



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA
AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA/ TOLERANCIA A
Meloidogyne sp. DE 10 LÍNEAS PROMISORIAS DE NARANJILLA**

AUTOR: ENDARA BURGOS, DOMÉNICA MONSERRATH

DIRECTOR: ING. LANDÁZURI ABARCA, PABLO ANIBAL, Mgs

SANGOLQUÍ

2020

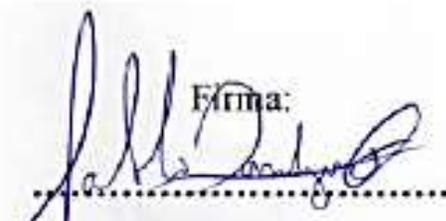


DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, "*EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA/TOLERANCIA A Meloidogyne sp. DE 10 LÍNEAS PROMISORIAS DE NARANJILLA*" fue realizado por la señorita *Endara Burgos, Doménica Monserrath* el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 24 de enero de 2020

Firma:

.....
Ing. Pablo Aníbal Landázuri Abarca
C.C 1708262348



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Endara Burgos, Doménica Monserrath*, declaro que el contenido, ideas, y criterios del trabajo de titulación: “*Evaluación de la resistencia/tolerancia a Meloidogyne sp. de 10 líneas promisorias de naranjilla*” es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 24 de enero de 2020

Firma:

.....*Doménica*.....

Endara Burgos Doménica Monserrath

C.C 1726811118



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN

Yo, *Endara Burgos, Doménica Monserrath*, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: “*Evaluación de la resistencia/tolerancia a Meloidogyne sp. de 10 líneas promisorias de naranjilla*” en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 24 de enero de 2020

Firma:



Endara Burgos Doménica Monserrath

C.C 1726811118

DEDICATORIA

“Cualquiera que sea el trabajo de ustedes, háganlo de todo corazón, teniendo en cuenta que es para el Señor y no para los hombres” Col 3:23

A Dios

A mis papás, Rolando y Pamela

A mis hermanos, Pedro y Jahel

A mi familia

A mi comunidad “Jesús es el Señor”

A mis amigos

A tres mujeres especiales en mi vida, que ya no están conmigo pero sé que desde el cielo me guían, abuelita Lali, Sarita y Anita

AGRADECIMIENTOS

A Dios, porque es el dueño de mi vida y me ha dado todas las posibilidades y capacidades para conseguir mis objetivos, Él es el gestor de todos mis proyectos y sueños; a la Virgen María por su intercesión y compañía en todo mi caminar.

A mis papás por todo su esfuerzo para brindarme lo necesario, por su amor, ejemplo e incondicionalidad fundamentalmente en este tiempo para ayudarme a cumplir mis metas. A mis hermanos, por alegrarse conmigo en cada logro y apoyarme en las dificultades.

A la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA 1 de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por todos estos años de formación, a mis profesores por compartir sus conocimientos y experiencia para forjar grandes profesionales, a mis compañeros y amigos por hacer este tiempo agradable.

Al Departamento Nacional de Protección Vegetal del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP, por darme la oportunidad de realizar esta investigación, ayudarme con las instalaciones y materiales necesarios, especialmente al Ing. Pablo Llumiyinga por guiarme en este tiempo y brindarme no solo su asistencia técnica sino también su amistad.

A mi comunidad “Jesús es el Señor” y cada uno de mis hermanos en Cristo, quienes me acompañado en esta travesía y me han apoyado sobre todo con sus oraciones.

Especialmente a mi tutor, el Ing. Pablo Landázuri por direccionarme a lo largo de este proceso, por darse el tiempo para ayudarme y brindarme todo su conocimiento. También quiero expresar mi gratitud al Ing. Norman Soria, Dr. César Falconí e Ing. Francisco Flores por su apoyo en gran parte de este proyecto.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARÁTULA

CERTIFICACIÓN	i
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD	ii
AUTORIZACIÓN.....	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1	Antecedentes.....	1
1.2	Justificación	3
1.3	El problema.....	4
1.4	Los efectos	5
1.5	Las causas	5
1.6	Objetivos.....	5
1.6.1	Objetivo General	5
1.6.2	Objetivos específicos.....	5
1.7	Hipótesis	6

CAPÍTULO II

MARCO REFERENCIAL

2.1	Naranjilla (<i>Solanum quitoense</i> Lam.).....	7
2.1.1	Sección Lasiocarpa.....	7
2.1.2	Taxonomía.....	7
2.1.3	Origen y distribución.....	8
2.1.4	Descripción botánica	8

2.1.5	Condiciones agronómicas del cultivo	9
2.1.6	Manejo del cultivo.....	10
2.2	Nematodo agallador de la raíz (<i>Meloidogyne</i> spp.).....	10
2.2.1	Generalidades de los nematodos	10
2.2.2	Taxonomía.....	11
2.2.3	Importancia.....	12
2.2.4	Morfología.....	12
2.2.5	Ciclo de vida.....	13
2.2.6	Rango de hospederos.....	15
2.3	Relación planta-nematodo	17
2.3.1	Mecanismo de infección.....	17
2.4	Resistencia y tolerancia	19
2.4.1	Resistencia.....	19
2.4.2	Tolerancia.....	21

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	Ubicación.....	23
3.1.1	Ubicación política	23
3.1.2	Ubicación geográfica.....	23
3.1.3	Ubicación ecológica	24
3.2	Materiales	24
3.2.1	Insumos	24
3.2.2	Equipos.....	24
3.2.3	Reactivos	25
3.2.4	Programas informáticos.....	25
3.3	Metodología.....	25
3.3.1	Establecimiento del ensayo en invernadero	25
3.3.2	Extracción de <i>Meloidogyne</i> sp.	27
3.3.3	Identificación morfométrica de <i>Meloidogyne</i> sp.....	28
3.3.4	Inoculación de <i>Meloidogyne</i> sp.....	30
3.3.5	Cosecha y evaluación de variables.....	31

3.3.6	Diseño experimental.....	31
3.3.7	Análisis estadístico.....	33
3.3.8	VARIABLES MEDIDAS.....	34
3.3.9	Selección de materiales resistentes/tolerantes.....	39

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Evaluación de la calidad de la semilla.....	40
4.2	Identificación morfométrica de <i>Meloidogyne</i> sp.....	42
4.3	Evaluación de la resistencia.....	46
4.4	Evaluación de la tolerancia.....	47
4.5	Análisis de correlación.....	49
4.6	Selección de materiales resistentes/tolerantes a <i>Meloidogyne hapla</i>	51

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1	Conclusiones.....	53
5.2	Recomendaciones.....	54
5.3	Bibliografía.....	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	<i>Ubicación ecológica de la Estación Experimental Santa Catalina–INIAP</i>	24
Tabla 2	<i>Variables morfométricas que se realizaron para la identificación de especies de Meloidogyne</i>	29
Tabla 3	<i>Tratamientos para la evaluación de líneas promisorias de naranjilla al parasitismo de Meloidogyne sp.</i>	32
Tabla 4	<i>Índice de agallamiento para determinar la severidad causada por Meloidogyne sp. en raíces</i>	34
Tabla 5	<i>Reacción de las plantas al efecto de Meloidogyne spp.</i>	39
Tabla 6	<i>Prueba de viabilidad y germinación de las semillas de las líneas promisorias de naranjilla</i>	42
Tabla 7	<i>Medidas morfométricas del segundo estado juvenil (J2) y del adulto macho de Meloidogyne sp.</i>	44
Tabla 8	<i>Número de agallas, índice de agallamiento, escala de resistencia, masa de huevos, factor reproductivo y reacción de cinco líneas promisorias de naranjilla para la evaluación de la resistencia/ tolerancia a Meloidogyne hapla</i>	46
Tabla 9	<i>Prueba t de student del largo y peso de tallo, largo y peso de raíz e índice de clorofila de cinco líneas promisorias de naranjilla para la evaluación de la resistencia/tolerancia a Meloidogyne hapla</i>	48
Tabla 10	<i>Porcentaje de incremento de las variables para la tolerancia a Meloidogyne hapla de las líneas promisorias de naranjilla</i>	50
Tabla 11	<i>Coefficientes de correlación de Pearson para los parámetros de reproducción del nematodo y las variables agronómicas en la evaluación de la resistencia/tolerancia de cinco líneas promisorias de naranjilla a Meloidogyne hapla</i>	51
Tabla 12	<i>Selección de las líneas promisorias de naranjilla según los criterios de Cook (1974).....</i>	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Representación morfológica del esófago de una hembra adulta de <i>Meloidogyne</i> spp.	13
Figura 2	Ciclo de vida de <i>Meloidogyne</i> spp.	15
Figura 3	Células gigantes multinucleadas, N hembra en su sitio de alimentación	19
Figura 4	Ubicación geográfica de la Estación Experimental Santa Catalina-INIAP	23
Figura 5	a) Disposición de las semillas en caja b) Tinción del endospermo	26
Figura 6	Germinación de las semillas de naranjilla	26
Figura 7	a) Raíces cortadas b) Tamizado de las raíces licuadas	28
Figura 8	Toma de medidas morfométricas de <i>Meloidogyne</i> sp. con el programa Axiovision Release 4.8	30
Figura 9	Inoculación a las plantas de naranjilla con <i>Meloidogyne</i> sp.	31
Figura 10	Croquis experimental	33
Figura 11	Hembras teñidas con floxina B	35
Figura 12	Elutriador de Oostenbrink	36
Figura 13	Viabilidad de semillas de las líneas promisorias de naranjilla A) semillas no viables B) semillas medianamente viables C) semillas viables	43
Figura 14	Patrón perineal de la especie en estudio A) arco dorsal bajo redondo B) estrías ligeramente onduladas y finas C) puntuaciones en el área terminal D) cresta lateral ausente	45

RESUMEN

En la presente investigación se evaluaron 10 líneas promisorias de naranjilla, un control resistente y uno susceptible, para seleccionar el mejor material resistente/tolerante a *Meloidogyne hapla*; como una alternativa para los productores de naranjilla en cuanto al manejo de enfermedades del cultivo en el Ecuador. Previo al establecimiento del ensayo se realizaron pruebas de germinación y viabilidad de cada línea. El ensayo se estableció bajo condiciones controladas en fundas individuales de 1,5 kg en los invernaderos del Departamento Nacional de Protección Vegetal del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias- INIAP, inoculadas con 5000 huevos y larvas del nematodo por planta, en un diseño completamente al azar (DCA) con cinco repeticiones por línea y cinco repeticiones sin inoculo para contrastar el efecto del nematodo en el crecimiento de la planta. Las variables medidas para determinar la resistencia fueron: número de agallas, número de masa de huevos e incremento poblacional; y para determinar la tolerancia se realizó una comparación de medias mediante la prueba *t* Student del largo y peso de tallo, largo y peso de raíz e índice de clorofila entre plantas inoculadas y no inoculadas. Las líneas con mejor porcentaje de viabilidad y germinación fueron C2-67 B1B5, (*S. vestisimun* x *S. quitoense*) x *S. quitoense*, C2-67 B2B3R3, *S. quitoense* x (16)16 y 314 x 100N, y estas fueron resistentes tolerantes al parasitismo de *Meloidogyne hapla*, debido a esto, las plantas presentaron un incremento en las variables agronómicas con respecto a las plantas no inoculadas.

PALABRAS CLAVE:

- **NARANJILLA**
- *Meloidogyne hapla*
- **RESISTENCIA**
- **TOLERANCIA**

ABSTRACT

In the present research, 10 promising lines of naranjilla were evaluated, one resistant and one susceptible control, to select the best material resistant/tolerant to *Meloidogyne hapla*; as an alternative for naranjilla producers in terms of disease management of the crop in Ecuador. Prior to the establishment of the trial, germination and viability tests were carried out on each line. The trial was established under controlled conditions in individual 1.5 kg bags in the greenhouses of the National Department of Plant Protection of the National Institute of Agricultural Research - INIAP, inoculated with 5000 eggs and larvae of the nematode per plant, in a completely randomized design (DCA) with five replicates per line and five replicates without inoculum to contrast the effect of the nematode on plant growth. The variables measured to determine resistance were: number of galls, number of egg masses and population increase; and to determine tolerance a comparison of means was made by means of the t Student test of stem length and weight, root length and weight and chlorophyll index between inoculated and non-inoculated plants. The lines with better percentage of viability and germination were C2-67 B1B5, (S. vestisimun x S. quitoense) x S. quitoense, C2-67 B2B3R3, S. quitoense x (16)16 and 314 x 100N, and these were resistant tolerant to *Meloidogyne hapla* parasitism, due to this, plants showed an increase in agronomic variables with respect to non-inoculated plants.

KEY WORDS:

- **NARANJILLA/LULO**
- *Meloidogyne hapla*
- **RESISTANCE**
- **TOLERANCE**

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

La naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.), es una planta arbustiva originaria de la región interandina de Ecuador, Colombia y Perú. Se caracteriza porque produce frutos de pulpa color verde, ricos en minerales y vitamina C, se consume en forma de jugos, helados, mermeladas, conservas, postres y confites, razón por la cual es muy apreciada a nivel nacional e internacional (Andrade, Moreno, Guijarro, & Concellón, 2015).

Según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) (2010), la superficie cultivada de naranjilla fue de 5015 ha. a nivel nacional, con una producción de 22596 TM y un rendimiento de 4,5 Tm/ha. Este rendimiento es muchas veces afectado por factores bióticos como son agentes fitoparásitos, entre los que destacan los nematodos (Revelo et al., 2010).

En el grupo de los nematodos fitoparásitos se encuentra el género *Meloidogyne*, el nematodo del nudo de la raíz, que es considerado como el más perjudicial para muchos cultivos de interés agrícola y comercial, ya que debilitan las plantas y disminuyen el rendimiento del cultivo (Abad et al., 2009; Jones et al., 2013).

Uno de los componentes del manejo integrado del cultivo es la búsqueda de variedades resistentes al parasitismo del nematodo. En el país, se han desarrollado muchas investigaciones para generar nuevos materiales genéticos como variedades y portainjertos resistentes/tolerantes a diferentes problemas fitosanitarios de interés económico (Bermeo, 2015; Jorge Revelo & Sandoval, 2003; Silva et al., 2016; Viteri et al., 2009; INIAP, 2014).

Pujota (2005), realizó una evaluación de resistencia a *Meloidogyne* spp. y *Fusarium oxysporum*, donde se encontró que las accesiones *S. hirtum* Ecu-6242 y *S. pseudolulo* presentaron resistencia y tolerancia a *Fusarium oxysporum*.

En 2009 y 2010, el INIAP, desarrolló una nueva variedad llamada INIAP Quitoense 2009, que injertada en patrones *S. arboreum* o *S. hirtum*, es resistente a *Fusarium oxysporum* y a *Meloidogyne incognita*. Además se encontraron una serie de clones resistentes entre ellos GTP-30, GTP-41, GTP-24, GTP-39, GTP-36 y GTP-7 (Revelo et al., 2010; Viteri et al., 2009).

Bermeo (2015) realizó un barrido de varios segregantes de la sección Lasiocarpa para evaluar la resistencia a *Meloidogyne* spp. y *Fusarium oxysporum*, donde se determinó que la variedad H x Q(B)(2)(67)(3) tiene una menor susceptibilidad al nematodo agallador de las raíces.

Salazar & Betancourth (2017) realizaron un estudio en Colombia, para evaluar la reacción de naranjilla a *Meloidogyne* spp. en condiciones de campo, cuyo material vegetal fue obtenido de una colección del Grupo de Investigación de Sanidad Vegetal de la Universidad de Nariño, genotipos de naranjilla común (*S. quitoense*) y la especie silvestre relacionada (*Solanum hirtum*) de diferentes zonas colombianas. Los genotipos de *S. quitoense* localidades Berruecos y La Florida presentaron resistencia moderada a *M. incognita*.

En otro estudio realizado en los departamentos de Putumayo y Nariño (Colombia), se evaluaron 45 genotipos de *S. quitoense* y 4 genotipos silvestres (*S. mammosum*, *S. hirtum*, *S. marginatum* y *S. umbellatum*) para buscar fuentes de resistencia a *Meloidogyne* spp. El genotipo *S. quitoense*, SQbr05 fue resistente, mientras que el genotipo SQbc04 fue susceptible y el genotipo silvestre *S. mammosum* fue altamente susceptible (Gelpud et al., 2011).

Los estudios realizados en Ecuador en busca de la resistencia, se han efectuado con la asociación de *Fusarium oxysporum* y *Meloidogyne* spp., en los cuales no se encontró resistencia a

nematodos, tampoco se han desarrollado investigaciones exclusivamente para el nematodo del nudo de la raíz y por ello es necesario seguir en la búsqueda de fuentes de resistencia y/o tolerancia a *Meloidogyne* spp.

Con estos antecedentes, en este estudio se evaluó la resistencia/tolerancia de líneas promisorias de naranjilla provenientes de accesiones silvestres y comerciales, al parasitismo del nematodo del nudo de la raíz (*Meloidogyne* spp.), bajo condiciones controladas de invernadero.

1.2 Justificación

Los cultivos de naranjilla en Ecuador son atacados por varios agentes fitoparásitos, de los cuales el grupo más perjudicial es el género *Meloidogyne*, que producen severos daños en el sistema radicular de la planta, ya que limitan la nutrición y en consecuencia su rendimiento.

Para controlar el ataque de *Meloidogyne* spp. los agricultores y productores locales implementan el control químico, para ello recurren a productos altamente tóxicos para la salud humana y para el ambiente, que además son ineficientes para controlar este patógeno.

Para evitar la exposición de productores y consumidores a los diferentes agroquímicos dañinos para la salud humana, se plantea la búsqueda e implementación de variedades resistentes y/o tolerantes a nematodos, que conserven sus propiedades agronómicas y nutricionales adecuadas para su establecimiento en campo y comercialización en el mercado nacional e internacional.

La resistencia encontrada en la variedad INIAP Quitoense 2009 presente en portainjertos silvestres involucra mayores costos de producción debido a la injertación, lo que haría difícil que los agricultores recurran al uso de esta variedad para mejorar sus cultivos, por lo que se busca variedades resistentes y/o tolerantes que conlleven menores costos.

La utilidad de esta investigación radica en desarrollar una estrategia para el control del nematodo del nudo de la raíz que no involucre el uso excesivo de químicos en el cultivo, para que

cumpla con las buenas prácticas de manejo del cultivo y garantice la seguridad del consumidor, debido al valor que posee el cultivo de naranjilla dentro de nuestro país y el potencial para ser exportado.

Es por ello que mediante este estudio se evaluó la resistencia al nematodo de las agallas de la raíz, *Meloidogyne* sp., en líneas promisorias de la sección *Lasiocarpa* bajo condiciones controladas.

1.3 El problema

La producción de naranjilla en el país ha sido afectada constantemente por agentes parásitos, como los nematodos, principalmente los nematodos agalladores de la raíz, dentro de los cuales *Meloidogyne* es considerado como uno de los géneros más perjudiciales a nivel mundial, por su comportamiento cosmopolita, lo que le permite parasitar a muchos frutales y en este caso particular a la naranjilla. El principal daño ocasionado en el frutal es la obstrucción de los haces vasculares en la raíz de la planta, por lo cual se debilita y disminuye su producción. Además el nematodo al alimentarse permite el ingreso y establecimiento de patógenos como *Fusarium oxysporum* que en conjunto provocan daños severos a la planta.

Por otro lado se han tomado medidas para controlar este parásito, principalmente controles químicos severos, al usarse productos muy perjudiciales y agresivos, que afectan no solamente el ambiente sino también la salud humana al producir y consumir la naranjilla; lo que dificulta la comercialización de esta a nivel nacional y también la posibilidad de ofertarla en mercados exteriores.

El problema principal es el desconocimiento de la resistencia/tolerancia en las diferentes líneas de naranjilla y un inadecuado manejo integrado de plagas para este cultivo. La resistencia se

conoce como la capacidad de resistir la reproducción del nematodo, mientras que la tolerancia es la capacidad de recuperarse del ataque del nematodo y producir.

1.4 Los efectos

- Afección de la zona radicular de la planta de naranjilla.
- Retraso del desarrollo y menor producción de frutos.
- Infección de agentes patógenos como hongos y bacterias, debido a la asociación con otros problemas fitosanitarios.
- Menor rentabilidad del cultivo y sustancial pérdida económica.

1.5 Las causas

- Las variedades comerciales de naranjilla cultivadas en Ecuador son susceptibles al ataque de *Meloidogyne* spp.
- Deficiente investigación genética para lograr la resistencia implementando cruces con especies de la sección Lasiocarpa.
- Inadecuado manejo integrado del cultivo y desconocimiento del género *Meloidogyne* y cómo afecta a la planta.

1.6 Objetivos

1.6.1 Objetivo General

- Evaluar la resistencia/tolerancia a *Meloidogyne* sp. de 10 líneas promisorias de la sección Lasiocarpa (Naranjilla) bajo condiciones de invernadero para la selección del mejor material vegetal y su posterior evaluación en campo.

1.6.2 Objetivos específicos

- Conocer la viabilidad y poder germinativo de las líneas propuestas para esta investigación.

- Identificar mediante morfometría la especie de *Meloidogyne* ubicada en campos de naranjilla que servirá como inóculo del ensayo.
- Establecer la resistencia de las líneas evaluadas al parasitismo del nematodo agallador a nivel de invernadero, a través de las variables nematológicas (número de agallas, número de masa de huevos, incremento poblacional).
- Determinar la tolerancia del material vegetal al nematodo, a través de la comparación de medias entre plantas inoculadas y no inoculadas de las variables agronómicas (peso y largo de raíz, peso y largo de tallo, índice de clorofila).

1.7 Hipótesis

Ho1: Las accesiones de naranjilla evaluadas no poseen resistencia a *Meloidogyne* sp.

Ha1: Las accesiones de naranjilla evaluadas poseen resistencia a *Meloidogyne* sp.

Ho2: Las accesiones de naranjilla evaluadas no poseen tolerancia a *Meloidogyne* sp.

Ha2: Las accesiones de naranjilla evaluadas poseen tolerancia a *Meloidogyne* sp.

CAPÍTULO II

MARCO REFERENCIAL

2.1 Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.)

2.1.1 Sección Lasiocarpa

Castañeda (1992), citado por Bermeo (2015), indica que esta sección botánica es parte de la familia Solanaceae, dentro del género *Solanum*. En ella se encuentran varias especies, que se distinguen de otras del mismo género por ciertas características como son hojas grandes con bordes generalmente irregulares, inflorescencias no ramificadas que se presentan en los entrenudos, flores estiliformes con corolas profundamente lobuladas, los frutos son bayas más o menos grandes, pubescentes, comestibles, con cuatro o más lóculos.

2.1.2 Taxonomía

Dependiendo de la región de cultivo *S. quitoense* Lam. toma diferentes nombres, en países como Ecuador y Perú se la conoce como naranjilla, mientras que en Colombia es conocida como lulo. Ochse et al. (1972) describe la siguiente taxonomía para la naranjilla:

REINO	Plantae
DIVISIÓN	Magnoliophyta
CLASE	Magnoliopsida
ORDEN	Solanales
FAMILIA	Solanaceae
GÉNERO	<i>Solanum</i>
ESPECIE	<i>Solanum quitoense</i> Lamark.

2.1.3 Origen y distribución

La naranjilla (*S. quitoense* Lam.) es una planta que se encuentra en la región interandina entre los países de Colombia y Ecuador, típica de regiones húmedas, donde crece en forma silvestre o bajo cultivo. Originalmente se pensó que provenía de la cuenca de Pastaza, sin embargo al encontrarla en otras localidades se señaló como originaria de los bosques de la región subtropical húmeda, en las estribaciones orientales y occidentales de la cordillera andina de Colombia, Ecuador y Perú (Galvis & Herrera, 1999; Revelo et al., 2010).

Este frutal se cultiva para la comercialización en Ecuador y Colombia, sin embargo países como Perú, Venezuela, Costa Rica, Guatemala y Panamá también lo hacen pero en menor escala (Messinger, 2017). En el país, la región amazónica abarca el mayor porcentaje de la producción nacional, siendo las provincias de Napo, Pastaza y Morona Santiago las principales productoras, al igual que ciertas zonas de la sierra que gozan del clima y condiciones apropiadas, como son algunos cantones de Tungurahua y la zona nor-occidente de Pichincha (Revelo et al., 2010).

2.1.4 Descripción botánica

La naranjilla posee una raíz pivotante, fibrosa y superficial, que puede penetrar en el suelo hasta 50 cm. Tiene un buen desarrollo de raíces laterales, que favorece en conjunto al sistema radicular (Galvis & Herrera, 1999). El tallo es semileñoso, robusto, cilíndrico, verde en su fase juvenil y de una coloración más oscura y leñosa en la fase adulta, para mantener un tallo único se debe realizar la poda, pues desarrolla brotes y tallos laterales. Poseen pubescencia a lo largo de toda la planta, desde el tallo hasta las hojas (Bermeo, 2015). Las ramas poseen un diámetro de 5 cm. Las hojas son grandes y palmeadas, con nervaduras de color morado. Desarrolla flores blancas en forma de estrella con estambres de color amarillo, agrupadas en inflorescencias. La presencia de espinas está determinada por la variedad (Gancel et al., 2008).

La naranjilla posee un fruto en baya de forma globosa de 3 a 8 cm de diámetro, de color anaranjado intensificándose en la madurez, puede estar cubierta de pequeños vellos o espinas que muchas veces es fácil de retirar (Gancel et al., 2008). Está compuesta de 4 lóculos, su corteza es lisa, delgada y susceptible a los daños físicos, como golpes, la pulpa es de color verde, llena de semillas, de un sabor dulce y ácido. Las semillas son lisas y redondeadas, de color claro y miden de 2 a 3 mm de diámetro. El fruto tiene un diámetro de aproximado de 4 a 8 cm, y pesa alrededor de 60 y 100 gramos (Bermeo, 2015).

Las especies de la sección *Lasiocarpa* pueden distinguirse unas de otras por ciertas características distintivas.

***S. hirtum* Vahl:** es una maleza distribuida por México, Colombia y Venezuela. La planta está cubierta por espinas y producen frutos pequeños de 2,5 mm de diámetro, cubiertos de pelo y que poseen un sabor agradable. La resistencia a nematodos y otras características genéticas la hacen valiosa para cruces con otras especies como *S. quitoense* y tener materiales con mejores cualidades agronómicas (Bermeo, 2015).

***S. pseudolulo* Heiser:** esta especie es propio de las cordilleras oriental y central de Colombia, en zonas de 500 a 2000 m.s.n.m. Producen frutas medianas, sin pelos y con un sabor cítrico e insípido. Se la puede usar en cruces como progenitor femenino para obtener materiales de mayor valor genético (Pujota, 2005).

2.1.5 Condiciones agronómicas del cultivo

El clima que se requiere para el establecimiento del cultivo debe ser tropical y subtropical húmedo. La altitud óptima es de 600 a 1700 m.s.n.m., con temperaturas que fluctúen entre 17 a 29 °C, temperaturas menores a 10 °C limitan el crecimiento de la planta y superiores a 30 °C limitan la producción (Messinger, 2017). Una precipitación aproximada de 2500 mm al año y una

humedad relativa del 78 a 92%. El cultivo requiere de suelos con textura franca, franco arcillosa o franco arenosa, profundos y con buen contenido de materia orgánica, buen drenaje, pH entre 5,3 y 6 (Agrocalidad, 2014).

2.1.6 Manejo del cultivo

Para establecer el cultivo de naranjilla es necesario una adecuada selección del material vegetal y del terreno, evitando lugares recién cultivados con otras solanáceas para evitar patógenos comunes como *Fusarium oxysporum* y *Meloidogyne* spp.; fertilizar de acuerdo a los requerimientos y condición del suelo (Revelo et al., 2010). Es necesario escoger la época del año adecuada del trasplante y demás labores culturales para asegurar la estabilidad de las plantas, sobre todo el control de malezas para evitar la competencia por nutrientes y plantas que sean hospederas de plagas y enfermedades que afecten al cultivo (INIAP, 2014).

La naranjilla es un cultivo susceptible al ataque de enfermedades y plagas, por lo que su control es una de las principales labores y actividades dentro del manejo. Entre las plagas y enfermedades más importantes están el perforador del fruto (*Neoleucinodes elegantalis*), mosca de la fruta (*Anastrepha* sp.), ácaros (*Tetranychus* sp.), antracnosis (*Colectotrichum gloesporium*), *Fusarium oxysporum* y nematodos (*Meloidogyne* spp.) (ICA, 2011).

2.2 Nematodo agallador de la raíz (*Meloidogyne* spp.)

2.2.1 Generalidades de los nematodos

Los nematodos son animales de aspecto filiforme, alargados, pequeños, por lo general miden de micras a milímetros, por esa razón la mayoría de ellos son observables solo al microscopio (Hidalgo, 2008). Pertenecen al filo nematoda, por lo tanto son animales redondos simétricos no segmentados, incoloros y cubiertos por una cutícula, por lo que se distinguen bastante de los anélidos (Sasser, 1989; Decraemer & Hunt, 2013). Están ampliamente distribuidos por todo el

planeta, en todos los hábitats, como el suelo y sobre todo medios acuáticos; y son huéspedes perjudiciales de animales y plantas, aunque pueden ser también beneficiosos (Hidalgo, 2008).

Los nematodos fitoparásitos invaden y se desarrollan en tallos, hojas, semillas y raíces, por lo que producen pérdidas considerables en cultivos de importancia económica (Román & Acosta, 1985). Algunas especies presentan dimorfismo sexual, es decir que la hembra tiene diferente forma y tamaño con respecto al macho, una vez que se establece su sitio de alimentación (Sepúlveda, Sepúlveda, & Morales, 2012).

Los nematodos del nudo de la raíz son endoparásitos sedentarios distribuidos por todo el mundo. El género *Meloidogyne* consta de 98 especies descritas y parasitan casi todas las especies de plantas vasculares, por lo que obtienen su alimento del citoplasma de las células de las plantas hospederas (Hidalgo, 2008). El ataque del nematodo induce a la formación de nudos o agallas en las raíces penetradas, lo que ocasiona una disminución en el crecimiento de la planta, debilitamiento de la misma y susceptibilidad al ataque de patógenos como *Fusarium oxysporum* (Zarate, 2008; Jones et al., 2013).

Meloidogyne spp. se encuentra en todo tipo de suelos, pero las poblaciones más severas están en los suelos arenosos ya que contribuyen a una mejor aireación y facilidad para que el nematodo se mueva por la zona radical (Ruíz, 2011).

2.2.2 Taxonomía

A continuación se presenta la clasificación taxonómica del nematodo del nudo de la raíz:

REINO	Animal
FILUM	Nematoda
CLASE	Secernentea
SUBCLASE	Diplogasteria

ORDEN	Tylenchida
SUPERFAMILIA	Tylenchoidea
FAMILIA	Heteroderidae
GÉNERO	<i>Meloidogyne</i>

2.2.3 Importancia

Los nematodos del género *Meloidogyne* están distribuidos en todo el mundo, en diversidad de regiones y con una gran capacidad de adaptación a climas cálidos y fríos (Moens, Perry, & Starr, 2009). Se asocian con otros patógenos como bacterias y hongos, intensificando la infección, además de las dificultades en su control y erradicación (Zarate, 2008). Causan pérdidas significativas ya que afectan diversos cultivos de importancia comercial y económica, pues reducen considerablemente la producción y rendimiento. El umbral económico de daños aproximado para *Meloidogyne* spp. es de 0,5 a 2 juveniles por gramo de suelo (Zarate, 2008; Moens, Perry, & Starr, 2009).

2.2.4 Morfología

Son gusanos cilíndricos microscópicos pues miden solamente micras, la pared del cuerpo consta de 3 capas que son: cutícula, hipodermis y músculos longitudinales (Decraemer & Hunt, 2013). Cuentan con dos estructuras especializadas para la parasitosis, que son el estilete, ubicado en la parte anterior del nemátodo y que le permite penetrar la pared y membranas de las células del hospedero; y las glándulas secretoras esofágicas, que emiten sustancias bioquímicas para la penetración, para facilitar su alimentación al interior de las raíces y formación del syncitium o lugar de alimentación del nematodo (Vanholme et al., 2004).

Poseen un sistema nervioso central y unos órganos quimiosensoriales llamados ánfidios, que les permiten interactuar con su hospedero, además de otros órganos como son papilas, setas y

fásmidos (Vanholme et al., 2004). Los dos primeros cumplen un rol de ser receptores táctiles mientras que el rol de los fásmidos no es claro, se piensa que son perceptores de feromonas para el apareamiento (Smant, 2011).

El género *Meloidogyne* se caracteriza por el dimorfismo sexual, donde las hembras tienen una forma esférica, de color blanco perla, la región perineal es variable, al igual que el arco dorsal, que puede ser desde redondo a trapezoidal y el poro excretor se encuentra anterior al bulbo medio. Los machos tienen marco cefálico y estilete bien desarrollados, un disco labial y apertura de los ánfidos bien pronunciados, espícula delgada de 20 a 40 μm de largo y gobernáculo de 10 μm de largo aproximadamente (Karszen, Wesemael, & Moens, 2013).

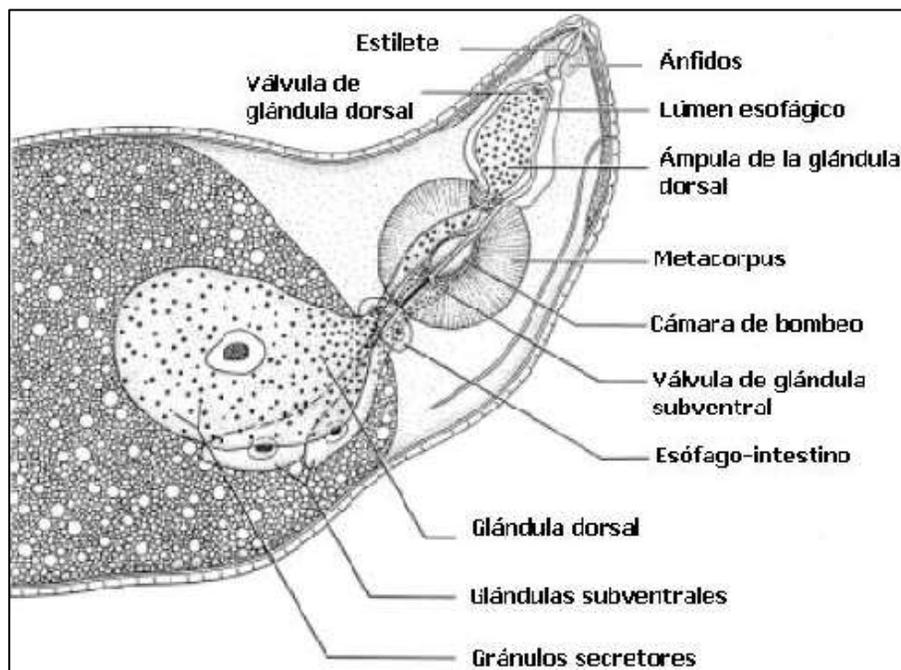


Figura 1 Representación morfológica del esófago de una hembra adulta de *Meloidogyne* spp.

Fuente: Zarate, 2008.

2.2.5 Ciclo de vida

El ciclo de vida es similar en todas las especies del género *Meloidogyne*; sin embargo la tasa de desarrollo depende de la temperatura y el hospedante. El ciclo puede durar entre 30 y 50 días,

y las temperaturas óptimas están entre 15 y 25 °C (Armendariz et al., 2015). Según las condiciones ambientales, sobre todo el grado de alimentación, predisponen a una población significativa de machos o hembras, condiciones adversas induce al apareamiento de más machos (Bermeo, 2015).

Los nematodos del nudo permanecen la mayor parte de su vida al interior de las raíces de los hospederos, pueden reproducirse por partenogénesis mitótica (progenie clonal, generalmente en condiciones ideales, prevalecen las hembras) o meiótica (Zarate, 2008).

El ciclo de vida de *Meloidogyne* consta de un estado de huevo, 4 estados juveniles y 1 adulto. El cambio de un estado a otro está definido por ecdisis, que es el acto del cambio de cutícula que recubre el cuerpo del nematodo (Ortuño et al., 2005). Las hembras adultas ponen huevos en una matriz gelatinosa que sirve de protección y es denominada masa de huevos, las cuales pueden encontrarse en la superficie de la raíz o al interior de las agallas y pueden contener hasta 1000 huevos. Al interior de cada huevo transcurre la embriogénesis donde se desarrolla la larva hasta la primera etapa juvenil (J1), la primera muda ocurre al interior del huevo a juvenil infeccioso de segunda etapa (J2), abandona el huevo y penetra la raíz para establecer su sitio de alimentación, gracias a su estilete y a la secreción de enzimas para degradar la pared celular. Con el sedentarismo puede tener a disposición el alimento necesario para las etapas J3 y J4, igualmente diferenciadas por la muda (Jones et al., 2013). En la etapa adulta, los machos abandonan la raíz y las hembras toman una forma globular y se quedan inmóviles, la producción de huevos inicia pasadas las 3 a 6 semanas de la infección inicial dependiendo de las condiciones ambientales (Moens et al., 2009).

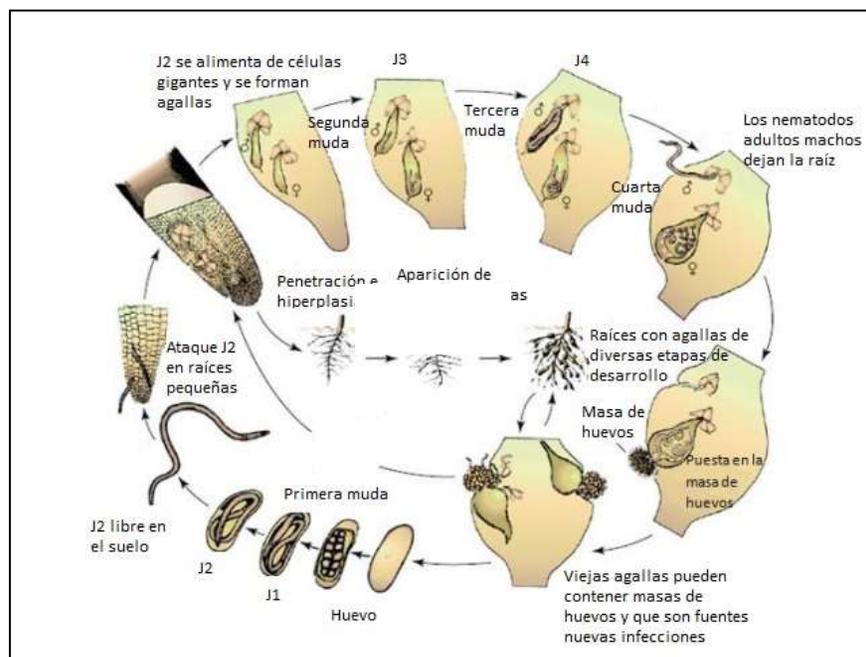


Figura 2 Ciclo de vida de *Meloidogyne* spp.

Fuente: Modificado de Agrios, 2005.

2.2.6 Rango de hospederos

En Ecuador, *Meloidogyne* spp. se encuentra ampliamente distribuido en las regiones de la Costa, Sierra y Oriente, tanto en suelos cultivados como en la vegetación natural (Revelo et al., 2007). Las especies que han sido descritas en el país se encuentran en una amplia gama de hospederos, por ejemplo *M. javanica* se encuentra en cultivos de la costa como caña de azúcar; *M. incognita* se encuentra en cultivo como arveja hasta en banano; *M. arenaria* en plantas de fréjol y tomate; *M. hapla* en cultivos hortícolas y rosas (Eguiguren & Défaz, 1992).

La especie *M. arenaria* es una de las más comunes y ampliamente distribuidas, induce a agallas grandes en las raíces de las plantas y es capaz de reproducirse en muchas plantas monocotiledóneas, principalmente el maní y dicotiledóneas. Se encuentra en las regiones más cálidas del mundo (Karszen et al., 2013).

La especie *M. hapla* es una de las más comunes en todo el mundo, los hospederos son plantas dicotiledóneas principalmente cultivos alimentarios importantes y ornamentales, también se han

encotrado en el trébol y el alfalfa, las agallas que producen son relativamente pequeñas. Se encuentra distribuida en todo el mundo, en climas templados y en regiones tropicales y subtropicales de mayor altitud (Hunt & Handoo, 2009; Ravichandra, 2014).

La especie *M. incognita* es una de las de mayor importancia económica a nivel mundial, induce a la formación de agallas grandes e irregulares, tiene una amplia gama de plantas hospederas, principalmente verduras. Se encuentran en zonas templadas principalmente en invernaderos (Karssen et al., 2013; Ravichandra, 2014).

La especie *M. javanica* es una de las especies más comunes y ampliamente distribuidas, induce a la formación de agallas grandes y se encuentra en varios cultivos de plantas mono y dicotiledóneas. Se encuentra más frecuentemente en regiones cálidas y secas (Hunt & Handoo, 2009; Ravichandra, 2014).

2.2.7 Métodos de extracción de nematodos

Para aislar los nematodos de la muestra en la que se encuentran y analizarlos, existen métodos de extracción, que constan de una serie de procesos, basados en algunas propiedades como peso y tasa de asentamiento, tamaño y forma y movilidad de los nematodos. El peso y tasa de asentamiento permite que en fluidos como el agua los nematodos se separen y decanten más rápido que las partículas del sustrato. El tamaño y la forma mediante el uso de tamices permiten separar nematodos de otras partículas e incluso entre diferentes géneros. La movilidad de los nematodos, los separa de otras partículas cuando la muestra se dispone en papel filtro en bandejas y los nematodos se trasladan de la muestra al agua (Van Bezooijen, 2006).

Para la elección del método de extracción a utilizar en un análisis nematológico es preciso saber el tipo de muestra a analizar y si vamos a obtener larvas o quistes, ya que de ello también depende el método que obtenga mejores resultados. Para la extracción de nematodos del material

vegetal se usa el método de la centrifugadora y otros basados en la movilidad, en el caso de extracciones de suelo y otros sustratos se usan métodos basados en el peso y tasa de asentamiento (Nijs, 2013).

Uno de los principios más usados y eficientes es la elutriación, que se usa para la extracción de nematodos del suelo u otros tipos de sustratos que puedan ser lavados en una suspensión. El principio empleado en este método es la diferencia en tamaño, forma y velocidad de sedimentación entre los nematodos y las partículas del sustrato, ya que una corriente inferior produce que los nematodos y partículas más finas floten en la columna de extracción mientras que las partículas más pesadas se asientan en la parte inferior de los elutriadores; en el caso de conjugar la elutriación con la limpieza de la suspensión recogida a través de los filtros, se basa también en la movilidad de los nematodos (Van Bezooijen, 2006).

Es necesario seleccionar un método apropiado para cada situación, tomando en cuenta el tipo de muestra, factores externos y costos, incluso se puede combinar varios de ellos para obtener mejores resultados.

2.4 Relación planta-nematodo

2.4.1 Mecanismo de infección

Los nematodos del género *Meloidogyne* son considerados endoparásitos sedentarios, que pasan casi todo el ciclo de vida dentro de las raíces de las plantas, donde fijan su sitio de alimentación y succionan nutrientes del mismo para su desarrollo y reproducción (Palomares-Rius, 2009). La interacción entre estos y la planta es compleja, ya que los nematodos han desarrollado la capacidad de manipular la genética y el metabolismo de la planta, para generar estructuras de alimentación altamente especializadas de las que se benefician para suplir sus requerimientos nutricionales (Vanholme et al., 2004).

Los tejidos de las raíces alrededor del nematodo y las células gigantes sufren hiperplasia e hipertrofia, que resulta en la característica agalla de la raíz. Las agallas generalmente se desarrollan uno o dos días después de la penetración del J2 (Jones et al., 2013). El tamaño de la agalla se relaciona comúnmente con el número de nematodos presentes en el tejido, pero también puede depender de la especie de planta parasitada (Palomares-Rius, 2009). Las agallas producidas por la mayoría de las especies del género *Meloidogyne* son similares, pero pueden variar en tamaño y forma dependiendo de la planta huésped, del número juveniles y de la especie, lo que puede ser útiles para su identificación (Karssen et al., 2013).

Los nematodos al interior de la raíz migran intercelularmente separando las células de la lámina media, establecen su sitio de alimentación, que consiste en cinco a siete células gigantes multinucleadas con alta actividad metabólica. Las células luego de pasar por varios ciclos de mitosis son citocinesis llegan a ser multinucleadas y genéticamente se expresan de manera diferente a comparación de las células normales (Vanholme et al., 2004).

Las secreciones del nematodo son las que ocasionan la alteración celular en la planta. Estas secreciones son alrededor de 60 proteínas que aún no han sido estudiadas en su totalidad, pero las que sí han sido englobadas en dos grupos, las proteínas modificadoras de la pared celular de plantas y unos posibles genes de parasitismo. Las proteínas modificadoras de pared celular son celulasas, pectoliasas, quitinasas, proteínas de unión a celulosa, entre otras y los genes de parasitismo son algunas proteínas como calreticulina, proteínas tipo alergénicas del veneno y RanBPM, entre otros (Palomares-Rius, 2009).



Figura 3 Células gigantes multinucleadas,
N hembra en su sitio de alimentación

Fuente: Palomares-Rius, 2009.

2.3 Resistencia y tolerancia

La resistencia y la tolerancia son características independientes en una planta, que se deben comparar bajo las mismas condiciones y con la misma cantidad de inóculo (Trudgill, 1991).

2.3.1 Resistencia

La resistencia es la capacidad que tienen los genes del hospedero para restringir o prevenir la multiplicación del nematodo en dicha especie, generalmente lo afectan después de la invasión (Trudgill & Blok, 2001). Existen mecanismos involucrados en la resistencia, algunos de los cuales no han sido bien descritos todavía, sin embargo se señala que hay mecanismos activos y pasivos de defensa (Zarate, 2008)

Los mecanismos de defensa pasivos son las toxinas o extractos de la planta que rechazan la actividad del nematodo (Palomares-Rius, 2009). Las plantas hospederas suelen producir principios activos y metabolitos secundarios como alcaloides, terpenoides y fenilpropanoides, que actúan como repelentes, paralizantes e incluso pueden causar la muerte de los nematodos (Gelpud et al., 2011).

El rol que cumplen las fitohormonas en la formación de células gigantes y el mecanismo de resistencia todavía no ha sido bien descrito; sin embargo se piensa que intervienen en el ciclo

celular y los cambios de la pared vegetal (Palomares-Rius, 2009). Hay algunos reguladores de crecimiento que han sido identificados en elevadas concentraciones después que *Meloidogyne* spp. ha infectado la raíz, como las auxinas y citoquininas, además del etileno, cuya aplicación puede volver a las plantas susceptibles (Karssen et al., 2013). También se ha descubierto el rol importante del ácido salicílico (AS) que actúa como disparador de señales de alerta de las células vegetales (Gelpud et al., 2011; Wuyts, 2006).

Los mecanismos de defensa activos están relacionados con la expresión génica, que consiste en la activación de los genes de resistencia. En el caso de *Meloidogyne* spp. se han identificado varios genes de defensa como son *Mi-1*, *Mi-3* y *Mi-9* en tomate, entre otros (Trudgill & Blok, 2001; Zarate, 2008). Estos mecanismos de defensa incluyen aspectos morfológicos de la planta como paredes celulares con altos niveles de lignina, que resisten las enzimas hidrolíticas secretadas por los nematodos en el momento de la infección; e involucran también la necrosis de los tejidos alrededor del nematodo o su sitio de alimentación para evitar su desarrollo (Wuyts, 2006; Gelpud et al., 2011).

La mayoría de los genes de resistencia R son dominantes como lo son los genes de virulencia de los patógenos Avr. El gen *Mi-1* del tomate que confiere resistencia contra el nematodo del nudo de la raíz ha sido explotado y ampliamente estudiado para otros hospederos como tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y pimiento (*Capsicum annuum*) (Ravichandra, 2014).

La resistencia a los nematodos fitoparásitos como *Meloidogyne* spp. puede darse en diferentes circunstancias. Existe la llamada resistencia preinfecciosa que ocurre antes de que el nematodo ingrese a la planta y está relacionada con los exudados que pueden producir las plantas que actúan como nematocidas o a su vez no segregan compuestos que funcionan como atrayentes para que los nematodos encuentren la raíz y la infecten. También está relacionada con la especificidad

huésped-patógeno, es decir hay plantas que no son compatibles con los nematodos por lo tanto estos no pueden establecerse (Palomares-Rius, 2009).

Un segundo nivel de resistencia sucede cuando los nematodos ingresan a la planta y se establece la inmunidad propia del huésped, pero suele ser efectiva solamente con poblaciones particulares y no con todas las especies de un mismo género, la resistencia puede ser amplia u horizontal, que se da con varias especies de nematodos o la resistencia vertical contra nematodos específicos (Tomezak, Koropacka, Smant, Goverse, & Bakker, 2009).

Los mecanismos de resistencia dificultan el proceso de infección en estados de penetración, desarrollo y reproducción, lo que impide el acoplamiento a las células radicales y el establecimiento de los sitios de alimentación, y a su vez disminuye drásticamente la tasa de reproducción del nematodo (Gelpud et al., 2011).

2.3.2 Tolerancia

La tolerancia está relacionada con la capacidad que posee el genotipo del hospedero para recuperarse o resistir los efectos nocivos del ataque del nematodo y producir a pesar de ello; para poder evaluar la tolerancia de los cultivares se consideran dos factores que son el crecimiento y el rendimiento, estudiados en entornos similares y que se identifica comparando plantas inoculadas con el nematodo y plantas sanas (Trudgill, 1991). La tolerancia es importante sobre todo en plantas silvestres y variedades locales, pero para que sea deseable se la debe asociar con otros caracteres, específicamente productivos, y que este atributo no se pierda durante la reproducción del cultivo (Davis & May, 2003).

Aunque la resistencia y tolerancia son propiedades independientes, los diferentes niveles de tolerancia pueden afectar la reproducción del nematodo e influir en que una planta sea resistente o susceptible, dependiendo de la densidad poblacional a la que esté expuesta la planta (Trudgill &

Blok, 2001). Además, en el trabajo de fitomejoramiento para combatir al nematodo formador del nudo de la raíz, lo que se busca en el material vegetal es que ambas propiedades estén asociadas. La tolerancia es un atributo importante sobre todo en localidades donde no se disponen cultivares resistentes (Vanholme et al., 2004).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.4 Ubicación

3.4.1 Ubicación política

La evaluación de la resistencia/tolerancia a *Meloidogyne* sp. de 10 líneas promisorias de naranjilla se realizó en la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (EESC-INIAP) ubicada en la parroquia Cutuglagua, cantón Mejía, provincia Pichincha – Ecuador. El ensayo se estableció en los invernaderos y laboratorios del Departamento Nacional de Protección Vegetal.

3.4.2 Ubicación geográfica

La Estación Experimental Santa Catalina – INIAP se encuentra ubicada en $00^{\circ} 22'S$ y $78^{\circ} 33'O$, a una altitud de 3058 m.s.n.m. (Figura 4).



Figura 4 Ubicación geográfica de la Estación Experimental Santa Catalina-INIAP

Fuente: Google, 2019.

3.4.3 Ubicación ecológica

La Estación Experimental Santa Catalina – INIAP está ubicada en la región húmeda temperada y tiene las siguientes características mencionadas en la tabla 1.

Tabla 1

Ubicación ecológica de la Estación Experimental Santa Catalina–INIAP

Característica	
Temperatura media	15,3 °C
Precipitación	1400 mm/año
Humedad relativa	79%

Fuente: INAMHI, 2015.

Este estudio se realizó en invernadero bajo condiciones ambientales controladas.

3.5 Materiales

3.5.1 Insumos

Para la realización de la actividad se utilizaron los siguientes insumos: semillas de naranjilla, bandejas de germinación, fundas, sustrato autoclavado (75% tierra, 25% cascarilla), libreta de campo, agroquímicos, agua destilada, agua, raíces de tomate de mesa infectadas con *Meloidogyne* sp., tamices (25, 43, 75 y 100 μ m), cajas Petri, placas portaobjetos, cubreobjetos, equipo de disección, pañuelos desechables, regla, micropipetas, punta de micropipetas, tubos Eppendorf, campana de alcohol, campana de silica gel, siracusas, tubos de centrifuga.

3.5.2 Equipos

Se usaron los siguientes equipos en esta investigación: cámara fotográfica, computadora, licuadora, termómetros, elutriador de Oostembrick, bandejas de incubación, microscopio óptico, estereoscopio, estufa, balanza, bomba de pecera, baño maría, medidor de clorofila CCM-200 plus de Opti.Sciences.

3.5.3 Reactivos

Los reactivos que se emplearon en el estudio fueron: alcohol potable, alcohol antiséptico, solución de hipoclorito de sodio 0,5%, formaldehído, ácido acético, etanol, glicerina, 2,3,5 – trifenil cloruro de tetrazolio, agua destilada.

3.5.4 Programas informáticos

Se utilizaron los siguientes programas informáticos en la presente investigación: RStudio (versión 1.1.463, RStudio Team, 2016), Axiovision Release 4.8 (versión 4.8.2.2, Carl Zeiss, 2010).

3.6 Metodología

En el presente estudio se evaluó la resistencia/tolerancia a *Meloidogyne* sp. de 10 líneas promisorias de naranjilla, mediante la siguiente metodología:

3.6.1 Establecimiento del ensayo en invernadero

a) Pruebas de calidad y viabilidad de semillas de naranjilla

Se realizó el ensayo de tetrazolio en las semillas de cada línea promisorias de naranjilla con el fin de evaluar la calidad y el porcentaje de viabilidad de las semillas. Se preparó la solución de tetrazolio a una concentración del 1%, que se obtuvo diluyendo 10 gramos de 2,3,5 – trifenil cloruro de tetrazolio en 1 litro de agua destilada. Previamente se dejaron remojar en agua 20 semillas de cada línea durante 24 horas. Después se realizó un corte longitudinal a cada semilla de cada línea promisorias y se colocó en la solución de tetrazolio durante una hora dentro de la estufa a 45°C. Posteriormente se dispusieron las semillas en una caja debidamente etiquetada y numerada para el análisis y se contó las semillas viables (Figura 5).

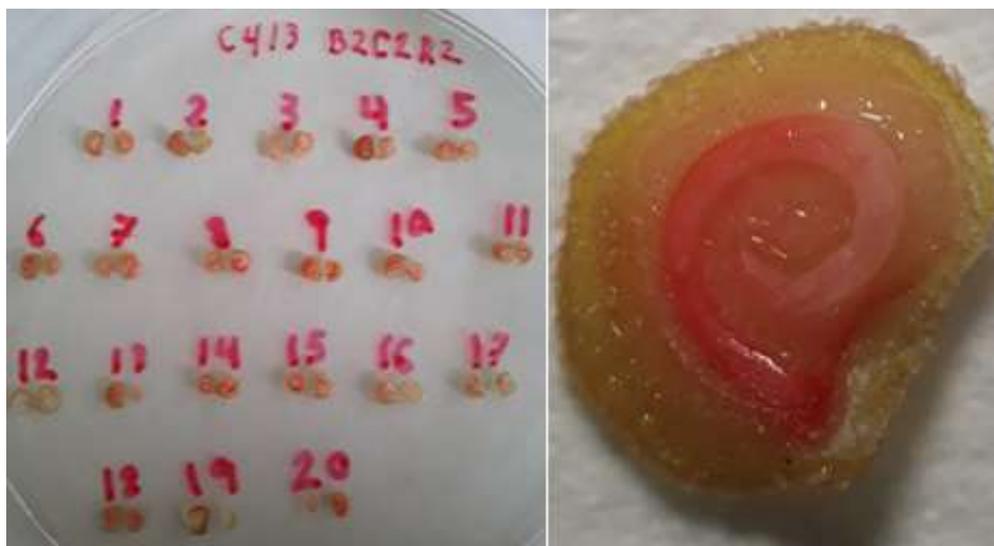


Figura 5 a) Disposición de las semillas en caja b) Tinción del endospermo

b) Germinación de las semillas de las líneas promisorias de naranjilla

Se seleccionaron entre 100 semillas por cada línea promisorias de naranjilla y los controles, se limpió cualquier residuo de las mismas, se remojaron por 24 horas en una solución de agua y peróxido de hidrógeno (3:1). Se colocaron en cajas Petri con papel toalla húmedo y se dispusieron en la estufa a una temperatura de 40°C. Se contabilizaron y se registraron en el tiempo las semillas germinadas para obtener el porcentaje de germinación de cada línea (Figura 6).



Figura 6 Germinación de las semillas de naranjilla

c) Establecimiento de las líneas promisorias de naranjilla

Se dispusieron las semillas germinadas en bandejas de germinación, se colocaron auxinas, hasta que desarrollaron hojas verdaderas y posteriormente se colocaron estas plántulas en fundas plásticas de 1,5 Kg de capacidad, con suelo y cascarilla autoclavados en proporción 3:1. Se realizaron los cuidados agronómicos necesarios, riego 3 veces a la semana, fertilización con foliares (Menorel inicio) y 10-30-10, control de mosca blanca con Evisect. Igualmente se realizó el control de la temperatura hasta el momento de la evaluación de las variables.

3.3.2 Extracción de *Meloidogyne* sp.

La población de nematodos se obtuvo a partir de raíces infestadas de tomate riñón y que han sido mantenidas en el invernadero del Departamento Nacional de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina- INIAP desde el 2014. Esta población es proveniente del sector de Tandapi, cantón Mejía, provincia Pichincha.

Se realizó la extracción de nematodos desde raíz mediante el método de Hussey & Barker (1973) para lo cual se tomó muestras de tomate de mesa, en los cuales se había multiplicado el nematodo. Se removió la tierra presente en las raíces mediante agitación y lavados con agua. Después, se licuó las raíces con agallas y huevos con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5% por 10 segundos. Posteriormente se pasó el contenido por un tamiz de 75 μm de apertura seguido por un tamiz de 25 μm , después se lavó con abundante agua y por último se recogió los nematodos en un recipiente metálico con agua destilada (Figura 7).



Figura 7 a) Raíces cortadas b) Tamizado de las raíces licuadas

3.3.3 Identificación morfométrica de *Meloidogyne* sp.

La identificación morfométrica se realizó mediante observaciones y mediciones de nematodos aislados. Se tomaron 25 individuos juveniles y se fijaron mediante la metodología de Seinhorst (1966). Se depositaron los nematodos en recipientes cóncavos de vidrio con una mínima cantidad de agua y se colocó el fijador caliente formaldehído: ácido acético 4:1 durante 24 horas. Posteriormente se añadió la solución I (20% etanol, 1% glicerina y 79% de agua) en los recipientes con nematodos y se colocó en un desecador con alcohol 97% durante 24 horas en la estufa a 40°C. Luego se reemplazó el líquido por la solución II (93% etanol y 7% de glicerina) y se colocó el recipiente en un desecador con silicagel en la estufa a 40°C. Cada 15 minutos era rellenado el recipiente con la misma solución, pues de esta se evapora el alcohol hasta quedar completamente la glicerina. Se dispuso los nematodos en placas portaobjetos con una gota de glicerina, se colocó el cubreobjetos y se selló con esmalte. Finalmente se observaron las placas en el microscopio.

La confirmación morfológica se realizó mediante morfometría en microscopio óptico Axioskope. Los caracteres morfométricos se procesaron en el programa Axiovision Release 4.8 (Carl Zeiss, 2010) que se muestran en la tabla 2.

Tabla 2

Variables morfométricas que se realizaron para la identificación de especies de Meloidogyne

Carácter morfométrico	Estado de desarrollo		
	Machos	Juveniles	Hembras
N	25	25	25
Largo del cuerpo (L)	X	X	
Ancho del cuerpo (W)	X	X	
a (L/W)	X	X	
Largo del estilete	X	X	
Distancia del estilete al bulbo medio	X	X	
Distancia del estilete al anillo nervioso	X	X	
Distancia del estilete al poro excretor	X	X	
Patrón perineal			X
Largo de la cola (TL)	X	X	
Ancho de cola	X	X	
C (L/TL)	X	X	
Largo de la cola hialina		X	
h% (h/TL x 100)		X	
Espícula	X		
Gobernáculo	X		
Distancia bulbo medio a poro excretor	X	X	
C'(TL/ancho cola)	X	X	

Fuente: Modificado de Hunt, D. & Handoo, Z., 2009.

Además se tomaron 25 hembras adultas de las agallas de raíces parasitadas y se realizaron cortes de la región perineal mediante la metodología propuesta por Van Bezooijen (2006). Se colocó la hembra en una placa portaobjetos con una gota de lactofenol, después se cortó la región cervical de la hembra, luego se presionó el cuerpo para sacar todo el contenido interno y se realizó varios cortes hasta obtener un cuadrado que contiene el ano y vulva. Posteriormente se sellaron las placas con cubreobjetos y esmalte. Luego se observaron los patrones perineales en un microscopio óptico y se compararon con la bases de datos internacionales (Figura 8).

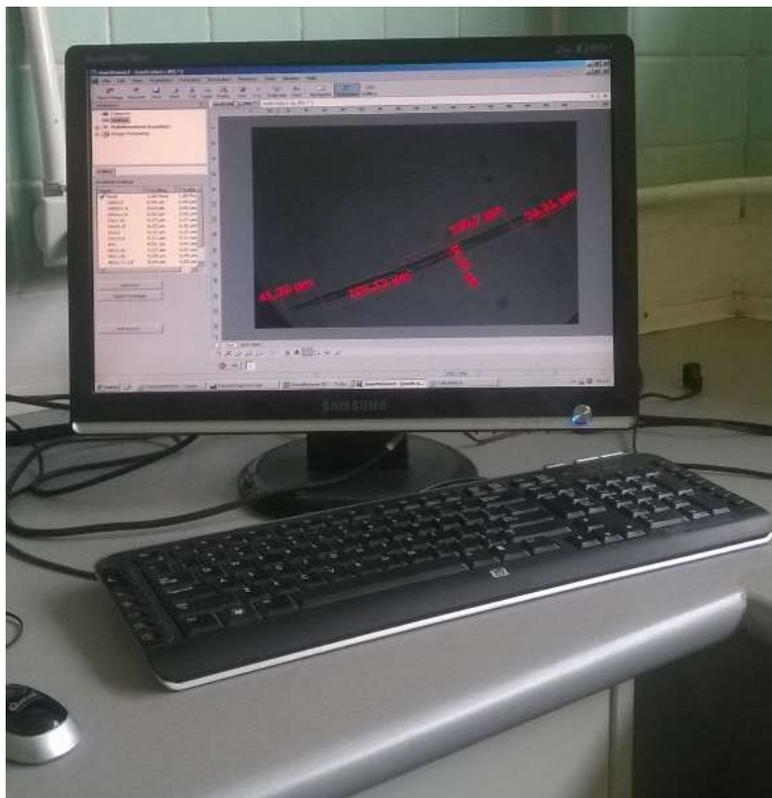


Figura 8 Toma de medidas morfométricas de *Meloidogyne* sp. con el programa Axiovision Release 4.8

3.3.4 Inoculación de *Meloidogyne* sp.

Se aforó el contenido a un volumen de un litro (suspensión inicial) y se homogenizó la suspensión con una bomba de pecera. Luego, se tomó una alícuota de 3 ml, después se depositó en cajas contadoras y se contabilizó los nematodos que se encontraron en este volumen. Se tomó el promedio de 20 alícuotas para determinar la cantidad de nematodos presentes en la suspensión inicial (Ravichandra, 2010). Después, se ajustó la suspensión inicial a 5000 huevos y larvas en 3 ml de agua.

El cultivo tenía tres meses de edad al momento de la inoculación. Se realizó tres agujeros cercanos a la zona radicular de las plantas (5 mm de diámetro de tallo) y se colocó un mililitro del inoculo en cada agujero. Las plantas que sirvieron como control de cada línea promisoría no se

inocularon con el nematodo. Se realizaron 5 repeticiones para cada línea promisoría y se mantuvo el cultivo por 10 semanas hasta el momento de la evaluación de las variables (Figura 9).



Figura 9 Inoculación a las plantas de naranjilla con *Meloidogyne* sp.

3.3.5 Cosecha y evaluación de variables

Una vez transcurridas las 10 semanas desde la inoculación, se realizaron las mediciones de las variables propuestas tanto para resistencia como para tolerancia.

3.3.6 Diseño experimental

3.3.6.1 Tipo de diseño

Para el estudio se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), donde se probó 10 tratamientos y 2 controles (uno resistente y uno susceptible) con 5 repeticiones, también cada tratamiento tuvo su control sin el efecto de la inoculación.

3.3.6.2 Tratamientos

Los tratamientos evaluados fueron 10 líneas promisorias y 2 controles (uno resistente y uno susceptible) de naranjilla sometidos al efecto de la inoculación (5000 huevos y larvas por planta).

Tabla 3

Tratamientos para la evaluación de líneas promisorias de naranjilla al parasitismo de Meloidogyne sp.

Tratamiento	Código	Descripción
T ₁	<i>S. quitoense</i> var. Tandapi	<i>S. quitoense</i> variedad Tandapi
T ₂	<i>S. quitoense</i> x JBF1	<i>S. quitoense</i> var. Tandapi x JBF1
T ₃	(<i>S. vestisimun</i> x <i>S. quitoense</i>) x <i>S. quitoense</i>	(<i>S. vestisimun</i> x <i>S. quitoense</i>) x <i>S. quitoense</i> (<i>S. quitoense</i> x <i>S. vestisimun</i>)
T ₄	(16)16	<i>S. quitoense</i> var. Tandapi x (16)16
T ₅	<i>S. quitoense</i> x (16)16	<i>S. hyporodum</i> x <i>S. quitoense</i> var. Baeza
T ₆	C2-67 B2B3R3	<i>S. hyporodum</i> x <i>S. quitoense</i> var. Baeza
T ₇	C2-67 B1B5	<i>S. quitoense</i> var. Dulce x <i>S. vestisimun</i>
T ₈	19(69)	
T ₉	C4-13B2C2R2	<i>S. quitoense</i> var. Baeza x <i>S. vestisimun</i> x
T ₁₀	314 X 100N	<i>S. quitoense</i>
Control (Resistente)	<i>S. pseudolulo</i>	<i>S. pseudolulo</i>
Control (Susceptible)	<i>S. quitoense</i> var. Baeza	<i>S. quitoense</i> var. Baeza

3.3.6.3 Repeticiones

Se realizaron 5 repeticiones para cada tratamiento y control.

3.3.6.4 Características de las Unidades experimentales

Se utilizaron 120 unidades experimentales, siendo estas las plantas de naranjilla de cada línea promisoría y control, dispuestas en fundas negras con 1,5 kg de sustrato.

3.3.6.5 Croquis del experimento

La disposición del experimento en el invernadero se presenta en la figura 10.

Control (R) I	T2 I	T6 I	T2	Control (S)	T7 I	Control (R) I	T4	Control (R) I	T1 I
T3	T5 I	T1 I	T3 I	T6	Control (S)	T7	T2 I	T5 I	T1
T5	Control (S)	T9 I	T10	T8	T7 I	T2	T8 I	T6 I	T6
Control (S) I	T8 I	T4 I	Control (R) I	T9 I	T10 I	T9	T5	T8	Control (S)
T10	T5 I	T3	T8 I	T2	Control (S)	T6 I	T2	T1 I	T7
T4 I	T4	T9	T6	T10	T10	T10 I	T7 I	T9 I	T3
T7	T7 I	T2	T8 I	T5	Control (R) I	T4	T9	T4 I	T4
T1	Control (S) I	T8	T1	T8	T10 I	T3 I	Control (R)	T7	T10 I
T6 I	T7 I	T3 I	T9 I	T1 I	T9	Control (S) I	T6	T2 I	Control (R)
T2 I	T10	Control (R)	T2 I	T9	T3	T9 I	T1	T3	T5
T6	T3 I	T7	T10 I	T4 I	T4 I	T8	T5 I	T6 I	T3 I
T4	Control (R) I	T5	T5 I	Control (R)	T8 I	T1 I	Control (S) I	T1	Control (S) I

Figura 10 Croquis experimental

3.3.7 Análisis estadístico

3.3.7.1 Modelo matemático

Para el diseño completamente al azar DCA con 5 repeticiones se utilizó el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + L_i + e_{ij}; \text{ donde:}$$

Y_{ij} = Variable de respuesta

μ = Media general

L_i = Efecto del i-ésima línea promisoría de naranjilla

e_{ij} = Error experimental

3.3.7.2 Análisis funcional

Se utilizó el programa informático RStudio (RStudio Team, 2016) para obtener ANOVAs o pruebas no paramétricos en caso de no cumplir con los supuestos de homocedasticidad y

normalidad. Se aplicó la prueba de Diferencia Mínima Significativa al 5% para contraste de medias para tratamientos con significancia estadística. Además, se realizó un análisis de correlación entre el número de agallas, el número de masa de huevos y el incremento poblacional, con el porcentaje de reducción en peso y largo del brote, número de agallas y el porcentaje de reducción de peso y largo de la raíz y número de agallas y reducción de clorofila; y una comparación de medias entre las líneas inoculadas y no inoculadas mediante una prueba *t* al 95% de confianza.

3.3.8 Variables medidas

3.3.8.1 Evaluación de la resistencia a *Meloidogyne* sp.

La evaluación de resistencia a *Meloidogyne* sp. se determinó mediante las variables descritas por Taylor & Sasser (1978) citadas por Costa, Correia, Garcia, & Wilcken (2017) y Karuri, Olago, Neilson, Mararo, & Villinger (2017), que se describen a continuación:

a) Número de agallas

Se contó el número de agallas presentes en el sistema radicular de cada planta extrayéndola de cada maceta y cuantificando la presencia de ellas. Luego se determinó el índice de agallamiento y el grado de resistencia de acuerdo a la escala de índice de agallamiento de Taylor & Sasser (1978) modificada por Mukhtar et al. (2013), como se observa en la tabla 4.

Tabla 4

Índice de agallamiento para determinar la severidad causada por Meloidogyne sp. en raíces

Número de agallas	Índice de agallamiento	Escala de resistencia
Sin agallas	0	Inmune (I)
1-2	1	Altamente resistente (HR)
3-10	2	Resistente (R)
11-30	3	Moderadamente resistente (MR)
31-70	4	Moderadamente susceptible (MS)
71-100	5	Susceptible (S)
Mayor a 100	6	Altamente susceptible (HS)

Fuente: Mukhtar et. al., 2013.

b) Número de masa de huevos

Se contó el número de masa de huevos presentes en las raíces de las plantas usando una solución de floxina B al 0,15%. Se sumergió completamente la raíz en la floxina durante 15 minutos, se lavó y se sumergió en agua durante 10 minutos. Se lavó nuevamente y se observó bajo el estereoscopio, contabilizando las hembras teñidas de rosa fuerte (Figura 11).



Figura 11 Hembras teñidas con floxina B

c) Factor reproductivo

La cantidad final de nematodos pertenecientes a *Meloidogyne* sp. se obtuvo mediante el total de individuos presentes en la raíz y en el suelo. Se cuantificó la cantidad de huevos y larvas del nematodo presentes en la raíz de naranjilla, mediante la metodología de Hussey & Barker (1973) descrita en el apartado 3.3.2.

Para determinar la presencia de nematodos en el suelo, se utilizó la metodología del elutriador de Oostenbrick (Van Bezooijen, 2006). Se tomó una muestra de 100 ml de suelo y se colocó en el tamiz superior del aparato. Se tapó tanto la salida frontal como la inferior y se llenó con agua hasta el primer nivel. Luego, se abrió el flujo inferior de agua a un caudal de 1000 ml/min y se lavó la muestra con la ducha superior hasta que el agua alcanzó el segundo nivel. Se cerró la ducha y se redujo el flujo inferior a 600 ml/min hasta llenar el recipiente. Se abrió la salida

frontal del elutriador y se recolectó la suspensión en tres tamices de 45 μm . Posteriormente se depositó este contenido en un recipiente y se dejó reposar la suspensión por cinco minutos. Se colocó un pañuelo de papel en un tamiz de extracción y se transfirió toda la suspensión. Finalmente se colocó el tamiz en un plato de extracción con 100 ml de agua durante 48 horas y se contabilizó los nematodos presentes en la muestra (Figura 12).

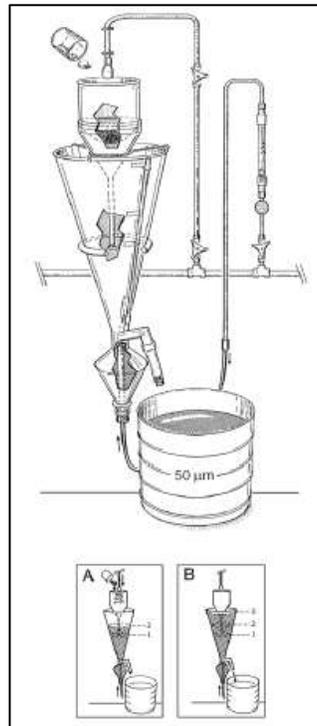


Figura 12 Elutriador de Oostenbrink

La población final (P_f) es la suma entre el número de huevos y los juveniles que se encontraron en el suelo y las raíces de la planta a las 10 semanas de la inoculación. El factor reproductivo se midió mediante la razón entre P_f y población inicial (P_i), la cual fue de 5000 larvas y huevos en cada planta.

$$I = \frac{P_f}{P_i}$$

Donde: I = Incremento de la población

Pf = Población final del nematodo

Pi= Población inicial del nematodo (5000 huevos y larvas/planta)

Se define a una planta resistente al nematodo cuando $I \leq 1$ y una planta susceptible cuando $I > 1$.

3.3.8.2 Evaluación de la tolerancia a *Meloidogyne* sp.

Para esta evaluación se tomaron en cuenta algunos parámetros de crecimiento de la planta según las siguientes variables de acuerdo a lo reportado por Kayani, Mukhtar, & Hussain (2012), Mukhtar et al. (2013) y Pujota (2005). Para estimar tolerancia del material vegetal, se determinó la diferencia estadística significativa entre las plantas inoculadas y no inoculadas de cada línea promisoría mediante la prueba *t* de *student* al 95% de confianza.

a) Incremento de peso de la raíz

Se tomó el peso fresco de las raíces de las plantas del ensayo a las 10 semanas desde la inoculación, luego se relacionó el peso de las raíces de cada planta inoculada con el peso de las raíces de las plantas no inoculadas y se expresó en porcentaje.

$$\% \text{ reducción} = \left(\frac{Pri}{Prn} - 1 \right) \times 100$$

Donde:

Pri = Peso de raíz inoculada

Prn= Peso de raíz no inoculada

b) Incremento del largo de la raíz

Se tomó el largo de las raíces de las plantas del ensayo a las 10 semanas desde la inoculación, posteriormente se relacionó el largo de las raíces de cada planta inoculada con el largo de las raíces de las plantas no inoculadas y se expresó en porcentaje.

$$\% \text{ reducción} = \left(\frac{Lri}{Lrn} - 1 \right) \times 100$$

Donde:

Lri = largo de raíz inoculada

Lrn= largo de raíz no inoculada

c) Incremento en largo y peso del tallo

Se tomó el peso y largo del tallo de las plantas del ensayo a las 10 semanas de la inoculación, después se relacionó el peso/largo de los tallos de cada planta inoculada con el peso/largo de los tallos de las plantas no inoculadas y se expresó en porcentaje.

$$\% \text{ reducción peso tallo} = \left(\frac{Pti}{Ptn} - 1 \right) \times 100$$

Donde:

Pti = Peso del tallo inoculado

Ptn= Peso del tallo no inoculado

$$\% \text{ reducción longitud tallo} = \left(1 - \frac{Lti}{Ltn} \right) \times 100$$

Donde:

Lti = longitud del tallo inoculado

Ltn= longitud del tallo no inoculado

d) Incremento del contenido de clorofila de las hojas

Se realizaron tres mediciones de la hoja más larga de cada planta a dos tercios de distancia desde la punta de la hoja al tallo con un medidor de clorofila. Se tomó el promedio que representa el CCH de cada planta. Luego se relacionó el índice de clorofila de las plantas inoculadas con el

índice de clorofila de las plantas sin inocular y se expresó en porcentaje mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ reducción del contenido de clorofila} = \left(1 - \frac{CCHI}{CCHN}\right) \times 100$$

Donde:

CCHI = contenido de clorofila en hojas de plantas inoculadas

CCHN= contenido de clorofila en hojas de plantas no inoculadas

3.3.9 Selección de materiales resistentes/tolerantes

Se seleccionó los materiales estudiados a partir de la evaluación de la interacción de los parámetros de resistencia (Incremento poblacional) y tolerancia (Incremento de peso y largo de raíz y tallo e índice de clorofila). Esta selección se realizó mediante los criterios de Cook (1974) citados por Revelo et al. (2009) que se visualizan en la tabla 5.

Tabla 5

Reacción de las plantas al efecto de Meloidogyne spp.

Eficiencia del hospedero para la reproducción del nematodo	Daño del nematodo a la planta	
	Estadísticamente significativo (p<0,05)	Estadísticamente no significativo (p>0,05)
Eficiente (Pf/Pi > 1)	Susceptible no tolerante	Susceptible tolerante
No eficiente (Pf/Pi <1)	Resistente no tolerante	Resistente tolerante

Fuente: Revelo et al., 2009.

Cada reacción se describe de la siguiente manera:

Las plantas que tengan una reacción resistente tolerante presentan escasa reproducción del nematodo (Incremento<1) y tolerancia igual o mayor al testigo.

Las plantas que tengan una reacción resistente no tolerante presentan escasa reproducción del nematodo (Incremento<1) y tolerancia menor al testigo

Las plantas que tengan una reacción susceptible tolerante presentan alta reproducción del nematodo (Incremento>1) y tolerancia igual o mayor al testigo.

Las plantas que tengan una reacción susceptible no tolerante presentan alta reproducción del nematodo (Incremento >1) y tolerancia menor al testigo.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la presente investigación se encontraron cinco líneas promisorias de naranjilla con resistencia y tolerancia al parasitismo de *Meloidogyne hapla*. Estas líneas fueron (*S. vestisimun* x *S. quitoense*) x *S. quitoense*, *S. quitoense* x (16)16, C2-67 B2B3R3, C2-67 B1B5, 314 x 100 N y *S. pseudolulo*, de acuerdo a las variables empleadas: índice de agallamiento, incremento poblacional, masa de huevos, largo y peso de tallo y raíz e índice de clorofila.

4.1 Evaluación de la calidad de la semilla

En la investigación se planteó evaluar 10 líneas promisorias de naranjilla y 2 controles para determinar la resistencia/ tolerancia de las mismas. Para establecer el estado y calidad de las líneas se realizaron pruebas de viabilidad de semilla mediante el uso de tetrazolio.

Los resultados de esta prueba se observan en la tabla 6, donde se indica el bajo porcentaje de viabilidad que obtuvieron las líneas promisorias de naranjilla, por lo que ciertas líneas no llegaron a germinar y/o a desarrollarse. Las líneas Naranjilla común Tandapi (*S. quitoense*), *S. quitoense* x JBF1, (16)16, 19(69), C4-13 B2C2R2 y el control Naranjilla común Baeza no se establecieron en el ensayo, ya que obtuvieron bajos valores de viabilidad de la semilla y porcentaje de germinación.

Tabla 6

Prueba de viabilidad y germinación de las semillas de las líneas promisorias de naranjilla

Línea	Viabilidad (%)	Germinación (%)
<i>S. quitoense</i> Tandapi	10	6
<i>S. quitoense</i> x JBF1	0	3
(<i>S. vestisimun</i> x <i>S. quitoense</i>) x <i>S. quitoense</i>	40	80
(16)16	10	5
<i>S. quitoense</i> x (16)16	45	92
C2-67 B2B3R3	10	70
C2-67 B1B5	20	96
19(69)	0	0
C4-13 B2C2R2	10	20
314 X 100N	35	70
<i>S. pseudolulo</i>	15	98
<i>S. quitoense</i> Baeza	-	0

Ruiz (2009) señala que la reacción oxido reducción de los tejidos vivos reduce el tetrazolio a un compuesto llamado formazán que tiñe las células vivas de color rojo, en base a un patrón de tinción del embrión y la intensidad de la coloración se puede determinar la viabilidad de la semilla. Las semillas de las líneas propuestas en esta investigación tenían en su mayoría tinciones tenues del embrión y no se tiñeron partes esenciales como la radícula, que son las que le confieren el poder germinativo a la semilla (Figura 13). Todo esto explica porque ciertas líneas presentaron dificultades para establecerse y otras no se establecieron.

Por lo tanto, durante esta investigación se estudiaron 5 líneas promisorias (*S. vestisimun* x *S. quitoense*) x *S. quitoense*, *S. quitoense* x (16)16, C2-67 B2B3R3, C2-67 B2B5 Y 314 x 100 N y un control resistente *S. pseudolulo*. Por cada línea y el control se seleccionaron 10 plantas, de las cuales cinco se inocularon y cinco se dejaron sin inocular. En total se evaluaron 60 plantas dentro de la investigación.

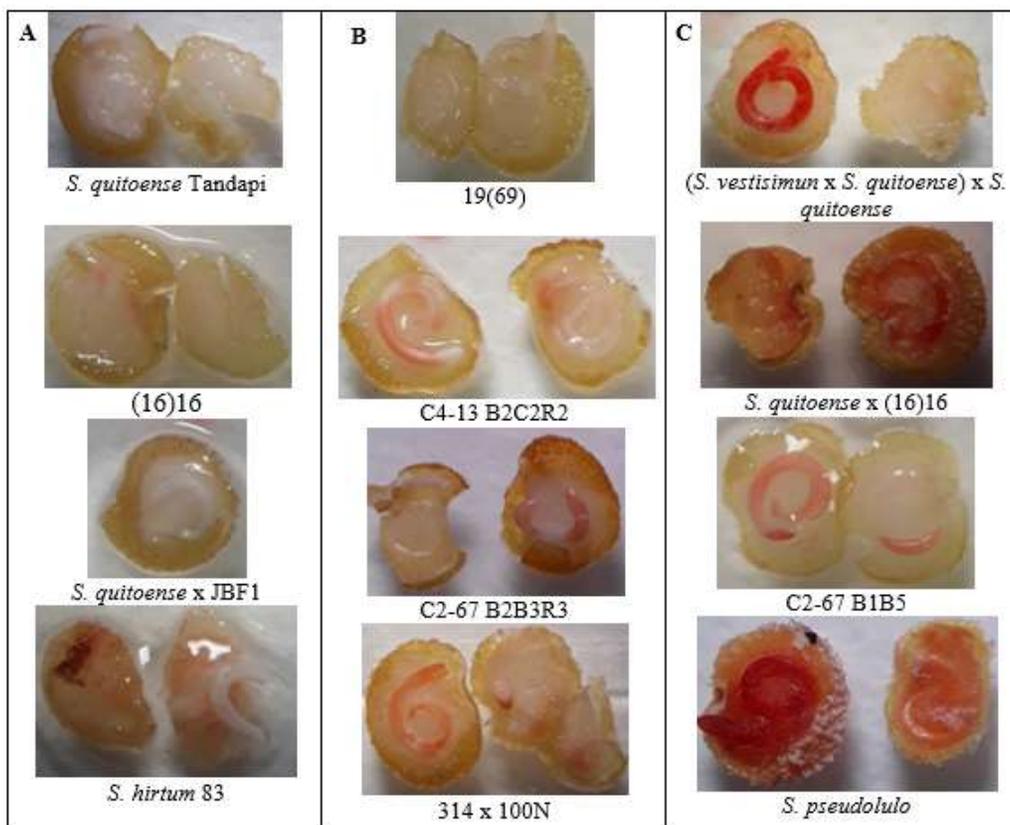


Figura 13 Viabilidad de semillas de las líneas promisorias de naranjilla
 A) semillas no viables B) semillas medianamente viables C) semillas viables

4.2 Identificación morfométrica de *Meloidogyne* sp.

Las mediciones morfométricas de 25 larvas juveniles J₂ y 25 machos se observan en la tabla 7. Las medidas más relevantes para los J₂ fueron largo del cuerpo (340,52±5,11 μm), ancho del cuerpo (13,85±0,22 μm), estilete (12,96±0,23 μm), largo de cola (46,44±1,58 μm), cola hialina (13,41±0,38 μm). En el caso de los machos las medidas fueron largo del cuerpo (1265,20±25,87 μm), ancho del cuerpo (36,38±0,75 μm), estilete (20,83±0,20 μm), espícula (27,00±0,88 μm) y gobernáculo (14,59±0,44 μm).

Tabla 7

Medidas morfométricas del segundo estado juvenil (J₂) y del adulto macho de Meloidogyne sp.

Carácter morfométrico	Machos (µm)	J₂ (µm)
Largo del cuerpo (L)	1265,20±25,87 (1011,07-1439,74)	340,52±5,11 (309,65-408,75)
Ancho del cuerpo (W)	36,38±0,75 (30,21-44,42)	13,85±0,22 (11,95-16,06)
Largo del estilete	20,83±0,20 (19,09-22,46)	12,96±0,23 (9,60-14,22)
Distancia del estilete al bulbo medio	83,48±1,25 (70,50-93,47)	53,16±0,72 (46,22-63,06)
Distancia del estilete al anillo nervioso	93,88±1,35 (79,27-105,20)	61,52±0,73 (56,84-74,35)
Distancia del estilete al poro excretor	97,87±1,31 (85,05-109,10)	65,65±0,84 (60,35-79,42)
Largo de la cola (TL)	9,99±0,32 (6,71-14,26)	46,44±1,58 (31,10-63,59)
Ancho de la cola	16,46±0,53 (12,51-24,26)	9,62±0,29 (7,14-12,24)
Largo de la cola hialina (h)	-	13,41±0,38 (10,05-17,25)
Espícula	27,00±0,88 (17,27-32,35)	-
Gobernáculo	14,59±0,44 (9,65-19,30)	-
a (L/W)	34,99±0,83 (28,98-44,98)	24,73±0,53 (20,11-30,76)
H% (h/TL x 100)	-	29,56±1,22 (19,67-45,98)
Distancia bulbo medio a poro excretor	14,39±0,21 (13,07-18,42)	12,49±0,47 (8,64-17,27)
C (L/TL)	129,82±5,03 (93,23-186,66)	7,53±0,27 (5,14-11,11)
C' (TL/ancho de cola)	0,61±0,02 (0,42-0,78)	4,85±0,12 (4,12-6,25)

Las medidas obtenidas de los J₂ (n=25) y los machos (n=25) en esta investigación están dentro del rango para la especie *Meloidogyne hapla*. Estos resultados coinciden con los reportados por Ravichandra (2014), Karssen et al. (2013) y Hunt & Handoo (2009) para los parámetros morfométricos mas relevantes de los machos como son largo de cuerpo (791-1432 µm), ancho del cuerpo (33,3-47 µm), estilete (17,3-22,7 µm), espícula (21,6-28,1 µm) y gobernáculo (7,2-12,3 µm). Solano-González et al. (2015), Ravichandra (2014) y Hunt & Handoo (2009) reportan las siguientes medidas para J₂, largo del cuerpo (312-420 µm), ancho del cuerpo (14-15 µm),

estilete (10-14 μm), largo de cola (48,2-69,8 μm), cola hialina (11,7-18,9 μm). Algunos de los caracteres morfométricos pueden no ajustarse a los rangos reportados en otros estudios ya que los nematodos se encuentran en condiciones ambientales diferentes que influyen en el desarrollo y por lo tanto en la morfología del nematodo (Peraza-Padilla et al., 2013).

Además se cotejaron las partes importantes de los cortes perineales como son el campo lateral, arco dorsal, estrías, cola terminal, disposición de ano y vulva. Los patrones perineales de 25 hembras de *Meloidogyne* sp. presentaron arco dorsal bajo redondeado, cresta lateral ausente, puntuaciones en el área terminal de la cola y estrías ligeramente onduladas y fina, como se observa en la figura 14.

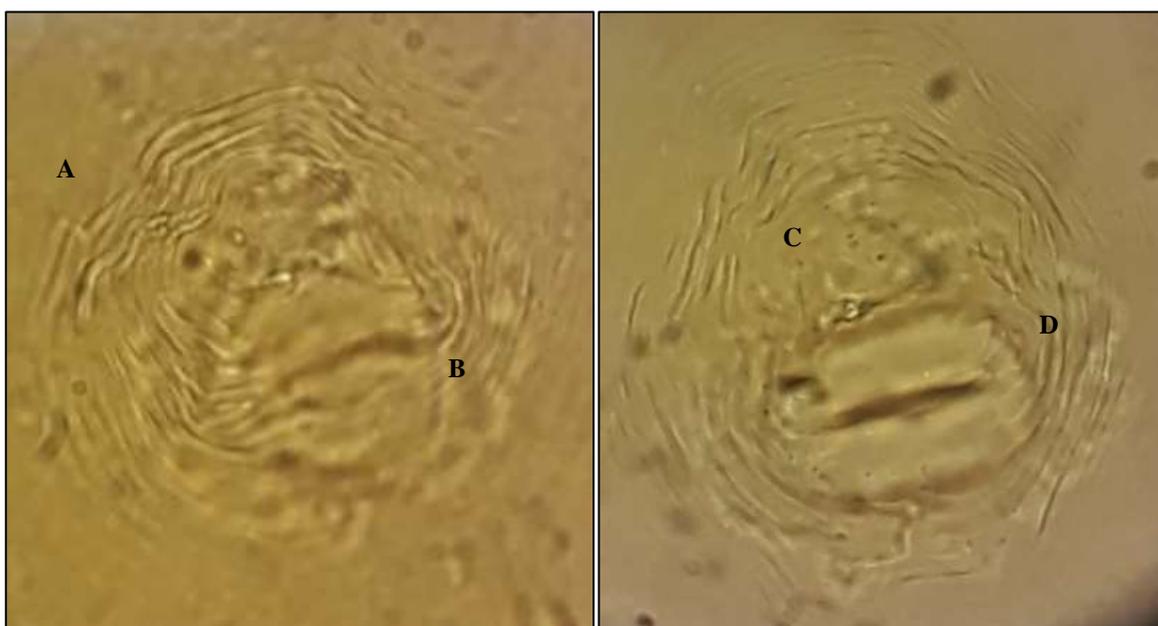


Figura 14 Patrón perineal de la especie en estudio A) arco dorsal bajo redondo B) estrías ligeramente onduladas y finas C) puntuaciones en el área terminal D) cresta lateral ausente

Los patrones perineales observados en las hembras del inoculo del ensayo presentaron rasgos distintivos que coinciden con la especie de *Meloidogyne hapla*, tal como lo reportan (Vergel et al. (2000) y (García-Bastidas et al. (2004) en sus estudios.

En base a todo lo anteriormente descrito, la población utilizada en la presente investigación corresponde a la especie *Meloidogyne hapla*.

4.3 Evaluación de la resistencia

En la tabla 8 se muestran las variables para evaluar la resistencia de las líneas promisorias de naranjilla en estudio. Se encontró que el número de agallas ($F_{5,22}= 1,935$; $p= 0,129$) y el incremento poblacional ($F_{5,22}= 1,65$; $p= 0,189$) no presentaron diferencias significativas. Sin embargo el número de masa de huevos ($F_{5,22}= 4,45$; $p= 0,0060$) si presentó diferencias significativas, la línea con menor número de masa de huevos fue 314 x 100N ($15,25\pm 4,50$ masa de huevos) y la línea con mayor masa de huevos fue *S. quitoense* x (16)16 ($50,80\pm 8,60$ masa de huevos).

Tabla 8

Número de agallas, índice de agallamiento, escala de resistencia, masa de huevos, factor reproductivo y reacción de cinco líneas promisorias de naranjilla para la evaluación de la resistencia/ tolerancia a Meloidogyne hapla

Fuente	Número de agallas	Índice de agallamiento	Escala de resistencia*	Masa de huevos**	Incremento poblacional	Reacción
Líneas Inoculadas	NS			**	NS	
Control (R)	14,40±1,63	3	MR	15,20±1,83d	0,354±0,05	Resistente
T10	14,00±5,21	3	MR	15,25±4,50cd	0,399±0,08	Resistente
T3	21,25±5,54	3	MR	21,50±5,33bcd	0,565±0,16	Resistente
T6	24,00±7,12	3	MR	32,40±9,07abc	0,765±0,22	Resistente
T7	31,20±7,25	4	MS	35,60±9,44ab	0,757±0,23	Resistente
T5	32,20±5,14	4	MS	50,80±8,60a	0,721±0,10	Resistente

*Escala de resistencia propuesta por Mukhtar et al., 2013. NS, No significativo, **, significativo a $p<0,01$. Control (R) = *S. pseudolulo*, T10 = 314 x 100N, T3 = (*S. vestisimun* x *S. quitoense*) x *S. quitoense*, T6 = C2-67 B2B3R3, T7 = C2-67 B1B5, T5 = *S. quitoense* x (16)16. MR: moderadamente resistente, MS: moderadamente susceptible

Como menciona Gelpud et al. (2011) la reacción del material vegetal al ataque de *Meloidogyne* sp. se expresa de manera diferente dependiendo de la interacción entre el nematodo y la planta hospedera, en base a las cualidades de cada material. El índice de agallamiento puede ser una variable óptima para la selección de materiales resistentes en valoraciones preliminares

siempre que se apoye con la evaluación del factor reproductivo y el impacto en las características agronómicas, como lo aseguran Hussey & Janssen (2004).

Hidalgo (2008), indica que un alto índice de agallamiento no necesariamente implica una alta población de nematodos en la planta hospedera. En huéspedes resistentes se puede observar las agallas o sitios de alimentación pero el nematodo no llega a completar su ciclo, así lo indican Karssen y Moens (2013). De igual manera en esta investigación aunque las líneas evaluadas presentaron agallas, no tuvieron incrementos poblaciones mayores a 1.

La variable número de masa de huevos puede sustentar la variable índice de agallamiento ya que las agallas muchas veces no contienen a una sola hembra. Pujota (2005) indica que a menudo se observan abultamientos que solamente contienen larvas J_2 pero no hembras adultas ni producción de huevos, es decir una deficiente reproducción del nematodo. Las observaciones del presente estudio mostraron que las agallas eran pequeñas y en su mayoría contenían solo una hembra pequeña e inmadura.

Muchos investigadores utilizan el índice de agallamiento y el factor reproductivo del nematodo para evaluar la resistencia de la planta como menciona Revelo et al. (2007), por lo que es importante haber considerado estas dos variables para determinar la resistencia de las líneas promisorias de naranjilla evaluadas en esta investigación.

4.4 Evaluación de la tolerancia

En la tabla 9, se muestra la comparación de medias entre largo y peso de tallo, largo y peso de raíz e índice de clorofila de las plantas inoculadas y no inoculadas de las líneas promisorias de naranjilla evaluadas. Las líneas fueron tolerantes a *Meloidogyne hapla* en cada una de las variables mencionadas.

Tabla 9

Prueba t de student del largo y peso de tallo, largo y peso de raíz e índice de clorofila de cinco líneas promisorias de naranjilla para la evaluación de la resistencia/tolerancia a Meloidogyne hapla

Líneas	Largo de tallo			Peso de tallo			Largo de raíz			Peso de raíz			Índice de clorofila		
	I	NI	p-valor	I	NI	p-valor	I	NI	p-valor	I	NI	p-valor	I	NI	p-valor
Control (R)	4,7	6,33	0,4726 ^T	14,29	7,23	0,0418 ^T	24	23,67	0,9026 ^T	11,98	8,63	0,5161 ^T	23,67	20,01	0,2922 ^T
T3	6,25	6,75	0,7921 ^T	12,8	15,23	0,6851 ^T	21,25	30,25	0,1396 ^T	10,28	17,3	0,3567 ^T	29,85	32,1	0,756 ^T
T5	5,2	5	0,8236 ^T	9,46	5,07	0,334 ^T	20	17,67	0,4426 ^T	5,06	5	0,9866 ^T	29,8	23,35	0,285 ^T
T6	5,3	4,5	0,5033 ^T	8,3	7,3	0,8807 ^T	19,4	17,5	0,7377 ^T	8,64	4,75	0,5798 ^T	19,73	16,67	0,6726 ^T
T7	6,4	5,13	0,5315 ^T	11,46	7,75	0,3573 ^T	24,8	23,75	0,6439 ^T	22,54	9,48	0,2841 ^T	17,46	18,31	0,6946 ^T

I: líneas promisorias de naranjilla inoculadas; NI: líneas promisorias de naranjilla no inoculadas. Control (R) = *S. pseudolulo*, T3 = (*S. vestisimun* x *S. quitoense*) x *S. quitoense*, T5 = *S. quitoense* x (16)16, T6 = C2-67 B2B3R3, T7 = C2-67 B1B5, T10 = 314 x 100N. T: tolerante ($p > 0,05$).

Las líneas fueron tolerantes al parasitismo de *Meloidogyne hapla*, ya que no existió diferencia significativa entre el promedio del largo y peso de tallo de las plantas inoculadas y no inoculadas mediante la prueba *t* de *Student*. Tal como lo mencionan Gelpud et al. (2011), los mecanismos de resistencia y tolerancia activados por las plantas ante la infección del nematodo impiden que este se desarrolle y reproduzca normalmente al interior de la raíz por lo que la planta seguirá su crecimiento normal y la altura y peso del tallo no se afectarán negativamente. Esto concuerda con lo reportado por Pujota (2005), quien indica que de la colección de Solanáceas evaluadas para resistencia a este nematodo, los materiales que tuvieron menor afectación en estas variables agronómicas fueron los resistentes.

Por otro lado, se observa que las líneas fueron tolerantes al parasitismo de *Meloidogyne hapla* ya que el promedio del largo y peso de raíz de las plantas inoculadas fue mayor al de las no inoculadas. Esto concuerda con lo reportado por Chan & López (1992), quienes encontraron que el largo y peso de raíz de las plantas inoculadas con *Meloidogyne* spp. incrementa por la presencia de agallas.

Las líneas fueron tolerantes al parasitismo de *Meloidogyne hapla* ya que no hubo diferencia significativa entre el promedio del índice de clorofila de las plantas inoculadas y no inoculadas mediante la prueba *t* de *Student*. Como menciona Pujota (2005), el amarillamiento de las hojas es uno de los síntomas de una infección severa de *Meloidogyne*, sin embargo este síntoma puede estar asociado con otros factores ambientales que pueden influir en el contenido de clorofila de las hojas.

Taylor & Sasser (1983) aseguran que la tolerancia puede influir en un incremento considerable en el crecimiento de las plantas y/o en la producción con respecto a las plantas no inoculadas. Sin embargo, ya que no se pudo evaluar el control susceptible es difícil precisar si la tolerancia se

debe al genotipo o al manejo del experimento, por ello se debería evaluar en campo estas líneas para corroborar estos resultados.

4.5 Análisis de correlación

Primero el porcentaje de incremento del peso y largo de tallo y raíz y el índice de clorofila fue calculado luego hacer las respectivas mediciones y comparaciones entre plantas inoculadas y no inoculadas. La línea (*S. vestisimun* x *S. quitoense*) x *S. quitoense* tuvo porcentajes de reducción en todas las variables anteriormente descritas, C2-67 B1B5 tuvo 4,64 % de reducción de clorofila y *S. pseudolulo* 25,75% de reducción de largo de tallo, esto puede deberse a la segregación que todavía mantienen los materiales evaluados. Las demás líneas tuvieron porcentaje de incremento en las variables respectivas como se observa en la tabla 10.

Tabla 10

Porcentaje de incremento de las variables para la tolerancia a Meloidogyne hapla de las líneas promisorias de naranjilla

Línea	Peso de tallo (%)	Largo de tallo (%)	Peso de raíz (%)	Largo de raíz (%)	Clorofila (%)
(<i>S. vestisimun</i> x <i>S. quitoense</i>) x <i>S. quitoense</i>	-15,96	-7,41	-40,58	-29,75	-7,01
<i>S. quitoense</i> x (16)16	86,59	4,00	1,20	13,19	27,62
C2-67 B2B3R3	13,70	17,78	81,89	10,86	18,36
C2-67 B1B5	47,87	24,76	137,76	4,42	-4,64
<i>S. pseudolulo</i>	97,65	-25,75	38,82	1,39	18,29

Pujota (2005) y Silva (1986) señalan que el incremento de peso y largo del tallo de las plantas inoculadas puede deberse a un mayor desarrollo de la raíz. Esto se atribuye a la tolerancia que presenta un material vegetal y que induce a la formación de más raíces cuando el nematodo ha infectado las mismas, lo que aumenta la capacidad de nutrición de la planta.

Esta propiedad se denomina hormoligosis, como menciona Luckey (1968), cantidades subletales de cualquier agente estresante en un medio subóptimo estimula a la planta a responder a los cambios en el ambiente que está, al desarrollar mejores sistemas de adaptación.

La duración del ensayo fue de 10 semanas, luego de las cuales se evaluó todas las variables propuestas en esta investigación. Revelo (1999) aclara que los nematodos fitoparásitos no producen síntomas en el brote de manera inmediata, por lo tanto coincide con el tiempo de evaluación y los resultados obtenidos en cuanto al incremento de peso y largo de raíz y tallo.

Como se observa en la tabla 11, el largo de raíz y el índice de clorofila no se correlacionaron positivamente con el índice de agallamiento a ($r= 0,53$; $p= 0,0039$), ($r= 0,38$; $p= 0,0473$) y el número de masa de huevos ($r= 0,4$; $p= 0,0336$), ($r= 0,47$; $p= 0,0126$) a pesar del p valor, debido a que el índice de correlación es bajo.

Tabla 11

Coefficientes de correlación de Pearson para los parámetros de reproducción del nematodo y las variables agronómicas en la evaluación de la resistencia/tolerancia de cinco líneas promisorias de naranjilla a Meloidogyne hapla

	Número de agallas	Masa de huevos	Incremento poblacional
Largo de tallo	NS	NS	NS
Peso de tallo	NS	NS	NS
Largo de raíz	0,53**	0,4*	NS
Peso de raíz	NS	NS	NS
Índice de clorofila	0,38*	0,47*	NS

NS: no significativa, *, significante a $p<0,05$, **, significante a $p<0,01$.

La tolerancia implica un incremento en el crecimiento de la planta, a partir del aumento del largo de raíz surge el desarrollo de las demás partes de la planta, pues esta permite una mayor absorción de nutrientes y agua (Taylor & Sasser, 1983). Por lo tanto no existe afección en el crecimiento aéreo en las plantas evaluadas, sin embargo en variedades susceptibles este efecto negativo si es evidente como lo menciona Mukhtar et al. (2014).

Los resultados obtenidos por Gelpud et al. (2011) indican que el inoculo del nematodo no tuvo efecto en la altura de la planta de los genotipos que se seleccionaron en ese estudio como resistentes, moderadamente resistentes hasta susceptibles, pues solo aquello que eran altamente susceptibles tenían un impacto negativo. Tales resultados concuerdan con los de esta investigación, ya que las líneas fueron resistentes y no hubo una correlación entre las variables

agronómicas y los parámetros de reproducción del nematodo, es decir no hubo un efecto del nematodo en el desarrollo de la planta.

Como menciona Trudgill (1991) la correlación que puede existir entre el factor reproductivo y las variables agronómicas es un claro indicativo de la selección para materiales tolerantes y no tolerantes.

4.6 Selección de materiales resistentes/tolerantes a *Meloidogyne hapla*

En la tabla 12 se muestra la reacción de las líneas evaluadas según los criterios de Cook (1974) citados por Revelo et al. (2009). Las líneas promisorias de naranjilla evaluadas fueron resistentes tolerantes al igual que el control *S. pseudolulo*.

Tabla 12

Selección de las líneas promisorias de naranjilla según los criterios de Cook (1974)

Línea	Incremento poblacional	Peso de raíz		Reacción
		Inoculada	No inoculada	
C2-67 B1B5	0,76	22,54±10,56 ^a	9,48±0,72 ^a	RT
<i>S. pseudolulo</i>	0,35	11,98±3,19 ^{ab}	8,63±3,20 ^a	RT
(<i>S. vestisimun</i> x <i>S. quitoense</i>) x <i>S. quitoense</i>	0,57	10,28±3,93 ^{ab}	17,30±5,84 ^a	RT
C2-67 B2B3R3	0,76	8,64±3,82 ^{ab}	4,75±2,95 ^a	RT
<i>S. quitoense</i> x (16)16	0,72	5,06±0,68 ^b	5,00±3,12 ^a	RT
314 x 100N	0,40	5,00±2,33 ^b	-	RT

I≤1 = Resistente I>1 = Susceptible; RT: resistente tolerante

Taylor & Sasser (1983) mencionan que las plantas consideradas como resistentes también pueden ser invadidas por larvas J₂ del género *Meloidogyne*, estas larvas tienen destinos diferentes dependiendo de la interacción entre el patógeno y el huésped, que generalmente se basan en la baja reproducción que tiene el nematodo al interior de la planta.

Pujota (2005) basada en los criterios de Cook (1974) menciona que la tolerancia debe ser considerada como carácter genético independiente de la resistencia, ya que una planta puede tener un incremento poblacional menor a 1 y medidas del crecimiento de la planta iguales o

mayores a las plantas sin inóculo, que demuestra que los genes de resistencia son diferentes que los que determinan el rendimiento de la planta en la interacción entre el nematodo y la planta.

Revelo et al. (2009) señala dos aspectos importantes, la necesidad de incluir en las evaluaciones tanto la variable índice de agallamiento como la del factor reproductivo para tener un panorama completo de la resistencia en los materiales vegetales; e involucrar los parámetros de reproducción del nematodo y el posible efecto que tenga en los parámetros de crecimiento y producción de la planta. Esto determina la interacción entre estos dos organismos dados tanto por la respuesta de la planta como por la respuesta del nematodo. Aspectos que se han tomado en cuenta y validan la presente investigación.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se identificó mediante morfometría, que la población extraída de campos de naranjilla del sector de Tandapi, cantón Mejía, provincia Pichincha en el año 2014 y conservada en plantas de tomate de mesa y naranjilla en los invernaderos del Departamento Nacional de Protección Vegetal de la Estación Experimental Santa Catalina-INIAP, utilizada en el inoculo de esta investigación, corresponde a la especie *Meloidogyne hapla*.
- Las líneas promisorias de naranjilla que tuvieron mejores porcentajes de viabilidad y germinación fueron C2-67 B1B5, (*S. vestisimun* x *S. quitoense*) x *S. quitoense*, C2-67 B2B3R3, *S. quitoense* x (16)16 y 314 x 100N, las mismas que fueron resistentes/tolerantes ante la influencia de *Meloidogyne hapla*, según los Criterios de Cook (1974).
- Las líneas promisorias de naranjilla evaluadas en el presente ensayo fueron resistentes en cuanto al factor reproductivo pues el incremento poblacional de las mismas fue menor a 1.
- Se determinó que debido a la tolerancia existió incremento en el porcentaje de peso y largo de tallo, peso y largo de raíz e índice de clorofila, excepto en la línea (*S. vestisimun* x *S. quitoense*) x *S. quitoense* que presento reducción en los mismos parámetros agronómicos.
- Se determinó que debido a la reacción resistente/tolerante que presentaron las líneas promisorias de naranjilla evaluadas no existió correlación entre el nemátodo y el peso y largo de tallo, peso y largo de raíz e índice de clorofila.

5.2 Recomendaciones

- Realizar estudios de identificación y caracterización de *Meloidogyne* sp. en las zonas productoras de naranjilla del país para conocer las especies que afectan este cultivo.
- Establecer las pruebas de viabilidad y germinación de las semillas en el protocolo de estas investigaciones, para conocer la calidad de semillas de los materiales vegetales con los que se trabaja.
- Evaluar en campo las líneas C2-67 B1B5, (*S. vestisimun* x *S. quitoense*) x *S. quitoense*, C2-67 B2B3R3, *S. quitoense* x (16)16 y 314 x 100N y llegar hasta la fase de producción, para obtener el rendimiento de ellas y saber si son aptas no solo por sus cualidades de resistencia y tolerancia si no por sus características productivas y calidad de fruto.

5.3 Bibliografía

- Abad, P., Castagnone-Sereno, P., Rosso, M., Engler, J., & Favery, B. (2009). Invasion, Feeding and Development. In R. Perry, M. Moens, & J. Starr (Eds.), *Root Knot Nematodes* (Primera ed, pp. 163–176). Oxfordshire, UK.
- Agrios, G. (2005). *Fitopatología*. Editorial Linusa.
- Agrocalidad. (2014). Buenas Prácticas Agrícolas para Naranjilla. Ecuador: Agrocalidad.
- Andrade, M. J., Moreno, C., Guijarro, M., & Concellón, A. (2015). Caracterización de la naranjilla (*Solanum quitoense*) comun en tres estados de madurez. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 8. <https://doi.org/10.1002/hep.23201>
- Armendariz, I., Quiña, D., Ríos, M., & Landázuri, P. (2015). *Nematodos fitopatógenos y sus estrategias de control*. Quito. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1599.9446>
- Bermeo, N. (2015a). *Evaluación de la resistencia a Fusarium oxysporum y Meloidogyne incognita en segregantes de cruzamientos entre miembros de la sección Lasiocarpa*. Universidad Central del Ecuador.
- Bermeo, N. (2015b). *Evaluación de la resistencia a Fusarium oxysporum y Meloidogyne incognita en segregantes de cruzamientos entre miembros de la sección Lasiocarpa*.
- Carl Zeiss. (2010). AxioVision. Jena, Alemania: Carl Zeiss Microimaging.
- Chan, S., & López, R. (1992). Efecto de diferentes densidades iniciales de *Meloidogyne incognita* sobre el crecimiento del tomate. *Agronomía Costarricense*, 16(2), 165–169.
- Cook, R. (1974). Nature and inheritance of nematode resistance in cereals. *Journal of Nematology*, 6, 165–174.
- Costa, M. G. S., Correia, E. C. S. S., Garcia, M. J. D. M., & Wilcken, S. R. S. (2017). Resistance to root-knot nematodes on passion fruit genotypes in Brazil. *Phytoparasitica*.

<https://doi.org/10.1007/s12600-017-0602-1>

- Davis, R., & May, O. (2003). Relationships between Tolerance and Resistance to *Meloidogyne incognita* in Cotton. *Journal of Nematology*, 35(4), 411–416.
- Decraemer, W., & Hunt, D. (2013). Structure and Classification. In *Plant Nematology* (pp. 3–37).
- Eguiguren, R., & Défaz, M. (1992). Principales Fitonematodos en el Ecuador. Su descripción, biología y combate. Quito: INIAP-Estación Experimental “Santa Catalina.”
- Galvis, J., & Herrera, A. (1999). El lulo (*Solanum quitoense*) manejo postcosecha. Colombia: SENA-Universidad Nacional.
- Gancel, A.-L., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Ruales, J., & Vaillant, F. (2008). Identifying Carotenoids and Phenolic Compounds In Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam . Var . Puyo Hybrid), an Andean Fruit. *Agricultural and Food Chemistry*, 56, 11890–11899.
- <https://doi.org/10.1021/jf801515p>
- García Bastidas, F., Obando, J., & Betancourt, C. (2004). Reconocimiento de especies de *Meloidogyne* en tomate de árbol (*Solanum betacea*) y lulo (*Solanum quitoense*) en la zona norte del departamento de Nariño. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 21(1–2), 1–12.
- Gelpud, C., Mora, E., Salazar, C., & Betancourth, C. (2011). Susceptibilidad de genotipos de *Solanum* spp. al nematodo causante del nudo radical *Meloidogyne* spp. (chitwood). *Acta Agronómica*, 60(1), 50–67.
- Hidalgo, D. (2008). Actividad nematocida sobre *Meloidogyne* hapla de extractos acuosos de especies arbóreas y arbustivas de la zona sur de Chile. Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- Hunt, D., & Handoo, Z. (2009). Taxonomy, identification and principal species. In *Root Knot Nematodes* (pp. 55–97).

- Hussey, R., & Janssen, G. (2004). Root-knot nematode: *Meloidogyne* species. In J. L. Starr, R. Cook, & J. Bridge (Eds.), *Plant resistance to parasitic nematodes* (pp. 71–106). New York.
- Hussey, R. S., & Barker, K. R. (1973). A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease*, *53*, 1025–1028.
- ICA. (2011). Manejo fitosanitario del cultivo del lulo (*Solanum quitoense* Lam)- Medidas para la temporada invernal. *Igarss*. Bogotá. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Jones, J. T., Haegeman, A., Danchin, E. G. J., Gaur, H. S., Helder, J., Jones, M. G. K., ... Perry, R. N. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, *14*(9), 946–961. <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>
- Karssen, G., Wesemael, W., & Moens, M. (2013). Root-knot Nematodes. In R. Perry & M. Moens (Eds.), *Plant Nematology* (2nd ed., pp. 73–108). Malta: CABI.
- Karuri, H. W., Olago, D., Neilson, R., Mararo, E., & Villinger, J. (2017). A survey of root knot nematodes and resistance to *Meloidogyne incognita* in sweet potato varieties from Kenyan fields. *Crop Protection*, *92*, 114–121.
- Kayani, M., Mukhtar, T., & Hussain, M. (2012). Evaluation of nematicidal effects of *Cannabis sativa* L. and *Zanthoxylum alatum* Roxb. against root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita*. *Crop Protection*, *39*, 52–56. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.04.005>
- Luckey, T. D. (1968). Insecticide Hormoligosis. *Journal of Economic Entomology*, *61*(1), 7–12.
- Messinger, J. (2017). *Potential of the lulo (Solanum quitoense) as new tropical fruit in Germany: Consumer acceptance and greenhouse cropping*. Universidad Bayreuth.
- Moens, M., Perry, R. N., & Starr, J. (2009). *Meloidogyne* Species – a Diverse Group of Novel and Important Plant Parasites. In *Root Knot Nematodes* (pp. 1–17).
- Mukhtar, T., Kayani, M. Z., & Hussain, M. A. (2013). Response of selected cucumber cultivars

to *Meloidogyne incognita*. *Crop Protection*, 44, 13–17.

<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.10.015>

Nijs, D. (2013). PM 7 / 119 (1) Nematode extraction. *European and Mediterranean Plant Protection Organization Bulletin*, 43(3), 471–495. <https://doi.org/10.1111/epp.12077>

Ochse, J., Soule, M., Dijkman, M., & Wehlburg, C. (1972). *Cultivo y mejoramiento de plantas tropicales y subtropicales*. México: Editorial Limusa-Wiley S.A.

Ortuño, N., Franco, J., Ramos, J., Oros, R., Main, G., & Montecinos, R. (2005). Desarrollo del manejo integrado del nematodo rosario de la papa (*Nacobbus aberrans*) en Bolivia.

Cochabamba: PROINPA.

Palomares-Rius, J. E. (2009). Estudio de los mecanismos de interacción entre *Meloidogyne artiellia* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* en genotipos de garbanzo. Córdoba: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba.

Peraza-Padilla, W., Rosales-Flores, J., Esquivel-Hernández, A., Hilje-Rodríguez, I., Molina-Bravo, R., & Castillo-Castillo, P. (2013). Identificación morfológica, morfométrica y molecular de *Meloidogyne incognita* en higuera (*Ficus carica* L.) en Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*, 24(2), 337–346. <https://doi.org/10.15517/am.v24i2.12533>

Pujota, M. (2005). *Evaluación de la resistencia a Meloidogyne incognita y a Fusarium oxysporum de una colección de solanáceas para mejoramiento de la naranjilla (Solanum quitoense Lam.)*. Tumbaco-Pichincha. Universidad Central del Ecuador.

Ravichandra, N. G. (2010). *Methods and Techniques in Plant Nematology* (Primera ed). Nueva Delhi, India: Asoke K. Ghosh. Retrieved from

<https://books.google.com.ng/books?id=LwhzxbKWkD8C>

Ravichandra, N. G. (2014a). Genetics of Nematode Parasitism. In *Horticultural Nematology* (pp.

239–292).

- Ravichandra, N. G. (2014b). Major phytonematodes associated with horticultural crops and their diagnostic keys. In *Horticultural Nematology* (pp. 55–88).
- Revelo, J. (1999). *Nematodos parasitos de plantas*. Quito: INIAP.
- Revelo, J., Cazco, C., Castillo, N., Sandoval, A., Sánchez, G., Lomas, L., & Corrales, A. (2007). “Nematodo del rosario de la raíz” (*Nacobbus aberrans*) y “nematodo del nudo de la raíz” (*Meloidogyne incognita*): epidemiología, importancia y pertinencia de desarrollar un sistema de manejo integrado para optimizar su control en tomate de mesa en el Valle. *Boletín Técnico*.
- Revelo, J., & Sandoval, P. (2003). *Factores que Afectan la Producción y Productividad de la Naranjilla (Solanum quitoense Lam.) en la Región Amazónica del Ecuador*. Quito, Ecuador.
- Revelo, J., Viteri, P., Vásquez, W., Valverde, F., León, J., & Gallegos, P. (2010). *Manual del Cultivo Ecológico de la Naranjilla* (Primera ed). Quito, Ecuador: INIAP.
- Román, J., & Acosta, N. (1985). *Nematodos Diagnostico y Combate (Parte 1)*. Mayagüez: Universidad de Puerto Rico.
- RStudio Team. (2016). *RStudio: Integrated Development for R*. RStudio, Inc. Boston, MA. Retrieved from <http://www.rstudio.com/>
- Ruíz, M. (2011). *Efecto de extractos acuosos del follaje de ocho especies arbóreas nativas de Chile en la capacidad infestiva de Meloidogyne hapla Chitwood (1949)*. Universidad Austral de Chile.
- Ruiz, M. de los Á. (2009). El análisis de tetrazolio en el control de calidad de semillas. Caso de estudio: cebadilla chaqueña. Estación Experimental Anguil- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

- Salazar-González, C., & Betancourth-García, C. (2017). Reacción de genotipos de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) a *Meloidogyne* spp. en condiciones de campo. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria Mosquera (Colombia)*, 18(2), 2500–5308.
https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num2_art:629
- Sasser, J. (1989). *Plant-parasitic nematodes: the farmer's hidden enemy*. North Carolina State University.
- Seinhorst, J. W. (1966). Killing nematodes for taxonomic study with hot f.a. 4 : 1. *Nematologica*, 12(1), 178-178a. <https://doi.org/10.1163/187529266X00239>
- Sepúlveda, F., Sepúlveda, P., & Morales, A. (2012). Nematodos y hongos de suelo que afectan el cultivo de tomate. Chile: Informativo INIA-URURI.
- Silva, J. (1986). *Identificación y determinación de resistencia de 22 introducciones de naranjilla distribuidas en 10 especies al nemátodo Meloidogyne sp.* Universidad Central del Ecuador.
- Silva, W., Gómez, P., Viera, W., Sotomayor, A., Viteri, P., & Ron, L. (2016). Selección de líneas promisorias de naranjilla para mejorar la calidad de la fruta. *Ecuador Es Calidad*, 3, 23–30.
- Smant, G. (2011). *Plant Disease and Immunity : Basic Concepts and Their Applications*. Wageningen: Wageningen University.
- Solano-González, S., Esquivel-Hernández, A., Molina-Bravo, R., & Morera-Brenes, B. (2015). Identificación de Especies de *Meloidogyne* Asociadas a Plantas Ornamentales de altura en Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*, 26(2), 247–256.
<https://doi.org/10.15517/am.v26i2.19280>
- Taylor, A., & Sasser, J. (1983). *Biology, Identification and control of Root-Knot nematodes (Meloidogyne sp.)*. Carolina State University Graphycs.
- Taylor, Al, & Sasser, J. (1978). *Biology, Identification and Control of Root-knot Nematodes*

- (Meloidogyne species) Raleigh. *NC: United States Agency for International ...*, 111.
- Tomezak, A., Koropacka, K., Smant, G., Govere, A., & Bakker, E. (2009). Resistant Plant Responses. In *Cell Biology of Plant Nematode Parasitism* (pp. 83–114).
- Trudgill, D., & Blok, V. (2001). Apomictic, Polyphagous Root-Knot Nematodes: Exceptionally Successful and Damaging Biotrophic Root Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 39, 53–77. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.39.1.53>
- Trudgill, D. L. (1991). Resistance to and tolerance of Plant Parasitic Nematodes in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, (29), 167–192.
<https://doi.org/10.1146/annurev.py.29.090191.001123>
- Van Bezooijen, J. (2006). *Methods and Techniques for Nematology*. (J. Van Bezooijen, Ed.) (Segunda). Wageningen: Wageningen UR.
- Vanholme, B., Meutter, J. De, Tytgat, T., Montagu, M. Van, Coomans, A., & Gheysen, G. (2004). Secretions of plant-parasitic nematodes : a molecular update. *Gene*, 332, 13–27.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2004.02.024>
- Vergel Colón, D., Leguizamón-Caycedo, J., Cortina Guerrero, H., & Torres Torres, E. (2000). Reconocimiento y frecuencia de Meloidogyne spp. en una localidad de la zona cafetera central de Colombia. *Cenicafé*, 51(4), 285–295.
- Viteri, P., Vásquez, W., León, J., Viera, W., Posso, M., Honojosa, M., ... Ochoa, J. (2009). INIAP QUITOENSE - 2009. Naranjilla de jugo (*Solanum quitoense* Lam.) injerta en patrones de solanáceas silvestres resistentes a *Fusarium oxysporum* y a *Meloidogyne* incognita. Quito, Ecuador: INIAP.
- Wuyts, N. (2006). Interacción entre los nematodos fitoparasitos y el metabolismo secundario de las plantas, con énfasis en los fenilpropanoides en las raíces. *Infomusa*, 15, 43–44.

Zarate, S. (2008). Búsqueda de los genes de resistencia Mi-1 y Mi-3 al nemátodo formador de nudo *Meloidogyne* spp. en varias especies silvestres de la familia Solanaceae del Ecuador.

Sangolquí: Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

Zeiss, Carl. (2010). Axiovision Release 8.2. Jena, Alemania.