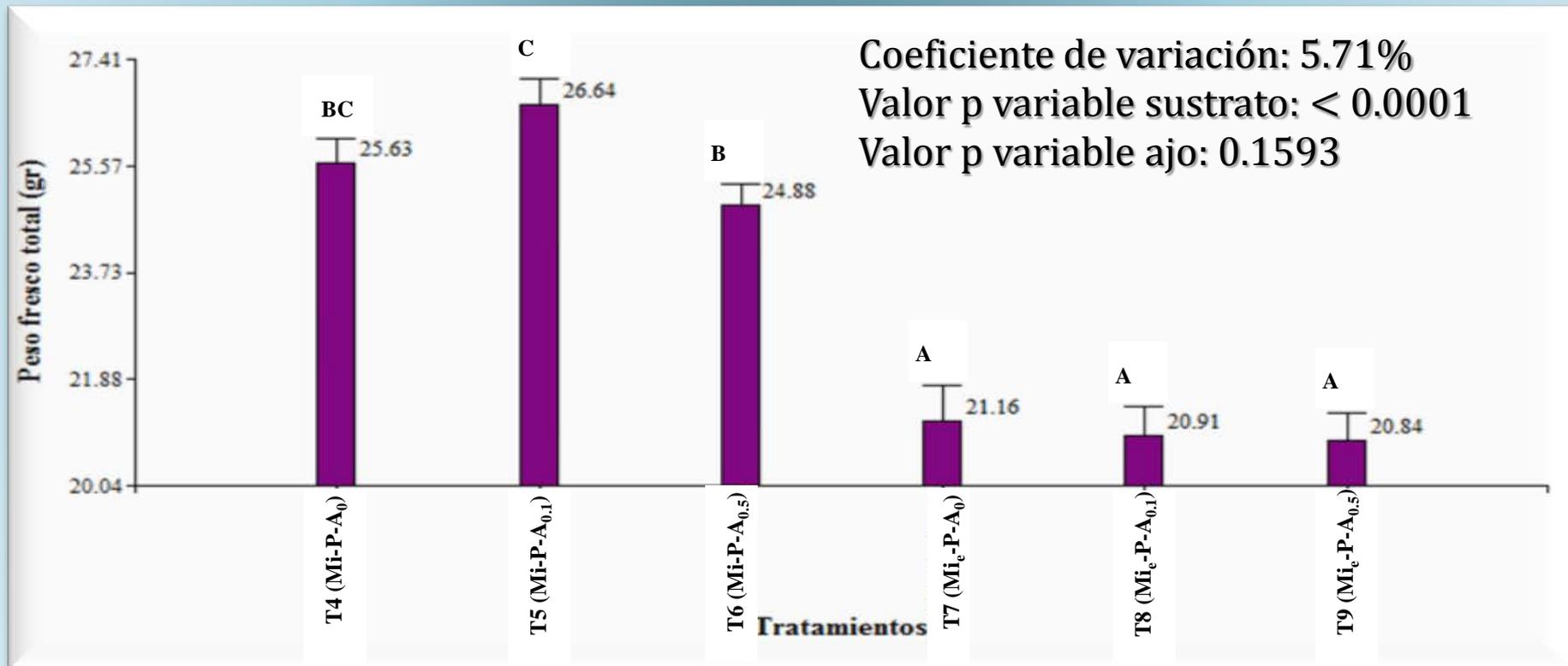
LONGITUD RADICULAR DE LAS PLANTAS



*Efecto de la interacción de los hongos micorrícicos y el extracto de ajo, en diferentes concentraciones, para evaluar el desarrollo de la longitud radicular de plantas de avena (*Avena sativa*).*

RESULTADOS Y DISCUSIONES

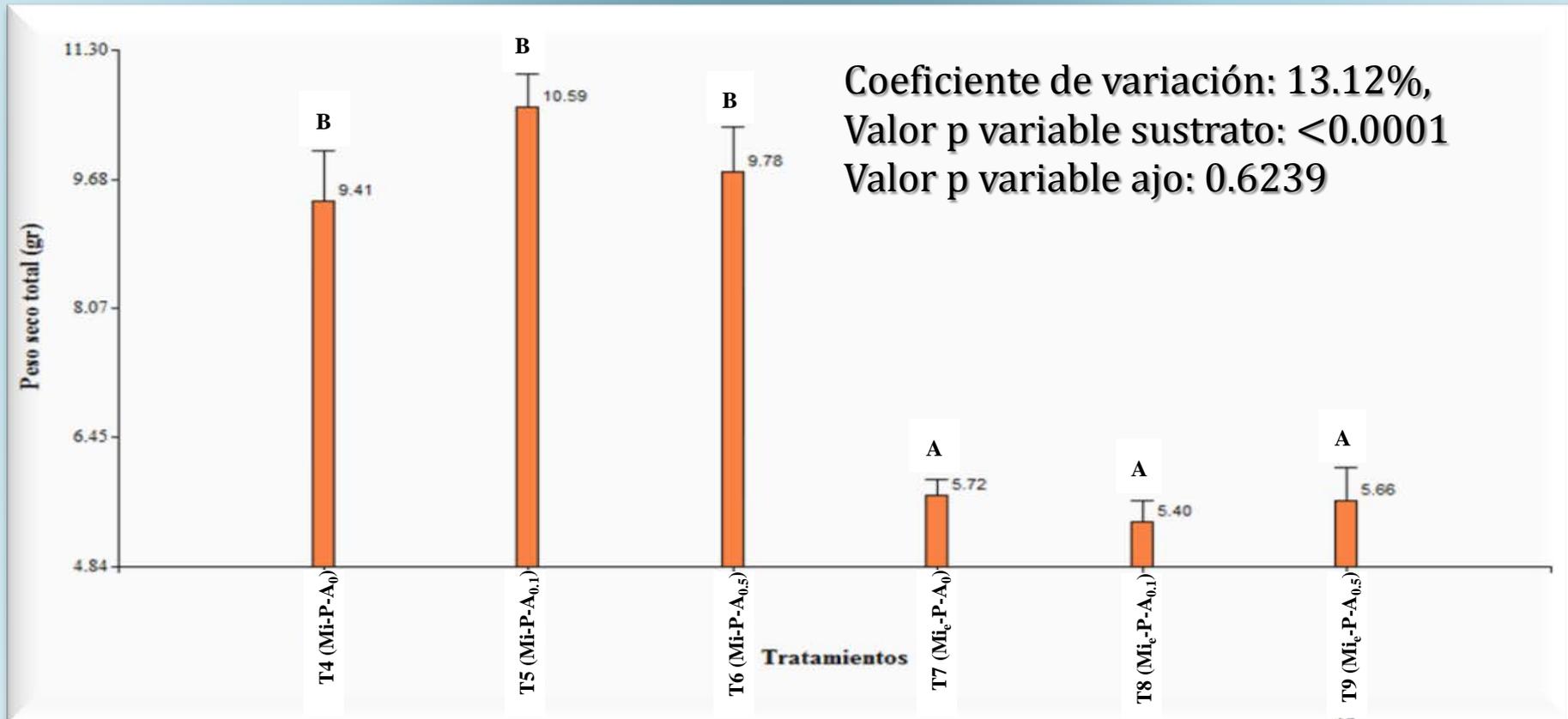
PESO FRESCO TOTAL DE LAS PLANTAS



*Efecto de la interacción de los hongos micorrícicos y el extracto de ajo, en diferentes concentraciones, para evaluar el desarrollo del peso fresco total de plantas de avena (*Avena sativa*).*

RESULTADOS Y DISCUSIONES

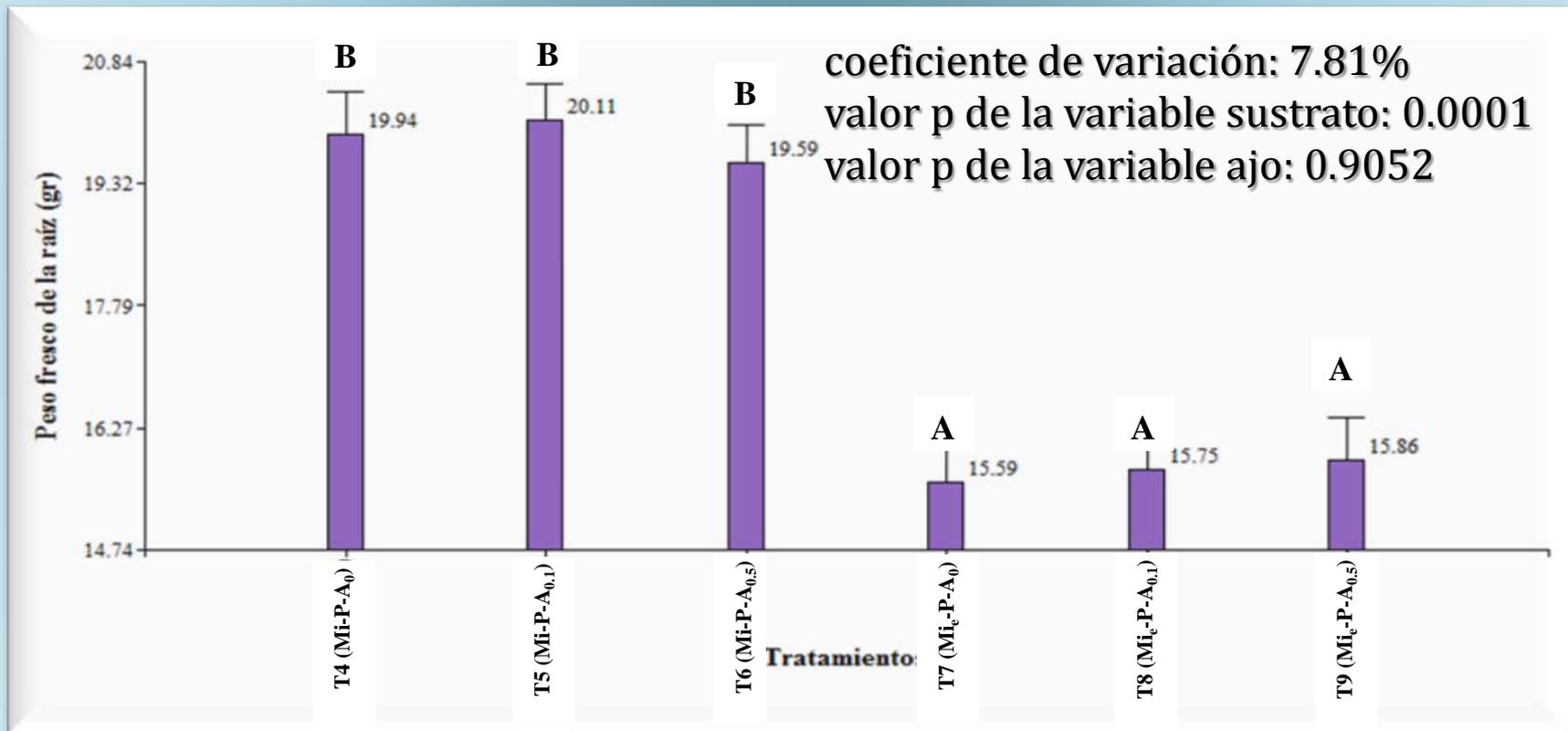
PESO SECO TOTAL DE LAS PLANTAS



*Efecto de la interacción de los hongos micorrícicos y el extracto de ajo, en diferentes concentraciones, para evaluar el desarrollo del peso seco total de plantas de avena (*Avena sativa*).*

RESULTADOS Y DISCUSIONES

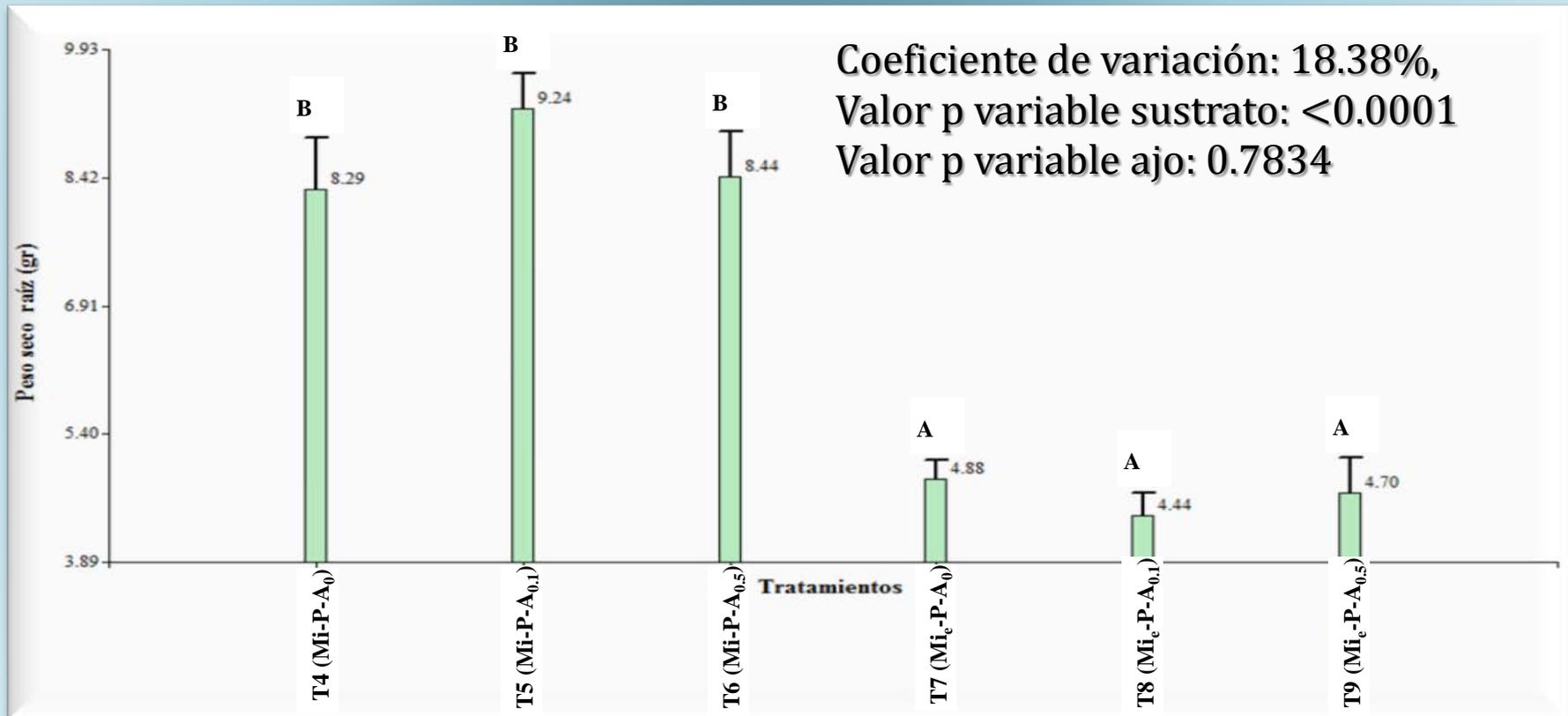
PESO FRESCO RADICULAR DE LAS PLANTAS



*Efecto de la interacción de los hongos micorrícicos y el extracto de ajo, en diferentes concentraciones, para evaluar el desarrollo del peso fresco radicular de plantas de avena (*Avena sativa*).*

RESULTADOS Y DISCUSIONES

PESO SECO RADICULAR DE LAS PLANTAS



*Efecto de la interacción de los hongos micorrícicos y el extracto de ajo, en diferentes concentraciones, para evaluar el desarrollo del peso seco radicular de plantas de avena (*Avena sativa*).*



EVALUACIÓN DEL DESARROLLO DE PLANTAS DE AVENA (*Avena sativa*) Y DE LA MICROBIOTA DEL SUELO TRATADO CON HONGOS MICORRÍCICOS Y AJO (*Allium sativum*), EN LOS PRIMEROS MESES DE CULTIVO.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

IMÁGENES DEL LEVANTAMIENTO DEL ENSAYO DE LOS TRATAMIENTOS CON PLANTAS

TRATAMIENTO 4



TRATAMIENTO 5



TRATAMIENTO 6



TRATAMIENTO 7



TRATAMIENTO 8



TRATAMIENTO 9



EVALUACIÓN DEL DESARROLLO DE PLANTAS DE AVENA (*Avena sativa*) Y DE LA MICROBIOTA DEL SUELO TRATADO CON HONGOS MICORRÍCICOS Y AJO (*Allium sativum*), EN LOS PRIMEROS MESES DE CULTIVO.



a) y b) Tratamiento 5 (MiSueTu –P – A0.1), sustrato con micorrizas y 0.1% del extracto de ajo.
c) y d) Tratamiento 8 (MieSueTu – P – A0.1), sustrato sin micorrizas y 0.1% del extracto de ajo.
Figura 2.5: Comparación del crecimiento de las plantas de avena (*Avena sativa*).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

VARIABLES DE CRECIMIENTO

Han, *et al.*, (2013)

- Compuestos activos del ajo (bajas concentraciones) → efecto alelopático positivo para el crecimiento vegetal

Espín, *et al.*, (2010)

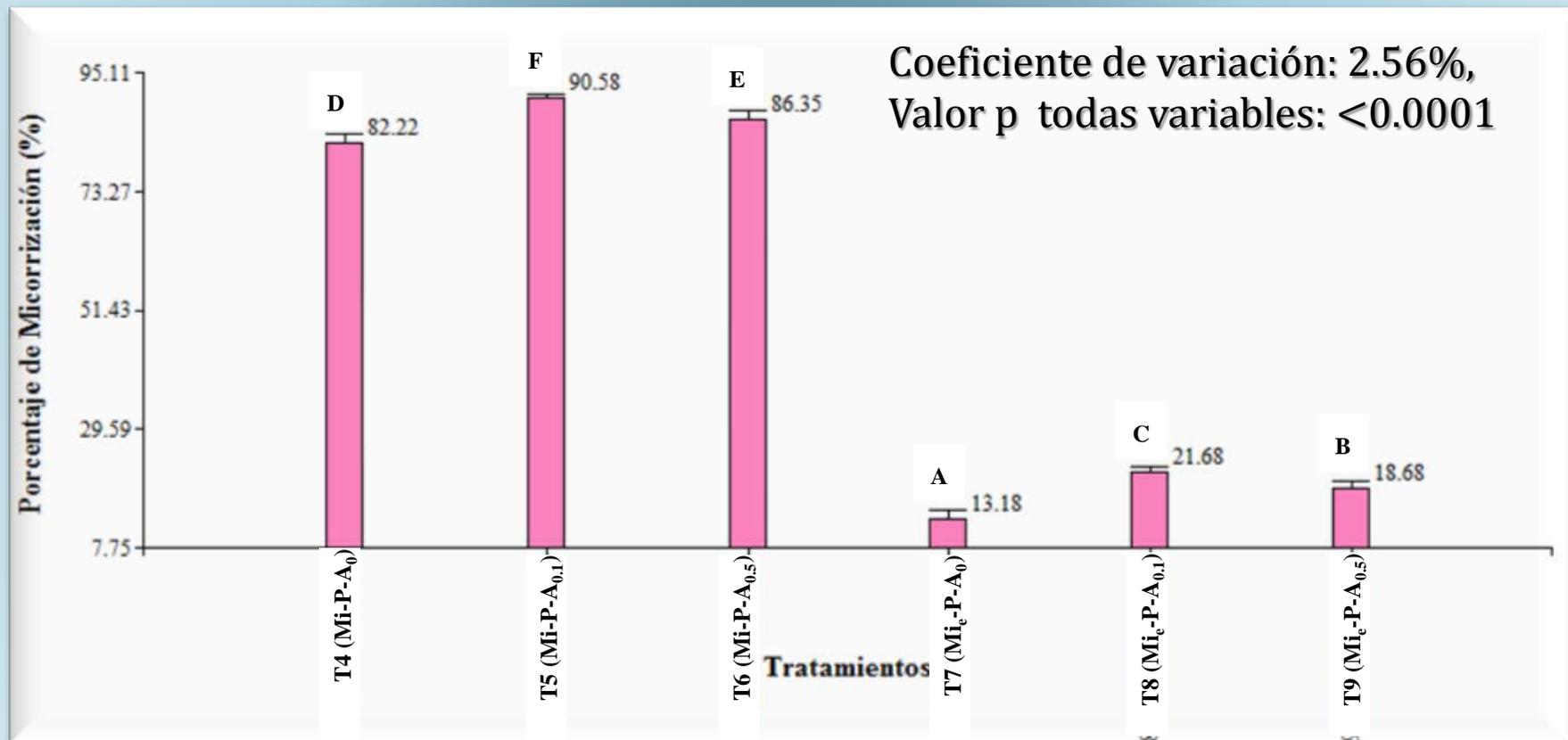
- Plantas de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) inoculadas con cepas de HMA → mejor desarrollo de las variables de crecimiento vegetal

Villegas & Cifuentes, (2004)

- Inoculación de hongos micorrícicos en plantas → mejora la biomasa foliar y aérea debido a que facilitan la asimilación de nutrientes.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

PORCENTAJE DE MICORRIZACIÓN RADICULAR

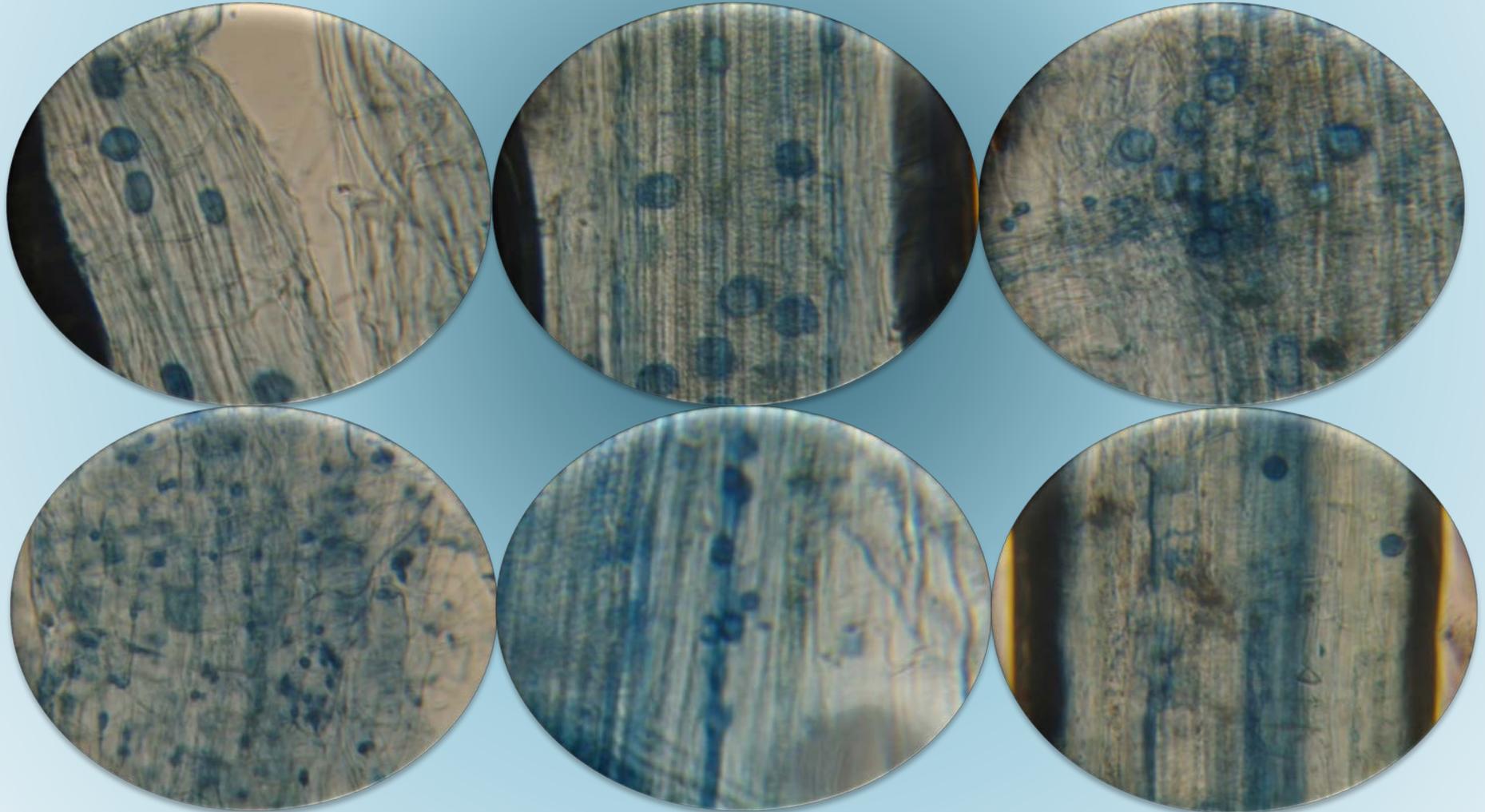


*Efecto de la interacción de los hongos micorrícicos y el extracto de ajo, en diferentes concentraciones en el porcentaje de micorrización radicular de plantas de avena (*Avena sativa*).*

EVALUACIÓN DEL DESARROLLO DE PLANTAS DE AVENA (*Avena sativa*) Y DE LA MICROBIOTA DEL SUELO TRATADO CON HONGOS MICORRÍCICOS Y AJO (*Allium sativum*), EN LOS PRIMEROS MESES DE CULTIVO.

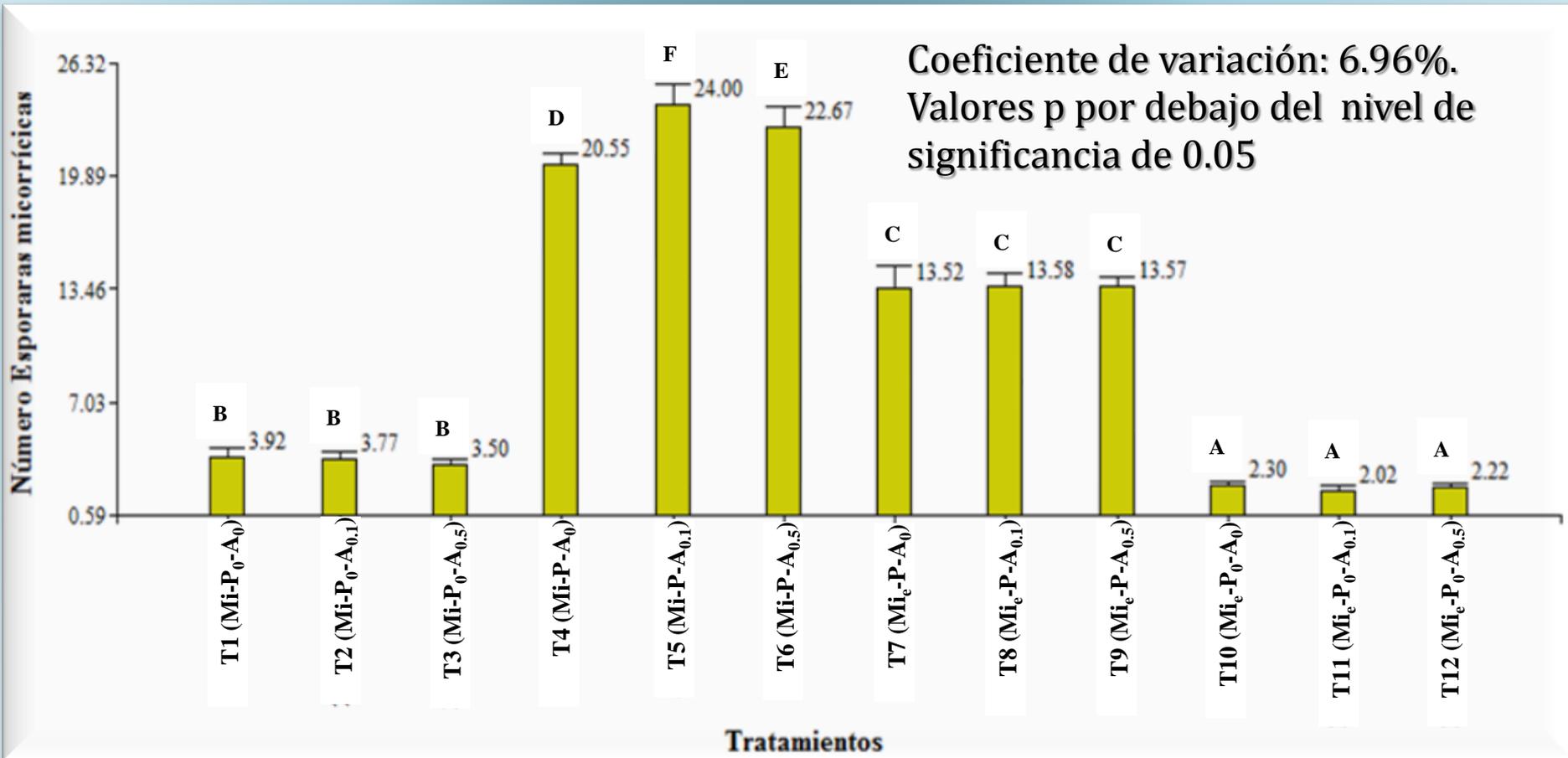
RESULTADOS Y DISCUSIONES

PORCENTAJE DE MICORRIZACIÓN RADICULAR



RESULTADOS Y DISCUSIONES

CONTEO DE ESPORAS MICORRÍCICAS EN CADA TRATAMIENTO

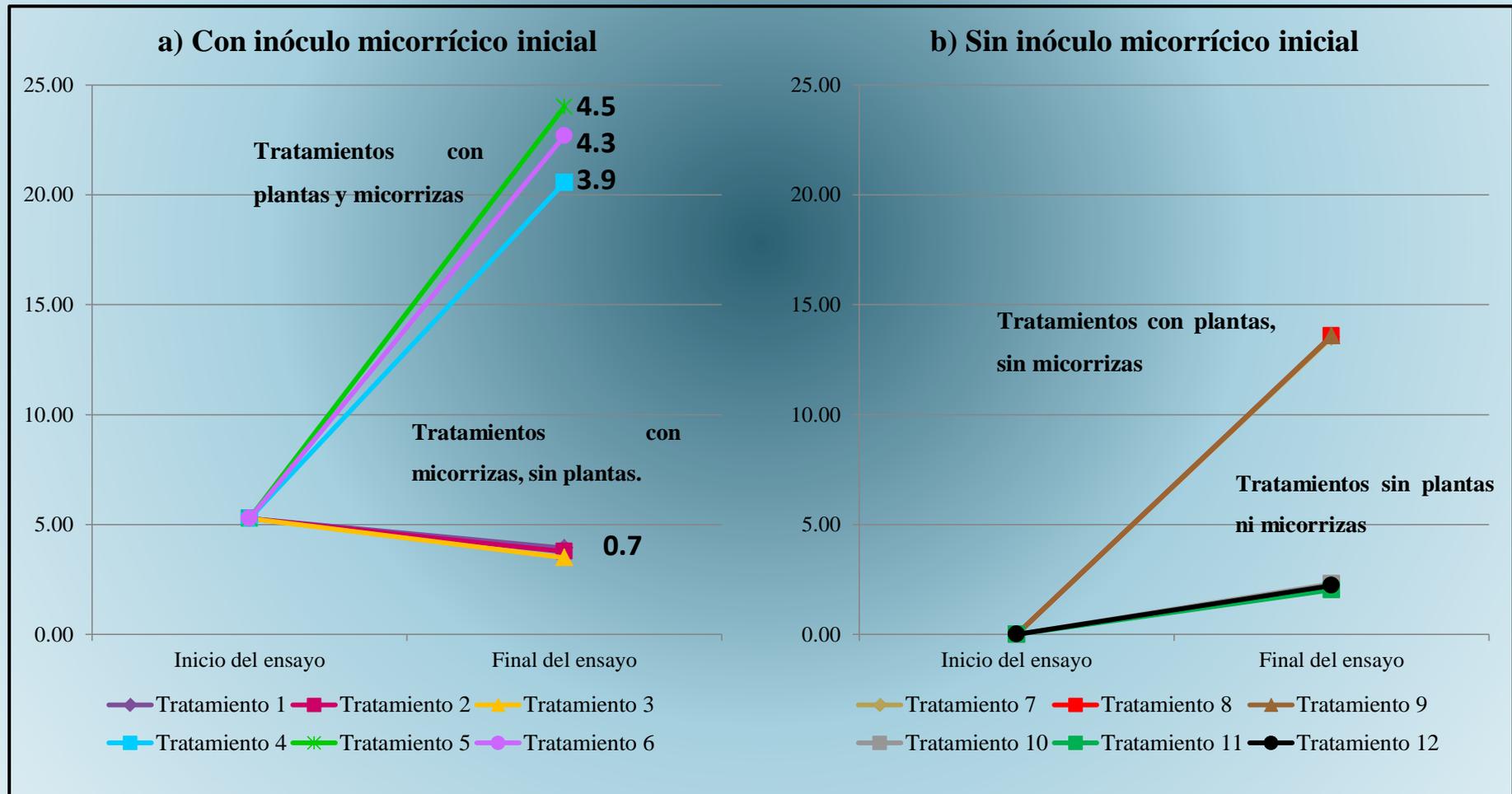


Efecto de la interacción de los hongos micorrícicos y el extracto de ajo, en diferentes concentraciones en la variación del número de esporas micorrícicas



RESULTADOS Y DISCUSIONES

INCREMENTO EN EL NÚMERO DE ESPORAS MICORRÍCICAS DURANTE LOS 90 DÍAS DEL ENSAYO



RESULTADOS Y DISCUSIONES

Baroja, *et al.*,
2010

- Ensayo con hongos micorrícicos
- HMA germinados mayor infectividad
- mayor porcentaje de colonización de raíces

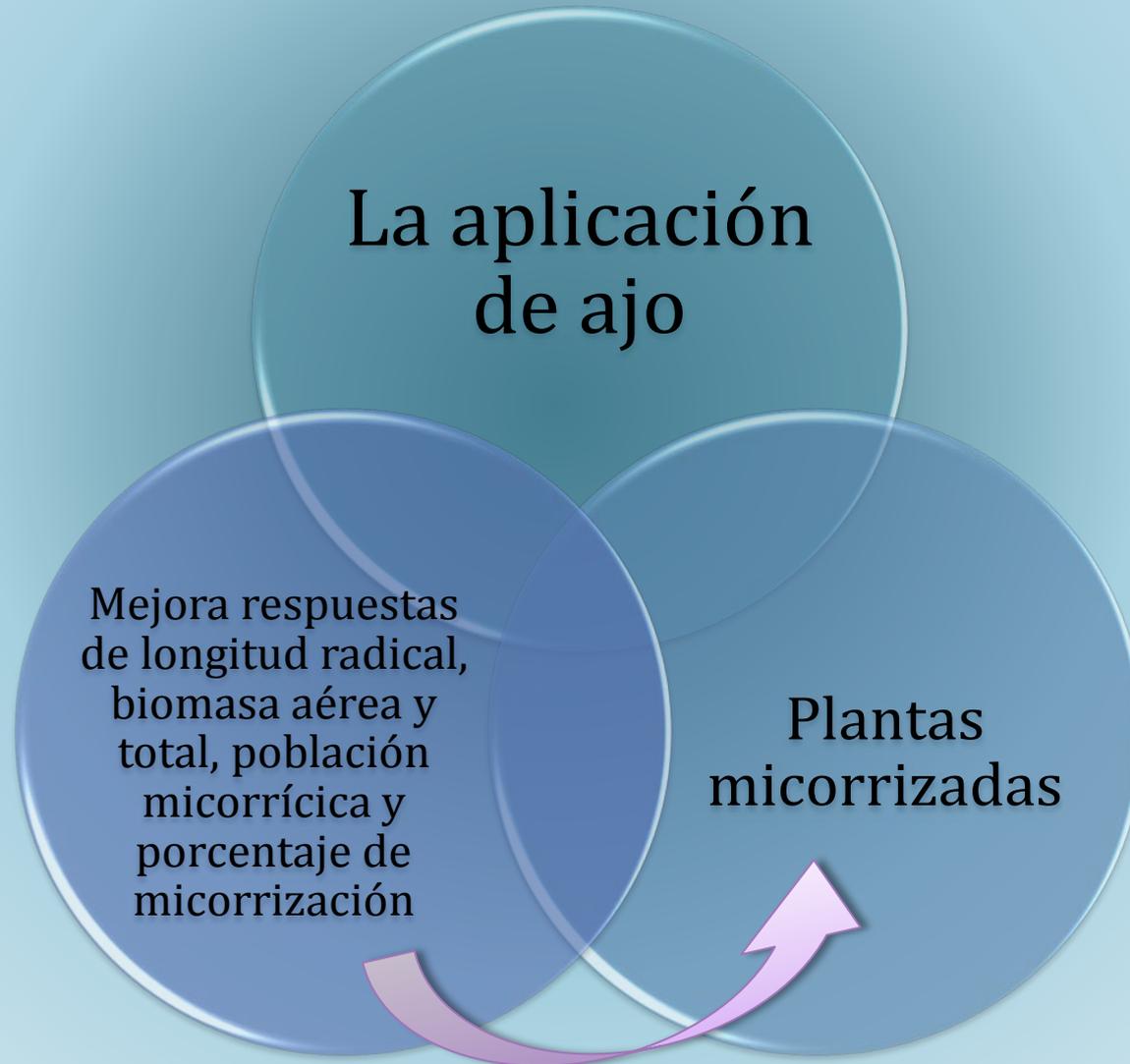
Gahan &
Schemalenberger
, 2014

- Influencia de los compuestos azufrados en el desarrollo de la relación bacteria – micorriza – planta

Wipf, *et al.*, 2014

- Importancia del azufre en la colonización micorrícica y viceversa

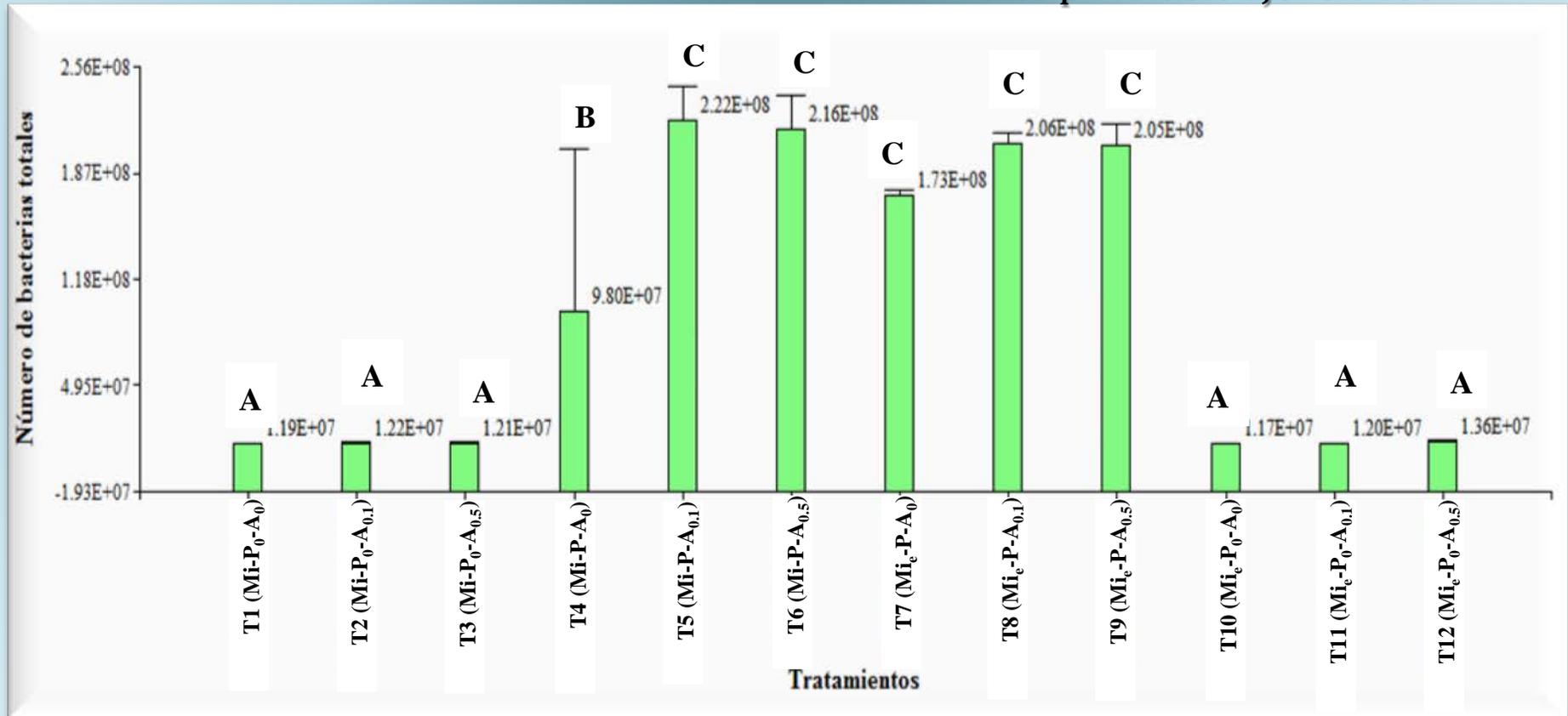
RESULTADOS Y DISCUSIONES



RESULTADOS Y DISCUSIONES

RECUENTO GENERAL DE BACTERIAS

coeficiente de variación: 32.02%
valor p variable planta: < 0.0001
valor p variable ajo: 0.0485

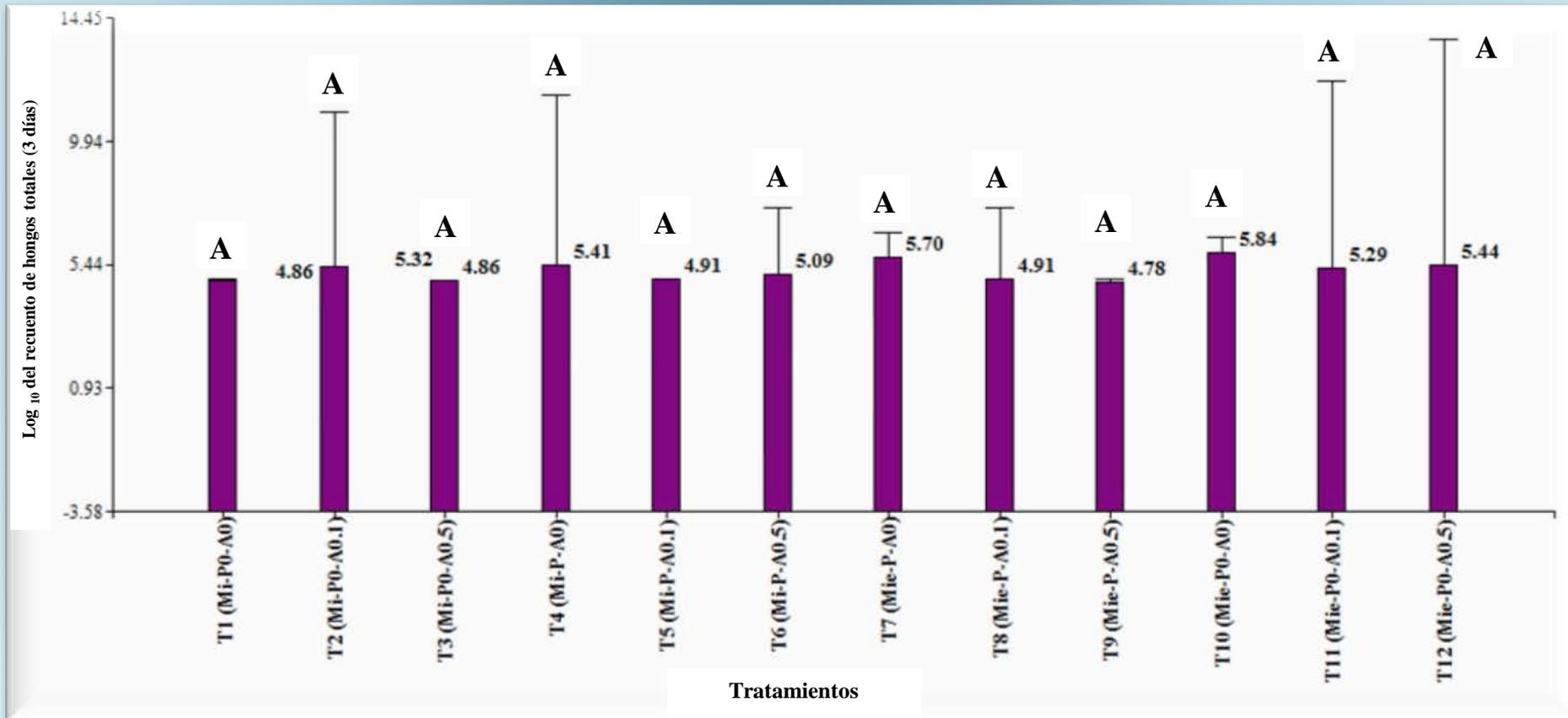


Efecto de la interacción de los hongos micorrícicos y el extracto de ajo, en diferentes concentraciones en el recuento general de bacterias

RESULTADOS Y DISCUSIONES

RECUENTO GENERAL DE HONGOS

valores p de todas las variables fueron superiores al nivel de significancia

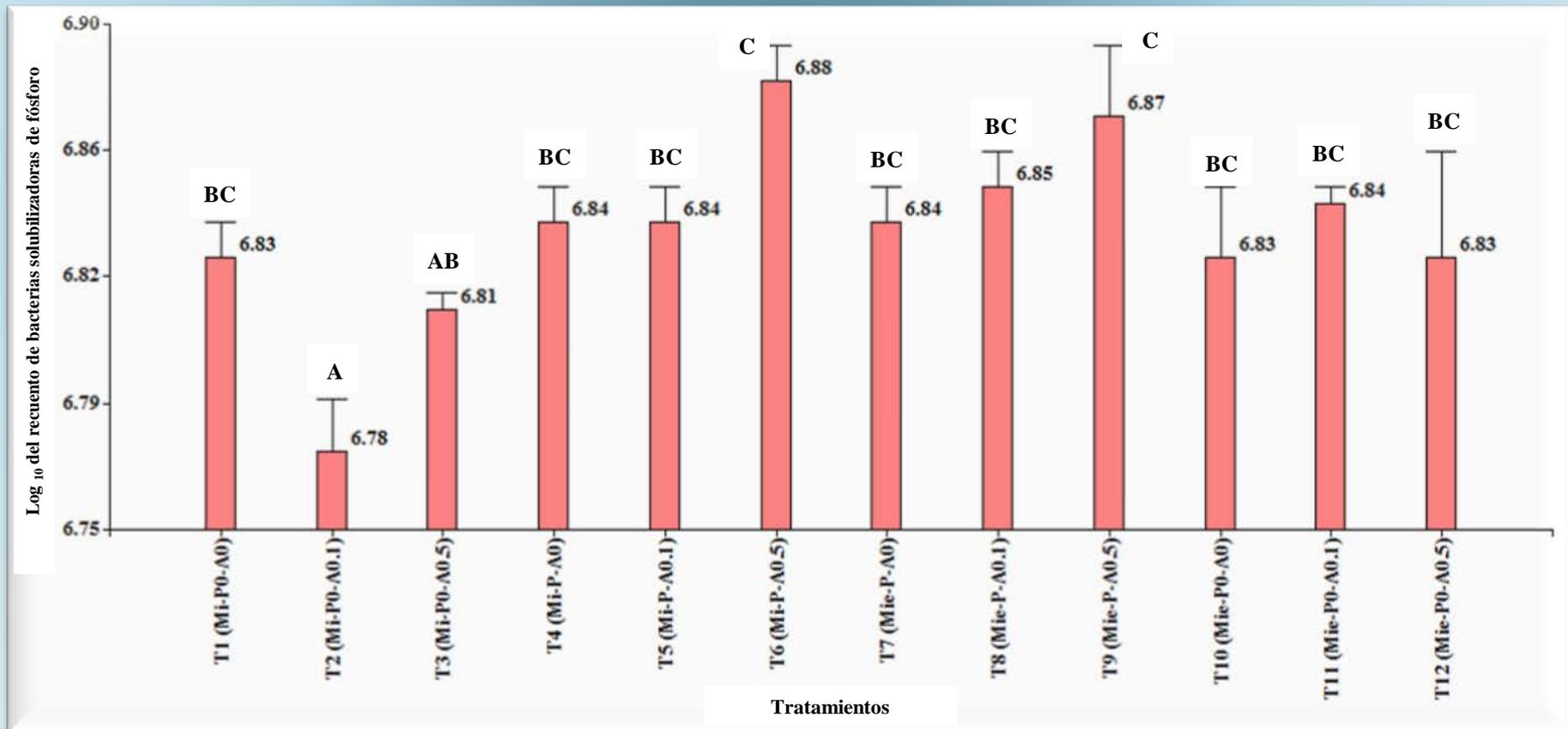


Efecto de la interacción de los hongos micorrícicos y el extracto de ajo, en diferentes concentraciones en el recuento general de hongos

RESULTADOS Y DISCUSIONES

IDENTIFICACIÓN Y RECUENTO DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO

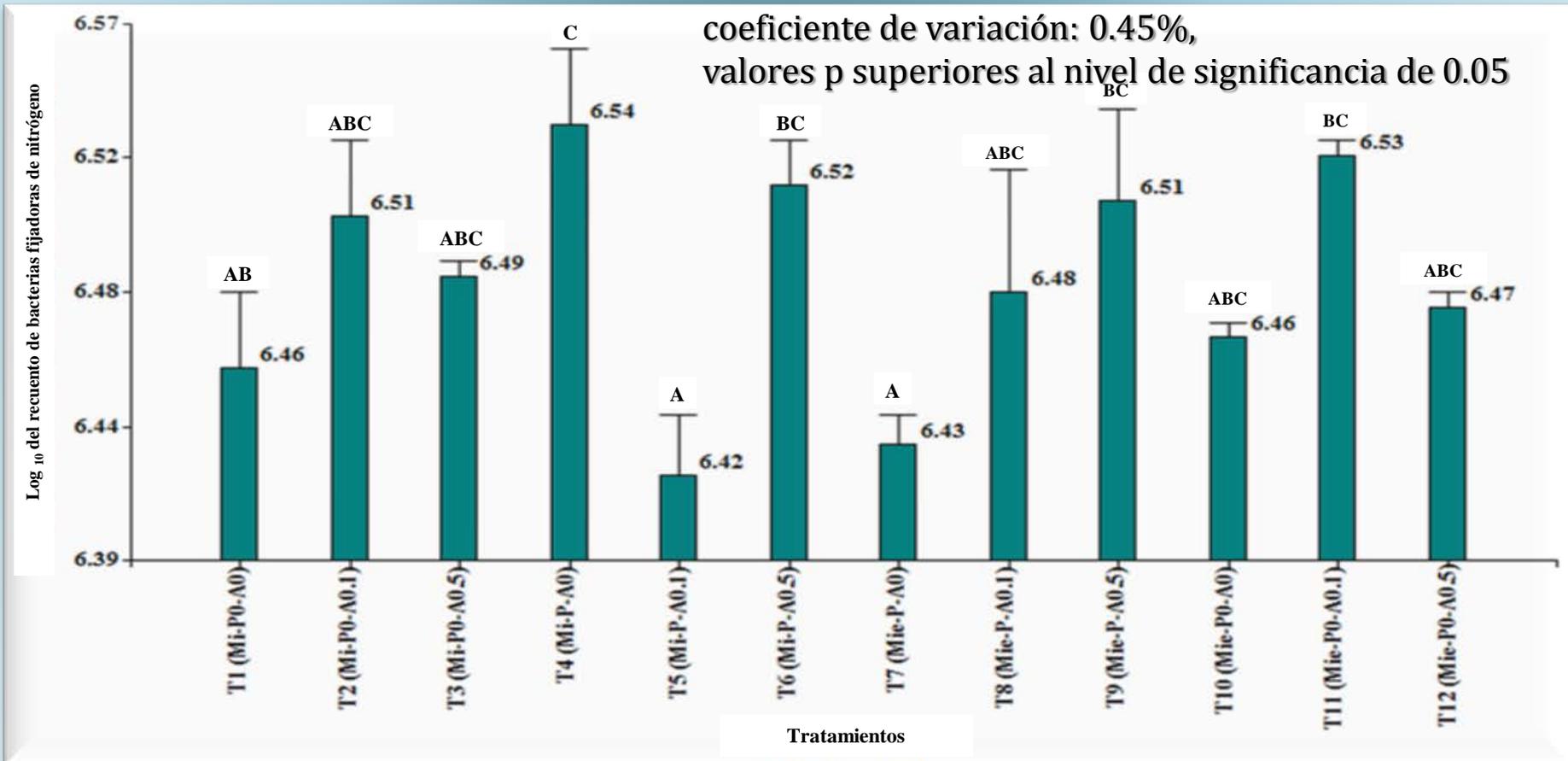
coeficiente de variación: 0.30%,
valores p superiores al nivel de significancia de 0.05



Efecto de la interacción de los hongos micorrícicos y el extracto de ajo, en diferentes concentraciones en la identificación y recuento de bacterias solubilizadoras de fósforo

RESULTADOS Y DISCUSIONES

IDENTIFICACIÓN Y RECUENTO DE BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO



Efecto de la interacción de los hongos micorrícicos y el extracto de ajo, en diferentes concentraciones en la identificación y recuento de bacterias fijadoras de nitrógeno

RESULTADOS Y DISCUSIONES

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Barea, *et al.*,
(2001) y Azcon,
et al., (2001)

- La presencia de hongos micorrícicos puede influenciar la colonización de microorganismos propios o inoculados de la rizósfera.

González, *et al.*,
2012

- Bacterias de rizobios y una cepa de hongos micorrícicos establecen una relación sinérgica y mutualista que beneficia el crecimiento vegetal

Terry & Leyva,
2005

- Coinoculación de bacterias PGPR y HM generan un efecto sinérgico en el desarrollo de la planta y en las poblaciones de ambos microorganismos.

Giampoli, *et al.*,
2014

- Desventaja de usar el vapor como agente esterilizante puesto que no se alcanza una esterilidad total se genera un suelo susceptible a la recolonización microbiana

CONCLUSIONES

Extracto hidroalcohólico de ajo (*Allium sativum*) mejora el crecimiento de las plantas, aumenta la población de hongos micorrícicos e incrementa el porcentaje de micorrización radicular de HMA.

Extracto hidroalcohólico de ajo (*Allium sativum*), (0.1%) → efecto positivo en la longitud radicular (28%), peso fresco aéreo (12%), peso fresco total (20%), peso seco aéreo (35%) y peso seco total (46%).

El extracto hidroalcohólico de ajo (*Allium sativum*) (0.5%) → efecto positivo en la longitud radicular y del peso seco aéreo. Efecto negativo → peso fresco aéreo y peso fresco total.

CONCLUSIONES

Recuento microbiológico general del suelo (bacterias y hongos) no se ve afectado por las poblaciones micorrícicas o las adiciones de ajo.

El recuento bacteriano muestra un aumento del número total de bacterias, cuando hay presencia de planta (huésped).

La planta de avena (*Avena sativa*) es una buena especie propagadora de HMA (incremento de hasta 4.5 veces la población inicial).

RECOMENDACIONES

Administrar concentraciones de 0.1%, 0.5% y 1%.

Analizar el contenido de los nutrientes en el suelo y en la planta, tanto al inicio como al final de ensayo

Realizar un ensayo similar a éste, variando la especie vegetal reconocida como planta propagadora de micorrizas

Repetir el mismo ensayo, aplicando un método de esterilización diferente y controlar condiciones de humedad, temperatura y contaminación ambiental

¡Gracias!