

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**COLONIZACIÓN MICORRÍCICA POR HONGOS
VESÍCULO ARBUSCULARES EN HYPERICUM, Y
CONTROL DEL NEMATODO NODULADOR
Meloidogyne incognita.**

**PREVIA A LA OBTENCIÓN DE GRADO ACADÉMICO O TÍTULO
DE:**

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

ELABORADO POR:

ERIKA GABRIELA CARVAJAL PORRAS

SANGOLQUÍ, 10 de junio de 2009

DEDICATORIA

A mi familia:

A Matilde y Jorge mis padres, a Patricio mi hermano y mi tío Raúl, porque ellos han infundido en mi el espíritu del estudio y comparten conmigo la alegría y la satisfacción de materializar este sueño, ya que esto también les pertenece porque son parte esencial de mi vida.

Erika G. Carvajal P.

AGRADECIMIENTO

Siempre que se avanza en el camino de la vida, es necesario agradecer a quienes nos han acompañado para descubrir sus huellas al lado de las nuestras en ese trecho.

Este trabajo ha sido posible gracias a la oportunidad que me brindara la empresa Hilsea Investments donde realicé la parte experimenta, muy especialmente al Ing. Pablo Viteri y a la Dra. María Laban a más de todo el equipo del Laboratorio de Diagnóstico y Biopropagación.

También quiero agradecer por al entusiasmo y el apoyo de mi familia y muy especialmente el esfuerzo de mis padres Matilde y Jorge y mi hermano Patricio a quienes quiero expresar mi más sentida gratitud.

Por otro lado no puedo dejar de mencionar el apoyo incondicional de mis tios Angélica y Marco Antonio, Raúl, Herminia y a mis primos Xime, Nelly, Sebastian, Rommel y Marco.

A la Msc. Alma Koch, Dra. Karina Proaño y al Ing. Gabriel Suárez profesores de la Escuela Politécnica del Ejército, quienes con paciencia han revisado en varias ocasiones esta tesis y con sus atinados comentarios han contribuído a mejorarla.

Erika G. Carvajal P.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Dedicatoria.....	iii
Agradecimiento	iv
Índice de contenidos	v
Índice de cuadros.....	x
Índice de tablas.....	xi
Índice de figuras.....	xiii
Índice de anexos.....	xix
Resumen.....	xxii
Abstract.....	xxiii
CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Formulación del problema.....	1
1.2 Justificación del problema.....	3
1.3 Objetivos de la investigación.....	4
1.4 Marco teórico	5
1.4.1 Las Micorrizas	5
1.4.1.1 Clasificación de las micorrizas	5
1.4.1.2 Micorrizas vesículo arbusculares (VAM)	8
1.4.1.3 Factores que afectan el crecimiento de los hongos vesículo arbusculares.....	11
1.4.2 <i>Hypericum</i>	12
1.4.2.1 Clasificación taxonómica y descripción botánica.....	13
1.4.2.2 Importancia económica	14
1.4.2.3 Cultivo de <i>Hypericum</i> en campo.....	14

1.4.2.4 Manejo del cultivo.....	16
1.4.3 Patógenos que atacan el cultivo de <i>Hypericum</i>	17
1.4.3.1 Roya (<i>Puccinia</i> sp.)	18
1.4.3.2 Gusano trozador (<i>Agrotis ipsilon</i>)	19
1.4.3.3 Nematodos fitopatógenos.....	20
CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS	26
2.1 Participantes	26
2.2 Descripción del lugar	26
2.3 Periodo de tiempo de investigación	27
2.4 Diseño estadístico de las fases de la investigación	28
2.4.1 Micorrización de plantas de <i>Hypericum</i>	28
2.4.2 Interacción con <i>Meloidogyne incognita</i>	30
2.4.3 Sistema de hipótesis	33
2.4.3.1 Micorrización de plantas de <i>Hypericum</i>	33
2.4.3.2 Interacción con <i>Meloidogyne incognita</i>	33
2.5 Materiales y métodos.....	34
2.5.1 Micorrización de plantas de <i>Hypericum</i>	34
2.5.1.1 Aislamiento de la micorriza nativa	34
2.5.1.2 Propagación de la micorriza nativa para la multiplicación de la micorriza.....	37
2.5.1.3 Cultivo de <i>Hypericum</i>	40
2.5.1.4 Manejo del cultivo de <i>Hypericum</i>	42
2.5.2 Interacción con <i>Meloidogyne incognita</i>	43
2.5.1.2 Inoculación del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i>	37
2.6 Análisis de datos.....	44

2.6.1 Micorrización de plantas de <i>Hypericum</i>	44
2.6.1.1 Altura de plantas de <i>Hypericum</i>	44
2.6.1.2 Peso de raíz de plantas de <i>Hypericum</i>	44
2.6.1.3 Colonización de la micorriza nativa y las micorrizas de la formulación comercial en plantas de <i>Hypericum</i>	44
2.6.1.4 Conteo de esporas de micorriza en el suelo de cultivo de plantas de <i>Hypericum</i>	45
2.6.2 Interacción con <i>Meloidogyne incognita</i>	45
2.6.2.1 Índice de agallamiento del sistema radicular de plantas de <i>Hypericum</i>	45
2.6.2.2 Conteo de nematodos de <i>Meloidogyne incognita</i> en el suelo de cultivo de plantas de <i>Hypericum</i>	46
2.6.2.3 Conteo de esporas de micorriza en el suelo de cultivo de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de <i>Meloidogyne incognita</i>	47
2.6.2.4 Colonización de la micorriza nativa y las micorrizas de la formulación comercial en plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de <i>Meloidogyne</i> <i>incognita</i>	47
2.6.2.5 Longitud de raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de <i>Meloidogyne incognita</i>	48
2.6.2.6 Peso de raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de <i>Meloidogyne incognita</i>	48
2.6.2.7 Altura de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de <i>Meloidogyne incognita</i>	48
CAPÍTULO 3 RESULTADOS	49
3.1 Micorrización de Plantas de <i>Hypericum</i>	49
3.1.1 Altura de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial	49
3.1.2 Peso de raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial	51

3.1.3	Colonización micorrícica en raíces de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial	53
3.1.4	Número de esporas en el suelo de cultivo de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial	55
3.1.5	Caracterización morfológica de la micorriza nativa	57
3.2	Interacción con <i>Meloidogyne incognita</i>	57
3.2.1	Índice de agallamiento del sistema radicular de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de <i>Meloidogyne incognita</i>	57
3.2.2	Número de nematodos de <i>Meloidogyne incognita</i> en el suelo de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de <i>Meloidogyne incognita</i>	61
3.2.3	Número de esporas de micorriza nativa y de micorrizas de la formulación comercial en el suelo de cultivo de plantas de <i>Hypericum</i> en presencia o no de <i>Meloidogyne incognita</i>	65
3.2.4	Colonización de la micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial en las raíces de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de <i>Meloidogyne incognita</i>	69
3.2.5	Longitud de raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial y la presencia o no de <i>Meloidogyne incognita</i>	73
3.2.6	Peso de raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial y la presencia o no de <i>Meloidogyne incognita</i>	77
3.2.7	Altura de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de <i>Meloidogyne incognita</i>	81
CAPÍTULO 4 DISCUSIÓN.....		85
4.1	Micorrización de Plantas de <i>Hypericum</i>	85
4.1.1	Altura de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial	85
4.1.2	Peso de raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial	86

4.1.3 Colonización micorrícica en raíces de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial	87
4.1.4 Número de esporas en el suelo de cultivo de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial	88
4.1.5 Caracterización morfológica de la micorriza nativa	89
4.2 Interacción con <i>Meloidogyne incognita</i>	91
4.2.1 Índice de agallamiento del sistema radicular de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de <i>Meloidogyne incognita</i>	92
4.2.2 Número de nematodos de <i>Meloidogyne incognita</i> en el suelo de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de <i>Meloidogyne incognita</i>	93
4.2.3 Número de esporas de micorriza nativa y de micorrizas de la formulación comercial en el suelo de cultivo de plantas de <i>Hypericum</i> en presencia o no de <i>Meloidogyne incognita</i>	94
4.2.4 Colonización de la micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial en las raíces de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de <i>Meloidogyne incognita</i>	95
4.2.5 Longitud de raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de <i>Meloidogyne incognita</i>	96
4.2.6 Peso de raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de <i>Meloidogyne incognita</i>	97
4.2.7 Altura de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de <i>Meloidogyne incognita</i>	97
CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES	99
CAPÍTULO 6 RECOMENDACIONES.....	101
CAPÍTULO 7 BIBLIOGRAFÍA.....	102
ANEXOS.....	109

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 2.3.....	43
Dosis de fertilización para el cultivo de <i>Hypericum</i> .	
CUADRO 2.4.....	46
Escalas del índice de agallamiento en raíces atacadas por <i>Meloidogyne spp</i>	
CUADRO 2.5.....	47
Escala de <i>Meloidogyne</i> en suelo y rangos de infestación.	

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 2.1	28
Tratamientos de la fase de Micorrización.	
TABLA 2.2.....	31
Tratamientos de la fase de Interacción con <i>Meloidogyne incognita</i> .	
TABLA 3.1	49
Análisis de varianza para altura de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial. Hilsea, Pichincha, El Quinche, 2009.	
TABLA 3.2.....	51
Análisis de varianza para peso de raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial. Hilsea, Pichincha, El Qunche, 2009.	
TABLA 3.3.....	53
Análisis de varianza para porcentaje de colonización en raíces de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial. Hilsea, Pinchincha, El Quinche, 2009.	
TABLA 3.4.....	55
Análisis de varianza para número de esporas en suelo usado como sustrato para plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial. Hilsea, Pichincha, El Quinche, 2009.	
TABLA 3.5.....	57
Análisis de varianza para el índice de agallamiento en el sistema radicular de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza y la presencia o no del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> . Transformación $\sqrt{x+1}$. Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.	

TABLA 3.6.....	61
Análisis de varianza para el número de nematodos en el suelo de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza y la presencia o no del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> . Transformación $\sqrt{x+1}$. Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.	
TABLA 3.7.....	65
Análisis de varianza para el número de esporas en el suelo de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza y la presencia o no del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> , transformación .Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.	
TABLA 3.8.....	69
Análisis de varianza para el porcentaje de colonización en el sistema radicular de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza y la presencia o no del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> . Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.	
TABLA 3.9.....	73
Análisis de varianza para la longitud de raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculo de micorrizas y la presencia o no del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> . Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.	
TABLA 3.10.....	77
Análisis de varianza para el peso de raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza y la presencia o no del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> . Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.	
TABLA 3.11.....	81
Análisis de varianza para la altura de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorrizas y la presencia o no del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> . Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.	

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.1.....	6
Raíz con presencia de hifas y vesículas, colonizada por hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares.	
FIGURA 1.2.....	7
Clasificación del Phylum Glomeromycota de los hongos vesículo arbusculares.	
FIGURA 1.3.....	8
Esporas nativas de <i>Glomus</i> extraídas del suelo de a) cultivos trampa de <i>Brachiaria</i> y b) plantas de <i>Hypericum</i> .	
FIGURA 1.4.....	13
Planta de <i>Hypericum</i> variedad Chocolate.	
FIGURA 1.5.....	15
Armado de camas para cultivo de plantas de <i>Hypericum</i> en campo.	
FIGURA 1.6.....	18
Hoja de <i>Hypericum</i> atacada por Roya, con presencia de pústula.	
FIGURA 1.7.....	19
Ciclo de vida de <i>Agrotis ípsilon</i> .	
FIGURA 1.8.....	20
Larva de <i>Agrotis ípsilon</i> .	
FIGURA 1.9.....	22
Juvenil del nematodo agallador <i>Meloidogyne incognita</i> .	

FIGURA 1.10.....	22
Raíces agalladas por ataque de <i>Meloidogyne</i> spp.	
FIGURA 1.11.....	27
Laboratorio de Diagnóstico y Biopropagación de Hilsea en la Finca El Chivan.	
FIGURA 1.12.....	29
Distribución de tratamientos de la fase de micorrización.	
FIGURA 2.3.....	32
Distribución de tratamientos de la fase de interacción con <i>Meloidogyne incognita</i> .	
FIGURA 2.4.....	37
Raíces de plantas de pasto silvestre en el proceso de tinción con azul de tripan para observación de hongos micorrizicos albusculares.	
FIGURA 2.5.....	38
Plantas de pasto silvestre y preparación del inóculo nativo para la propagación de micorrizas en cultivos trampa.	
FIGURA 2.6.....	39
a) Potes con suelo estéril, b) semillas desinfectadas y c) establecimiento de cultivos trampa.	
FIGURA 2.7.....	39
Corte de tallos de los cultivos trampa a las 16 semanas de siembra para obtención del inóculo nativo de plantas de <i>Hypericum</i> .	
FIGURA 2.8.....	40
Invernadero del Laboratorio de Diagnóstico y Biopropagación donde se llevó a cabo el ensayo.	

FIGURA 2.9.....	41
Potes con inóculo nativo obtenido de los cultivos trampa para sustrato de las plantas de <i>Hypericum</i> .	
FIGURA 2.10.....	41
Potes con plántulas de <i>Hypericum</i> variedad Chocolate y distribución de los tratamientos en invernadero.	
FIGURA 2.11.....	42
Formulación comercial de micorrizas y preparación del inóculo para aplicación en plántulas de <i>Hypericum</i> a los 8 días de siembra.	
FIGURA 3.1.....	50
Efecto de la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial sobre la altura de plantas de <i>Hypericum</i> durante las 16 primeras semanas después de la inoculación.	
FIGURA 3.2.....	52
Efecto de la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial sobre el peso de la raíz en plantas de <i>Hypericum</i> durante las 16 primeras semanas después de la inoculación.	
FIGURA 3.3.....	54
Porcentaje de colonización en raíces de plantas de <i>Hypericum</i> durante las 16 primeras semanas después de la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial.	
FIGURA 3.4.....	56
Esporulación en suelo de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial, durante las 16 primeras semanas después de la inoculación.	
FIGURA 3.5.....	58
Índice de agallamiento del sistema radicular de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la presencia de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial evaluadas a la cosecha.	

FIGURA 3.6.....	59
Efecto de la aplicación del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> sobre el índice de agallamiento en el sistema radicular de plantas de <i>Hypericum</i> evaluadas a la cosecha.	
FIGURA 3.7.....	60
Índice de agallamiento en el sistema radicular de plantas de <i>Hypericum</i> bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> evaluadas a la cosecha.	
FIGURA 3.8.....	62
Número de nematodos de <i>Meloidogyne incognita</i> en el suelo de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la presencia de dos inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial en cuatro evaluaciones después de su inoculación.	
FIGURA 3.9.....	63
Efecto de la aplicación del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> sobre su población en el suelo de plantas de <i>Hypericum</i> , en cuatro evaluaciones después de su inoculación.	
FIGURA 3.10.....	64
Número de nematodos de <i>Meloidogyne incognita</i> en el suelo de plantas de <i>Hypericum</i> bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo en cuatro evaluaciones después de su inoculación.	
FIGURA 3.11.....	66
Número de esporas en el suelo de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la presencia de dos tipos de inóculos de micorriza en cuatro evaluaciones después de la inoculación del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> .	
FIGURA 3.12.....	67
Efecto de la aplicación del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> sobre el número de esporas en el suelo de plantas de <i>Hypericum</i> , en cuatro evaluaciones después de su inoculación.	

FIGURA 3.13.....	68
<p>Número de esporas en el suelo de plantas de <i>Hypericum</i> bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> en cuatro evaluaciones después de su inoculación.</p>	
FIGURA 3.14.....	70
<p>Porcentaje de colonización del sistema radicular de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la presencia de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial evaluadas a la cosecha.</p>	
FIGURA 3.15.....	71
<p>Efecto de la aplicación del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> sobre el porcentaje de colonización en el sistema radicular de plantas de <i>Hypericum</i> evaluadas a la cosecha.</p>	
FIGURA 3.16.....	72
<p>Porcentaje de colonización en el sistema radicular de plantas de <i>Hypericum</i> bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> evaluadas a la cosecha.</p>	
FIGURA 3.17.....	74
<p>Longitud de la raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la presencia de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial evaluadas a la cosecha.</p>	
FIGURA 3.18.....	75
<p>Efecto de la aplicación del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> sobre la longitud de la raíz de plantas de <i>Hypericum</i> evaluadas a la cosecha.</p>	
FIGURA 3.19.....	76
<p>Longitud de la raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> evaluadas a la cosecha.</p>	
FIGURA 3.20.....	78
<p>Peso de la raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la presencia de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial evaluadas a la cosecha.</p>	

FIGURA 3.21.....	79
Efecto de la aplicación del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> sobre el peso de la raíz de plantas de <i>Hypericum</i> evaluadas a la cosecha.	
FIGURA 3.22.....	80
Peso de la raíz de plantas de <i>Hypericum</i> bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> evaluadas a la cosecha.	
FIGURA 3.23.....	82
Altura de plantas de <i>Hypericum</i> bajo la presencia de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial evaluadas a la cosecha.	
FIGURA 3.24.....	83
Efecto de la aplicación del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> sobre la altura de plantas de <i>Hypericum</i> evaluadas a la cosecha.	
FIGURA 3.25.....	84
Altura de plantas de <i>Hypericum</i> bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo nodulador <i>Meloidogyne incognita</i> evaluadas a la cosecha.	

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A	109
Plantas de <i>Hypericum</i> en invernadero a) a las cuatro semanas y b) a las veinte semanas de siembra	
ANEXO B	110
Plantas de <i>Hypericum</i> al final de la primera fase: Fase de micorrización. Tratamientos a) T1: Testigo, b) T2: Inóculo nativo, c) T3: Inóculo comercial	
ANEXO C	111
Raíces con presencia de hifas, vesículas y arbuscúlos como resultado de la micorrización de <i>Glomus clarum</i> , <i>Glomus etunicatum</i> y <i>Glomus manihotis</i> , extraído de la colección INVAM.	
ANEXO D	112
Esporas de <i>Glomus etunicatum</i> , <i>Glomus manihotis</i> , y <i>Glomus intraradices</i> , extraídas de la colección INVAM.	
ANEXO E	113
Raíces con presencia de hifas y vesículas observadas al microscopio por tinción con azul de tripán, al final de la primera y segunda fase del ensayo: a) planta silvestre, b) <i>Brachiaria</i> , cultivo trampa, c), d), e) y f) <i>Hypericum</i> inoculadas con micorriza nativa	
ANEXO F1	114
Esporas aisladas del suelo de a) plantas silvestres obtenidas, b) cultivos trampa inoculados con raíces y suelo de las plantas silvestres, c), d), e), f), g) y h) plantas de <i>Hypericum</i> inoculadas con micorriza nativa.	
ANEXO F2	115
Esporas aisladas del sustrato de plantas de <i>Hypericum</i> inoculadas con: e), f), g) y h) micorriza nativa.	

ANEXO G.....	116
Raíces de plantas de <i>Hypericum</i> inoculadas con una formulación comercial de hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares; teñidas con azul de tripán y con presencia de hifas.	
ANEXO H.....	117
Esporas aisladas del sustrato de plantas de <i>Hypericum</i> inoculadas con una formulación comercial de hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares.	
ANEXO I1	118
Raíces de plantas de <i>Hypericum</i> al final de la segunda fase de interacción con <i>Meloidogyne incognita</i> . a) T1: Testigo, sin micorriza, sin nematodo, b) T2: Solo nematodo, raíz completamente agallada.	
ANEXO I2	119
Raíces de plantas de <i>Hypericum</i> al final de la fase de interacción con <i>Meloidogyne incognita</i> . c) T3: Inóculo nativo, raíz con gran cantidad de raicillas y mayor longitud, d) T4: Inóculo nativo + nematodo, raíz con un grado mínimo de agallamiento y un gran desarrollo.	
ANEXO I3	120
Raíces de plantas de <i>Hypericum</i> al final de la fase de interacción con <i>Meloidogyne incognita</i> . e) T5: Inóculo comercial, raíz con presencia regular de raicillas pero poco desarrollada, f) T6: Inóculo comercial + nematodo, raíz con pobre presencia de raicillas y agallada por ataque del nematodo <i>Meloidogyne incognita</i> .	
ANEXO J.....	121
Raíces de <i>Hypericum</i> infestadas por <i>Meloidogyne incognita</i> , con un a) alto índice de agallamiento y b) pudrición general.	
ANEXO K.....	122
Estadíos de <i>Meloidogyne</i> observados durante el análisis de las raíces y suelo de <i>Hypericum</i> a) Huevos de <i>Meloidogyne incognita</i> , b) Hembra de <i>Meloidogyne incognita</i> en raíces agalladas de <i>Hypericum</i> , c) J2 de <i>Meloidogyne incognita</i> en muestra de suelo, observados al microscopio.	

ANEXO L1.....	123
Tallos de plantas de las <i>Hypericum</i> a la cosecha. a) Testigo, b) Con nematodos.	
ANEXO L2.....	124
Tallos de plantas de las <i>Hypericum</i> a la cosecha. c) Inóculo nativo, d) Inóculo nativo + nematodo.	
ANEXO L3.....	125
Tallos de plantas de las <i>Hypericum</i> a la cosecha. e) Inóculo comercial, f) Inóculo comercial + nematodo.	
ANEXO M.....	126
Plantas de <i>Hypericum</i> inoculadas con el nematodo agallador <i>Meloidogyne incognita</i> , con síntomas de marchitamiento general.	

RESUMEN

La incorporación de microorganismos en la agricultura como manejo ecológico que sustituye a productos químicos, se ha convertido en una de las principales formas para el mejoramiento de los cultivos del área florícola en aras de la producción de flores con calidad de exportación. Por esta razón, la aplicación de microorganismos benéficos como los hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares (VAM), se ha realizado en plantas de *Hypericum* en la finca Hilsea. El propósito de esta investigación son, en primer lugar, comprobar la capacidad de los hongos para colonizar las raíces de las plantas y posteriormente su capacidad de control del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita*. Se llevó a cabo dos fases, la primera de Micorrización y la segunda de Interacción con *Meloidogyne incognita*. En la Micorrización se utilizó dos tipos de inóculo: hongos micorrícicos nativos del género *Glomus* y una formulación comercial de micorrizas del mismo género. Previamente se establecieron cultivos trampa con plantas de *Brachiaria* como principal hospedera, pero además se utilizó plantas de avena y plantas de arveja. En la segunda fase, una vez micorrizadas las plantas de *Hypericum* se inoculó nematodos de *Meloidogyne*. Durante el proceso, se realizó un análisis de varianza y la prueba de Duncan al 5% para las variables estudiadas en ambas fases. Después de 16 semanas al final de la primera fase, las plantas de *Hypericum*, mostraron resultados favorables de micorrización. La colonización de la micorriza nativa fue altamente significativa en comparación con la colonización de la formulación comercial. Al final del ciclo, en la segunda fase, se observó que el índice de agallamiento de raíces fue menor con el inóculo nativo que con el comercial y se obtuvo una mejor colonización con la micorriza nativa. La longitud de raíz, peso de raíz y altura de la planta fue mayor en las plantas micorrizadas que en las plantas testigo. Es importante resaltar que esta investigación apoya la idea que el uso de microorganismos nativos es mejor que el uso de microorganismos introducidos.

ABSTRACT

The incorporation of micro-organisms in agriculture, replacing chemical products, as ecological management, has become one of the main ways of improving floricultural crops in the production of export-quality flowers. For this reason, the application of beneficial micro-organisms, such as fungi forming vesicular-arbuscular micorrhizae (VAM), has been conducted for this work in *Hypericum* plants at the Hilsea farm. The purpose of this research is to check first the ability of fungi to colonize plant roots and, subsequently, their ability to control the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Two phases were carried out, Micorrhization and Interaction with *Meloidogyne incognita*. In micorrhization, two inoculum types were used: native mycorrhizal fungi of the *Glomus* genus and a mycorrhizae commercial formulation of the same genus. Trap crops were previously established with brachiaria plants as main host plant, but also oat and pea plants were utilized. In the second phase, once *Hypericum* plants were mycorrhizated, *Meloidogyne* nematodes were inoculated. During the process, variance analysis and Duncan test at 5% were conducted for variables studied in both phases. After 16 weeks at the end of the first phase, *Hypericum* plants showed favourable results of mycorrhization.

Native mycorrhizal colonization was highly significant compared with colonization of the commercial formulation. At the end of the cycle, in the second phase, it was observed that the root gall index was lower with the native inoculum than with the commercial one, and a better colonization was obtained with the native mycorrhizae. Root length, root weight and plant height were larger in mycorrhizated plants compared to non-treated plants. It is worth to emphasize that this research supports the idea that the use of native micro-organisms is better than the use of introduced micro-organisms.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Formulación del problema

El ataque de organismos fitopatógenos a cultivos ornamentales como hongos, bacterias y nematodos es el mayor problema al que se enfrentan las fincas florícolas. Su forma de control y eliminación de plagas se basa en el uso de productos químicos, nocivos no solo para los fitopatógenos sino también para los microorganismos del suelo favorables para el desarrollo de la planta.

El campo florícola, en nuestro país, es uno de los más importantes, debido a la extensa producción de flores de buena calidad. La exportación de este producto ha ido incrementándose desde hace 20 años de su inicio en la Provincia de Pichincha extendiéndose en la mayor parte de la Sierra y una parte en la Costa (OIT, 2007).

Los sectores de mayor producción florícola en el Cantón Quito se encuentran a lo largo de Guayllabamba, El Quinche y Checa; con un área de cultivo de un 56,85%. La exportación de flores ha ocupado mercados como los de Estados Unidos, Rusia, Holanda (OIT, 2007) entre otros, siendo nuestras variedades una de las más aceptadas.

En nuestro país la empresa Hilsea considerada como la más grande con 280 hectáreas y con una importante productividad de flores se desarrolla en El Quinche. Esta empresa propiedad de la multinacional Esmeralda Farms, exporta alrededor de 22 000 cajas anuales, llegando a los países Europeos con variedades de la mejor calidad.

Dentro de las principales plagas que atacan a los cultivos de flores están: trips, arañuelas, minadores, moscas blancas, ciempiés, y nematodos. Los principales hongos patógenos son: Fusarium, Peronospora, Botrytis; se presentan también problemas de marchitamientos, enfermedades de suelo, roya blanca del crisantemo, enfermedades de clavel y rosa.

Uno de los patógenos que más daño causa son los nematodos, siendo *Meloidogyne incognita* el nematodo agallador de mayor problema para el cultivo de *Hypericum*. Existen datos que indican la abundancia de este nematodo en más de 800 especies de plantas hospedantes. Dehne *et al.* (2005) revelan que este nematodo infecta las raíces de la planta induciendo la formación de agallas y células gigantes cuyos síntomas se ven reflejados en la falta de crecimiento y necrosis como consecuencia también de la dificultad en la absorción de agua y nutrientes.

Durante algún tiempo se ha observado el uso de técnicas agrícolas como lo cita la National Academy of Sciences (NAS, 1980), que son: barbecho, remociones periódicas del suelo e incluso el uso de nematicidas (compuestos químicos que afectan el hábitat natural del suelo).

Existen hongos que son enemigos naturales de los nematodos y por lo tanto su rol es importante para disminuir su crecimiento en el suelo de cultivo. Existen varios tipos de hongos predadores que utilizan sus hifas para capturar a los nematodos (Aggarwal, 1997). El Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP (Triviño, 2004) investigó el efecto de *Pasteuria penetrans* para el control de *Meloidogyne*, observando que la aplicación de *Pasteuria* en campo controló el ataque de nematodo agallador.

1.2 Justificación del problema

Las empresas florícolas dedicadas a la exportación de flores requieren un producto de buena calidad. El tratamiento al que son sometidas las plántulas desde su inicio de crecimiento hasta su cosecha, es importante sobre todo cuando se trata de controlar o evitar el ataque de plagas en los diferentes cultivos.

El uso frecuente de técnicas como la aplicación de fungicidas, insecticidas, nematicidas no solo elimina hongos, insectos y nematodos sino también microorganismos benéficos del suelo. Esto provoca un desequilibrio debido a la pérdida de sus características y propiedades naturales que como consecuencia deja un suelo poco viable.

Actualmente se intenta cambiar el tipo de manejo de los cultivos a formas orgánicas mediante el uso de microorganismos. Es así que la biotecnología ha desarrollado estudios de investigación dentro de los cuales se incluye el uso de micorrizas en varios cultivos.

Hendrix *et al.* (1980), Gianinazzi *et al.* (1999), Ferrera & González (1993) describen los beneficios de la aplicación de micorrizas como en el tamaño de tallo, tamaño de hojas, peso de la planta y peso de raíz sobre cultivos de magnolia, portainjertos de cítricos y manzana.

Existen trabajos relacionados con micorrizas vesículo arbusculares VAM y su acción frente a nematodos como el nematodo agallador *Meloidogyne incognita*. Por ejemplo, Calvet *et al.* (1990) inoculó estos hongos en kiwi, cuyo crecimiento presenta un constante problema por el ataque del nematodo

agallador y observó que a más de incrementar la tolerancia de la planta a *Meloidogyne* también aumentó el porcentaje de colonización en sus raíces.

Los resultados obtenidos hasta el momento gracias al uso de micorrizas sugieren su aplicación en el campo florícola, ya que los problemas que enfrentan las flores se asemejan a lo expuesto anteriormente. Por esta razón se quiso comprobar su efectividad en plantas de *Hypericum* al establecer una interacción entre hongo-nematodo con el fin de observar los efectos favorables frente a *Meloidogyne*.

Para esto se realizó una parte experimental llevada a cabo en la empresa florícola Hilsea en la Finca El Chivan, donde se ensayó con micorriza nativa y una formulación comercial. Este tipo de inóculos fue aplicado en las plantas para probar su capacidad de colonización y posteriormente observar su capacidad de control del nematodo.

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo General:

Establecer la capacidad de colonización de una micorriza nativa y una formulación comercial de micorrizas, en plantas de *Hypericum* y comprobar si su presencia favorece el control al ataque de nematodos.

1.3. 2 Objetivos específicos

- Obtener al menos un género de micorriza nativa mediante su aislamiento a partir de plantas nativas y suelo del lugar.

- Inocular plantas de *Hypericum* con la micorriza nativa aislada y la formulación comercial de micorrizas, para probar su capacidad de colonización.
- Analizar la capacidad de plantas de *Hypericum* micorrizadas para controlar el ataque del nematodo nodulador.

1.4 Marco Teórico

1.4.1 Las Micorrizas

Las micorrizas son asociaciones simbióticas que se dan entre las raíces de la planta y un hongo microscópico, aportando beneficios para ambos. El hongo se alimenta de material elaborado por la planta y ésta a su vez absorbe nutrientes del suelo como el fósforo observándose una eficacia cuatro veces más que las plantas no micorrizadas (Fuentes, 1999). Las micorrizas aumentan la superficie de absorción del suelo, además de incrementar la absorción de agua.

La prolongación de la simbiosis según Coyne (2000) depende mucho de la fertilidad de la planta ya que si existe una baja fertilidad la infección va a ser elevada, es decir que la planta necesita de la presencia de micorrizas para poder crecer.

1.4.1.1 Clasificación de las micorrizas

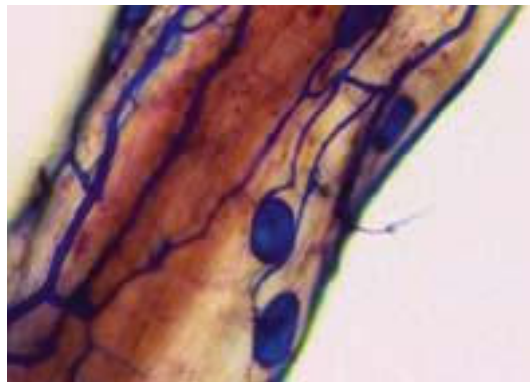
Existen varios tipos de micorrizas pero los más importantes son: Endomicorrizas , Ectomicorrizas y Ectoendomicorrizas (Páez, 2006).

La característica principal de las ectomicorrizas es su capacidad de penetrar entre los espacios intercelulares de la raíz formando una capa de hifas

alrededor de la misma. Las endomicorrizas penetran en las células mismas de la raíz de la planta (Alexander, 1981), mientras que las ectoendomicorrizas son formadas por hongos que se desarrollan ya sea, en las células corticales de la raíz o en torno a esta en la superficie pudiendo o no formar el manto fungoso como en el caso de las ectomicorrizas (Agrios, 1998).

Las ectomicorrizas se desarrollan principalmente en especies forestales y leñosas, los hongos que las forman son Basidiomicetes y Ascomicetes. Así mismo, las endomicorrizas se encuentran poblando las raíces de las plantas de las familias Ericáceas, Liliáceas y en las Orquidáceas (Páez, 2006).

Dentro de estas últimas también se encuentran las micorrizas vesículo-arbusculares llamadas así, por su capacidad de formar estructuras similares a arbusculos o vesículas (Figura 1.1) dentro de las células de la raíz. Este tipo de micorrizas es muy abundante en la naturaleza además de caracterizarse por ser simbioses obligadas, requieren de una planta hospedera para su crecimiento.

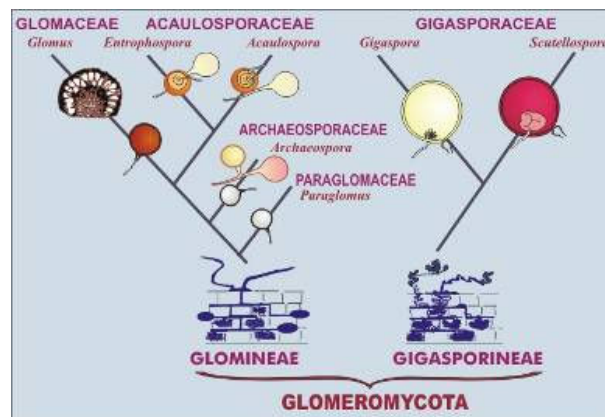


Fuente: web.catie.ac.cr/información/RMIP/rmip58/art4-b.htm

Figura 1.1 Raíz con presencia de hifas y vesículas, colonizada por hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares.

Los hongos de este tipo de micorrizas son cigomicetos y ficomicetos recordando los géneros más importantes como: *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Entrophospora* y *Scutellospora* (Coyne, 2000). Las micorrizas del género *Glomus* son las micorrizas vesículo arbusculares más aisladas del suelo, dentro de las cuales podemos nombrar a: *G. fasciculatum*, *G. mosseae*, *G. manihotis* como las especies más representativas.

Glomus sp. como mayormente se la conoce se encuentra dentro del Orden Glomales, Familia Glomeraceae y Género *Glomus*, como se indica en la Figura 1.2.



Fuente: <http://invam.caf.wvu.edu/>

Figura 1.2 Clasificación del Phylum Glomeromycota de los hongos vesículo arbusculares.

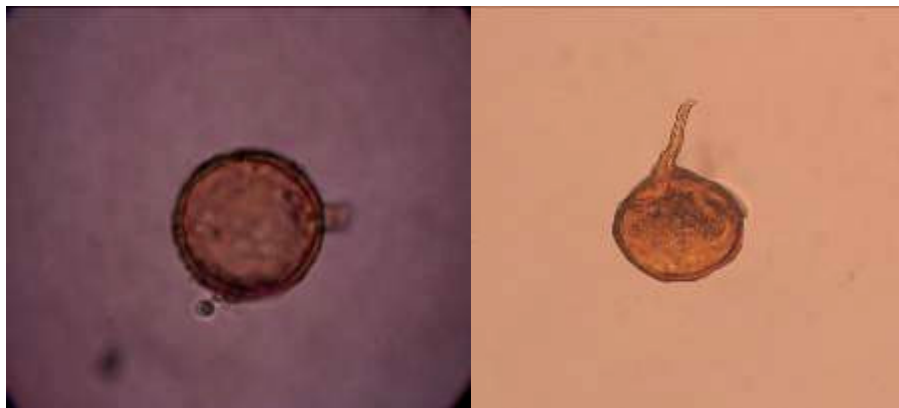
Este género de micorrizas es el más común en el mundo y comprende la mayor cantidad de especies. Dos tercios del total de las plantas forman simbiosis con este tipo de hongos y son simbioses obligados que al parecer no son específicos con la planta hospedera.

En la agricultura el uso de micorrizas tiene gran importancia como biofertilizante ya que ayuda a mejorar los cultivos y las plantaciones reduciendo las posibilidades de contaminación ya que son productos biológicos. El crecimiento de las plantas se ve favorecido en condiciones de estrés hídrico,

salinidad, presencia de patógenos, etc. El aporte más importante es que mejora las condiciones nutricionales de la planta al formar simbiosis con sus raíces, además también hace un mejor uso del fósforo del suelo (Peña & Vanegas, 2007).

1.4.1.2 Micorrizas vesículo arbusculares (VAM)

Las micorrizas de este género forman arbusculos, vesículas e hifas intra y extraradicales. Los arbusculos son órganos que forman estructuras similares a árboles, de ahí su nombre, las cuales favorecen el mutuo intercambio entre la planta y el hongo. Las vesículas son estructuras de forma redondeada u ovoide, actúan como almacenadores de lípidos y las hifas son estructuras del hongo que pueden estar dentro o fuera de la raíz (Coyne, 2000). Sus esporas son redondas de color café y se las encuentra a menudo solitarias, poseen una sola pared formada por dos capas y su superficie presenta una textura lisa (Figura 1.3).



Fuente: Hilsea - Laboratorio D&B Finca El Chivan

Figura 1.3 Esporas nativas de *Glomus* extraídas del suelo de cultivos trampa de *Brachiaria* y plantas de *Hypericum*

Se sabe que la mayor parte de especies de plantas ya sea natural, semi-natural y plantas agrícolas son susceptibles de infección con hongos micorrícicos, lo cual es de gran interés ecológico, agrícola y económico (Francis & Read, 1994).

Por ejemplo la recuperación de ecosistemas importantes como los bosques tropicales que han sufrido daños de todo tipo por actividades mineras, agrícolas, tala de bosques, etc, requiere de organismos micotróficos como las micorrizas para su restablecimiento. Se pueden inocular estos hongos en pequeños árboles en vivero para luego ser cultivados en campo. Se ha visto que influye en gran parte la incorporación de materia orgánica para mantener activa la viabilidad de las micorrizas en simbiosis con la planta y el suelo (Salas, 2003).

Fuentes (1999) menciona que la simbiosis planta-hongo se basa en el mutuo intercambio benéfico. El hongo se alimenta del material elaborado por la planta y al mismo tiempo ésta, gracias a la presencia de hifas que actúan como extensiones de la raíz, absorbe nutrientes del suelo como el fósforo y mejora la absorción de agua. Las micorrizas solubilizan el fósforo mineral con el fin de producir ácidos orgánicos y CO₂ y lo mineraliza gracias a la liberación de fosfatasas (Coyne, 2000).

El mecanismo de absorción del fósforo explicado por Jacobsen (1994) menciona que esto se debe gracias a la presencia de un compartimento hifal separado de otro compartimento radicular por medio de una malla fina que permite el paso libre de las hifas del hongo.

En la actualidad la relación que se establece entre las plantas y los hongos del Género de las *Glomales* es considerada como biofertilizantes, bioprotectores y bioreguladores utilizados para el control de plagas y el manejo de materiales biopropagados dentro del campo de la Biotecnología Vegetal (CORPOICA , 1997). Tal como lo manifiestan Gianinazzi *et al.*, (1999), el uso de herramientas biológicas como los hongos VAM, constituyen un potencial en los niveles de producción agrícola al reducir el uso de fertilizantes químicos y

pesticidas, lo cual ingresa dentro de las tecnologías necesarias para una agricultura sustentable.

El uso de micorrizas a lo largo de la historia ha permitido descubrir una gran variedad de micorrizas vesículo arbusculares, así como de las diversas propiedades que estos poseen. Al formar simbiosis con las plantas confieren a estas, tolerancia frente a los fitopatógenos y a su vez mejoran sus características físicas como: altura, diámetro del tallo, número de hojas, área foliar, peso seco de la parte aérea y volumen radical (Ferrera & González, 1993)

Algunos trabajos en cítricos (Ferrera & González, 1993), kiwi (Calvet, *et al.*, 1990) y banano (Jaizme & Rodriguez, 2004) han demostrado los efectos positivos de esta simbiosis frente a organismos patógenos del suelo como nematodos agalladores de raíces (*Meloidogyne*). CORPOICA (1997) menciona en los trabajos realizados por Olivares & Barea (1991) y Fortuna *et al.* (1996), que la aplicación de hongos micorrícicos en manzana y durazno mejoró la aclimatación de las plantas micropropagadas.

En plantas ornamentales la aplicación de micorrizas vesículo arbusculares (VAM) ha adquirido importancia debido a la gran demanda de agua y nutrientes que estas necesitan para su crecimiento. Es así que en plantas que se producen en vivero, donde las condiciones son más controladas, se utiliza suelo esterilizado, medios inertes o con poco suelo, la aplicación de micorrizas favorece su crecimiento y mejora sus condiciones nutricionales (Ferrera & González, 1994). En cultivos ornamentales y frutales que se realizan en sustratos con bajos contenidos de fósforo se ha observado la disminución de la mortalidad de plantas, observándose al final muchos beneficios con la aplicación de micorrizas del género *Glomus* (*Mosseae*, *Intraradices* y *Viscosum*) (CORPOICA, 1997).

La simbiosis que ocurre entre planta-hongo depende mucho del tipo de planta, del tipo de patógeno y del tipo de hongo que se utilice (Dehne, *et al.*, 2005). Hendrix *et al.* (1980) observó que la inoculación con *Glomus fasciculatum* en magnolia causó un mayor crecimiento de la planta acompañada de muchos beneficios después de un tiempo de su aplicación.

Auge *et al.*, (1986) reportaron que la inoculación micorrícica en rosas incrementó los procesos foliares de intercambio gaseoso bajo condiciones de estrés pudiendo ser éste biótico o abiótico. Los hongos micorrícicos pueden conferir a la planta cierta tolerancia frente al estrés abiótico como es la salinidad del suelo al cual ciertas plantas no son resistentes. El estrés biótico de las plantas puede ser ocasionado por la presencia de otros organismos del suelo como hongos, bacterias y nematodos que interactúan con las micorrizas, las cuales reducen su presencia en el suelo. (Gianinazzi *et al.*, 1999).

Es por esta razón que la aplicación de este tipo de hongos ha sido muy estudiada y ampliamente utilizada no solo con organismos patógenos sino también en la recuperación de suelos áridos como en plantas frutales y ornamentales (Gianinazzi *et al.*, 1999).

1.4.1.3 Factores que afectan al crecimiento de los hongos vesículo arbusculares (VAM)

Se conoce que los hongos endomicorrícicos habitan en las raíces de la mayor parte de plantas, pero para su desarrollo hay que tomar en cuenta muchos factores como la temperatura, el pH y la presencia de patógenos que lo puedan atacar.

En un estudio llevado a cabo por Thompson (1994) se observó que estos hongos arbusculares se destruían a temperaturas superiores a los 50°C.

Experimentos similares demostraron también que el uso de pesticidas es letal ya que por ejemplo el bromuro de metilo y el metil isotiocianato son muy tóxicos para los hongos VAM. El uso de fertilizantes fosfatados pueden reducir la colonización de VAM pero su adición en suelos muy pobres en fosfato, puede incrementar su población.

Los exudados de algunas plantas también constituyen un factor que afecta el desarrollo y formación de los hongos VAM inhibiendo la colonización de micorrizas y la germinación de esporas, aunque se ha descubierto que no todos los hongos responden de la misma forma. Al realizar injertos de plantas hospederas en no hospederas también se puede desarrollar simbiosis ya que el problema radica solo en las raíces de algunas plantas (Bradbury & Peterson, 1999).

Otros factores que reducen la colonización de micorrizas, así como su función es el arado, ya que destruye las esporas y rompe las hifas que se encuentran en la superficie del suelo, además de llevar a las esporas a las profundidades del suelo dejándolas fuera del alcance de las raíces. También la quema de rastrojos, un drenaje pobre y la inundación de los suelos son prácticas del mal manejo del terreno que afectan la viabilidad de las micorrizas (Coyne, 2000).

1.4.2 *Hypericum*

Hypericum es una planta perenne conocida por ser una planta medicinal. *Hypericum perforatum*, o también llamada Hierba de San Juan, es originaria de Europa y ha sido introducida en Estados Unidos, Nueva Zelanda y Australia. Se la utiliza principalmente en herboristería, farmacia, licorería, entre otros siendo las flores y frutos las partes más usadas para dichos fines (Figura 1.4).



Fuente: Hilsea - Laboratorio D&B Finca El Chivan

Figura 1.4 Planta de *Hypericum* variedad Chocolate.

En el campo agrícola *Hypericum* es utilizada para su producción como flore de verano de uso ornamental. *Hypericum* posee un sin número de variedades entre las que podemos mencionar: Elite Coral, Red Wave, Green Condor, Elite Amber, Excelent Flair, red Baron, White Condor, Pink Attraction, Burgubdy Condor, Lemon Condor, Cream Condor y Chocolate (Orozco, 2006).

1.4.2.1 Clasificación taxonómica y descripción botánica

Esta planta pertenece al Orden Theales, Familia Clusiaceae, Género *Hypericum*.

Es perenne originaria de Europa, Asia y África, se desarrolla extensamente en regiones montañosas, llega a medir aproximadamente 0,80m de altura con tallos erguidos y leñosos en su base, ramificados y compuestos de hojas ovaladas alternas, sésiles, con glándulas de color rojizo traslúcido. Sus flores son de color amarillo dorado y su fruto es una cápsula (Buitrón, 1993).

Su ciclo de vida comprende 26 semanas de siembra y la poda se realiza a las 23 semanas. La densidad de cultivo recomendable es de 32 plantas por m² neto o 19,2 plantas por m² bruto (Orozco, 2006).

1.4.2.2 Importancia económica

El cultivo de *Hypericum* ha ganado importancia en el mercado internacional, es así que, en el último año Hilsea llegó a exportar alrededor de 45 millones de tallos a Europa y Estados Unidos, cada planta con un número de tallos de 5 a 6 exportables. Pero la producción de plantas de *Hypericum* debe ser de interés general sobre todo por la diversidad que ésta ofrece, especialmente para El Grupo Esmeralda Ecuador ya que, esta Empresa florícola ha encontrado nuevas variedades de *Hypericum* considerando este factor como ventaja frente a la competencia ya que de esta manera se pueden ofertar productos únicos y exclusivos, siempre y cuando la calidad de la flor supere las expectativas del cliente.

Esta acogida significa compromiso y ganancia para la Empresa ya que, requieren no solo mantener la capacidad de exportación sino superarla, cumpliendo con la demanda de los países europeos que es donde mayor desarrollo tiene el mercado.

1.4.2.3 Cultivo de *Hypericum* en campo

El cultivo y manejo de *Hypericum* de acuerdo a las Fichas Técnicas (2006) realizadas por la Empresa Hilsea se realiza como se describe a continuación:

1.4.2.3.1 Preparación del terreno

Consiste en remover el suelo a una profundidad de 30 cm, usando tractores que recorran todo el terreno realizando la labor para luego incorporar en presiembra la cantidad disponible de materia orgánica.

1.4.2.3.2 Armado de camas y marcación

En caso de que la siembra se lleve a cabo en campo abierto, se debe humedecer el terreno para levantar las camas y colocar mangueras y/o cintas de goteo de fertirriego, además una malla de tutores. Si la siembra se realiza en potes se debe elegir un sustrato adecuado si no se va a utilizar suelo y controlar el goteo y fertirriego (Figura 1.5).



Fuente: Hilsea - Finca La Mora

Figura 1.5 Armado de camas para cultivo de plantas de *Hypericum* en campo.

1.4.2.3.3 Manejo

a) Desinfección y transporte de plantas

La desinfección de las bandejas de plantas se realiza haciendo una inmersión en tina con Vitavax 1gr/l, o Previcur 1 cc/l para luego trasladarlas desde el sitio de la desinfección al sitio destinado para la siembra.

b) Siembra

El proceso de siembra se realiza de acuerdo a los siguientes pasos:

1. Sembrar 32 plantas por m² o hasta 4 plantas por pote dependiendo del volumen del mismo.
2. Introducir la planta garantizando que la parte superior del pilón quede a nivel del suelo.
3. Garantizar que el follaje se mantenga húmedo hasta la tercera semana de edad.

c) Pinche

Se refiere al corte pequeño que se realiza en una parte del tallo para inducir el desarrollo de más ramas. Este paso se realiza a la tercera semana después de la siembra. Se hace un repaso para plantas que quedaron sin pinchar y para ramas basales inducidas hasta la quinta semana.

d) Luz

Es necesario colocar la iluminación cuando la planta tenga 35 cm de alto hasta que el 30% de las bayas tenga color. Se usa iluminación cíclica 30 min prendido y 30 min apagados durante 6 horas, con lámparas de sodio de

250 y/o 400 watts. Se debe utilizar 12 horas netas de luz cuando se requiere uniformizar cosecha y adelantar el ciclo.

e) Riego y fertilización

El fertiriego consiste en la aplicación de una solución fertilizante en el cultivo, este fertiriego debe ser aplicado en los volúmenes de agua que necesita la planta y se inicia a la segunda semana de siembra.

Los volúmenes de agua para fertilizar la fase de vegetativo o productivo son de 8 a 12 litros/m² dependiendo del estado de la planta. La fertilización se realiza cuatro días a la semana con una conductividad eléctrica (E.C.) de 0.8 a 1,2 en el caso de riego con venturi (sistema de riego) y un adicional de nitrato de calcio una vez por semana. En el caso de poda se debe cortar el fertiriego una semana antes y una semana después de la misma.

f) Cosecha

La cosecha de los tallos se debe realizar cuando la baya haya alcanzado el 100% de su color. El corte se lo debe realizar a la base del tallo y se debe llevarlos a tachos de hidratación con una solución de pH 4,0 a 5,5.

1.4.3 Patógenos que Atacan al Cultivo de *Hypericum*

1.4.3.1 Roya (*Puccinia sp.*)

Los hongos de las royas son parásitos obligados ocasionados por Basidiomycetes. Se considera como una de las enfermedades de las plantas más destructivas.

El ciclo de la roya comprende cuatro etapas: Espermogonio, Ecidio, Uredosporas y Teleustoro. Para la germinación de este hongo la presencia de agua es suficiente durante un tiempo aproximado de al menos 6 horas, para luego pasar a la etapa de incubación que dura de 18 a 21 días (Toledo, 1999).

Esta enfermedad se caracteriza por la aparición de pústulas de color amarillo marrón en el envés de las hojas (Figura 1.6) y puede ir acompañado de una consecuente defoliación. La principal causa de la aparición de esta enfermedad depende mucho de la humedad de las hojas y la temperatura del ambiente, cuyo valor óptimo es de 22 °C.



Fuente: Hilsea - Laboratorio D&B Finca El Chivan

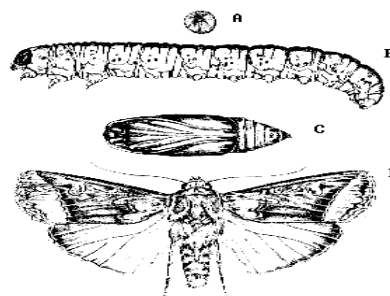
Figura 1.6 Hoja de *Hypericum* atacada por Roya, con presencia de pústula.

Las royas se pueden propagar de planta a planta ya sea que las esporas se transporten a través del viento, insectos, la lluvia o por algunos otros animales. La mayoría de estas atacan a hospedantes específicos por lo que son parásitos obligados, pero existen otros hongos de roya que atacan a diferentes géneros de hospedantes, y se los considera como formas especiales (Agrios, 1998).

El control de esta enfermedad consiste en la remoción de las hojas infectadas y la poda antes del crecimiento de las hojas nuevas. De la misma manera se realizan varias labores dependiendo de la época del año, ya sea mediante la poda o la eliminación del agua en la planta especialmente de las hojas. Así mismo el uso de fungicidas es habitual como preventivos para la aparición de Roya o cuando la enfermedad está ya muy avanzada. Entre los fungicidas más usados están los cúpricos, mancozeb, metalaxil, entre otros (Toledo, 1999).

1.4.3.2 Gusano trozador (*Agrotis ipsilon*)

El ciclo de vida de *Agrotis* inicia desde la formación del huevo que dura de 5 a 6 días para pasar a la formación de la larva que comprende de 24 a 30 días. Una vez que ha terminado esta fase pasan a formar pupas de color café poco brillosas, para luego de 15 días pasar a su estadio adulto. El número de huevos colocados puede llegar a 1800 (Figura 1.7).



Black cutworm. A, Egg. B, Larva. C, Pupa. D, Adult.

Fuente: http://ipm.ncsu.edu/ag271/peanuts/black_cutworm.html

Figura 1.7 Ciclo de vida de *Agrotis ipsilon*: a) huevo, b) larva, c) pupa y d) adulto

La larva mide aproximadamente de 30 a 45 mm de largo y 7 mm de ancho, presentan un color gris, son segmentados y con muy pocas manchas negras (Figura 1.8). Estos gusanos actúan en la noche alimentándose de las hojas y tallo de plantas pequeñas, una larva puede trozar a muchas plantas pero solo dañan una parte de ellas. En el día estas larvas se ocultan bajo el suelo, no a distancias muy profundas por lo que es fácil encontrarlas (Bayer, 2007).



Fuente: www.redepapa.org/agrotis.html

Figura 1.8 Larva de *Agrotis ipsilon*.

Cuando alcanzan el estado adulto miden cerca de 25 mm de largo y tienen 40 a 50 mm de expansión alar, son de color gris. (Bayer, 2007).

Al dañar las hojas y los tallos, las plantas pierden tejido y manifiestan clorosis a parte de perder el vigor por lo que pueden morir sobre todo porque el gusano trozador llega a cortar los tallos a ras del suelo.

1.4.3.3 Nematodos fitopatógenos

Los nematodos fitopatógenos son microscópicos, redondos, más o menos transparentes, su cuerpo es liso y en algunas especies la hembra se hincha en la madurez adquiriendo la forma de una pera. La reproducción se

realiza por medio de huevecillos, estos en el ciclo de vida del nematodo se incuban y desarrollan en larvas que aumentan de tamaño pasando los cuatro estadios larvarios que duran aproximadamente 4 semanas (Agrios, 1998).

De estas etapas la primera y segunda no son infectivas, en algunas especies, pero al llegar a las etapas infectivas, es decir al estadio de juveniles, el nematodo necesita de un hospedante fácil de infectar para que pueda sobrevivir, lo cual también va a depender de factores ambientales (Agrios, 1998).

Los nematodos fitopatógenos pueden atacar a las semillas formando agallas como el género *Anguina*, a las raíces como el nematodo lesionador *Pratylenchus*, el nematodo agallador *Meloidogyne* o el nematodo formador de la raíz achatada como *Trichodorus*. Estos nematodos no solo pueden ser caracterizados por ser causantes de varios tipos de lesiones en la mayor parte de plantas, sino también por el tipo de cultivo al que afectan, así por ejemplo *Haplolaimus* ataca al maíz, caña de azúcar, algodón, alfalfa; *Tylenchulus* ataca a los cítricos, la vid, el olivo (Agrios, 1998).

1.4.3.3.1 *Meloidogyne incognita*

Este nematodo perteneciente al Género *Meloidogyne* fue descubierto por primera vez en Inglaterra al observar la formación de nódulos en raíces de pepino y producía otro tipo de síntomas dependiendo de las condiciones ambientales (Cepeda, 1996).

Meloidogyne incognita es una de las especies más importante dentro de este género, ya que ataca a un gran número de plantas induciendo la formación de agallas (Figura 1.9) al infectar las raíces de su hospedante en el

inicio de su segundo estadio larval. Al igual que otras especies, este nematodo ataca a varios órganos en diferentes plantas provocando el desarrollo de varios síntomas como: la formación de células gigantes, necrosis, acortamiento y disminución de raíces además de interrumpir la absorción de agua y nutrientes por parte de la planta.



Fuente:<http://academic.uprm.edu/ofarrill/HTMLobj-34/NematodosDiagnosticoyCombate.pdf>
Figura 1.9 Raíces agalladas por ataque de *Meloidogyne* spp.

Por otra parte como detallan Storer *et.al* (1982), citado por León (1992), el ciclo de vida del nematodo consta de varios estadios. El primero se da cuando se ha formado una larva completa con estilete como resultado de la división celular, el segundo estadio larvario (Figura 1.10) ocurre con la primera muda y se lleva a cabo dentro del huevo, y por último la larva, que con ayuda de su estilete rompe la cáscara del huevo, logra salir y se mueve en dirección de la raíz atraída por los olores.



Fuente: http://deab.upc.edu/recerca/grups_de_recerca/pocio/copy_of_1/resolveUId/
Figura 1.10 Juvenil del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*.

La hembra deposita los huevos dentro de la raíz de la planta, esto en una masa gelatinosa que es donde se desarrollan, puede depositar alrededor de 1000 huevos en cada proceso reproductivo siendo estos de 3 a 4 veces

(Taylor & Passer, 1983) citado por León (1992). Al llegar a su tercer estadio larvario los juveniles salen e infectan otras raíces.

La mayoría de los nematodos atacan a las células internas de los órganos de las plantas pero algunos también lo hacen de forma externa, absorbiendo algunos de los nutrientes de la planta a través de su estilete, el cual lo utilizan para penetrar la pared celular y una vez dentro de la célula este secreta enzimas que causan ablandamiento de la pared celular (Agris, 1998).

Para el control de este nematodo se utilizan productos químicos como nematicidas o cultivos trampa, por ejemplo las plantas del género *Crotalaria* que atrapan a las larvas de este nematodo agallador de la raíz (Agris, 1998).

Una alternativa recomendada es también sembrar, en un terreno infestado por *M. incognita*, el primer año un cereal resistente como maíz, trigo, cebada; el segundo año, una leguminosa resistente y el tercer año cualquier planta.

La National Academy of Science NAS (1980) cita algunas prácticas poco utilizadas en la actualidad para eliminar este endoparasito del suelo:

- Barbecho que consiste en mantener el terreno libre de vegetación durante largos periodos de tiempo mediante el arado, lo cual a más de eliminar cualquier fuente de alimento para los nematodos, los expone al calor y la desecación exponiéndolos a la luz solar al quedar en la superficie del suelo.
- La inundación del terreno durante 12 a 22 meses puede ayudar a controlar el ataque, posiblemente debido a la disminución de oxígeno y

a la formación de sustancias químicas fatales como resultado de la rápida descomposición de la materia orgánica.

- Los cultivos de cobertura pueden ayudar al control o a la proliferación de los nematodos de acuerdo a su resistencia, además en este tipo de práctica se utilizan las llamadas plantas trampa donde el nematodo ingresa a la raíz y aquí permanece en estado inmóvil.
- Temporada de siembra: consiste en sembrar las plantas en cualquier época del año donde la actividad del nematodo sea inhibida gracias a la baja o alta temperatura. La adición de abonos orgánicos al suelo puede incrementar o disminuir la población de nematodos dependiendo de la presencia de microorganismos destructores de estos endoparásitos.
- La remoción o destrucción de las plantas infectadas es un paso importante para la destrucción de los nematodos ya que, al retirar las raíces del suelo evitamos que los nematodos puedan alimentarse y reproducirse, aumentando su población e infectando a los siguientes cultivos.
- El uso de plantas trampa y antagónicas ha sido poco utilizado para el control por infestación de nematodos; por ejemplo se siembran plantas trampa que son susceptibles a la invasión pero que pueden seguir su ciclo aunque el nematodo haya alcanzado su estado infeccioso, donde muchas de las plantas mueren reduciendo al mismo tiempo la población de nematodos. De la misma forma las plantas antagónicas liberan exudados que son perjudiciales para algunas poblaciones debido a las sustancias tóxicas que los conforman.
- Pero el uso de productos químicos en campo es muy amplio ya que, existen un sinnúmero de nematicidas que actúan en los diferentes estadios larvales pero que depende en algunos casos de las condiciones del suelo y también del género al que pertenezca dicho nematodo.

- Se ha visto también que el uso de abonos orgánicos pueden resultar perjudicial para el desarrollo de algunos nematodos nódulo radiculares por ejemplo la descomposición de los residuos de centeno en el suelo son tóxicos para *Meloidogyne incognita*.

Otro método, y quizá el más utilizado en los últimos años por los agrónomos, es el control biológico por medio del uso de hongos, virus y plantas trampa; estas últimas utilizadas ya que sus raíces liberan exudados que inducen la liberación del nematodo en etapa de huevecillo y al ingresar este a la raíz no se puede desarrollar, lo que produce su muerte (NAS, 1989).

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Participantes

El trabajo experimental se realizó en la Empresa florícola Hilsea Investment finca el Chiván, con la responsabilidad científica de de La Doctora María Labán, Jefe de Laboratorio de Diagnóstico y Biopropagación.

2.2 Descripción del lugar

La Finca el Chivan está ubicada en el sector de San Miguel de Atalpamba, Parroquia el Quinche, Cantón Quito, Provincia de Pichincha a 00°06'00" Sur, 76°16'00" Oeste, 2416 m.s.n.m.

La Empresa Hilsea Investment perteneciente al Grupo ESMERALDA FARM cuenta con el establecimiento de 6 Fincas en nuestro país que operan a una rango de altitud entre 6 000 y 10 000 pies de altura: El Chivan, La Tolita, Perucho, La Mora, La Victoria, y Flor Y Campo; las cuales desarrollan cultivos como: Rosas, Rosas Spray , *Hypericum*, *Lisianthus*, *Campanula*, *Ammi Majus*, *Aster*, *Solid Aster*, *Delphinium*, *Godetia*, *Liatris*, *Limonium*, *Sunflowers*, *Gypsophila*, *Mini-Gerberas* y *Trachelium*.

Otras áreas de suma importancia con las que cuenta esta Florícola son dos Laboratorios, uno de micropropagación Breeding and Biotechnology donde se investiga la obtención de nuevas variedades, además de mejorar las condiciones de cultivo y resistencia de las flores, y otro Laboratorio de Diagnóstico y Biopropagación (Figura 2.1) donde se envían muestras de plantas de todas las Fincas para análisis fitopatológico, así como también muestras de suelos, soluciones de fertilización, aguas de riego, etc. Este laboratorio cuenta con personal capacitado en varias áreas como propagación

de biocontroladores, preparación de sustratos y medios de cultivo, lavado de esporas, análisis químico y fitopatológico y ensayos; de las cuales las principales actividades a más del análisis de muestras, es la propagación de hongos biocontroladores como *Trichoderma* sp., *Gliolcadium* sp, *Verticillium* sp., *Beauveria bassian*, *Paecilomyces lilacinus*, *Arthrobotrys* sp., e *Hyphomycete* sp. efectivos en el control al ataque de insectos, nematodos y otros hongos fitopatógenos.



Figura 2.1 Laboratorio de Diagnóstico y Biopropagación de Hilsea en la Finca El Chivan.

2.3 Periodo de tiempo de investigación

Fecha de inicio: 8 de Abril del 2008

Fecha de finalización: 25 de Marzo del 2009

2.4 Diseño Estadístico de las Fases de la Investigación

2.4.1 Micorrización de plantas de *Hypericum*

Para realizar esta fase experimental se utilizaron plantas de *Hypericum*, las cuales fueron sometidas a dos tipos de inóculo con hongos micorrícicos.

La unidad experimental estuvo constituida por 10 potes que contenían cada uno tres plantas. Cada tratamiento con sus seis repeticiones estuvo formado por 60 potes dando un total de 180 potes por los tres tratamientos.

Factor en estudio:

1. Inóculo

lo: Sin inóculo

l1: Inóculo 1 (Inóculo nativo)

l2: Inóculo 2 (Formulación comercial)

Tratamientos

Del factor en estudio se tuvo un total de 3 tratamientos (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Tratamientos de la fase de micorrización

Tratamientos	Nomenclatura	Descripción
T1	lo	Testigo sin inóculo
T2	l1	Inóculo 1 (Inóculo nativo)
T3	l2	Inóculo 2 (formulación comercial)

Diseño experimental

Se aplicó un Diseño Completamente al Azar con seis repeticiones.

Esquema del análisis de varianza

Fuentes de Variación	GL
Total	17
Tratamientos	2
Error	12

Además se midió el coeficiente de variación (CV%) y se realizó una prueba de Duncan al 5% para tratamientos en general.

La distribución de los tratamientos se indica en la Figura 2.2.

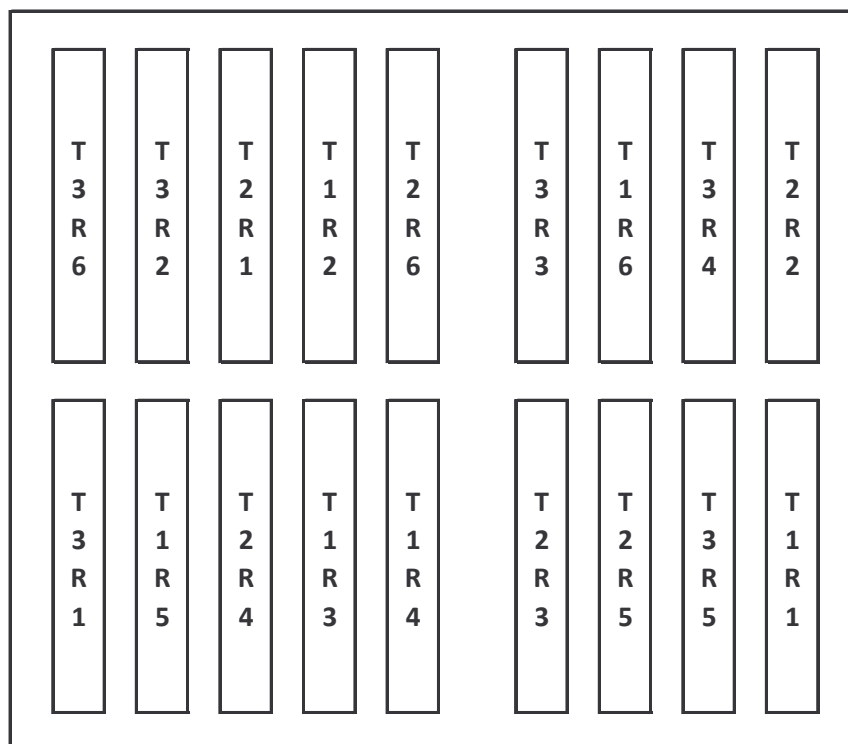


Figura 2.2 Distribución de los tratamientos de la fase de micorrización

Variables estudiadas

Altura de la planta

Peso de raíz

Colonización micorrícica

Número de esporas

2.4.2 Interacción con *Meloidogyne incognita*

Para realizar esta fase se utilizaron plantas de *Hypericum* micorrizadas con dos tipos de inóculo micorrícico: nativo y comercial. De los seis tratamientos, tres de ellos fueron inoculados con nematodos de *Meloidogyne incognita* y tres no.

La unidad experimental estuvo constituida por 10 potes que contenían cada uno tres plantas. Cada tratamiento con tres repeticiones estuvo formado por 30 potes dando un total de 180 potes por los seis tratamientos.

Factores en estudio

1. Inóculo

Io: Sin inóculo

I1: Inóculo 1 (Inóculo nativo)

I2: Inóculo 2 (Formulación comercial)

2. Nematodo

No: Sin nematodo

N1: Con nematodo

Tratamientos

De la combinación de los factores en estudio se tuvieron un total de 6 tratamientos (Tabla 2.2).

Tabla 2.2 Tratamientos de la fase de interacción con *Meloidogyne incognita*

Tratamientos	Nomenclatura	Descripción
T1	I0No	Sin inóculo, sin nematodo
T2	I0N1	Sin inóculo, con nematodo
T3	I1No	Inóculo 1, sin nematodo
T4	I1N1	Inóculo 1, con nematodo
T5	I2No	Inóculo 2, sin nematodo
T6	I2N1	Inóculo 2, con nematodo

Diseño experimental

Se aplicó un Diseño Completamente al Azar en un arreglo factorial de 3x2 con tres repeticiones.

Esquema del análisis de variancia

Fuentes de Variación	GL
Total	17
Tratamientos	5
Inóculo (I)	2
Nematodo (N)	1
I x N	2
Error	12

Además se midió el coeficiente de variación (CV%) y se realizó una prueba de Duncan al 5% para tratamientos en general, inóculos y nematodos. La distribución de los tratamientos se indica en la Figura 2.3.

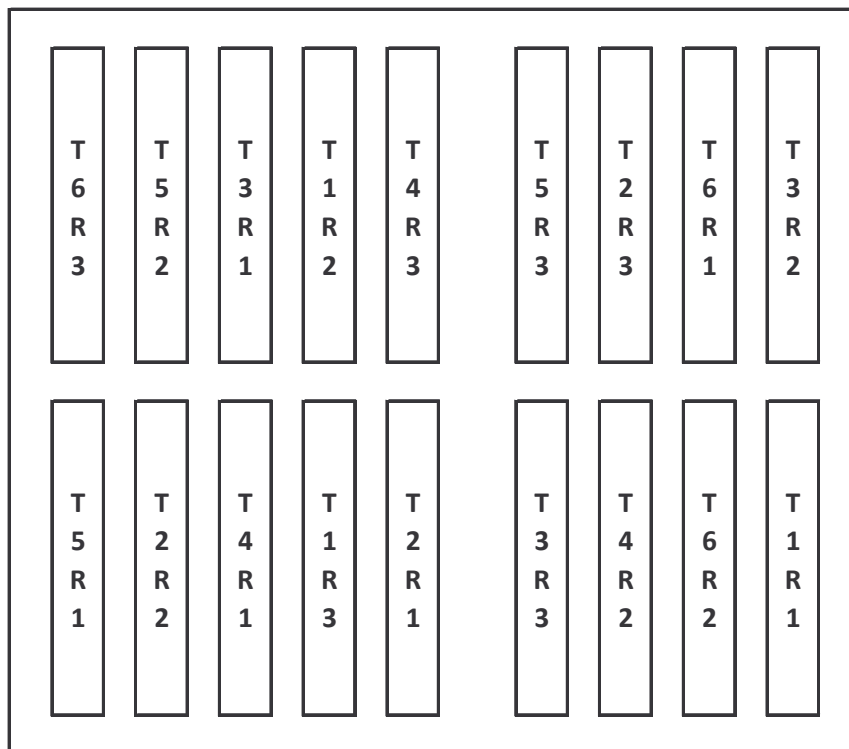


Figura 2.3 Distribución de los tratamientos de la fase de interacción con *Meloidogyne incognita*

Variables estudiadas

Índice de agallamiento

Número de nematodos

Número de esporas

Colonización micorrícica

Longitud de raíz

Peso de raíz

Altura de la planta

El programa estadístico utilizado para este análisis fue InfoStat versión 2004. Mediante este software estadístico se pudo realizar los análisis de variancia y la prueba de Duncan al 5% para las variables estudiadas en las dos fases de la investigación.

2.4.3 Sistema de Hipótesis

2.4.3.1 Micorrización de plantas de *Hypericum*

Hi: La micorriza nativa inoculada en *Hypericum* si coloniza la raíz de la planta.

Ho: La micorriza nativa inoculada en *Hypericum* no coloniza la raíz de la planta.

Hi: Las micorrizas provenientes de la formulación comercial inoculadas en *Hypericum* si colonizan la raíz de la planta.

Ho: Las micorrizas provenientes de la formulación comercial inoculadas en *Hypericum* no colonizan la raíz de la planta.

2.4.3.2 Interacción con *Meloidogyne incognita*

Hi: La micorriza nativa que colonizó la raíz de las plantas de *Hypericum*, ayuda a controlar el ataque por nematodos.

Ho: La micorriza nativa que colonizó la raíz de las plantas de *Hypericum*, no ayuda a controlar el ataque por nematodos.

Hi: Las micorrizas provenientes de la formulación comercial que colonizaron la raíz de las plantas de *Hypericum*, ayudan a controlar el ataque por nematodos.

Ho: Las micorrizas provenientes de la formulación comercial que colonizaron la raíz de las plantas de *Hypericum*, no ayudan a controlar el ataque por nematodos.

2.5 Materiales y Métodos

2.5.1 Micorrización de plantas de *Hypericum*

Esta fase consistió en la inoculación de hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares en planta de *Hypericum*. Las micorrizas fueron aisladas de suelo nativo y plantas perennes para su multiplicación en invernadero. Se establecieron primero cultivos trampa y de estos, una vez conseguida la simbiosis hongo-planta, se inoculó en plantas de *Hypericum*. A continuación se detalla con mayor claridad los pasos de esta fase.

2.5.1.1 Aislamiento de la micorriza nativa

Consistió en obtener micorrizas vesículo arbusculares de suelos nativos para emplearlos como inóculo.

a) Descripción del sitio de muestreo

Para el aislamiento de la micorriza nativa se buscó un lugar que no haya sido afectado anteriormente por actividades agrícolas o asentamientos humanos y con presencia de plantas silvestres, con el fin de asegurar la búsqueda de las micorrizas. Además el lugar debió ser un lugar con las mismas características de suelo donde se realizaría la siembra de *Hypericum* para que la micorriza se adapte fácilmente al suelo de cultivo y sus condiciones ambientales sean las óptimas.

El terreno utilizado para dicho aislamiento se encontró en la parroquia El Quinche, en el sector de Inguiñaro.

b) Muestreo de raíces de plantas silvestres para identificación de micorrizas

Este paso consistió en un examen minucioso de las raíces de plantas silvestres con el fin de encontrar la existencia de simbiosis entre micorrizas y las raíces de dichas plantas.

Se muestrearon varias plantas silvestres que fueron analizadas en el laboratorio mediante tinción con azul de tripán y observadas al microscopio para identificar la presencia de hifas y vesículas, característica de una colonización por hongos VAM. Así también se realizó conteo de esporas a partir de suelo recolectado. Después de cinco recolecciones de plantas como holco, pastos y retama, se encontró que la planta de pasto silvestre sirvió para obtener el inóculo e iniciar la primer fase de la investigación (SDT, 2004).

La etapa de muestreo duró aproximadamente un mes para hallar las plantas micorrizadas. Se visitaron terrenos baldíos de la Parroquia El Quinche con el fin de hallar micorrizas del lugar y facilitar el desarrollo de estas en invernadero con el mismo tipo de suelo y facilitar también su adaptabilidad al ambiente.

c) Conteo de esporas de micorriza nativa

El conteo de esporas se realizó a partir de las muestras de suelo recolectado, mediante la metodología de tamizaje y centrifugación en gradiente de sacarosa. Consistió en tamizar la muestra de suelo con el fin de eliminar partículas de gran tamaño y mediante centrifugación obtener una interfase con presencia de esporas las cuales fueron visibles con la aplicación de un azúcar como la sacarosa (Gerderman & Nicholson, 1963). Este método fue modificado de acuerdo a los materiales de laboratorio.

El procedimiento fue como se detalla a continuación:

Primero se tomó 50 gramos de suelo seco y se colocó en 1 litro de agua, el cual se lo mezcló por 15 minutos para luego verter la mezcla sobre los tamices y lavarla con agua el contenido del tamiz superior. Del tamiz de 325 mesh se recogió con cuidado la interfase y se la virtió en un tubo de centrifuga de 50 ml con 25 a 30 ml de agua. Luego se adicionaron 20 ml de solución de sacarosa 72% con Tween 80 al 2%; de manera que la solución quedó por debajo del material suspendido en agua. Se equilibraron los tubos para centrifugarlos durante 5 minutos a 2000 r.p.m. Con la ayuda de una jeringa se recogieron las esporas que quedaron en la interfase y se pasó el contenido de la jeringa por el tamiz de 500 mesh para luego lavar y eliminar la sacarosa. Por último se recogió el contenido del tamiz en una pequeña caja de vidrio y se procedió al conteo respectivo.

d) Tinción de raíces de plantas de pasto silvestre

El procedimiento de tinción (Figura 2.4) se lo realizó según el método descrito por Phillips y Hayman (1970):

Se lavaron las raíces con abundante agua, se secaron en papel filtro y se dividieron las raíces en segmentos pequeños de aproximadamente 2 mm. Luego se cubrieron las raíces con solución de KOH al 10%, se colocaron a baño María (90°C) durante 10 a 15 minutos, se extrajeron las raíces y se lavaron con abundante agua. Luego se acidificaron con una solución de HCl al 1N durante 10 minutos, se decantó el HCl sin lavar y los segmentos se introdujeron luego en azul de tripán 0,05%. Los segmentos se colocaron nuevamente a baño María por 10 minutos a 90°C, se lavaron un poco las raíces y se colocaron en lactoglicerol durante varias horas para quitar el exceso de colorante. Una vez que transcurrido este tiempo se procedió a la observación al microscopio para identificar la presencia de micorrizas.



Figura 2.4 Raíces de plantas de pasto silvestre en el proceso de tinción con azul de tripán para observación de hongos micorrizicos arbusculares.

e) Caracterización morfológica de la micorriza nativa

Una vez seguros de la presencia de micorrizas en las muestras, el siguiente paso fue la caracterización morfológica del hongo con el fin de conocer el posible Género (Duchicela, 2001). Para esto se utilizó la colección de micorrizas vesículo arbusculares INVAM, cuya página está publicada en: [http://: invam.caf.wvu.edu/](http://invam.caf.wvu.edu/)

Al realizar la identificación de esporas se tomaron fotografías de las mismas para compararlas con la colección INVAM y establecer tentativamente el posible Género al que pertenecen.

2.5.1.2 Propagación de la micorriza nativa para la multiplicación de la micorriza

Es la multiplicación del hongo mediante el uso de cultivos trampa, es decir plantas susceptibles de micorrización.

a) Preparación del inóculo nativo a partir de raíces de plantas de pasto silvestre para el establecimiento de cultivos trampa

Las raíces de las plantas aisladas se cortaron en fragmentos pequeños y junto con el suelo se realizó una sola mezcla para utilizarlo como inóculo de los cultivos trampa (Figura 2.5).



Figura 2.5 Planta de pasto silvestre y preparación del inóculo nativo para la propagación de micorrizas en cultivos trampa.

b) Desarrollo de cultivos trampa para la propagación de la micorriza nativa

Al encontrar plantas silvestres colonizadas con hongos VAM, se utilizaron como inóculo sus raíces y suelo para propagar las micorrizas en cultivos trampa con el fin de obtener mayor cantidad de esporas. Se sembraron semillas de *Brachiaria*, cebolla y avena combinadas entre si y también por separado en potes bajo invernadero. Se rellenaron los potes con las dos terceras partes de tierra normal, se esterilizó el suelo, se añadió luego una capa del inóculo previamente preparado, y por último otra capa del sustrato estéril (Figura 2.6). Estos cultivos trampa se desarrollaron por cuatro meses al final de los cuales se tomaron muestras de raíces y suelo para analizarlos mediante tinción de raíces y conteo de esporas. Una vez seguros de que la simbiosis fue positiva estos cultivos trampa se prepararon como inóculo para las plantas de *Hypericum* (STD, 2004).

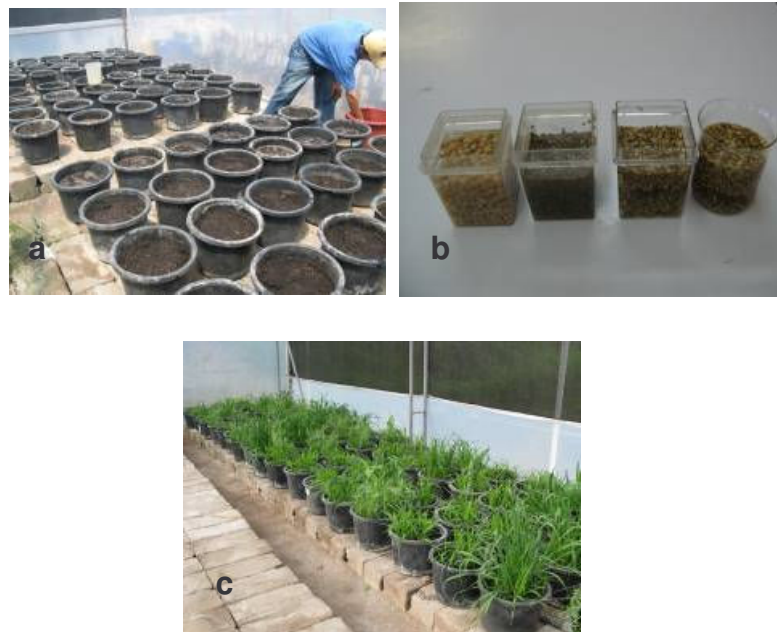


Figura 2.6 a) Potes con suelo estéril, b) semillas desinfectadas y c) establecimiento de cultivos trampa.

c) Preparación del inóculo nativo propagado en cultivos trampa para su aplicación en las plantas de *Hypericum*

Luego de cuatro meses del crecimiento de los cultivos trampa se cortaron las plantas por la base del tallo y se sometieron las raíces a estrés hídrico durante 10 días con el fin de inducir la esporulación. Cumplido este periodo la preparación del inóculo se realizó como se lo hizo para los cultivos trampa. Las plantas de *Barchiaria*, cebolla y avena fueron extraídas cuidadosamente de los pots y de estas se cortaron las raíces en fragmentos para mezclarlas con el suelo y formar un solo inóculo (STD, 2004) (Figura 2.7).



Figura 2.7 Corte de tallos de los cultivos trampa a las 16 semanas de siembra para obtención del inóculo nativo de plantas de *Hypericum*.

2.5.1.3 Cultivo de *Hypericum*

El cultivo de las plantas de *Hypericum* se llevó a cabo bajo invernadero (Figura 2.8) en condiciones controladas como luz, humedad, temperatura con valores de temperatura que desde 12 a 28°C y con una humedad relativa del 70%.



Figura 2.8 Invernadero del Laboratorio de Diagnóstico y Biopropagación donde se llevó a cabo el ensayo.

a) Muestreo y análisis del suelo para el cultivo de *Hypericum*

Antes del cultivo de la planta se tomaron muestras de suelo, el cual se extrajo de la Finca La Mora.

El muestreo se realizó en diferentes puntos del terreno en forma de "X" o de "W" a una profundidad 20 cm. Estas muestras se colocaron en un balde para mezclar y homogenizar completamente y luego se obtuvo una sola muestra (CORPOICA, 1997), la cual fue analizada en laboratorio.

b) Inoculación de la micorriza nativa en plantas de *Hypericum*

Consistió en colocar el hongo propagado en el sustrato donde crecieron las plantas de *Hypericum* con el fin de llevar a cabo su micorrización. Los pots fueron llenados hasta la mitad con suelo recolectado de la Finca La Mora y cascajo 50:50, se esterilizó colocando agua hervida en cada uno de ellos y pasadas algunas horas se colocó en la otra mitad del pote el inóculo,

mezclando todo para homogenizar el sustrato de cultivo. El proceso de esterilización fue realizado de acuerdo al método utilizado en el Laboratorio de Diagnóstico y Biopropagación de la finca El Chivan (Figura 2.9).



Figura 2.9 Potes con inóculo nativo obtenido de los cultivos trampa para sustrato de las plantas de *Hypericum*.

Una vez listo el sustrato, se sembraron 3 plántulas de *Hypericum* variedad Chocolate por pote (Figura 2.10), provenientes de la Finca La Victoria.



Figura 2.10 Potes con plántulas de *Hypericum* variedad Chocolate y distribución de los tratamientos en invernadero.

c) Inóculación de las micorrizas de la formulación comercial en las plantas de *Hypericum*

La formulación comercial utilizada como inoculante en suspensión tenía la siguiente composición de hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares: *Glomus* sp. principalmente: *Glomus fasciculatum* y otros como *Glomus manihotis* y/o *Glomus mosseae* (Figura 2.11) .

Al igual que para la inoculación de la micorriza nativa, se llenaron los pots con suelo y cascajo estéril 50:50. Se sembraron 3 plántulas de *Hypericum* por pote y a los 8 días de la siembra se inoculó en cada pote 250 cc del preparado comercial colocando esta mezcla alrededor de la planta en contacto con las raíces.



Figura 2.11 Formulación comercial de micorrizas y preparación del inóculo para aplicación en plántulas de *Hypericum* a los 8 días de siembra.

2.5.1.4 Manejo del cultivo de *Hypericum*

El manejo se llevó a cabo de acuerdo a la ficha técnica de este cultivo (Introducción, Cap. 1), tomando en cuenta fertirriego, pinche, luz, etc. La fertilización se realizó a partir de la tercera semana de siembra cuya dosis se muestra en el cuadro 2.3 (Anexo A).

Cuadro 2.3 Dosis de fertilización para el cultivo de *Hypericum*.

DOSIS DE MACRO Y MICROELEMENTOS PARA FERTILIZACIÓN DE PLANTAS DE HYPERICUM		
ELEMENTO	ppm Vegetativo	Sol. Madre (cc/L)
N	120	4
P	40	4
K	80	2,5
Ca	75	2,5
Mg	63	3,5
Cu	1,7	1,7
Fe	2	1,25
Mn	1,5	0,6
Zn	1,6	1
B	0,15	0,3
Mo	0,1	0,2

Fuente: Laboratorio D&B Finca El Chivan

2.5.2 Interacción con *Meloidogyne incognita*

En esta fase se inoculó suelo infestado de nematodos con presencia de raíces agalladas y presencia de hembras de *Meloidogyne* en el sustrato del cultivo de *Hypericum* para observar su comportamiento frente a las micorrizas.

2.5.2.1 Inoculación del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita*

La infección se realizó una vez micorrizadas las plantas de *Hypericum*. A los cuatro meses de la siembra se colocó en cada pote 50 g de suelo infestado por nematodos con residuos de raíces agalladas y con presencia de hembras de *Meloidogyne*.

2.6 Análisis de Datos

2.6.1 Micorrización de plantas de *Hypericum*

A partir del segundo mes de la inoculación se realizaron un muestreo cada 15 días hasta el cuarto mes de crecimiento de la planta, tomando muestras de las seis repeticiones por tratamiento. Las variables a estudiar fueron las que se detallan a continuación.

2.6.1.1 Altura de plantas de *Hypericum*

Se midió la altura de la planta utilizando un flexómetro, esto se realizó para las seis repeticiones por tratamiento a lo largo de los 4 primeros meses del cultivo.

2.6.1.2 Peso de raíz de plantas de *Hypericum*

Los tallos de las plantas se cortaron en la base y se dejaron únicamente las raíces, las cuales fueron lavadas y secadas para eliminar el exceso de sustrato y posteriormente se pesaron directamente en la balanza.

2.6.1.3 Colonización de la micorriza nativa y las micorrizas de la formulación comercial en plantas de *Hypericum*

El porcentaje de colonización se realizó de acuerdo al método descrito por (Biermann & Linderman, 1981). Los segmentos de las raíces teñidas fueron distribuidos en un portaobjetos para realizar observaciones en el microscopio y fueron contabilizados aquellos segmentos que presentaron estructuras fúngicas como hifas, arbuscúlos y/o vesículas; así como los segmentos no colonizados.

Para el cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%colonización = \frac{\#segmentoscolonizados}{\#segmentostotales} \times 100$$

(colonizados+no colonizados)

2.6.1.4 Conteo de esporas de micorriza en el suelo de cultivo de plantas de *Hypericum*

El conteo de esporas se realizó mediante el método descrito por Gerderman y Nicholson (1963), efectuado anteriormente para el conteo de las esporas del suelo nativo y su posterior caracterización.

2.6.2 Interacción con *Meloidogyne incognita*

En esta fase se realizó un muestreo de suelo cada 15 días hasta la cosecha para realizar el conteo de nematodos y esporas. Al final de la cosecha se midió la altura de las plantas y se observó el índice de agallamiento, el porcentaje de colonización, el peso de la raíz, la longitud de la misma y la altura de la planta.

Se realizó un muestreo de las tres repeticiones por tratamiento. Así también se observaron síntomas que nos indique si el nematodo afectó o no a la planta como altura donde las plantas afectadas sufren síntomas de enanismo, color de las hojas que al ser una planta enferma presenta clorosis, y presencia de necrosis de las hojas.

2.6.2.1 Índice de agallamiento del sistema radicular de plantas de *Hypericum*

Este es un indicador del número o grado de agallas que se encuentran en la raíz, es decir el daño que los nematodos causaron a la planta y su capacidad para atacarla, manifestándose en la presencia de nudosidades.

En el índice de agallamiento se observaron las nudosidades y se clasificó según la escala de Taylor (Cuadro 2.4):

Cuadro 2.4 Escalas del índice de agallamiento en raíces atacadas por *Meloidogyne* spp.

ÍNDICE	ESCALA
Raíces sin nudosidades	0
Raíces con poca nudosidad	1
Raíces con muchas nudosidades pequeñas	2
Raíces con pocas nudosidades grandes	3
Raíces con muchas nudosidades grandes	4
Raíces con grandes deformaciones	5

2.6.2.2 Conteo de nematodos de *Meloidogyne incognita* en el suelo de cultivo de plantas de *Hypericum*

Para el conteo de nematodos se utilizó el método de centrifugación o método de la flotación del azúcar que se basa en tomar una muestra de suelo y mezclarla con un volumen mayor de agua, así los nematodos flotarán en el agua y se pueden coleccionar en tamices de diferentes tamaños de poro. La mezcla se agitó y se dejó reposar por 30 segundos. El sobrenadante se colocó primero en un tamiz de 45 mesh para retener las partículas más grandes y luego por un tamiz de 230 mesh, el cual retuvo a los nematodos de gran tamaño pero dejó pasar a los más pequeños. Este último se pasó por un tamiz de 500 mesh donde se atraparon los nematodos y residuos más pequeños. Estos se lavaron en el tamiz y se recogieron en un tubo para centrifugar a 3000 rpm durante 4 min, se retiró el sobrenadante y se llenó el tubo con una solución de azúcar (1lb./l agua), se agitó hasta que se suspendió el sedimento y se llevó una vez más a la centrífuga a 3000 rpm por un lapso de 30 a 120 seg., los nematodos se mantuvieron suspendidos y el sobrenadante se pasó por el tamiz más fino el cual retuvo los nematodos. Se eliminó de los nematodos la solución

de azúcar mediante varios lavados con piceta y una vez limpios se recolectaron en una caja Petri o placa para efectuar el conteo y hacer observaciones (Agrios, 1998).

De acuerdo al Proyecto Internacional de *Meloidogyne*, la escala del número de nematodos y su grado de infestación (Cuadro 2.5) es la siguiente:

Cuadro 2.5 Escala de *Meloidogyne* en suelo y rangos de infestación.

ESCALA	DESCRIPCIÓN
0 juveniles	Infestación nula
1-25 juveniles	Infestación ligera
26-50 juveniles	Infestación regular (nivel crítico de daño)
51-75 juveniles	Infestación fuerte
Más de 75 juveniles	Infestación muy fuerte

2.6.2.3 Conteo de esporas de micorriza en el suelo de cultivo de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de *Meloidogyne incognita*

Se utilizó el método de Gerderman y Nicholson (1963), descrito anteriormente.

2.6.2.4 Colonización de la micorriza nativa y las micorrizas de la formulación comercial en plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de *Meloidogyne incognita*

Al igual que en la fase de micorrización, el cálculo del porcentaje se lo realizó mediante el método descrito por Biermann & Linderman (1981), detallado anteriormente.

2.6.2.5 Longitud de raíz de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de *Meloidogyne incognita*

Para la medición de la longitud de raíz se utilizó un flexómetro y se analizaron para las tres repeticiones de cada tratamiento.

2.6.2.6 Peso de raíz de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de *Meloidogyne incognita*

Las raíces de las plantas evaluadas fueron pesadas una vez que se eliminó su parte aérea, en una balanza electrónica.

2.6.2.7 Altura de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de *Meloidogyne incognita*

De la misma manera que en la primera fase, se procedió a medir la altura de la planta antes de ser desprendida de los potes, para lo cual se utilizó un flexómetro.

CAPÍTULO 3: RESULTADOS

3.1 Micorrización de Plantas de *Hypericum*

3.1.1 Altura de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial

Al establecer los análisis de varianza para la altura de plantas de *Hypericum*, se detectó diferencias estadísticas al nivel del 1% en las semanas 8, 10 y 14, mientras que al 5% en las semanas 12 y 16 (Tabla 3.1).

Los promedios van incrementándose de 6,33 cm en la semana 8 hasta 18,17 cm en la semana 16 con coeficientes de variación entre 9,03 a 23,27% (Tabla 3.1).

Tabla 3.1 Análisis de varianza para altura de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial. Hilsea, Pichincha, El Quinche, 2009.

FUENTES DE VARIACIÓN	GL	EVALUACIÓN DE LA ALTURA DE PLANTAS (Semanas a la inoculación de las micorrizas)				
		8	10	12	14	16
TOTAL	17					
TRATAMIENTO	2	24,13**	15,98**	7,88*	133,22**	99,13*
ERROR	15	0,61	1,12	1,33	10,66	16,92
\bar{X} (cm)		6,33	9,72	12,75	14,03	18,17
CV (%)		12,32	10,88	9,03	23,27	22,64

*: diferencias al 5% **: diferencias al 1% ns: no hay diferencias

Bajo la utilización de la micorriza nativa se logró, en términos generales, las mayores alturas de plantas de *Hypericum*, a lo largo de las evaluaciones establecidas. La micorriza nativa ocupó el primer lugar del primer rango mediante la prueba de Duncan al 5% en todas las evaluaciones a excepción de la evaluación a la décima semana que ocupa el segundo rango, mientras que el testigo presentó las alturas menores y se encuentra ubicado en

el último rango en todas las semanas de la 8 a la 16 (Anexo B). La formulación comercial de micorrizas dio lugar a valores intermedios. Este inóculo en las semanas 10, 12 y 14 se ubicó en el rango “a” mientras que en las semanas 8 y 16 ocupó el rango “b”, por lo cual el tratamiento 2 (micorriza nativa) fue el mejor para esta variable.

En la Figura 3.1 se aprecian estos comportamientos a lo largo de la primera fase de micorrización manifestándose el efecto del inóculo nativo sobre la altura de la planta como la mejor, en la mayoría de los casos, frente al testigo y a la formulación comercial de micorrizas, además de presentar incrementos continuos a lo largo de la primera fase. Aunque los dos tipos de inóculo permanecían cerca uno de otro siempre prevaleció la micorriza nativa.

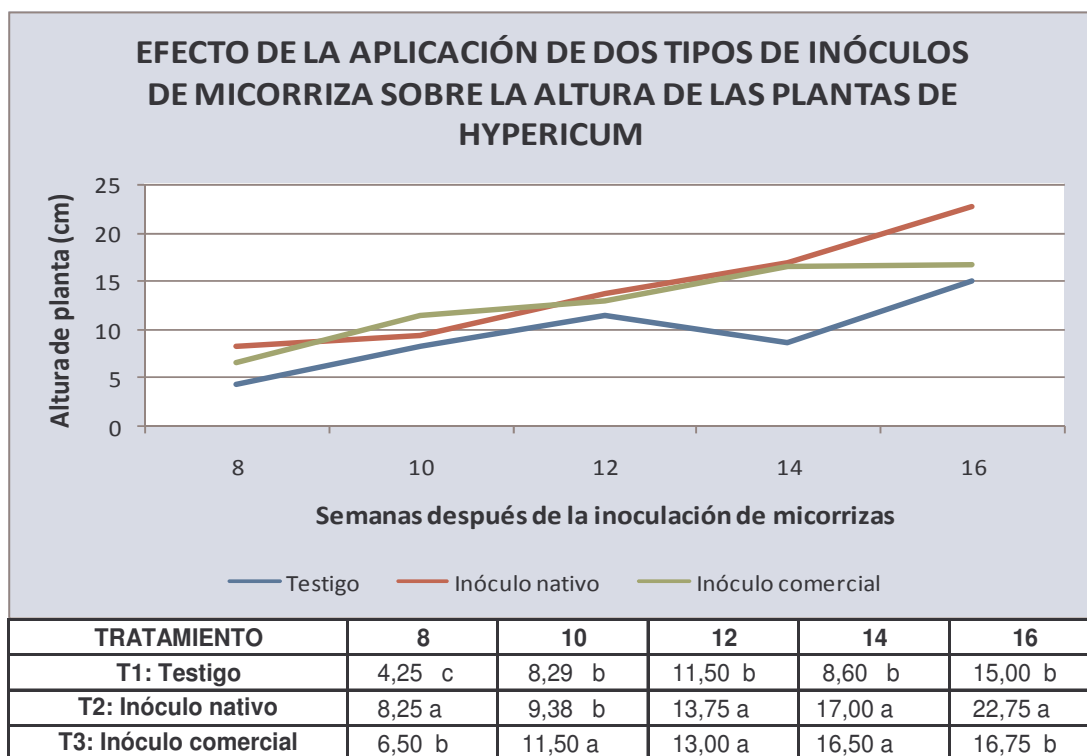


Figura 3.1 Efecto de la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial sobre la altura de plantas de *Hypericum* durante las 16 primeras semanas después de la inoculación.

3.1.2 Peso de raíz de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial

Al realizar el análisis de varianza para la variable peso de raíz se observó que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos considerando el peso a la semana 14 y fue significativas para peso a las semanas 8, 12 y 16, mientras que en la semana 10 no hubieron diferencias significativas (Tabla 3.2).

Los promedios del peso de la raíz de las plantas de *Hypericum* van incrementándose de 1,42 g en la semana 8 a 2,93 g en la semana 16. Los coeficientes de variación se encuentran entre 29,48 y 47,41%.

Tabla 3.2 Análisis de varianza para peso de raíz de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial. Hilsea, Pichincha, El Quinche, 2009.

FUENTES DE VARIACIÓN	GL	EVALUACIÓN DEL PESO DE RAÍZ DE LAS PLANTAS (Semanas a la inoculación de las micorrizas)				
		8	10	12	14	16
TOTAL	17					
TRATAMIENTO	2	1,27*	0,46 ns	1,64*	5,58**	10,70*
ERROR	15	0,29	0,25	0,37	0,53	1,93
\bar{X} (g)		1,42	1,54	2,08	2,22	2,93
CV (%)		38,35	32,56	29,48	32,68	47,41

*: diferencias al 5%

** : diferencias al 1%

ns: no hay diferencias

Según Duncan al 5%, se observa que en todas las semanas, tanto el inóculo nativo como el inóculo comercial, se ubican en el rango “a” con valores que determinan, a más de los rangos, que el inóculo comercial en las semanas 8, 10 y 14 es el mejor, mientras que en las semanas 12 y 16 la micorriza nativa lo es. El testigo en todas las evaluaciones a lo largo de la primera fase se ubicó en el rango “b” presentando los pesos menores de la raíz.

La diferencia de pesos entre semanas, para cada tratamiento, se aprecia en la Figura 3.2, especialmente para la micorriza nativa en relación al inóculo comercial y al testigo. A pesar de las diferencias entre inóculos (T2 y T3), éstos micorrizaron efectivamente a las plantas inoculadas, reflejando mejores pesos de raíz que el testigo, aunque no en todas las evaluaciones el efecto fue continuo.

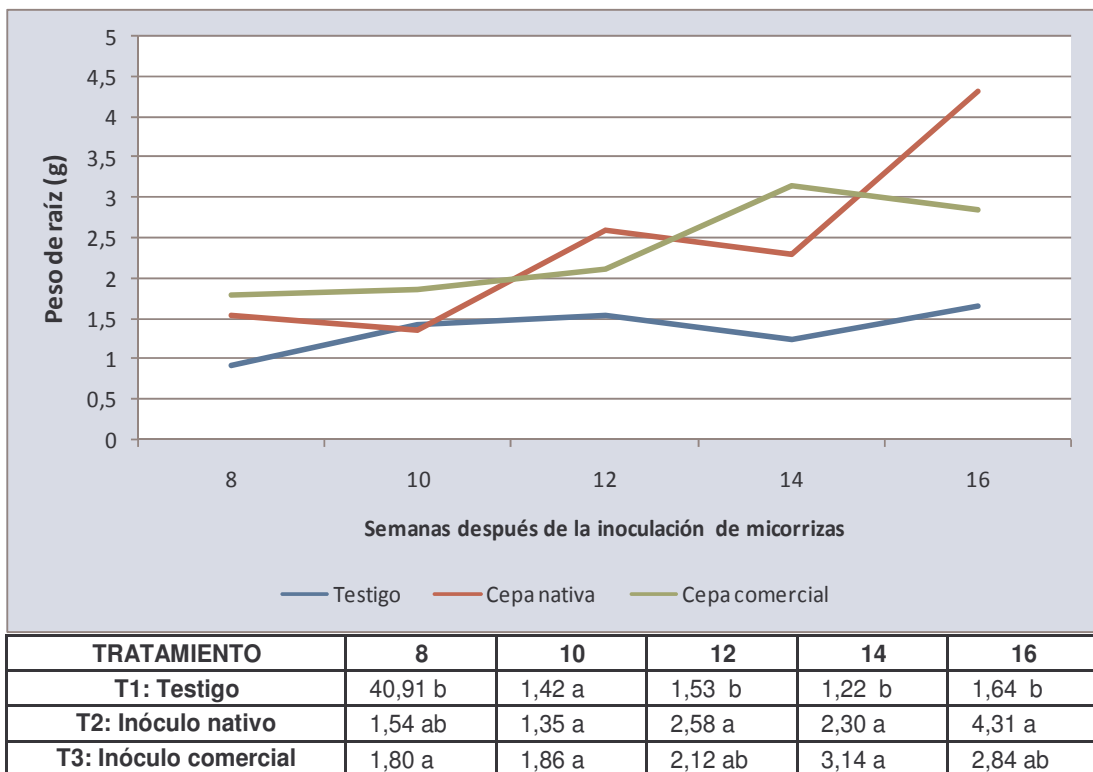


Figura 3.2 Efecto de la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial sobre el peso de la raíz en plantas de *Hypericum* durante las 16 primeras semanas después de la inoculación.

3.1.3 Colonización micorrícica en raíces de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial

En el análisis de varianza para porcentaje de colonización por parte de la micorriza nativa y la formulación comercial en raíces de *Hypericum*, se observó que los tratamientos tuvieron efectos altamente significativos en las semanas 8, 10, 12, 14 y 16, es decir, en toda la primera fase (Tabla 3.3).

Los promedios variaron durante las semanas de muestreo, estos valores se encuentran entre 11,11 y 20,00%; mientras que los coeficientes de variación están entre 53,53 y 80,59 %.

Tabla 3.3 Análisis de varianza para porcentaje de colonización en raíces de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial. Hilsea, Pinchincha, El Quinche, 2009.

FUENTE DE VARIACIÓN	GL	EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN EN EL SISTEMA RADICULAR DE LAS PLANTAS (Semanas a la inoculación de las micorrizas)				
		8	10	12	14	16
TOTAL	17					
TRATAMIENTO	2	1372,22**	2422,22**	4200,00**	3716,67**	3905,56**
ERROR	15	55,56	102,22	240,00	134,44	245,56
\bar{X} (%)		11,11	18,89	20,00	18,33	19,44
CV (%)		67,08	53,53	77,46	63,25	80,59

*: diferencias al 5% **: diferencias al 1% ns: no hay diferencias

Los valores entregados como resultado de la prueba de Duncan al 5% para la variable colonización micorrícica en raíces de *Hypericum*, nos indican que en todas las evaluaciones el mejor tratamiento fue el inóculo nativo colocándose en el rango “a”. El tratamiento 3 (formulación comercial) ocupó el segundo lugar (rango b) junto con el testigo en todas las evaluaciones a

excepción de la semana 10. A diferencia del tratamiento 1 (testigo), la formulación comercial de micorrizas mostró un porcentaje de micorrización cuyos valores de las medias se encuentran entre 8,33 y 16,67%, mientras que el testigo no presentó micorrización.

La Figura 3.3 muestra como se incrementa el porcentaje de colonización desde la semana 8 hasta la semana 16 para dos tratamientos (T2 y T3), los valores entre tratamiento se alejan significativamente. El Tratamiento 2 alcanzó su mayor colonización a la semana 12 y lo mantuvo durante las últimas semanas con rangos pequeños de variación.

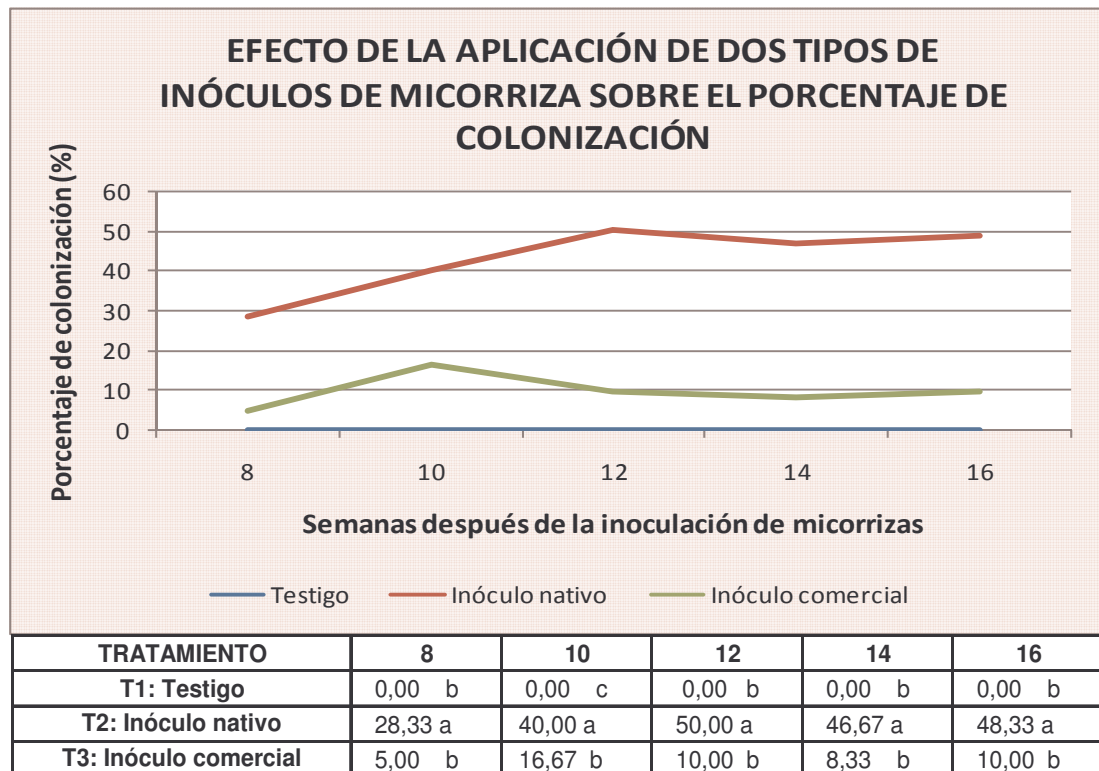


Figura 3.3 Porcentaje de colonización en raíces de plantas de *Hypericum* durante las 16 primeras semanas después de la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial.

3.1.4 Número de esporas en el suelo de cultivo de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial

Al realizar el análisis de varianza para la variable número de esporas se obtuvieron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos en todas las semanas de la 8 a la 16, mientras que los valores de los promedios se van incrementando a excepción de la semana 14 donde se obtuvo un valor que pasó de 17,44 a 16,11 (Tabla 3.4).

Tabla 3.4 Análisis de varianza para número de esporas en suelo usado como sustrato para plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial. Hilsea, Pichincha, El Quinche, 2009.

FUENTES DE VARIACIÓN	GL	EVALUACIÓN DEL NÚMERO DE ESPORAS EN SUELO (Semanas a la inoculación de las micorrizas)				
		8	10	12	14	16
TOTAL	17					
TRATAMIENTO	2	34,39**	1658,00**	2257,56**	1894,06**	3900,06**
ERROR	15	2,69	24,00	13,29	59,84	30,19
\bar{X} (Nº)		1,78	15,33	17,44	16,11	20,94
CV (%)		92,24	31,95	20,90	45,55	26,23

*: diferencias al 5%

** : diferencias al 1%

ns: no hay diferencias

Según la prueba de Duncan al 5% para número de esporas en suelo, en todas las semanas el inóculo comercial presentó diferencias estadísticas significativas con respecto al testigo y al inóculo nativo. El rango en todas las evaluaciones para la micorriza nativa fue “a” mientras que para las micorrizas de la formulación comercial fue “b” y para el testigo fue “c”, a excepción de la semana 8 donde el valor de la media para la formulación comercial fue cercano a cero, lo cual explica la ubicación de los tratamientos (T1 y T2) en el mismo rango.

En la Figura 3.4 se observa una esporulación mínima al inicio del muestreo, es decir en la semana 8, tanto para el inóculo 1 (micorriza nativa) como para el inóculo 2 (formulación comercial). El testigo en todas las semanas no presentó esporulación debido a la ausencia del inóculo.

Las curvas de crecimiento indican la conducta de la micorriza nativa y la formulación comercial en la Figura 3.4. Al igual que en el porcentaje de colonización, se observa diferencia entre los valores de estos dos tratamientos. Se puede apreciar que la micorriza nativa, a la semana 16, alcanzó valores máximos con respecto a las evaluaciones anteriores. El inóculo de la formulación comercial a partir de la semana 10 presentó valores que permanecen aproximadamente constantes hasta la última semana de evaluación de la fase I.

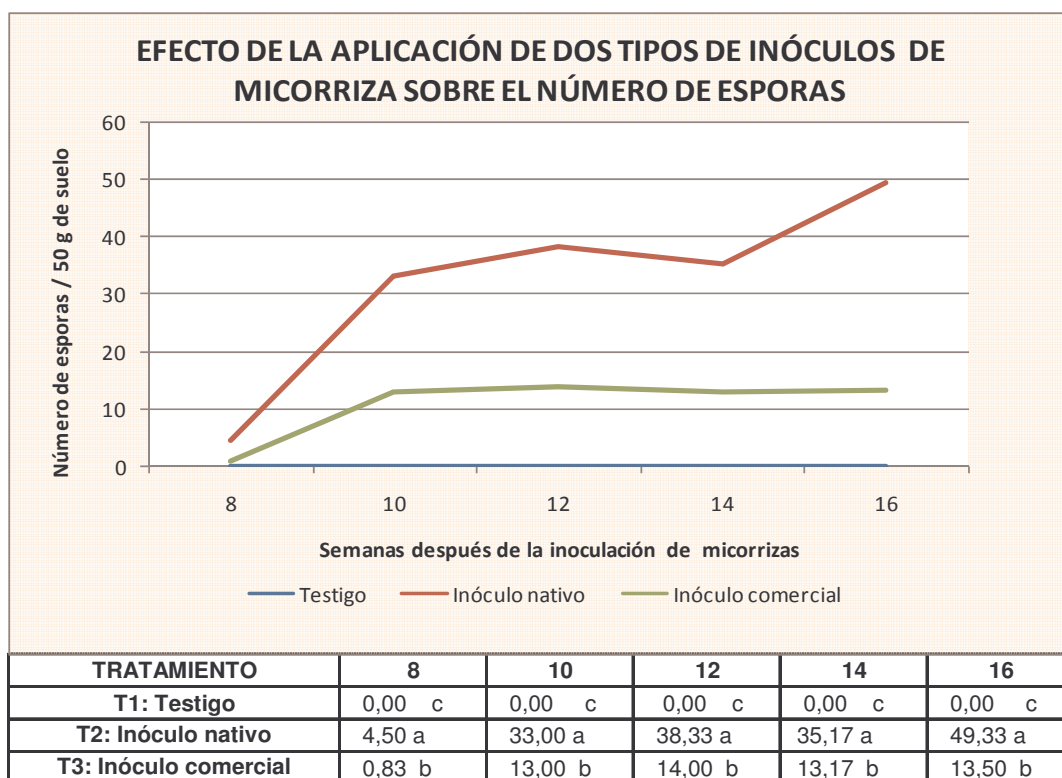


Figura 3.4 Esporulación en suelo de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial, durante las 16 primeras semanas después de la inoculación.

3.1.5 Caracterización morfológica de la micorriza nativa

Al realizar la observación microscópica de las esporas nativas aisladas y compararlas con las esporas de la colección INVAM se determinó que pertenecían al Género *Glomus*, al igual que las esporas del inóculo comercial (Anexos C, D, E, F1, F2, G, H).

3.2 Interacción con *Meloidogyne incognita*

3.2.1 Índice de agallamiento del sistema radicular de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de *Meloidogyne incognita*

Al establecer el análisis de varianza para el índice de agallamiento en las raíces de las plantas de *Hypericum*, se encontró diferencias estadísticas al nivel del 1% para tratamiento, inóculo, nematodo y para el factor conjunto Inóculo x Nematodo (Tabla 3.5). El promedio fue de 1,39 con un coeficiente de variación de 5,17%.

Tabla 3.5. Análisis de varianza para el índice de agallamiento en el sistema radicular de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza y la presencia o no del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita*. Transformación $\sqrt{x+1}$. Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.

FUENTES DE VARIACIÓN	GL	EVALUACIÓN DEL ÍNDICE DE AGALLAMIENTO EN EL SISTEMA RADICULAR DE LAS PLANTAS A LA COSECHA. CUADRADO MEDIO (CM)
TOTAL	17	
TRATAMIENTO	5	0,91**
INÓCULO	2	0,20**
NEMATODO	1	3,77**
I x N	2	0,20**
ERROR	12	0,01
\bar{X} real		1,39
\bar{X} transformada		1,46
CV (%)		5,17

*: diferencias al 5%

** : diferencias al 1%

ns: no hay diferencias

El índice de agallamiento en el sistema radicular de las plantas, como se observa en la Figura 3.5, fue mayor en las plantas que no fueron inoculadas micorriza. Al comparar entre tipos de inóculos, el que tuvo mayor presencia de agallas fue el tratamiento con el inóculo comercial, mientras que las plantas con el inóculo nativo presentaron menor índice de agallamiento (Anexos I1, I2, I3, J).

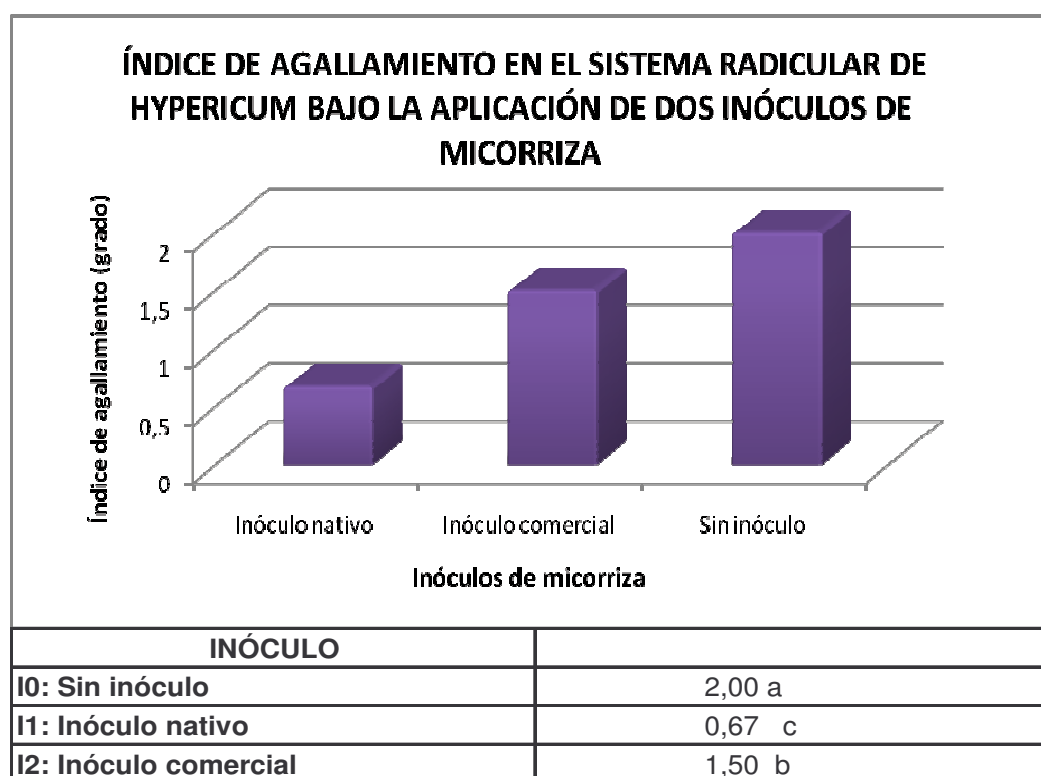


Figura 3.5 Índice de agallamiento del sistema radicular de plantas de *Hypericum* bajo la presencia de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial evaluadas a la cosecha.

Como es evidente en la Figura 3.6, las plantas donde se inoculó el nematodo presentaron agallas en sus raíces a diferencia de aquellas plantas donde no se aplicó ningún nematodo, y que sirvieron como testigo para el resto de tratamientos.

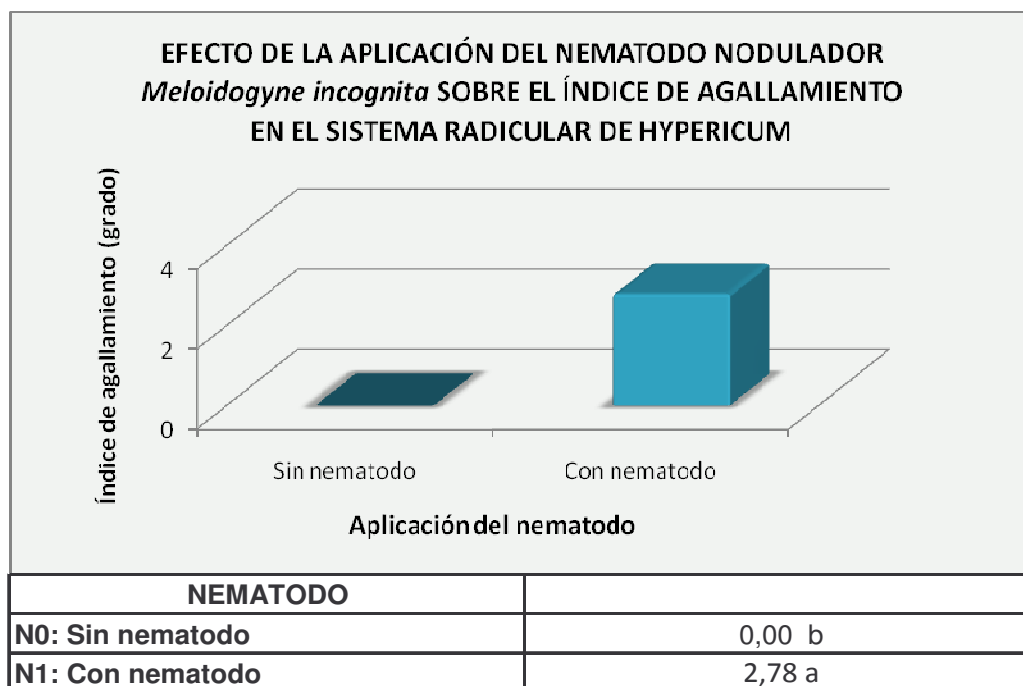


Figura 3.6 Efecto de la aplicación del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* sobre el índice de agallamiento en el sistema radicular de plantas de *Hypericum* evaluadas a la cosecha.

En el efecto conjunto Inóculo x Nematodo (Figura 3.7), se observó que las raíces de las plantas con el inóculo nativo tuvieron menor índice de agallamiento que las plantas con el inóculo comercial, lo cual nos indica que los dos factores, tanto inóculo de micorriza como de nematodo, actuaron dependientemente.

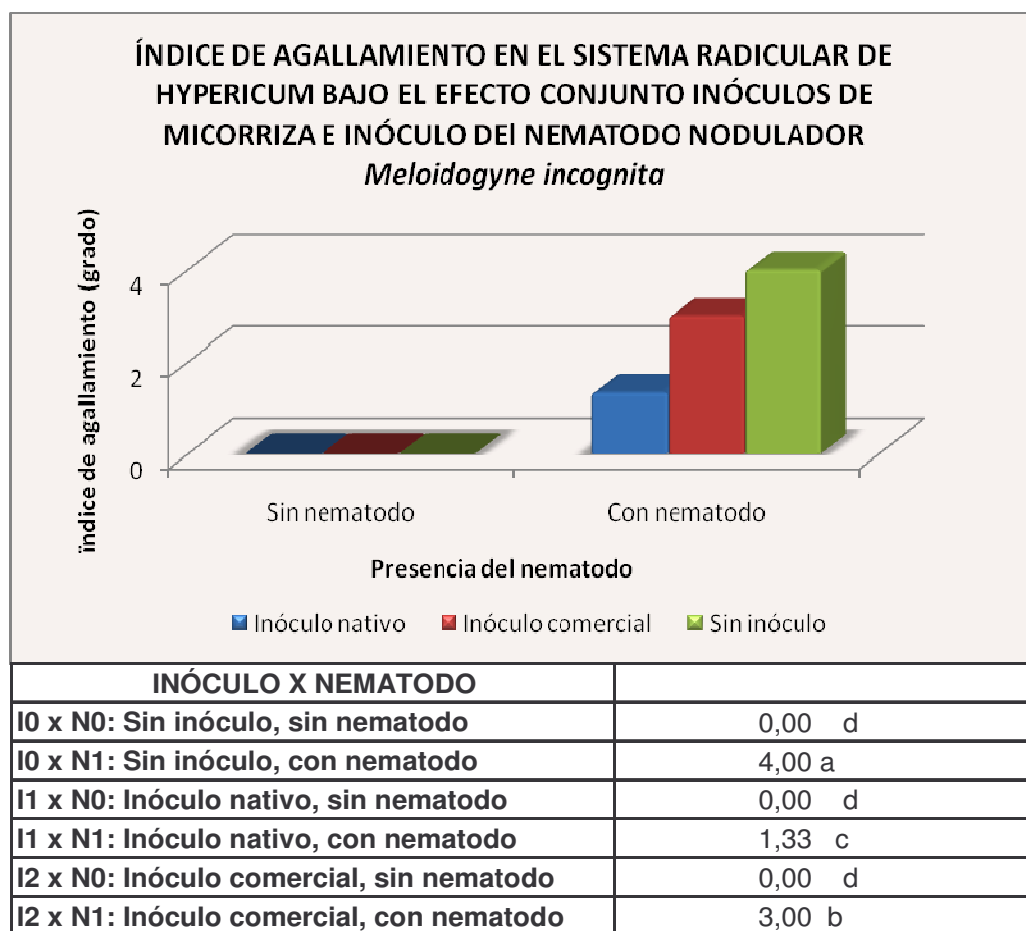


Figura 3.7. Índice de agallamiento en el sistema radicular de plantas de *Hypericum* bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* evaluadas a la cosecha.

3.2.2 Número de nematodos de *Meloidogyne incognita* en el suelo de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de *Meloidogyne incognita*

Al establecer los análisis de varianza para el número de nematodos en el suelo, se detectó diferencias estadísticas para tratamientos a las semanas 6, 8 y 10 al nivel del 1%, mientras que a la semana 4 se manifestaron diferencias estadísticas al nivel del 5%.

Al desglosar los grados de libertad (GL) para tratamientos, únicamente se encontró diferencias estadísticas al nivel del 5% en la semana 10 para inóculos de micorriza, mientras que para la inoculación de nematodos se encontró diferencias estadísticas al nivel del 1% en todas las semanas. Al analizar la interacción Inóculo x Nematodo, únicamente se encontró significación estadística al nivel del 5% en la última semana, por lo que los dos factores actuaron dependientemente. Los promedios generales del número de nematodos a las semanas 4, 6, 8 y 10 fueron de 7.22, 8.0, 16.61 y 24.17 nematodos/50 g de suelo respectivamente, con coeficientes de variación entre 26,18 y 52,90% (Tabla 3.6).

Tabla 3.6 Análisis de varianza para el número de nematodos en el suelo de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza y la presencia o no del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita*. Transformación $\sqrt{x+1}$. Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.

FUENTES DE VARIACIÓN	GL	EVALUACIÓN DE NÚMERO DE NEMATODOS EN SUELO (Semanas a la inoculación del nematodo)			
		4	6	8	10
TOTAL	17				
TRATAMIENTO	5	7,08*	8,38**	19,53**	36,97**
INÓCULO	2	1,361 ns	0,04 ns	0,95 ns	14,56*
NEMATODO	1	30,16**	46,74**	93,85**	126,62**
I x N	2	1,31 ns	0,04 ns	0,95 ns	14,56*
ERROR	12	1,47	0,44	2,07	2,54
\bar{X} (Nº) real		7,22	8,00	16,61	24,17
\bar{X} (Nº) transformada		2,29	2,52	3,28	3,65
CV (%)		52,90	26,18	43,86	43,65

*: diferencias al 5% **: diferencias al 1% ns: no hay diferencias

En la Figura 3.8 se puede apreciar la disminución en la semana 10 de la población de nematodos cuando se inoculó las micorrizas con la micorriza nativa. Sin inóculo, en la misma semana, se produjo un incremento del número de nematodos al igual que con las micorrizas comerciales.

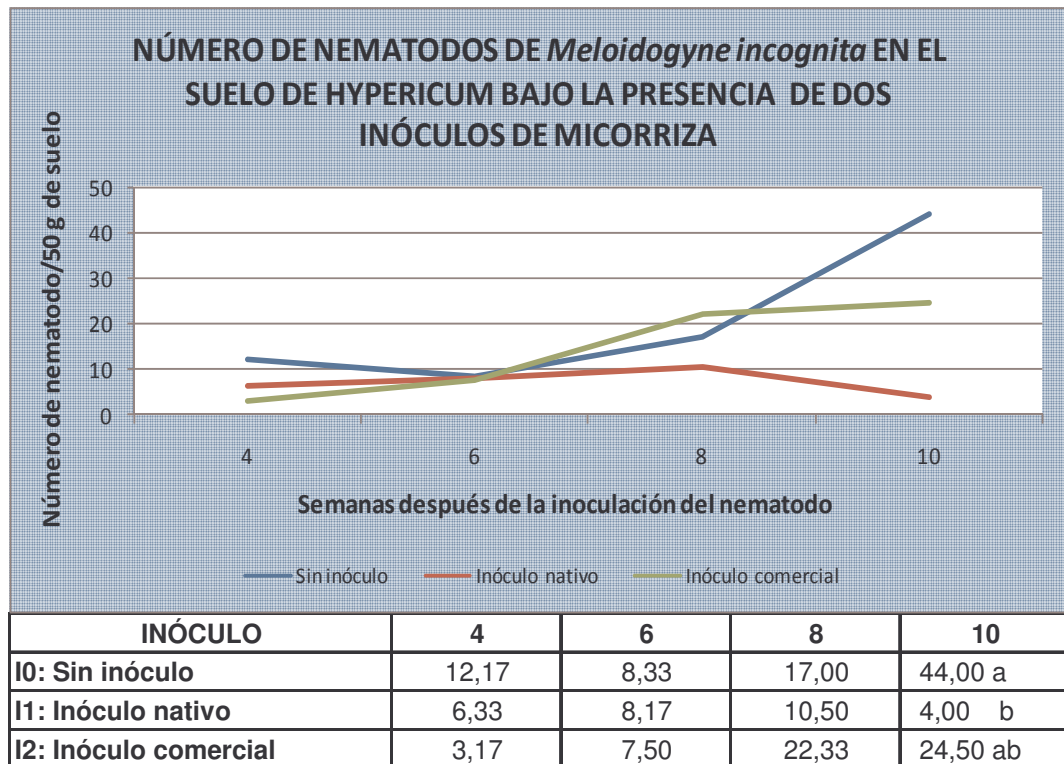


Figura 3.8 Número de nematodos de *Meloidogyne incognita* en el suelo de plantas de *Hypericum* bajo la presencia de dos inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial en cuatro evaluaciones después de su inoculación.

En los suelos donde no se inoculó el nematodo no hubo presencia de estos. En aquellos suelo donde si se inoculó, los nematodos incrementaron su número desde 14 en la primera semana hasta 48 en la última semana (Figura 3.9).

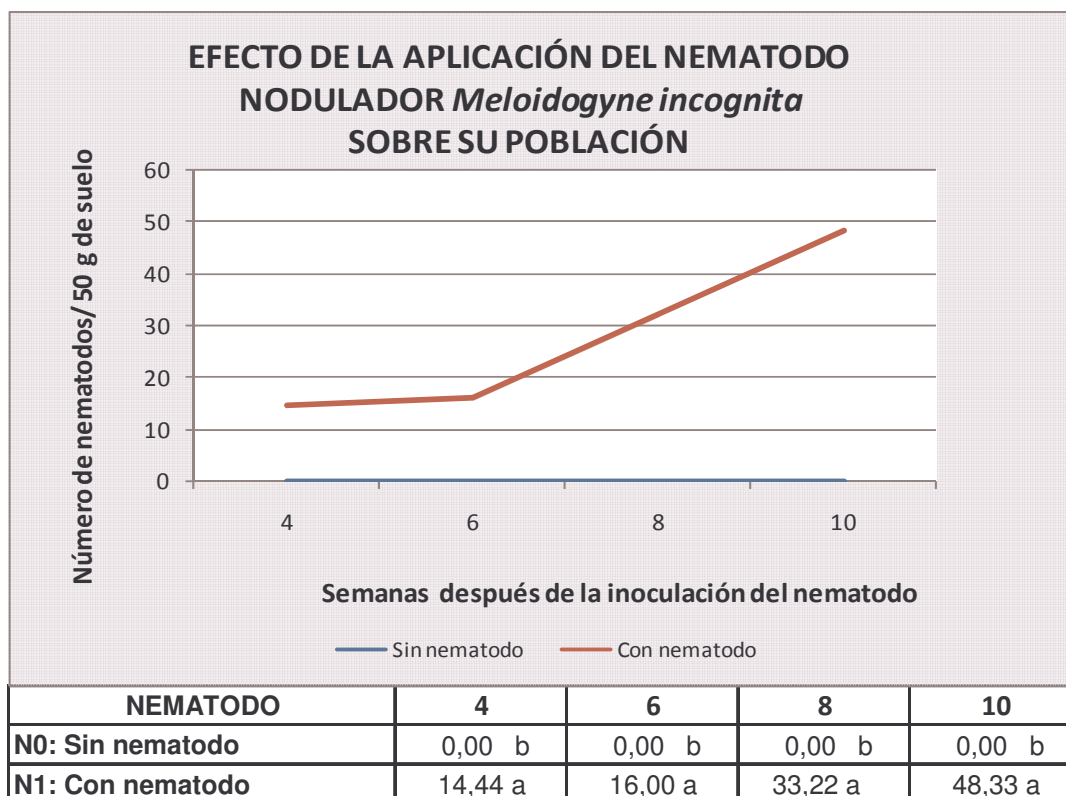


Figura 3.9. Efecto de la aplicación del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* sobre su población en el suelo de plantas de *Hypericum*, en cuatro evaluaciones después de su inoculación.

Al analizar el efecto conjunto Inóculo x Nematodo (Figura 3.10), se observó resultados diferentes pues el tratamiento sin inóculo y con nematodo incrementó su población, al igual que con el tratamiento de la formulación comercial y con nematodos. Cuando se inoculó con la micorriza nativa y en presencia del nematodo la población bajó especialmente en la última evaluación (Anexo K).

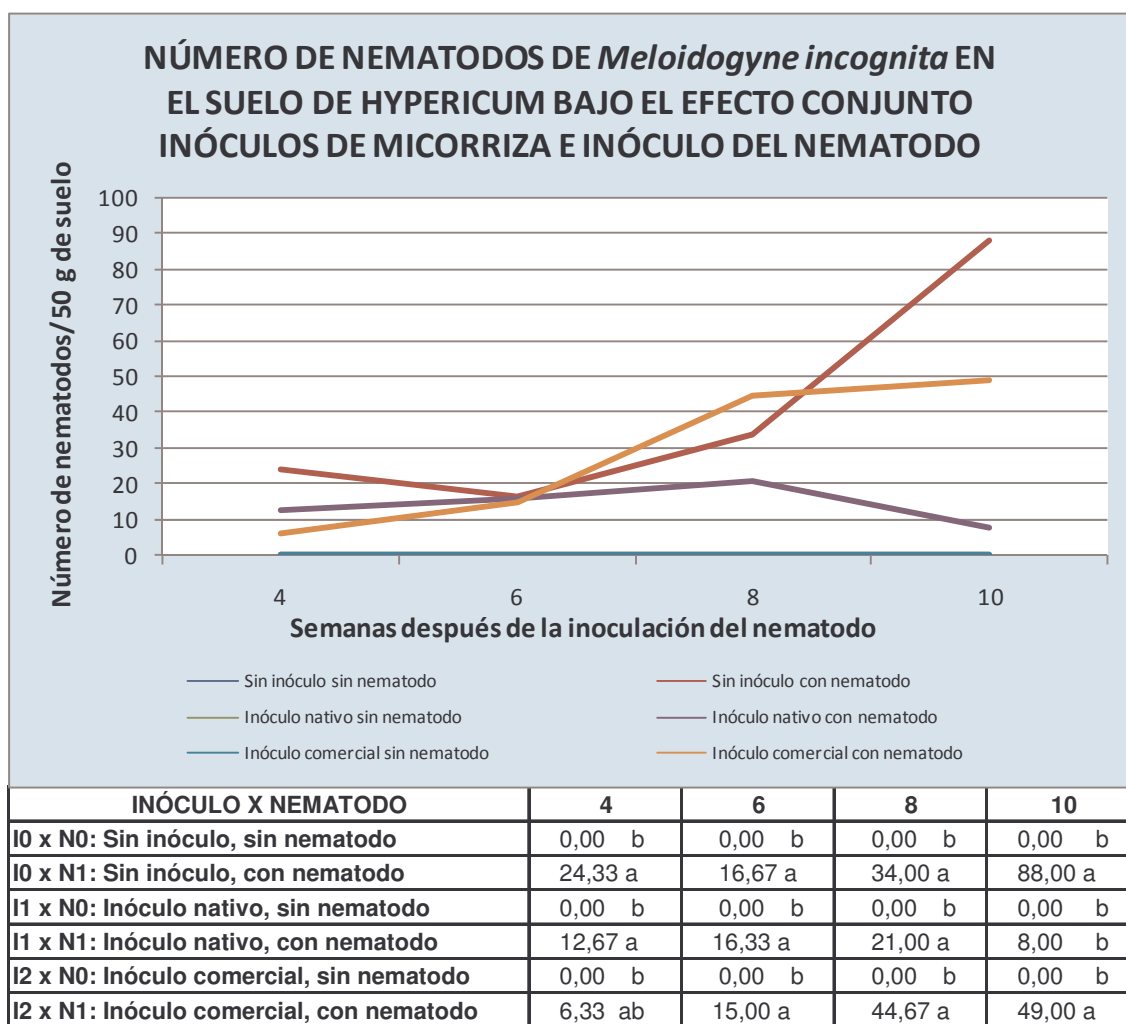


Figura 3.10 Número de nematodos de *Meloidogyne incognita* en el suelo de plantas de *Hypericum* bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo en cuatro evaluaciones después de su inoculación.

3.2.3 Número de esporas de micorriza nativa y de micorrizas de la formulación comercial en el suelo de cultivo de plantas de *Hypericum* en presencia o no de *Meloidogyne incognita*

Al establecer el análisis de varianza para el número de esporas, se observó que, tanto para tratamientos como para inóculos de micorriza, existió una significancia estadística al nivel del 1% en todas las semanas, mientras que para nematodos únicamente se presentaron diferencias estadísticas al nivel del 5% en la semana 8. En la interacción Inóculo x Nematodo las significancias estadísticas fueron al nivel del 1% en la misma semana (Tabla 3.7).

Los promedios para el número de esporas en las semanas 4, 6, 8 y 10 fueron de 18.78, 8.83, 7.44 y 11.78 esporas/50g de suelo respectivamente, con coeficiente de variación entre 53.12 y 69.87%.

Tabla 3.7 Análisis de varianza para el número de esporas en el suelo de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza y la presencia o no del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita*. Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.

FUENTES DE VARIACIÓN	GL	EVALUACIÓN DEL NÚMERO DE ESPORAS EN SUELO (Semanas a la inoculación del nematodo)			
		4	6	8	10
TOTAL	17				
TRATAMIENTO	5	726,22**	158,37**	376,56**	490,89**
INÓCULO	2	1768,22**	386,17**	666,06**	1165,72**
NEMATODO	1	138,89 ns	12,50 ns	150,22*	50,00 ns
I x N	2	62,89 ns	3,50 ns	197,72**	36,50 ns
ERROR	12	99,67	22,89	26,06	67,72
\bar{X} (Nº)		18,78	8,83	7,44	11,78
CV (%)		53,12	54,16	68,57	69,87

*: diferencias al 5%

** : diferencias al 1%

ns: no hay diferencias

Al realizar la prueba de Duncan al 5% (Figura 3.11), se pudo apreciar que al aplicar el nematodo, el número de esporas con inóculo nativo fue mayor que con el inóculo comercial en todas las semanas. Este número se incrementó especialmente en la semana 10. En el caso de la formulación comercial, la cantidad de esporas varió en cada semana observándose que al final de la segunda fase disminuyó considerablemente en relación a la cantidad de esporas en la semana 4, después de la inoculación del nematodo.

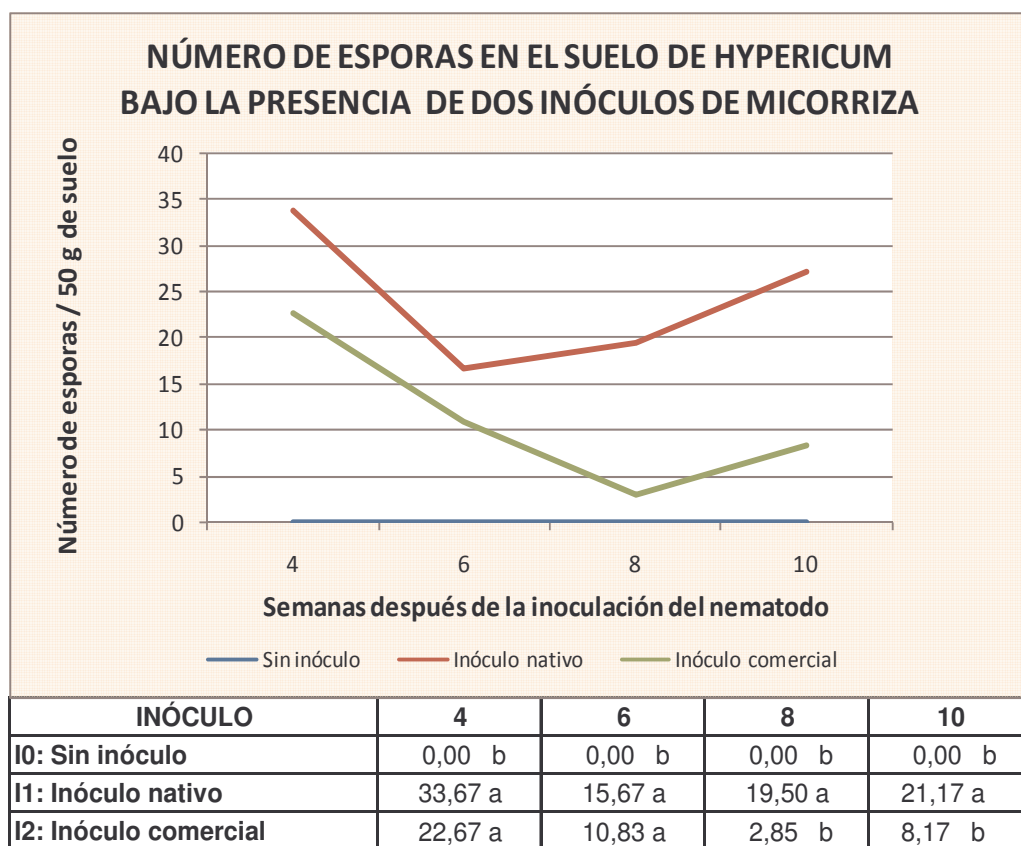


Figura 3.11 Número de esporas en el suelo de plantas de *Hypericum* bajo la presencia de dos tipos de inóculos de micorriza en cuatro evaluaciones después de la inoculación del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita*.

Se puede apreciar en la Figura 3.12, que el número de esporas en el suelo fue menor en presencia del nematodo que sin él. Sin embargo, la presencia de esporas se manifestó todo el tiempo durante las cuatro evaluaciones hasta la cosecha de las plantas.

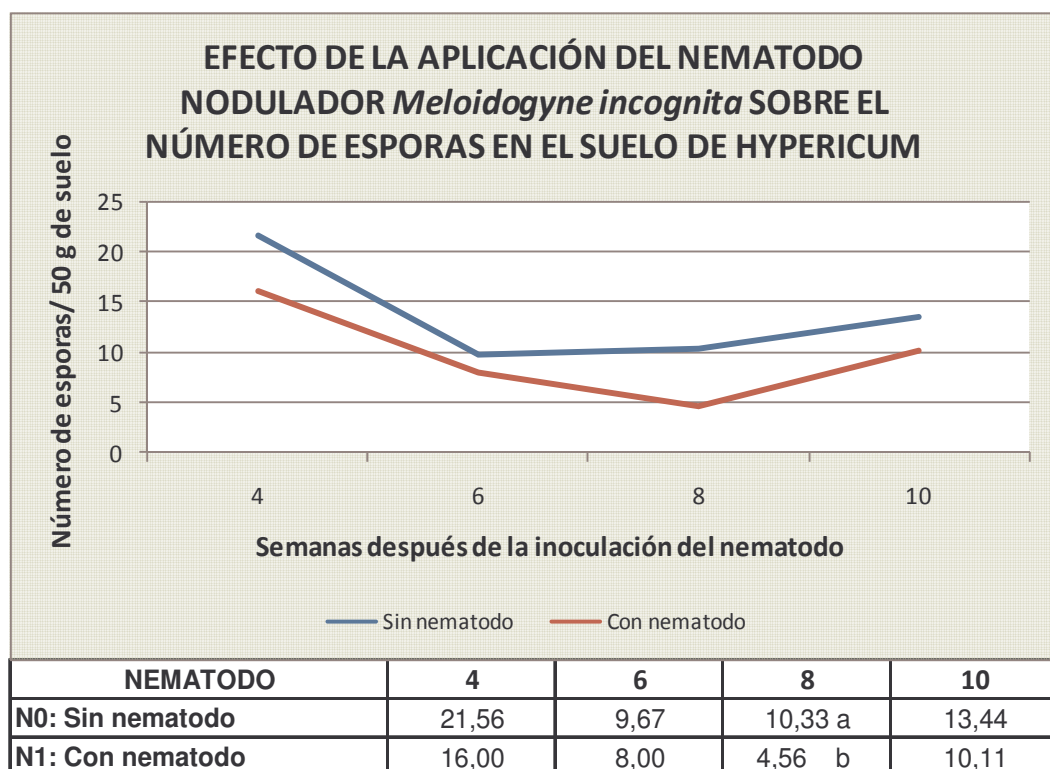


Figura 3.12 Efecto de la aplicación del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* sobre el número de esporas en el suelo de plantas de *Hypericum*, en cuatro evaluaciones después de su inoculación.

En la Figura 3.13 para la interacción Inóculo x Nematodo, se observó que en el tratamiento con inóculo nativo y en presencia del nematodo, el número de esporas se incrementó especialmente en la semana 10. Para el tratamiento con inóculo comercial y con nematodos, la cantidad de esporas disminuyó en la semana 8 recuperándose en la semana 10. No obstante, la cantidad de esporas durante toda la evaluación hasta la cosecha, fue mayor en los tratamientos con inóculo nativo que con el inóculo comercial.

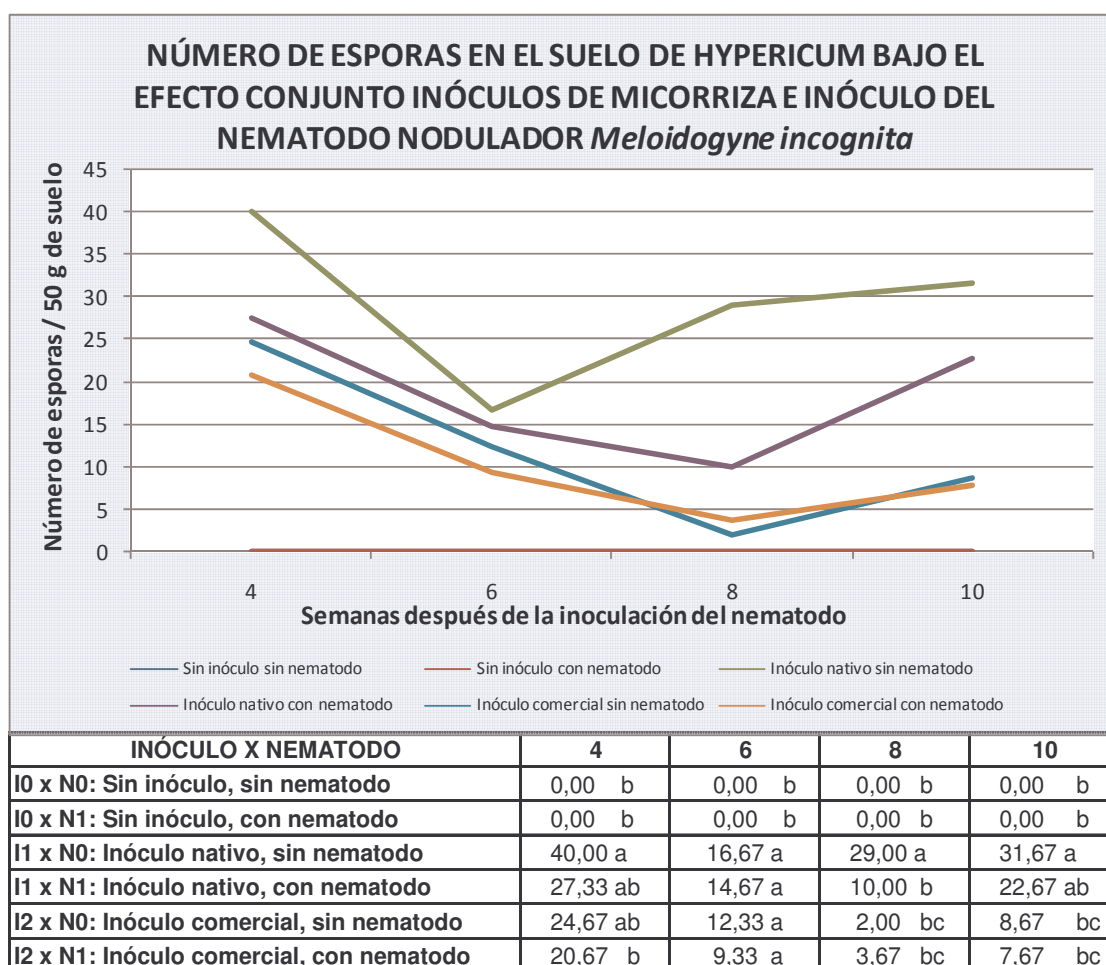


Figura 3.13 Número de esporas en el suelo de plantas de *Hypericum* bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* en cuatro evaluaciones después de su inoculación.

3.2.4 Colonización de la micorriza nativa y micorrizas de la formulación la formulación comercial en las raíces de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de *Meloidogyne incognita*

En el análisis de varianza para el porcentaje de colonización a la cosecha de las plantas de *Hypericum*, se encontró diferencias estadísticas para tratamientos e inóculo al nivel del 1%, mientras que para nematodo al nivel del 5%. Para la interacción Inóculo x Nematodo no hubo significación estadística lo que significa que los factores inóculos de micorriza y nematodo actuaron independientemente (Tabla 3.8). El promedio fue de 27,22% con un coeficiente de variación de 29,99%.

Tabla 3.8 Análisis de varianza para el porcentaje de colonización en el sistema radicular de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza y la presencia o no del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita*. Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.

FUENTES DE VARIACIÓN	GL	EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN EN EL SISTEMA RADICULAR DE LAS PLANTAS A LA COSECHA. CUADRADO MEDIO (CM)
TOTAL	17	
TRATAMIENTO	5	2352,22**
INÓCULO	2	5538,89**
NEMATODO	1	450,00*
I x N	2	116,67 ns
ERROR	12	66,67
\bar{X} (%)		27,22
CV (%)		29,99

*: diferencias al 5%

**.: diferencias al 1%

ns: no hay diferencias

El porcentaje de colonización de las raíces de las plantas de *Hypericum* inoculadas con la micorriza nativa fue mayor que el de las plantas inoculadas con la formulación comercial presentando rangos de ubicación diferentes para los tres casos, sin inóculo “c”, con inóculo nativo “a” y con inóculo comercial “b” (Figura 3.14).

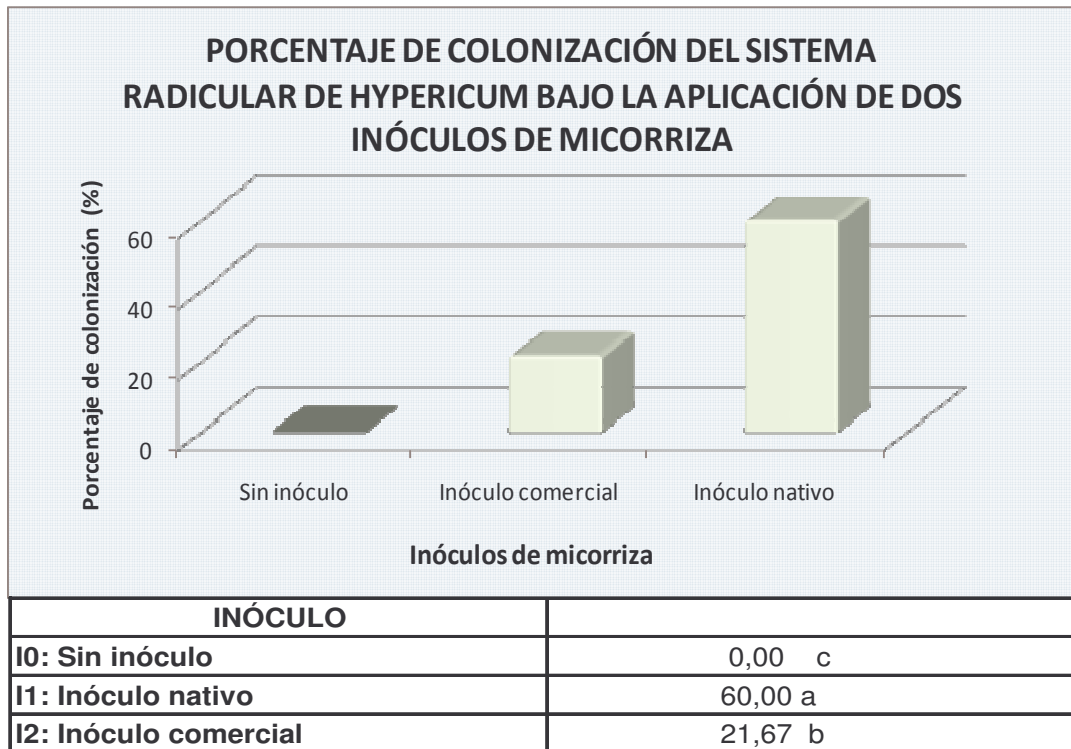


Figura 3.14 Porcentaje de colonización del sistema radicular de plantas de *Hypericum* bajo la presencia de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial evaluadas a la cosecha.

El sistema radicular de las plantas donde no se inoculó el nematodo tuvo un porcentaje de colonización mayor que las plantas donde si se inoculó el nematodo, presentando rangos diferentes de ubicación (Figura 3.15).

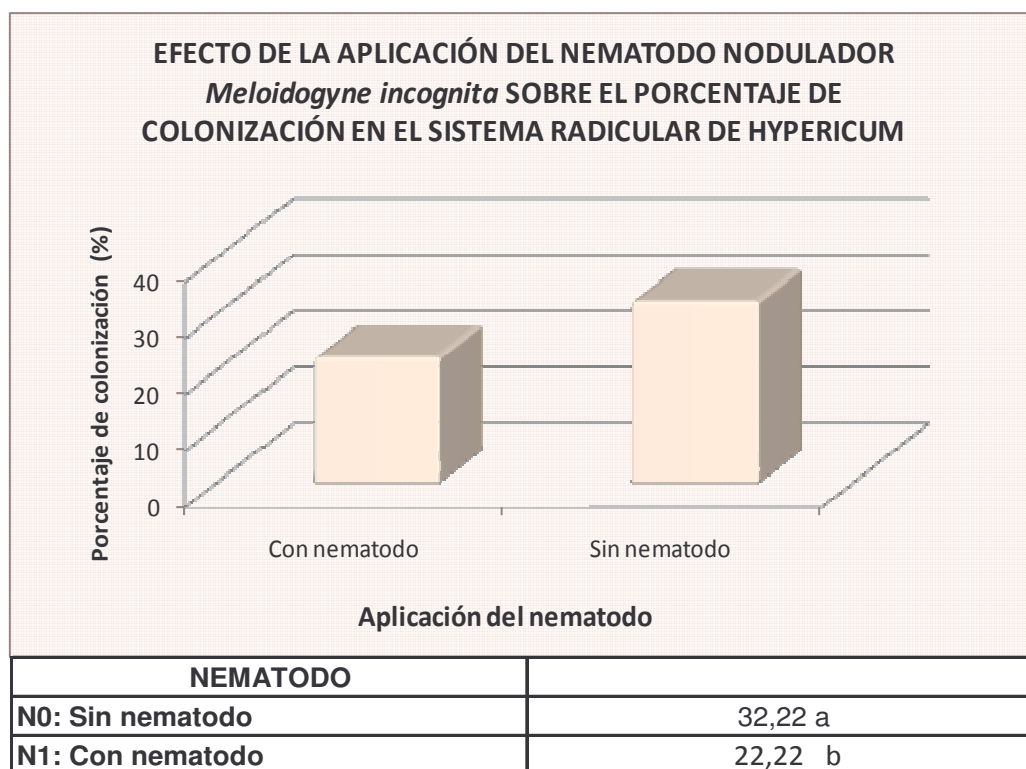


Figura 3.15 Efecto de la aplicación del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* sobre el porcentaje de colonización en el sistema radicular de plantas de *Hypericum* evaluadas a la cosecha.

De la misma manera, para el efecto conjunto Inóculo x Nematodo (Figura 3.16), el porcentaje de colonización evaluado a la cosecha de las plantas de *Hypericum* fue mayor en el tratamiento con el inóculo nativo y en presencia del nematodo en comparación con el inóculo comercial más nematodo, cuyos rangos de ubicación fueron “a” y “c” respectivamente.

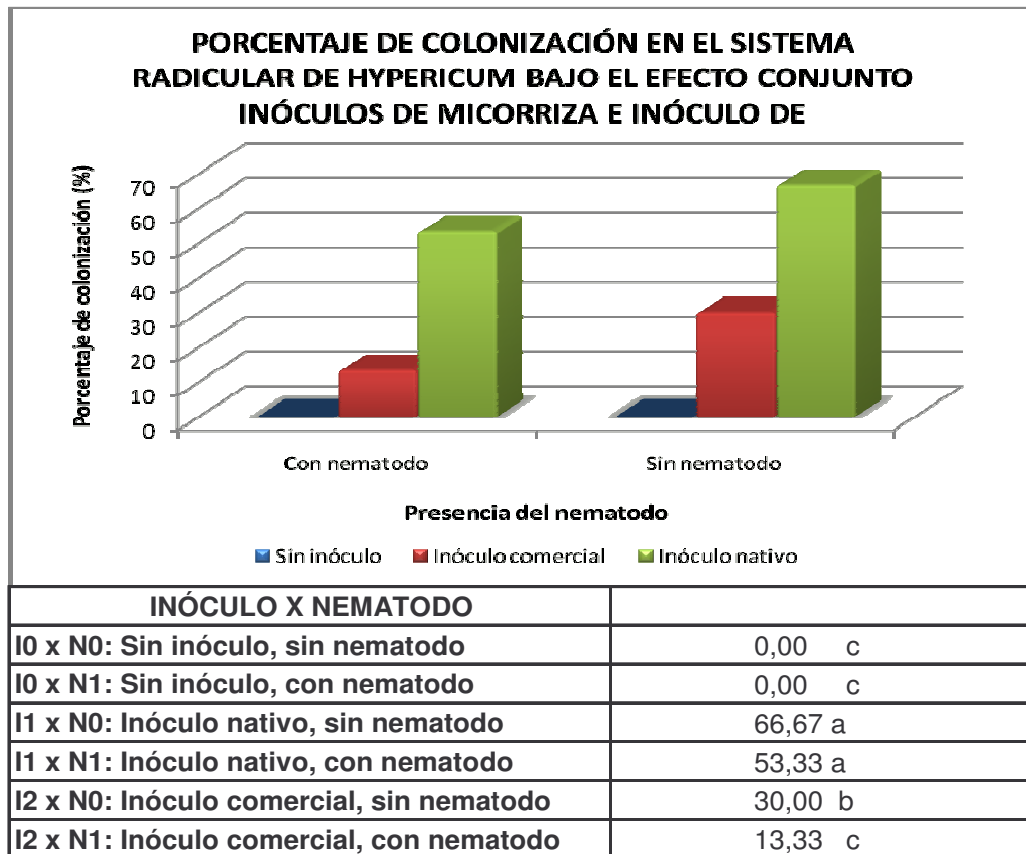


Figura 3.16. Porcentaje de colonización en el sistema radicular de plantas de *Hypericum* bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* evaluadas a la cosecha.

3.2.5 Longitud de raíz de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial y la presencia o no de *Meloidogyne incognita*

En el análisis de varianza para la longitud de raíz de plantas de *Hypericum*, al final de la segunda fase se observaron diferencias estadísticas al nivel del 1% para tratamientos e inóculo, no así para nematodos, los que no presentaron diferencias estadísticas y para la interacción Inóculo x Nematodo donde no se detectó significancia estadística. Para esta última los dos factores actuaron independientemente (Tabla 3.9). El promedio fue de 19,12 cm con un coeficiente de variación de 12,45%.

Tabla 3.9 Análisis de varianza para la longitud de raíz de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculo de micorrizas y la presencia o no del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita*. Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.

FUENTES DE VARIACIÓN	GL	EVALUACIÓN DE LA LONGITUD DE RAÍZ DE LAS PLANTAS A LA COSECHA. CUADRADO MEDIO (CM)
TOTAL	17	
TRATAMIENTO	5	106,53**
INÓCULO	2	246,59**
NEMATODO	1	25,20 ns
I x N	2	7,15 ns
ERROR	12	5,67
\bar{X} (cm)		19,12
CV (%)		12,45

*: diferencias al 5%

**.: diferencias al 1%

ns: no hay diferencias

En la prueba de Duncan al 5% (Figura 3.17), se observó que las plantas del tratamiento con el inóculo nativo tuvieron mayor longitud de raíz que las plantas del tratamiento con inóculo comercial en presencia del nematodo. Los valores obtenidos con el inóculo comercial fueron semejantes al testigo.

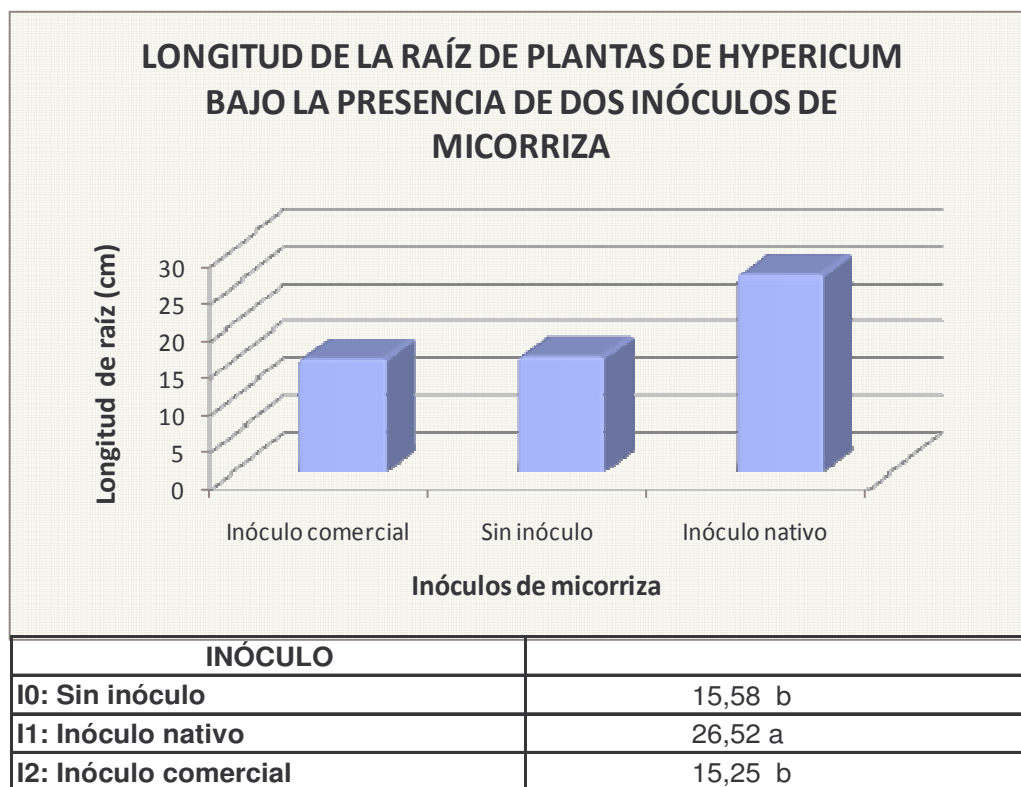


Figura 3.17 Longitud de la raíz de plantas de *Hypericum* bajo la presencia de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial evaluadas a la cosecha.

Al evaluar la longitud de raíz de las plantas de *Hypericum* a la cosecha con y sin nematodo, se observó que las plantas sin nematodo tuvieron mayor longitud que aquellas con presencia de él; sin embargo, los dos presentaron el mismo rango de ubicación al realizar la prueba de Duncan al 5% (Figura 3.18).

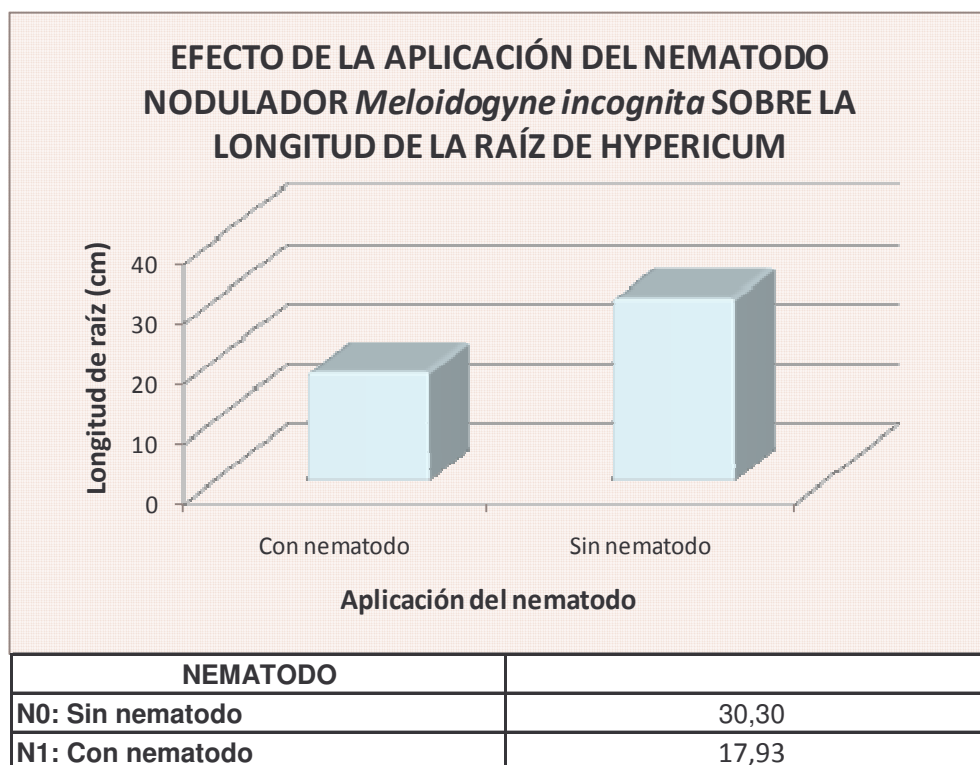


Figura 3.18 Efecto de la aplicación del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* sobre la longitud de la raíz de plantas de *Hypericum* evaluadas a la cosecha.

Al evaluar el efecto conjunto Inóculo x Nematodo (Figura 3.19), se observó que las plantas de los tratamientos con el inóculo nativo tuvieron mayor longitud que las plantas de los tratamientos con el inóculo comercial, aún en presencia del nematodo, lo cual significa que este patógeno no afectó la variable evaluada. Se comprobó así que los dos factores, inóculos de micorriza y nematodo, no dependieron uno del otro.

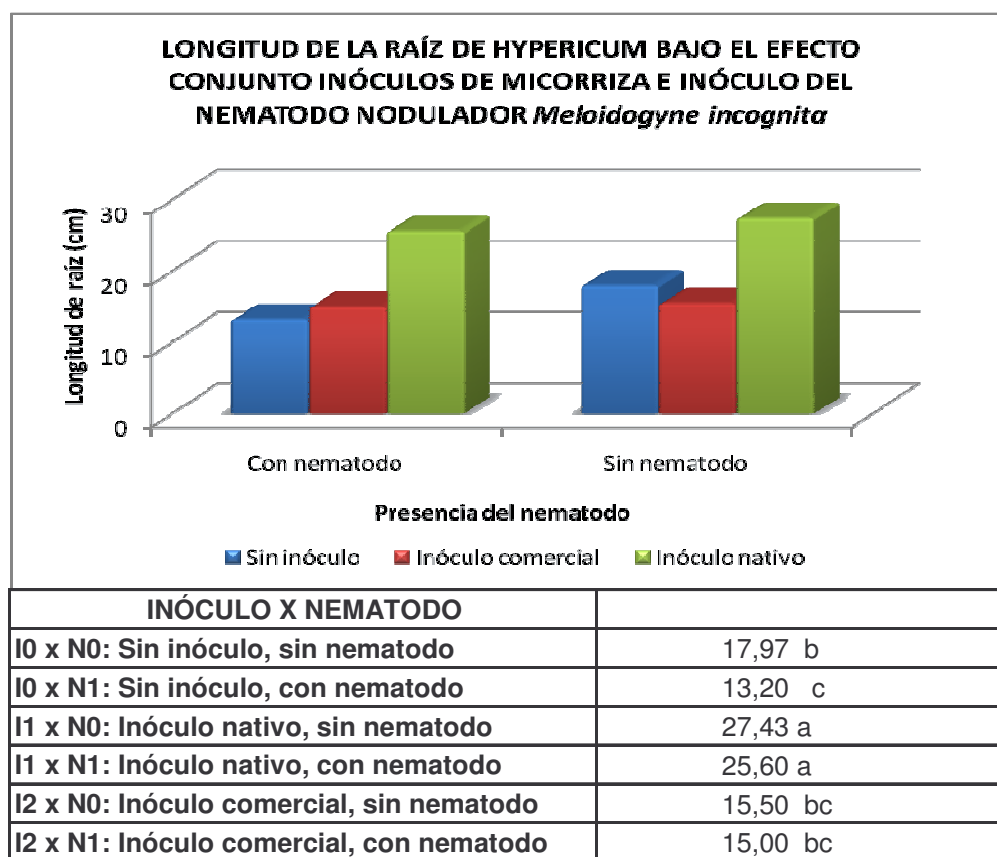


Figura 3.19 Longitud de la raíz de plantas de *Hypericum* bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* evaluadas a la cosecha.

3.2.6 Peso de raíz de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial y la presencia o no de *Meloidogyne incognita*

El análisis de varianza para el peso de raíz de las plantas de *Hypericum*, muestra la presencia de diferencias estadísticas para tratamientos y nematodo al nivel del 1%, mientras que para el efecto conjunto Inóculo x Nematodo la significación estadística se da al nivel del 5%. Para inóculo no hubo diferencias estadísticas (Tabla 3.10). El promedio fue de 21,41g con un coeficiente de variación de 23,53%.

Tabla 3.10 Análisis de varianza para el peso de raíz de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza y la presencia o no del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita*. Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.

FUENTES DE VARIACIÓN	GL	EVALUACIÓN DEL PESO DE RAÍZ DE LAS PLANTAS A LA COSECHA. CUADRADO MEDIO (CM)
TOTAL	17	
TRATAMIENTO	5	149,68**
INÓCULO	2	85,57 ns
NEMATODO	1	303,40**
I x N	2	136,94*
ERROR	12	25,37
\bar{X} (g)		21,41
CV (%)		23,53

*: diferencias al 5%

** : diferencias al 1%

ns: no hay diferencias

El peso de raíz de las plantas de *Hypericum* al final del ciclo, fue mayor en aquellas que fueron inoculadas con la micorriza nativa aún en presencia del nematodo, mientras que las plantas inoculadas con la formulación comercial no alcanzaron pesos de raíz mayores a la nativa pero si a las testigo (Figura 3.20).

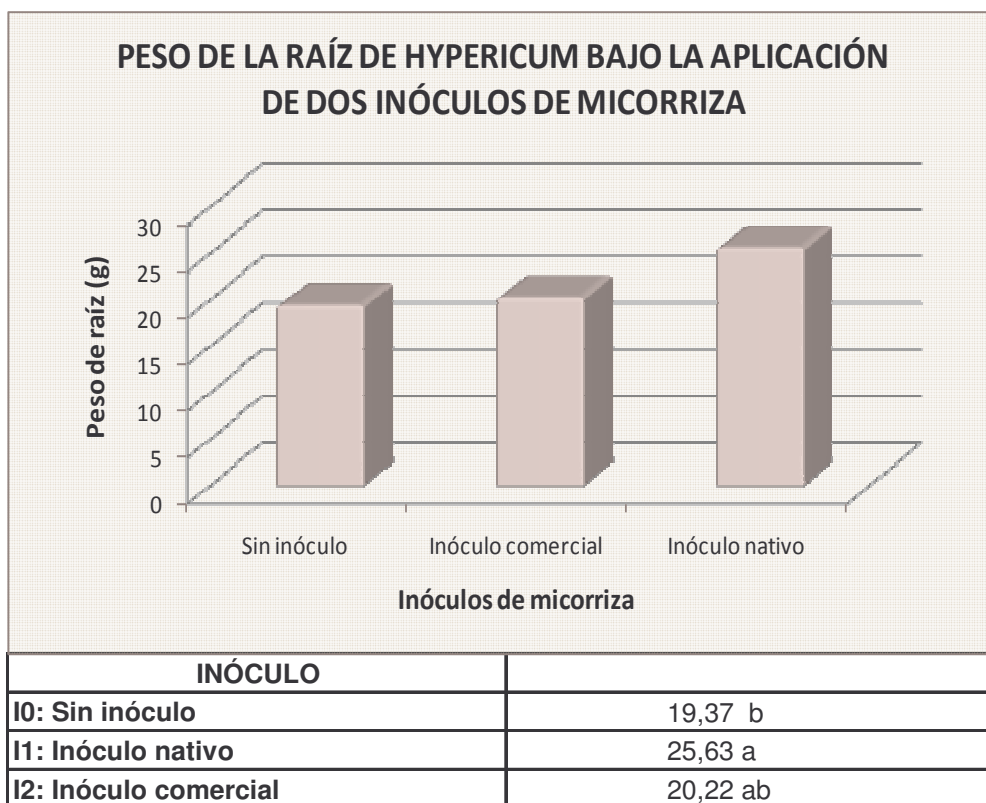


Figura 3.20 Peso de la raíz de plantas de *Hypericum* bajo la presencia de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial evaluadas a la cosecha.

Para el factor nematodo, el peso de raíz de las plantas a la cosecha en ausencia de este fitopatógeno fue mayor que las sometidas al contacto con él (Figura 3.21).

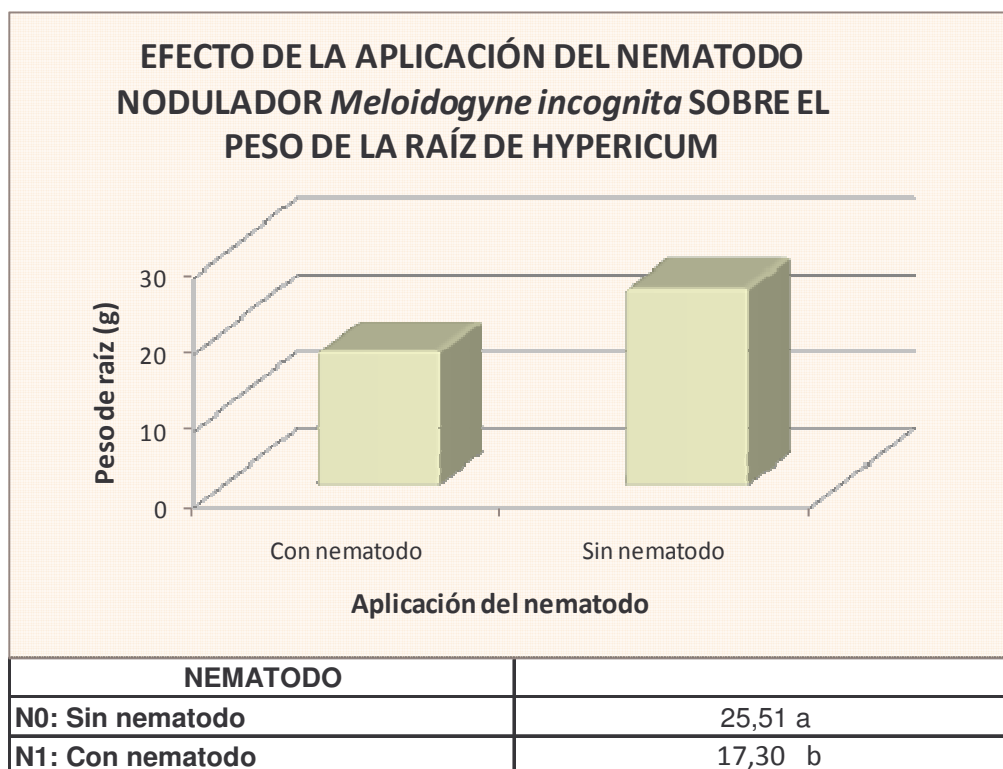


Figura 3.21 Efecto de la aplicación del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* sobre el peso de la raíz de plantas de *Hypericum* evaluadas a la cosecha.

Se aprecia en la Figura 3.22 que en el efecto conjunto Inóculo x Nematodo, los tratamientos con el inóculo nativo presentaron mayor peso de raíz que con el inóculo comercial, ya sea con o sin nematodo, por lo que los dos factores en la evaluación de esta variable actuaron independientemente.

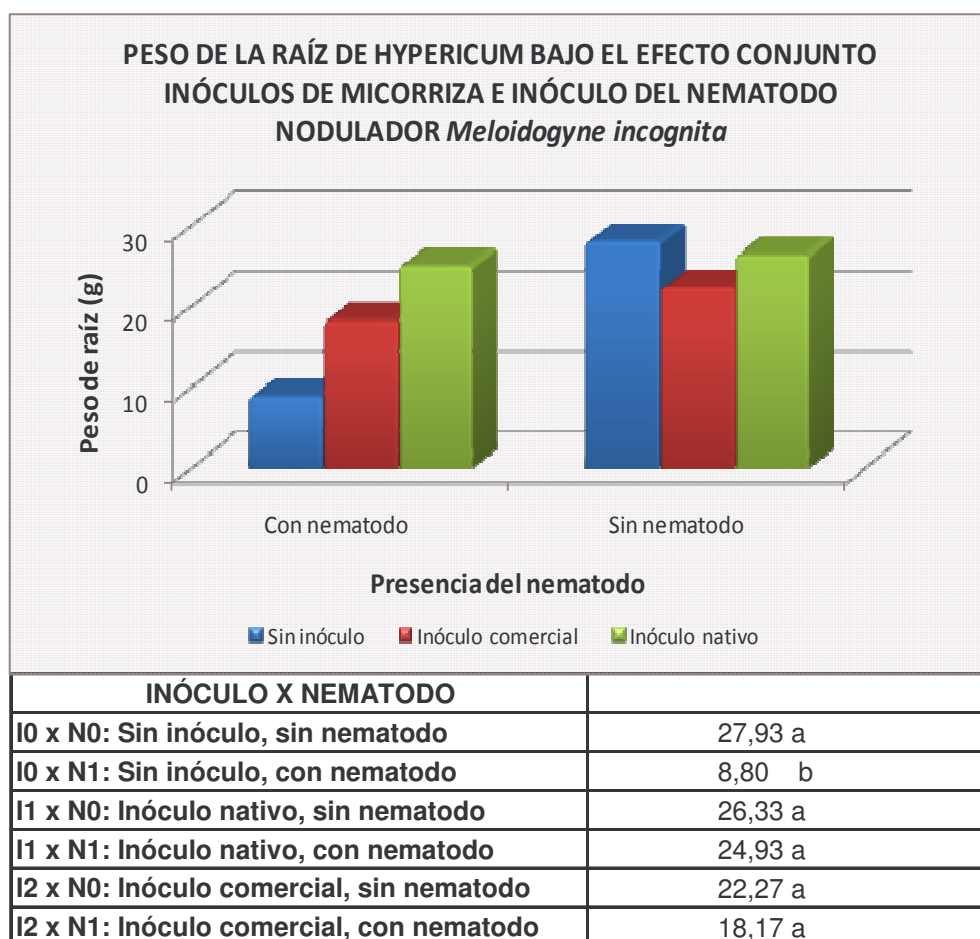


Figura 3.22 Peso de la raíz de plantas de *Hypericum* bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* evaluadas a la cosecha.

3.2.7 Altura de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de *Meloidogyne incognita*

En el análisis de varianza para la altura de plantas de *Hypericum* se observó que hubo diferencias significativas al nivel del 1% tanto para tratamientos como para inóculo. Para nematodo no se apreció diferencias estadísticas al igual que para el efecto conjunto Inóculo x Nematodo, lo que significa que en la interacción, los dos factores actuaron independientemente (Tabla 3.11). El promedio general fue de 55,64cm con un coeficiente de variación de 11,80%.

Tabla 3.11 Análisis de varianza para la altura de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorrizas y la presencia o no del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita*. Hilsea, El Quinche, Quito, Pichincha 2009.

FUENTES DE VARIACIÓN	GL	EVALUACIÓN DE LA ALTURA DE PLANTAS A LA COSECHA. CUADRADO MEDIO (CM)
TOTAL	17	
TRATAMIENTO	5	353,06**
INÓCULO	2	759,38**
NEMATODO	1	174,85 ns
I x N	2	35,85 ns
ERROR	12	43,12
\bar{X} (cm)		55,64
CV (%)		11,80

*: diferencias al 5%

** :diferencias al 1%

ns: no hay diferencias

La altura de las plantas de *Hypericum* a la cosecha (Anexos L1, L2, M) fue mayor en aquellas donde se colocó el inóculo nativo, mientras que las plantas donde se colocó el inóculo comercial presentaron alturas menores, pero no fueron más bajas que las del testigo (Figura 3.23).

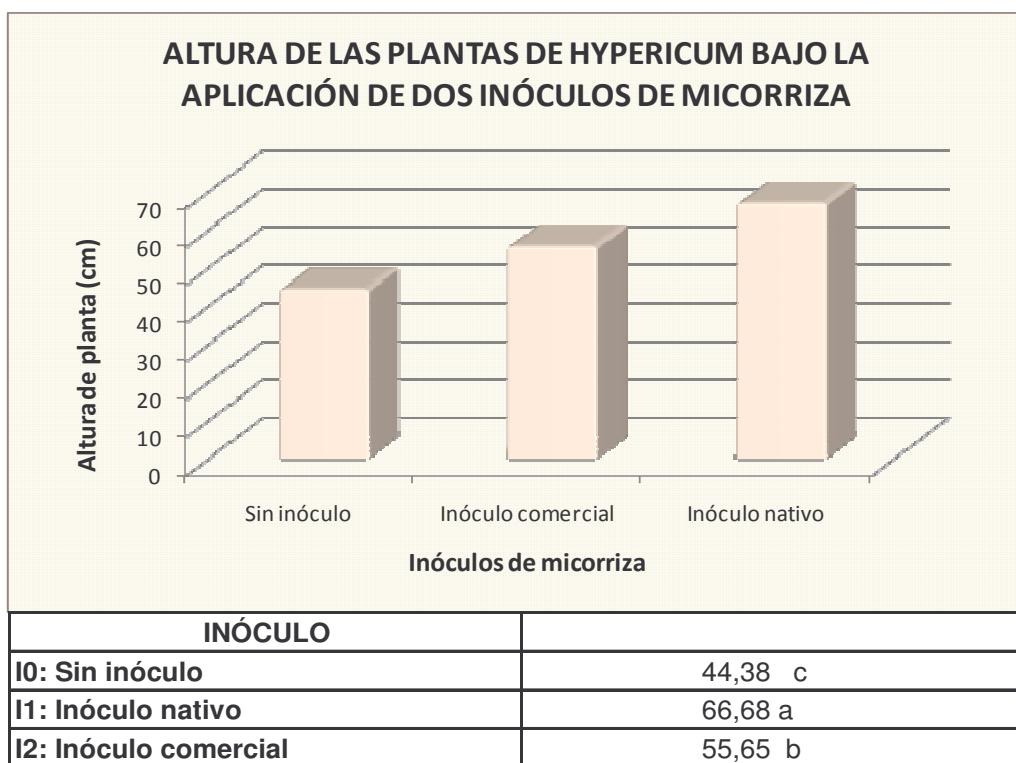


Figura 3.23 Altura de plantas de *Hypericum* bajo la presencia de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial evaluadas a la cosecha.

Al analizar el efecto de la presencia o ausencia del nematodo, se pudo observar que las plantas no inoculadas, alcanzaron alturas mayores que las plantas inoculadas con *Meloidogyne*; sin embargo, el rango de ubicación para ambos fue el mismo (Figura 3.24).

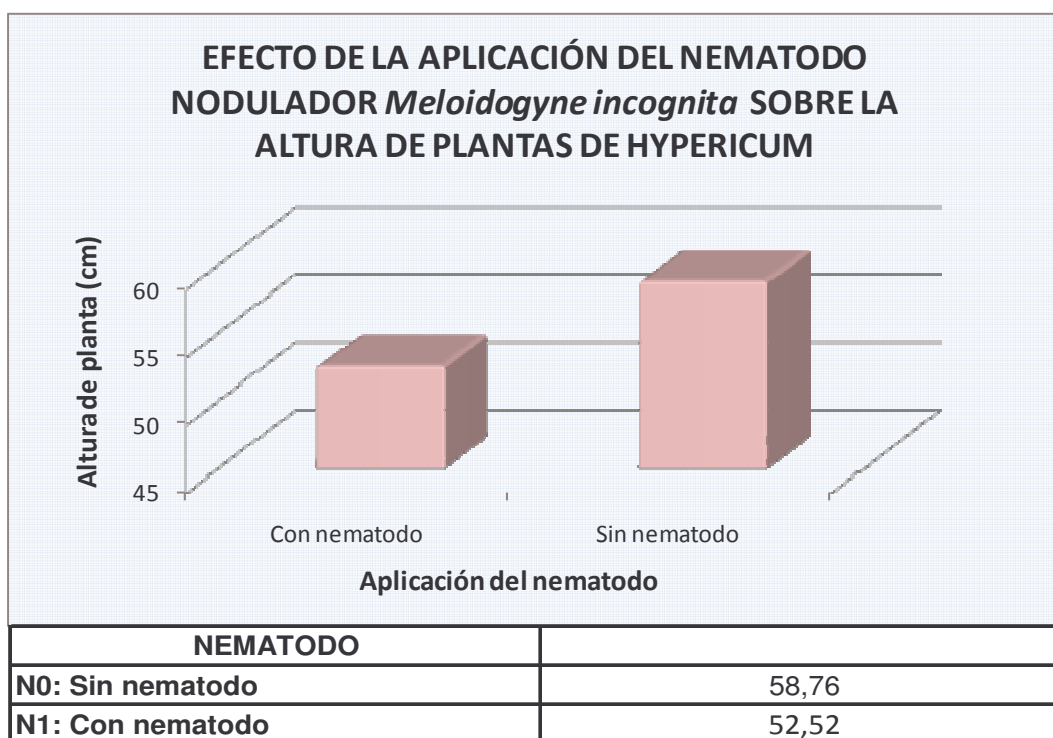


Figura 3.24 Efecto de la aplicación del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* sobre la altura de plantas de *Hypericum* evaluadas a la cosecha.

Al analizar la altura de planta para el efecto conjunto Inóculo x nematodo (Figura 3.25), se apreció que la altura fue mayor en el tratamiento con el inóculo nativo que con el inóculo comercial, ambos en presencia del nematodo. De la misma manera, se observó que los tratamientos en ausencia del nematodo, hasta el final del ciclo de la planta, dieron como resultado que la altura para el tratamiento con la micorriza nativa fue mayor que para la formulación comercial.

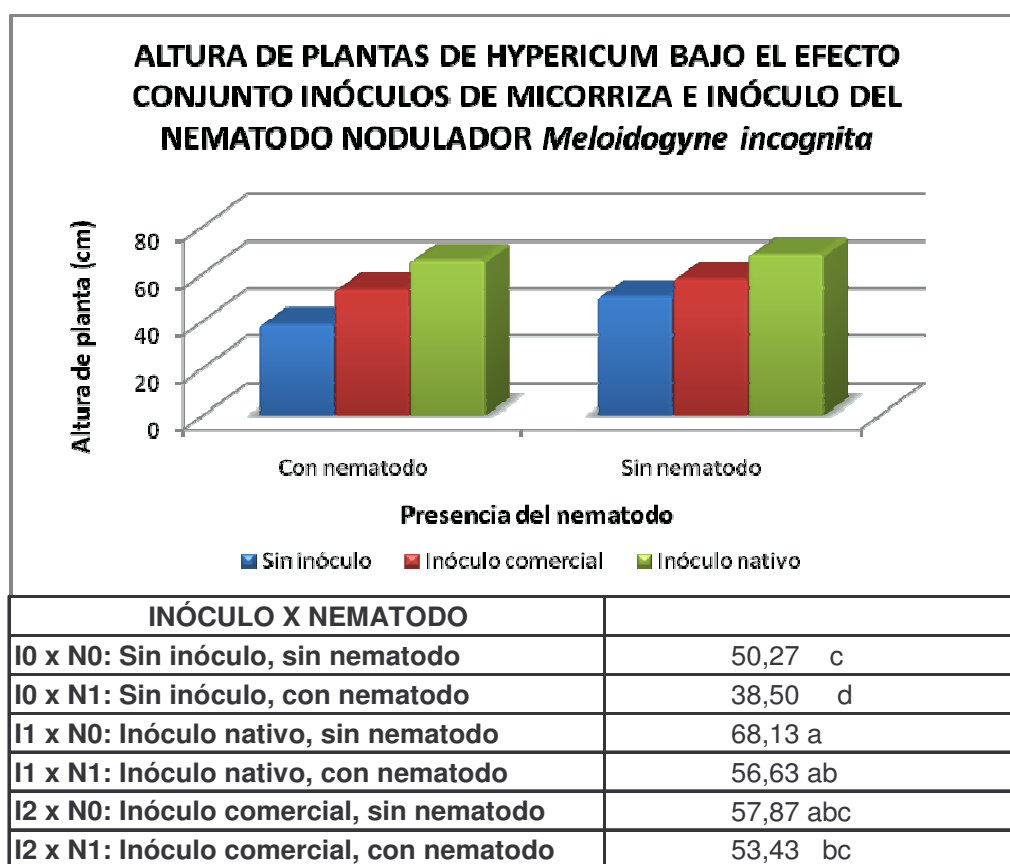


Figura 3.25 Altura de plantas de *Hypericum* bajo el efecto conjunto: inóculos de micorriza e inóculo del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* evaluadas a la cosecha.

CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN

4.1 Micorrización de las plantas de *Hypericum*

4.1.1 Altura de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial

Como se expresó en los resultados, al analizar la altura de las plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de micorriza nativa y micorriza comercial, se observó que ambas actuaron favorablemente sobre esta variable a diferencia del testigo, es decir que, durante las cinco evaluaciones, las alturas de las plantas con los inóculos fueron mayores que las plantas no inoculadas, por lo que se demuestra que la aplicación de micorrizas al suelo del cultivo de *Hypericum* contribuyó a mejorar su tamaño. Dicho comportamiento se manifestó especialmente en la última semana de evaluación para la micorriza nativa, la cual produjo mejores resultados que el inóculo comercial y el testigo, con alturas promedio de 22,75 cm, 16, 75 cm y 15 cm respectivamente. A pesar de que al final de la evaluación la micorriza nativa fue mejor, los dos inóculos se mantuvieron cercanos en la mayor parte de las semanas evaluadas, lo cual pudo deberse a una mejor adaptación por parte de la micorriza nativa a diferencia de las micorriza de la formulación comercial, ya que al ser hongos introducidos pudo su desarrollo ser interrumpido por factores bióticos o abióticos debido a que el ambiente para su crecimiento no fue el adecuado.

Se puede comparar estos resultados, con lo observado por Borie *et al.*, (2007) quienes al estudiar dos tipos de inóculo, uno nativo *G. claroideum* y otro comercial *G. intraradices*, observaron que algunos días después de la siembra, al medir la altura de las plantas, se registró una mayor altura para el tratamiento con el inóculo nativo superior al inóculo comercial y al testigo.

Hendrix *et al.* (1980) señalan que *Glomus fasciculatum*, una especie del Género *Glomus*, utilizada como inóculo en magnolia, produjo como consecuencia de su aplicación una mayor altura de la planta junto con otros beneficios observados después de la inoculación.

Debido a la inexistencia de trabajos similares realizados en el cultivo de *Hypericum*, se sugiere que en el desarrollo de estas plantas, se incluya la inoculación de micorrizas vesículo arbusculares con el fin de mejorar las condiciones de crecimiento de la planta. La integración de estos hongos a suelos con poca actividad biológica, trae beneficios tanto para la planta como para la estructura del suelo, e incluso pueden observarse diferentes comportamientos ya que va a depender de las condiciones del suelo y del cultivo que se utilice.

4.1.2 Peso de la raíz de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial

Al evaluar la variable peso de raíz se observó, que las plantas con la micorriza nativa en las últimas semanas evaluadas experimentaron mejores pesos de raíz que las plantas testigo, pero fue similar su comportamiento con la formulación comercial. En el tratamiento con la formulación comercial, los pesos de raíz fueron similares a los del testigo y también a los de la micorriza nativa. Esto muestra que el inóculo nativo fue mejor que el inóculo comercial con respecto al testigo, pero entre inóculos, estadísticamente el comportamiento fue similar.

Lo obtenido en esta parte de la evaluación concuerda con los resultados observados por Ferrera & González (1993), donde la inoculación con micorrizas ayudó a más de obtener un mejor peso de planta, altura y tamaño de hojas, contribuyeron con mejorar el peso de las raíces.

4.1.3 Colonización micorrícica en raíces de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos tipos de inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial

La micorriza nativa inoculada en *Hypericum* fue la que mejor colonizó las raíces de las plantas a diferencia de la formulación comercial y del testigo. Esto se evidenció por la presencia de hifas y vesículas observadas al microscopio luego de realizada la tinción de raíces, lo que manifiesta la importancia del uso de micorrizas nativas ya que, las introducidas parece ser que no se adaptan al medio donde se las introduce.

Por la formación y la observación directa de las micorrizas en las raíces de las plantas de *Hypericum*, se puede decir que esta variable es la más confiable junto con la presencia de esporas, para indicar con seguridad la presencia de una colonización dada por parte de los hongos vesículo arbusculares. La micorrización de los hongos nativos en las raíces de *Hypericum*, fue clara, tal que se observó una diferencia altamente significativa entre los tratamientos durante toda la fase, donde el comportamiento de los dos inóculos sobre el porcentaje de colonización fue diferente, ya que los valores de micorrización del hongo nativo fueron los mas altos en comparación con el inóculo comercial y el testigo. Gracias a la susceptibilidad de las plantas de *Hypericum* para la colonización de los hongos vesículo arbusculares aislados y a la adaptabilidad de los mismos, los hongos micorrícicos permanecieron viables desde la primera semana hasta la última semana de la evaluación, mostrando que a los cuatro meses de su inoculación, la micorriza llegó a formar una completa simbiosis con las raíces de la planta, como lo mencionado por Tovar (2006), quien observó en su estudio que la población de micorrizas nativas mostró buena infectividad, efectividad y competitividad que las micorrizas introducidas a los 120 días después de la siembra..

Otra explicación de la capacidad de adaptabilidad por parte de las micorrizas la da Tena (2002) quien dice en su proyecto de investigación a cerca de la presencia de hongos micorrícicos arbusculares en suelos salinos, que la colonización depende mucho de las condiciones ambientales tales como: humedad del suelo, nutrientes, temperatura, salinidad, a más de las mencionadas anteriormente. En este estudio, se observó diferentes situaciones, dentro de las que se menciona que la presencia de micorrizas vesículo arbusculares varió de acuerdo a las características químicas y ambientales del suelo, tanto en número de especies encontradas como en la cantidad de esporas de cada género.

Lo dicho anteriormente, en cuanto a porcentajes, coincide con lo reportado en otro trabajo de Jaizme & Rodríguez (2004) quienes al inocular *Glomus manihotis* y *G. intraradices* con el objetivo de observar colonización y dependencia micorrícica de platanera micropropagada obtuvieron porcentajes de micorrización altos para los dos inóculos. Algo similar ocurrió con lo realizado por Blanco *et al* (2000) quienes como estudio de investigación del efecto de micorrizas, inocularon *Glomus manihotis* en yuca durante su periodo de aclimatación y obtuvieron un porcentaje medio de infección de la raíz con respecto a las plantas no inoculadas junto con una clara diferencia en el tamaño de las plantas.

4.1.4 Número de esporas en el suelo de cultivo de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de dos inóculos de micorriza: inóculo nativo y formulación comercial

La diferencia de los valores obtenidos en el número de esporas entre tratamientos fue similar a lo obtenido en el porcentaje de colonización. La micorriza nativa fue la que mayor número de esporas presentó a diferencia del inóculo comercial.

El uso de micorrizas nativas en los trabajos de investigación, es importante, ya que su comportamiento corresponde al medio donde se desarrollan, a diferencia de las micorrizas introducidas. Como ocurrió en este caso, las micorrizas de la formulación comercial cuyos hongos VAM no pertenecían al conjunto de nuestros microorganismos, parece ser que no alcanzaron una completa adaptación al ambiente. Este comportamiento es similar al observado en el trabajo de Salamanca (1997), donde al analizar tanto el número de esporas como el porcentaje de colonización de dos inóculos, uno de micorrizas nativas y otro de micorrizas introducidas, observó que hubo una mayor eficiencia con los hongos vesículo arbusculares nativos.

La cantidad de esporas obtenidas a lo largo de los cuatro primeros meses del cultivo después de la inoculación de las micorrizas, no fue representativo para el inóculo comercial, reflejándose en un bajo porcentaje de colonización como se observó anteriormente, mientras que la micorriza nativa alcanzó valores superiores a la comercial, alcanzando su máxima esporulación a la última evaluación.

4.1.5 Caracterización morfológica de la micorriza nativa

Al realizar la caracterización morfológica de las esporas aisladas del sustrato de los cultivos trampa y al final de la segunda fase, cuando se tuvo una mejor colonización, se pudo deducir que por las características que presentaron las esporas, las hifas y vesículas en la tinción de las raíces micorrizadas, pertenecían al género *Glomus*. Como objetivo de esta investigación se propuso encontrar al menos un género de micorrizas vesículo arbusculares dentro de los hongos nativos aislados. Para la identificación a nivel de especie, se requieren más estudios especializados.

Tanto las esporas obtenidas del sustrato como las hifas y vesículas observadas en la tinción de raíces, presentaron las características similares a

las de la colección del International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, 1999), lo que permitió su identificación. La mayoría de las esporas presentaron una coloración entre amarillo oscuro, café y naranja oscuro, observándose una capa externa en algunos casos identificable por su color. La forma de las esporas se presentaba como globosa, subglobosa y algunas elípticas e irregulares cuya hifa presentaba una forma que variaba de cilíndrica a acampanada.

En la tinción de raíces con azul de tripan, se observaron hifas y vesículas muy bien definidas para su caracterización. A los 6 meses de finalizado el cultivo de *Hypericum*, las raíces presentaron estructuras similares a las del género *Glomus*, reportadas en la colección INVAM. Se observaron hifas formando largas cadenas interconectadas en forma de ramificaciones perpendiculares a manera de H o h. En otros casos se observó también que las hifas intraradicales desarrolladas intercelularmente en las células corticales formaron estructuras a manera de rollos. La formación de vesículas fue eventual e irregular alejadas una de la otra a lo largo de la raíz, lo cual es normal en muchas micorrizas, en cuyo caso adoptaron una forma elíptica u oblonga.

Este género estuvo presente desde su aislamiento hasta su inoculación en las plantas de *Hypericum* para el caso de la micorriza nativa, observándose características compatibles para las micorrizas de la formulación comercial. La diferencia radicó en que la micorriza nativa colonizó más rápido y en mayor porcentaje que las micorrizas de la formulación comercial a las plantas de *Hypericum*.

4.2 Interacción con *Meloidogyne incognita*

En esta fase el comportamiento de las micorrizas frente al nematodo, fue positivo en cuanto al control del número de nematodos y a la formación de agallas, además de observarse longitudes de raíz más grandes que las del testigo. Así como en la fase de micorrización, en esta fase se observó también, que tanto en el porcentaje de colonización como en el número de nematodos, las diferencias entre inóculos y testigo fueron claras. En el resto de evaluaciones el comportamiento de los inóculos varía, de acuerdo a la variable estudiada.

Al final de la evaluación, en la fase de interacción con *Meloidogyne*, las plantas de *Hypericum* que fueron inoculadas solo con nematodos mostraron síntomas inmediatos de enanismo, marchitez general de la plata, clorosis e interrupción en la fase de floración, ya que a poco tiempo de someterlas al contacto con este nematodo se interrumpió su crecimiento. Las plantas micorrizadas que estuvieron en contacto con *Meloidogyne*, no presentaron los mismos síntomas, su desarrollo fue normal en la mayoría de las plantas y muchas de ellas llegaron a su fase final, es decir a la formación de la baya.

La interacción de las micorrizas con la microbiota del suelo puede darse por varios mecanismos, ya sea por sinergismo con otros microorganismos o por antagonismo con los patógenos del suelo, aunque no existe una clara explicación de este comportamiento, puede deberse a la existencia de cambios en la nutrición de la planta hospedera reflejada en la producción de exudados o de metabolitos, así como una competencia por los sitios de infección de la raíz (Hernandez, 2000). Morales (2006) menciona que en varias investigaciones se ha registrado una reducción en la incidencia y el daño ocasionado por los nematodos, gracias al uso de las micorrizas vesículo arbusculares, debido a una compensación y aumento en el sistema radicular de las plantas.

4.2.1 Índice de agallamiento del sistema radicular de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de *Meloidogyne incognita*

Por lo observado en los resultados se puede decir que el índice de agallamiento es una variable que mide el daño causado en las raíces de las plantas debido al ataque del nematodo agallador. La formación de nódulos en las raíces de las plantas se debe a la entrada de hembras de *Meloidogyne* en el sistema radicular, produciendo agallas como resultado de la laceración que deja la entrada del nematodo y lo que posteriormente causará una gran susceptibilidad por parte de la planta hacia cualquier enfermedad.

En los seis tratamientos evaluados a la cosecha, se observaron diferentes comportamientos, es así que se obtuvieron cuatro rangos de ubicación. Para esta variable, las plantas que presentaron mayor grado de agallamiento fueron aquellas sin presencia de micorrizas. De las plantas inoculadas con nematodo y bajo la presencia de micorrizas, las de la micorriza nativa fueron las menos afectadas por *Meloidogyne*, a diferencia de las plantas inoculadas con la formulación comercial, con un mayor índice de agallamiento, mientras que las plantas micorrizadas y sin nematodo no presentaron agallas en sus raíces como plantas testigo. Jaizme-Vega y Rodríguez-Romero (2004) mencionan algo similar. En su trabajo observaron que el número de agallas fue menor con el inóculo de hongos VAM que en el testigo.

En términos generales se observó que al aplicar nematodos de *Meloidogyne* en el suelo de las plantas con los dos inóculos, la formación de agallas se manifestó pero en mayor proporción en las plantas con el inóculo comercial que en aquellas con el inóculo nativo y especialmente en las plantas donde estuvo presente solo el nematodo sin micorrizas.

Como lo mencionan Estañol *et al*, (1998) en su trabajo sobre inoculación de tres especies de *Glomus* bajo la aplicación de una especie de *Meloidogyne*, las especies de micorrizas probadas, disminuyeron el número de hembras de *Meloidogyne* en el suelo de las plantas estudiadas, por lo que se supone también una disminución en el agallamiento de la raíz al no haber mayor presencia de hembras que se reproduzcan.

Algo similar menciona Battistella (2008). Este autor comenta que varios estudios histopatológicos sobre agallas de nematodos de *M .incognita*, demostraron que las agallas en plantas micorrícicas presentaban menos células gigantes para el desarrollo de las larvas comparadas con las plantas no micorrizadas. Por lo tanto, el autor indica que los nematodos en plantas micorrícicas, son más pequeños y tardan más tiempo en llegar a adultos.

4.2.2 Número de nematodos de *Meloidogyne incognita* en el suelo de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de *Meloidogyne incognita*

La presencia del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* en plantas de *Hypericum* previamente inoculadas con micorrizas vesículo arbusculares, no afectó en gran parte a las plantas con el inóculo nativo a diferencia de las plantas sin micorrizas y con nematodos, las cuales presentaron síntomas de enanismo, clorosis y especialmente agallamiento en sus raíces. El número de nematodos encontrados en el suelo de *Hypericum* durante las cuatro evaluaciones realizadas después de su aplicación, fue menor para el suelo inoculado con la micorriza nativa que con la comercial. El control en el número de nematodos por parte de las micorrizas también fue observado por Gómez *et al*, (2008). Estos autores demostraron que la aplicación de hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares en plantas de tomate, también inoculadas con *Meloidogyne incognita*, benefició el

desarrollo de la raíz, a más de disminuir la cantidad de juveniles en el suelo de las plantas micorrizadas, observándose también que este patógeno no afectó la simbiosis entre hongo y planta.

Jaizme-Vega y Rodríguez-Romero (2004) inocularon plantas de banano con hongos de micorrizas como: *Glomus mosseae* (colección) y *Glomus mosseae* (local), para estudiar su comportamiento frente al patógeno *Meloidogyne incognita* encontrando que la presencia de las micorrizas incrementó la tolerancia de las plantas a *Meloidogyne* e incluso se encontró una cantidad de nematodos menor que aquellas plantas no inoculadas con el hongo.

4.2.3 Número de esporas de micorriza nativa y de micorrizas de la formulación comercial en el suelo de plantas de *Hypericum* en presencia o no de *Meloidogyne incognita*

Al someter a las plantas inoculadas con micorriza al contacto con *Meloidogyne*, se observó que los hongos VAM produjeron menor cantidad de esporas en presencia de este nematodo, sin embargo nunca se detectó ausencia total de esporas de micorriza.

Como se mencionó anteriormente en el trabajo realizado por Gómez *et al*, (2008), la asociación de las micorrizas y las plantas no se vio afectada por la presencia del nematodo, es así que este comportamiento se manifestó en la presencia continua de esporas en el suelo del cultivo. En nuestro caso ocurrió algo similar, ya que en ningún momento se detectó la ausencia total de esporas de *Glomus*, a pesar de que su cantidad disminuyó considerablemente durante las diez semanas de la evaluación. La conducta de los dos tipos de inóculos frente al nematodo fue similar estadísticamente, observándose una pérdida de la esporulación e incrementos leves a la cosecha.

La evaluación de esta variable se realizó con el fin de verificar si el nematodo produciría algún efecto negativo sobre el número de esporas en el suelo. Por los resultados observados y discutidos anteriormente, es importante resaltar la efectividad de la permanencia de micorrizas en el suelo frente a *Meloidogyne*, lo cual se comprobó mediante la observación de las esporas al microscopio.

La persistencia de las esporas de micorrizas en suelo, observadas en esta parte de la investigación, se puede relacionar con trabajos como lo realizado por Alarcon *et al* (2001), quien al inocular *Glomus fasciculatum* y *Glomus etunicatum* en plántulas de *Vitis vinifera* L. notó la presencia efectiva de esporas de *Glomus* en relación a las plantas no inoculadas.

4.2.4 Colonización de la micorriza nativa y micorrizas de la formulación la formulación comercial en las raíces de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de *Meloidogyne incognita*

La presencia de hongos micorrícicos en las raíces de las plantas de *Hypericum*, se manifestó mediante la observación de hifas y vesículas en éstas. La colonización en esta fase fue más evidente que en la fase de micorrización; aquí el porcentaje de colonización fue mayor en las plantas inoculadas con la micorriza nativa que con la formulación comercial, aún en presencia del nematodo, aunque en los tratamientos con *Meloidogyne* disminuyó un poco dicho porcentaje para el inóculo nativo, mientras que para el inóculo comercial con nematodo, los valores de colonización bajaron significativamente.

Estos datos obtenidos a la cosecha de las plantas, demuestra la prevalencia de las micorrizas sobre el patógeno especialmente para el hongo

nativo, a pesar del tiempo que las esporas y las raíces micorrizadas permanecieron en contacto con el nematodo.

4.2.5 Longitud de raíz de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de *Meloidogyne incognita*

Al evaluar la longitud de raíz de las plantas a la cosecha, los tratamientos con el inóculo nativo presentaron mayor tamaño que los tratamientos con el inóculo comercial y el testigo. En la interacción de los factores inóculo y nematodo, se observó que la micorriza nativa en presencia y ausencia del nematodo, presentó los valores de raíz más largos. La importancia del efecto que produjo la aplicación de la micorriza nativa se manifestó especialmente en el incremento del tamaño de sus raíces, gracias a la colonización de las micorrizas en las raíces de las plantas de *Hypericum*. Uno de los principales beneficios que esto trae, es que al tener mayor longitud radicular aumenta su superficie de absorción en el suelo y por lo tanto mejora la nutrición de la planta. A esto se atribuye también la presencia predominante de raicillas y pelos radicales.

Existen estudios que hablan a cerca de la dependencia micorrícica de algunas plantas y su relación con la presencia de pelos radicales. Herrera *et al.* (2002) explican, que algunas plantas que presentan raicillas con pocos pelos radicales, pelos cortos o ningún pelo, tienen alta dependencia por las micorrizas arbusculares, no así otros autores citados en el mismo trabajo manifiestan lo contrario, que plantas como la caña de azúcar tienen alta dependencia por las micorrizas arbusculares y que presentan altas proporciones de pelos radicales en sus raicillas e incluso otras plantas presentan ambos comportamientos dentro de la misma especie.

Como lo menciona Morales (2006) citado anteriormente, el sistema radical de las plantas en presencia de las micorrizas arbusculares aumenta, a pesar de la presencia de nematodos fitoparásitos, lo cual también mejora la nutrición de la planta.

4.2.6 Peso de raíz de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de *Meloidogyne incognita*

Al evaluar la variable peso de raíz para las plantas micorrizadas y bajo la aplicación de *Meloidogyne*, se observó que, las plantas inoculadas tanto con la micorriza nativa como con las micorrizas de la formulación comercial, estadísticamente fueron similares. Este comportamiento sugiere que la presencia de micorrizas permite mejor control del ataque de *Meloidogyne* sobre el peso de raíz.

Lo observado en esta parte de la investigación, no coincide con los resultados obtenidos en trabajos orientados al mismo fin, donde el peso de raíz si se beneficia por la presencia de micorrizas como lo mencionan Garcia & Ocampo (1988), quienes describen en su trabajo, que el peso de las raíces de las plantas micorrizadas fue mayor al de las plantas no micorrizadas en presencia del nematodo, al analizar simultáneamente que el número de huevos de *M. incognita* por planta no incrementó en plantas colonizadas por *G. etunicatum* y *G. mosseae* .

4.2.7 Altura de plantas de *Hypericum* bajo la aplicación de micorriza nativa y micorrizas de la formulación comercial, y la presencia o no de *Meloidogyne incognita*

Para la altura de planta, se observó que las plantas de los tratamientos con los dos inóculos y en presencia de nematodos estadísticamente se comportaron de forma similar. Esta variable no se vio afectada por la presencia

de *Meloidogyne* como sucedió con el peso de raíz para las plantas con micorriza.

Por lo observado se puede decir que la presencia de micorrizas no permitió que el nematodo afecte a las plantas en cuanto a su tamaño. Las micorrizas no perdieron su actividad en el suelo, y por lo tanto su simbiosis con la planta hospedera fue constante, a diferencia de las plantas testigo, las cuales presentaron problemas de enanismo.

En otros trabajos se ha encontrado que la aplicación de micorrizas produce un efecto favorable sobre la altura del cultivo al que se lo aplicó, pero no se ha encontrado bibliografía exacta que hable a cerca del efecto que produce la interacción micorriza-nematodo sobre esta variable. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que en la actualidad, se esté llevando a cabo investigaciones de estas características que puedan aclarar con exactitud este comportamiento, y que en un futuro se pueda contar con el acceso a esta información.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES

1. El género de micorrizas vesículo arbusculares aislado del suelo nativo que colonizó las raíces de las plantas de *Hypericum* fue *Glomus*, de acuerdo a la caracterización morfológica realizada después de varios análisis y aislamiento de esporas.
2. La micorriza nativa inoculada en plantas de *Hypericum*, presentó un mayor porcentaje de colonización y un mayor número de esporas, en comparación con la micorriza comercial, mientras que además se comportaron de forma similar sobre la altura de planta y peso de raíz durante la fase de micorrización.
3. Las plantas de *Hypericum* mostraron mayor susceptibilidad de ser micorrizadas por el inóculo nativo que por el inóculo comercial.
4. La presencia del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita* no afectó el desarrollo de la micorriza nativa. Los tratamientos con la micorriza nativa en presencia y ausencia del nematodo, el número de esporas, porcentaje de colonización, longitud de raíz, peso de raíz y altura de la planta, fueron los mismos.
5. Los tratamientos con micorriza comercial en presencia y ausencia del nematodo, estadísticamente presentaron comportamiento similares en las variables: número de esporas, longitud de raíz, peso de raíz, y altura de planta, mientras que para porcentaje de colonización, el nematodo afectó la formación de hifas y vesículas en la raíz de las plantas.

6. En presencia del nematodo la micorriza nativa, estadísticamente fue mejor que la micorriza comercial sobre las variables Índice de agallamiento, porcentaje de colonización y longitud de raíz, mientras que para las variables número de nematodos, número de esporas, peso de raíz y altura de planta, ambas actuaron de forma similar.

7. De acuerdo a la escala de infestación final en las plantas de *Hypericum*, se observó una infestación muy fuerte (>75 juveniles) para las plantas testigo con nematodo; para el tratamiento con la micorriza nativa, la infestación fue ligera (1-25 juveniles) para las plantas con la micorriza nativa, y regular (26-50 juveniles) con un nivel crítico de daño en las plantas con inóculo comercial.

Finalmente se concluye que la micorriza nativa del género *Glomus* presentó alta afinidad con *Hypericum*, por lo que su inoculación en las plantas sirvió para controlar el ataque del nematodo nodulador *Meloidogyne incognita*, evitando la penetración masiva del nematodo en sus raíces y de esta manera una limitada formación de agallas reduciendo el daño en las plantas de *Hypericum*.

CAPÍTULO 6: RECOMENDACIONES

1. Ensayar con estas micorrizas en otro tipo de cultivos para evaluar su efectividad tanto sobre el desarrollo de las plantas como en su capacidad de controlador de plagas.
2. Continuar con la propagación de la micorriza nativa, ya que se observó su capacidad de colonización además de producir efectos favorables sobre el cultivo.
3. Se recomienda realizar la identificación a nivel de especie, de la micorriza nativa.
4. Se recomienda el uso de los hongos VAM como organismos favorecedores del crecimiento de las plantas además de actuar como controladores de algunos fitopatógenos del suelo.

CAPÍTULO 7: BIBLIOGRAFÍA

1. Aggarwal, A., Aneja, K.R., & Mehrotra, R.S. en *Environmentally safe approaches to crop disease control*, J.E. Recheigl & N.F. Recheigl, Eds. (CRC Press, 1997), "Fungal Control Agents", pp. 111-127.
2. Agrios, G., *Fitopatología*, (Limusa, Mexico, 1998), pp.13-745.
3. Alarcón, A., Ferrera, L., González, M. & Villegas, A. (2001) Efectividad de *Glomus fasciculatum* y *Glomus etunicatum* en el crecimiento de plántulas de *Vitis vinifera* L. obtenidas por micropropagación. *TERRA*. 19(1): 29-35.
4. Alexander, M., *Introducción a la microbiología del suelo*. (AGT, Mexico, 1981), pp. 79-446.
5. Auge, R.M., Schekel, K.A., & Wample, R.L. (1986) Greater leaf conductance of well-watered VA mycorrhiza rose plants is not related to phosphorus nutrition. *New Phytol.* 103: 107-116.
6. Battistella, R. (2008) Interacción entre micorrizas y organismos patógenos de raíces. *Maestría en Producción Vegetal*, INTA, 1-3, Extraído el 27 de mayo, 2009, de [www.inta.gov.ar/balcarce/ResumenesPG/PGPV2008/SemNoviembre/Battistella RominaSem2008.doc](http://www.inta.gov.ar/balcarce/ResumenesPG/PGPV2008/SemNoviembre/Battistella_RominaSem2008.doc)
7. Bayer (2007), Roya del fréjol, (BayerCropScience, Guatemala), Extraído el 16 de febrero, 2009, de https://www.status.bayer-ca.com/pls/web_bayer/web_bayer.inicio.html
8. Blanco, F., Calderón, L., Gómez, L., & Uribe, L (2000) La inoculación con *Glomus manihotis* sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de yuca producidas in vitro, en la fase de aclimatación. *Revista Agronomía Costarricense*, 24(002),25-29

9. Borie, F., Catillo, C., Leonelli, G., Ortiz, C., Rubio, R., & Sotomayor, L., (2007) Efecto de los hongos micorrícicos arbusculares en un cultivo ecológico de ají (*Capsicum annuum L.*) cacho de cabra. *Revista Agricultura Técnica*. 1-17. Extraído el 27 de mayo, 2009, de http://www.chileanjar.cl/files/V69_I1_2009_ESP_ClaudiaCastilloR.pdf
10. Bradbury, S.M., & Peterson, R.L. en *MYCORRHIZA: Estructura, Función, Molecular Biology and Biotechnology*, A. Varma & B. Hock, Eds. (Springer-Verlag, Berlin, 1999), "Use of plants mutants, intraspecific variants, and non-hosts in studying mycorrhiza formation and function". pp. 153-169.
11. Buitrón, X. *Estudio Taxonómico del Género Hypericum (CLUSIACEAE) en el Ecuador*. Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador (1993).
12. Calvet, C., Pinochet, J., & Verdejo, S. (1990) Efecto de la Micorrización en Kiwi infestado por los Nematodos *Meloidogyne hapla* y *M. javanica*. *Bol. San. Veg. Plagas*, 16: 619-624. Extraído el 15 de noviembre, 2007, de <http://www.mapa.es/ministerio/pags/biblioteca/plagas/BSVP-16-03-619-624.pdf>.
13. Cepeda, M., *Nematología agrícola* (Trillas, Mexico, 1996), pp. 132-137.
14. CORPOICA, *Micorrizas arbusculares: Aplicación para el manejo sostenible de los agroecosistemas*, Corredor, G., Ramirez, M., & Serralde, A., Eds. (Colombia, 1997), Extraído el 17 de noviembre, 2007, de <http://www.turipana.org.co/micorrizas.htm>
15. Coyne, M., *Microbiología del Suelo: un enfoque exploratorio* (Paraninfo, España, 2000).

16. Dehne, H.W., Diedhiou, P.M., Hallmann, J., & Oerke, E.C. (2005). Biological Control of *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Meloidogynidae) on Tomato Using Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizobacteria, Institute for Plant Diseases, Extraído el 17 de octubre, 2007, de Springer Link-Artículo Periodístico.
17. Duchicela, J., *Evaluación del uso de endomicorrizas Vesículo Arbusculares (MVA) en la obtención de plántulas de tomate de árbol (Solanum betaceum)*. Tesis de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias, Escuela Politécnica del Ejército, IASA (2001).
18. Estañol, E., Ferrera, R., Santino, J., Sosa, C., & Quintero, R., (1998) Interacción del nematodo *Meloidogyne chitwoodi* con tres especies de *Glomus sp.* en la producción y distribución de materia seca de plantas jóvenes de maíz. *TERRA*, 17,18-25. Extraído el 27 de mayo, 2009, de www.chapingo.mx/terra/contenido/17/1/art17-25.pdf
19. Ferrera-Cerrato, R., & González, M.C. (1993). *Manejo de la endomicorriza vesículo-arbuscular en cinco portainjertos de cítricos*, Centro de Edafología, Sección de Microbiología, México, 77-89.
20. Ferrera-Cerrato, R., & González, M. C. (1994). Los hongos endomicorrízicos en la producción de cultivos de interés ornamental, *Revista Chapingo*, Serie Horticultura, Mexico, Núm. 1: 114-119.
21. Francis, R., & Read D.J. en *Management of Mycorrhizas in Agriculture, Horticulture and Forestry*, A. D. Robson, L. K. Abbott & N. Malajczuk Eds. (Kluwer Academic Publishers, Australia, 1994). "The contributions of mucorrhizal fungi to the determination of plant community Structure", pp. 11-25.
22. Fuentes, J.L., *Manual práctico sobre utilización de suelo y fertilizantes* (Mundi-Prensa, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, 1999).

23. Gerdemann, J.W. y Nicolson, T.H. (1963) Spores of Mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 46, 234-244.
24. García, J., & Ocampo, J., (1998) Interacción entre micorrizas VA y organismos patógenos de plantas. *An. Edafol. Agrobiol.* 1233-1245. Extraído el 27 de mayo, 2009, de <http://www.bashanfoundation.org/ocampo/ocampointeraccion.pdf>
25. Gianinazzi, S., Lovato, P.E., Schüepp, H., & Trouvelot, A. en *MYCORRHIZA: Estructure, Function, Molecular Biology and Biotechnology*, A. Varma & B. Hock Eds. (Springer-Verlag, Berlin, 1999). "Application of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in Orchard and Ornamental Plants", pp.443-461.
26. Gómez, L., Hernández, M., Miranda, I., Noval, B., & Rodríguez, M., (2008) Interacción entre el ECOMIC® y una población cubana de *Meloidogyne incognita* en tomate. *Rev. Protección Veg.* 23,90-98. Extraído el 27 de mayo, 2009, de http://www.censa.edu.cu/index2.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=58&Itemid=105
27. Hendrix, J.W., Kierman, J.M., & Maronek, D.M. (1980) Differential growth responses to mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatus* of southern Magnolia and Bar Harbour juniper grown in containers in composted hardwood bard shale. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 105, 206-209.
28. Hernández, A., (2000) Aspectos generales de las micorrizas arbusculares (MA). *TERRALIA*, Folio 160. Extraído el 27 de mayo, 2009, de <http://www.terralia.com/index.php?revista=14&articulo=81#bibliografia>
29. Herrera, R., Monasterio, M., & Montilla, M. (2002) Influencia de los periodos de descanso sobre la distribución vertical de raíces, micorrizas arbusculares y pelos radicales en páramos andinos venezolanos,

ECOTROPICOS, 15(1),85-98. Extraído el 7 de Octubre, 2007, de http://www.saber.ula.ve/db/ecotropicos/Edocs/vol15_n1/articulo7.pdf

30. INVAM (1999) *International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi*. USA, Extraído el 11 de Abril, 2008, de <http://invam.caf.wvu.edu/>
31. Jaizme, M.C., & Rodríguez A.S. (2004). Uso de micorrizas en banano: logros y perspectivas. (XVI REUNIÓN INTERNACIONAL ACORBAT, Instituto Canario Investigaciones Agrarias, España), Extraído el 6 de Octubre, 2007, de http://musalit.inibap.org/pdf/IN050650_es.pdf
32. Jacobsen, I. en *Management of Mycorrhizas in Agriculture, Horticulture and Forestry*, A. D. Robson, L. K. Abbott & N. Malajczuk, Eds. (Kluwer Academic Publishers, Australia, 1994). "Research approaches to study the functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas in the field", pp. 141-147.
33. León, M., *Control del Nematodo Nodulador Meloidogyne, (Nemátoda: Meloidogynidae), en Tomate Riñón Lycopersicum esculentum y en apio Levistium sp.* Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador (1992).
34. Morales, R., *Manejo de nematodos fitoparasíticos utilizando productos naturales y biológicos*. Tesis de maestro en Ciencias en Protección de Cultivos, Universidad de Puerto Rico, (2006). Extraído el 27 de mayo, 2009, de <http://grad.uprm.edu/tesis/moralesmallery.pdf>
35. OIT (2007) Documentos de Síntesis de los Estudios de: Trabajo infantil florícola, Explotación sexual comercial de niños, niñas y adolescentes y Trata de personas menores de edad. *Programa Internacional para La Eradicación del Trabajo Infantil – IPEC, Ecuador*. pp: 1-20.

36. NAS, *Control de nematodos parásitos de plantas*. (Limusa, Mexico, 1989).
37. Orozco, R. (2006). *Ficha Técnica: HYPERICUM*. (Código: FT-LM-FV-01). Ecuador: Hilsea.
38. Páez, O. (2006). Las micorrizas. Extraído el 17 de noviembre, 2007, de <http://www.soil-fertility.com/micorhize/espagnol/index.shtml>.
39. Peña, L. y Vanegas, C. (2007). Fichas de especies de microorganismos del suelo con distribución en la amazonia colombiana. Instituto Humboldt, Colombia, Extraído el 26 de Enero, 2008, de <http://www.siac.net.co/sib/catalogoespecies/especie.do;jsessionid=954063EDEA59884F599370FD54EBF229?idBuscar=501&method=displayAA>
- I
40. Phillips, J.M., y Hayman, D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55, 156-161.
41. Salamanca, C., (1997) Las micorrizas como estrategia de mejoramiento nutricional de pasturas y especies frutales en el Guaviare. CORPOICA-PRONATTA, 1-15. Extraído el 27 de mayo, 2009, de <http://www.corpoica.org.co/SitioWeb/Archivos/oferta/ARTICULOMICORRIZASCarmenRosa.pdf>
42. Salas, E., (2003) Las micorrizas y su importancia para el manejo y conservación de los árboles del trópico, (Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad de Costa Rica), Extraído el 14 de febrero, 2009, de <http://www.una.ac.cr/inis/docs/suelos/Eduardo%20Salas.pdf>

43. SDT. (2004) Un método simple para realizar tu propio inóculo micorrícico. Extraído el 5 de septiembre, 2007, de <http://www.sunseed.org.uk/page.asp?p=191>.
44. Tena, A, *Presencia de Hongos Micorrízicos Arbusculares en Plantas Silvestres de Suelos Salinos en el Estado de Colima*. Tesis de Maestro en Ciencias: Biotecnología, Universidad de Colima (2002). Extraído el 24 de octubre, 2007, de http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Adriana%20Tena%20Sagrero.pdf
45. Thompson, J.P. en *Management of Mycorrhizas in Agriculture, Horticulture and Forestry*, A. D. Robson, L. K. Abbott & N. Malajczuk Eds. (Kluwer Academic Publishers, Australia, 1994). "What is the potencial for management of mycorrhizas in agriculture?", pp. 191-200.
46. Toledo, A., *Mini – Vademecum* (Edifarm Primera Edición, Mexico, 1999).
47. Tovar, J., (2006) Selección en invernadero de inóculos de micorriza arbuscular (MA) para el establecimiento de la alfalfa en un andisol de la sabana de Bogotá. *UNIVERSITAS SCIENTIERUM Revista de la Facultad de Ciencias*, 11,87-103. Extraído del 27 de mayo, 2009, de http://www.javeriana.edu.co/universitas_scientiarum/universitas_docs/vol11_esp_1/8-SELECCION.pdf
48. Triviño, C., *Tecnología Biológica para el Manejo del Nematodo Agallador de Raíces Meloidogyne spp. en Tomate* (INIAP, Ecuador, 2004)

ANEXOS

ANEXO A. Plantas de *Hypericum* en invernadero

a) a las cuatro semanas de siembra

b) a las veinte semanas de siembra

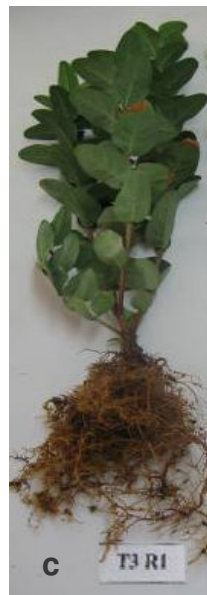


ANEXO B. Plantas de *Hypericum* al final de la primera fase: Fase de micorrización:

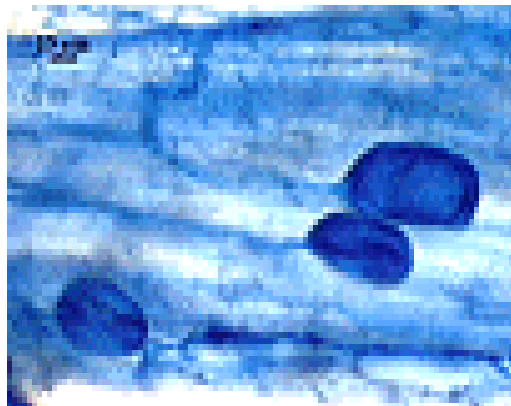
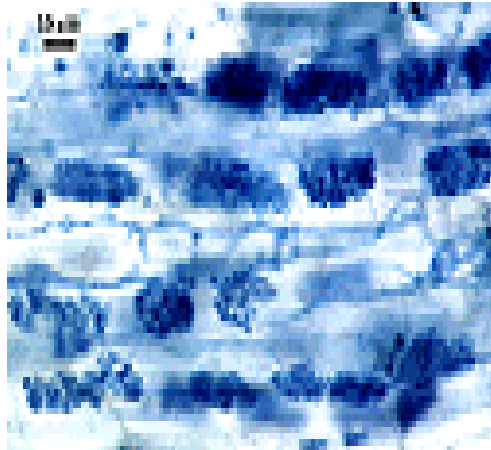
a) T1: Testigo

b) T2: Inóculo nativo

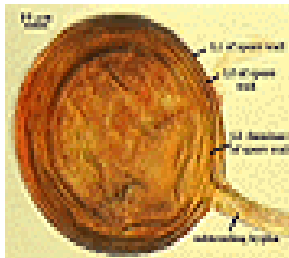
c) T3: Inóculo comercial



ANEXO C. Raíces con presencia de hifas, vesículas y arbuscúlos como resultado de la micorrización de *Glomus clarum*, *Glomus etunicatum* y *Glomus manihotis*, extraído de la colección INVAM.



**ANEXO D. Esporas de *Glomus etunicatum*, *Glomus manihotis*, y *Glomus intraradices*,
extraídas de la colección INVAM.**

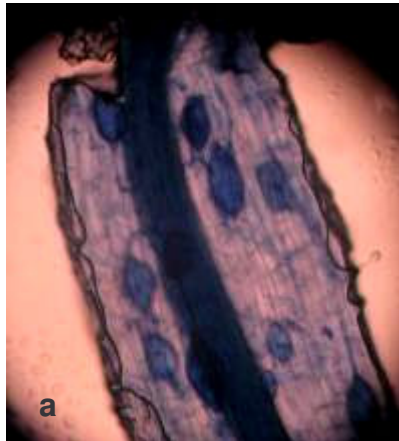


ANEXO E. Raíces con presencia de hifas y vesículas observadas al microscopio por tinción con azul de tripán, al final de la primera y segunda fase del ensayo:

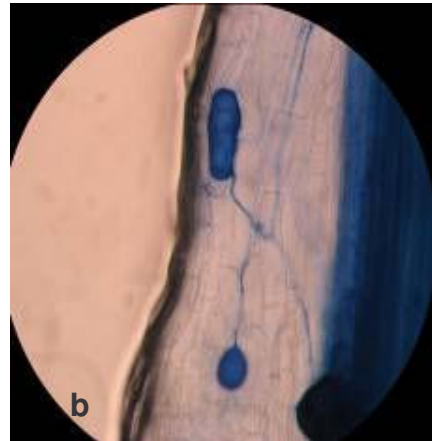
a) planta silvestre

b) *Brachiaria*, cultivo trampa

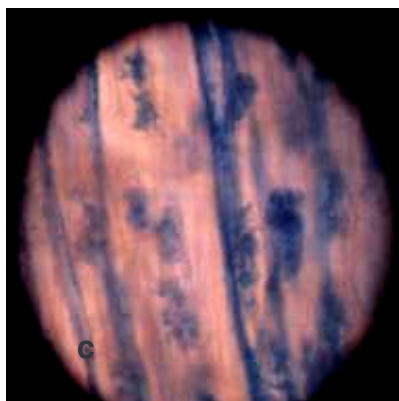
c), d), e) y f) *Hypericum* inoculadas con micorriza nativa



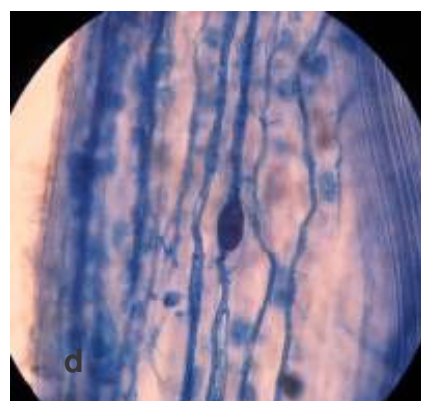
40 x
(Carvajal, 2008)



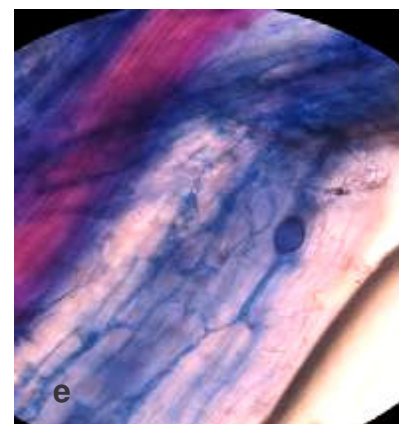
40 x
(Carvajal, 2008)



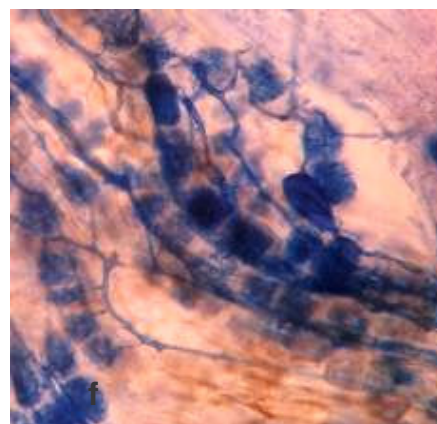
40 x
(Carvajal, 2008)



40 x
(Carvajal, 2008)



40 x
(Carvajal, 2008)



40 x
(Carvajal, 2008)

ANEXO F1. Esporas aisladas del suelo de:

a) plantas silvestres obtenidas

b) cultivos trampa inoculados con raíces y suelo de las plantas silvestres

c), d) plantas de *Hypericum* inoculadas con micorriza nativa.



40 x
(Carvajal, 2008)



40 x
(Carvajal, 2008)



40 x
(Carvajal, 2008)

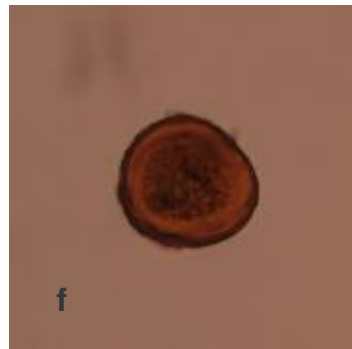


40 x
(Carvajal, 2008)

**ANEXO F2. Esporas aisladas del sustrato de plantas de *Hypericum* inoculadas con:
e), f), g) y h) micorriza nativa.**



40 x
(Carvajal, 2008)



40 x
(Carvajal, 2008)

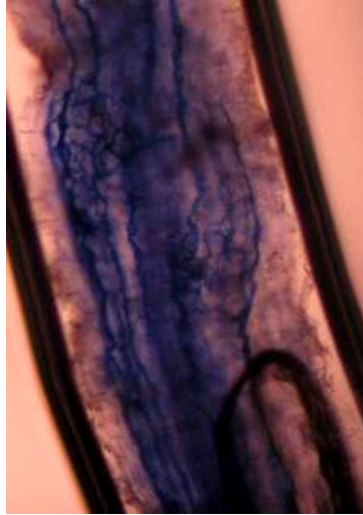


40 x
(Carvajal, 2008)



40 x
(Carvajal, 2008)

ANEXO G. Raíces de plantas de *Hypericum* inoculadas con una formulación comercial de hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares; teñidas con azul de tripán y con presencia de hifas.

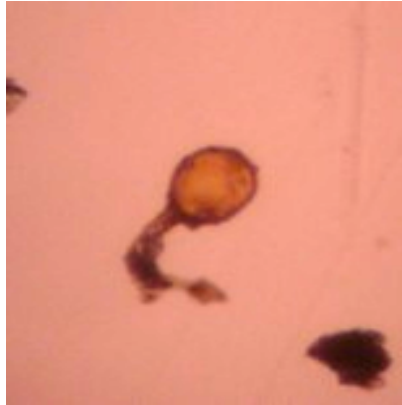


40 x
(Carvajal, 2008)



40 x
(Carvajal, 2008)

ANEXO H. Esporas aisladas del sustrato de plantas de *Hypericum* inoculadas con una formulación comercial de hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares.



40 x
(Carvajal, 2008)



40 x
(Carvajal, 2008)

ANEXO I1. Raíces de plantas de *Hypericum* al final de la fase de interacción con *Meloidogyne incognita*.

a) T1: Testigo, sin micorriza, sin nematodo

b) T2: Solo nematodo, raíz completamente agallada



19 cm

12 cm



12 cm

8 cm

ANEXO I2: Raíces de plantas de *Hypericum* al final de la fase de interacción con *Meloidogyne incognita*.

c) T3: Inóculo nativo, raíz con gran cantidad de raicillas y mayor longitud

d) T4: Inóculo nativo + nematodo, raíz con un grado mínimo de agallamiento y un gran desarrollo



29cm

11 cm



23 cm

11 cm

ANEXO I3: Raíces de plantas de *Hypericum* al final de la fase de interacción con *Meloidogyne incognita*.

e) T5: Inóculo comercial, raíz con presencia regular de raicillas pero poco desarrollada

f) T6: Inóculo comercial + nematodo, raíz con pobre presencia de raicillas y agallada por ataque del nematodo *Meloidogyne incognita*



10,5 cm

12 cm



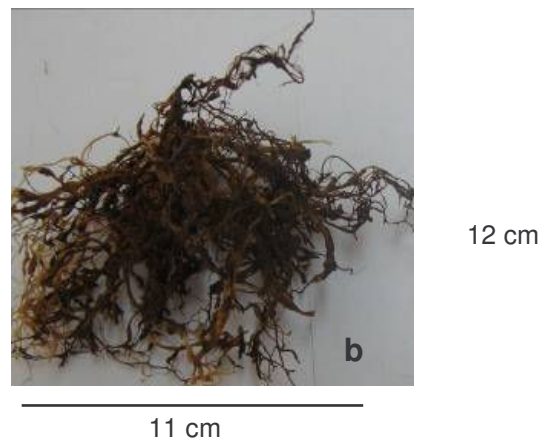
13 cm

11 cm

ANEXO J. Raíces de *Hypericum* infestadas por *Meloidogyne incognita*

a) con un alto grado de agallamiento

b) pudrición general



ANEXO K. Estadios de *Meloidogyne* observados durante el análisis de las raíces y suelo de *Hypericum*

a) Huevos de *Meloidogyne incognita*

b) Hembra de *Meloidogyne incognita* en raíces agalladas de *Hypericum*

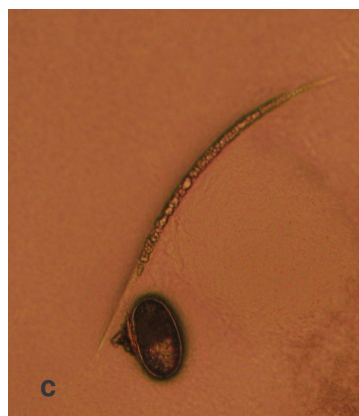
c) J2 de *Meloidogyne incognita* en muestra de suelo, observados al microscopio.



40 x
(Carvajal, 2008)



40 x
(Carvajal, 2008)



40 x
(Carvajal, 2008)

ANEXO L1. Tallos de plantas de las *Hypericum* a la cosecha

a) Testigo

b) Con nematodos



35 cm

35 cm

35 cm

50 cm



30 cm

30 cm

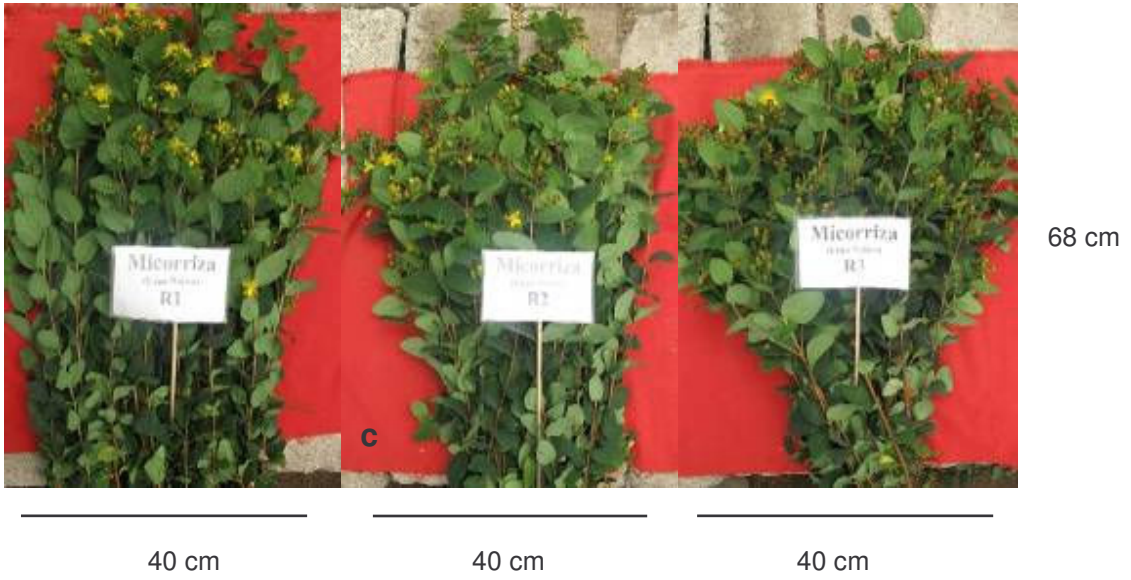
30 cm

40 cm

ANEXO L2. Tallos de plantas de las *Hypericum* a la cosecha

c) Inóculo nativo

d) Inóculo nativo + nematodo



ANEXO L3. Tallos de plantas de las *Hypericum* a la cosecha

e) Inóculo comercial

f) Inóculo comercial + nematodo.



55 cm

35 cm

35 cm

35 cm



53 cm

35 cm

35 cm

35 cm

ANEXO M. Plantas de *Hypericum* inoculadas con el nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, con síntomas de marchitamiento general.



34 cm



22 cm