

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA
FACULTAD DE CIENCIAS**



**“CONTROL BIOLÓGICO DEL *Meloidogyne incognita* EN
AGUAYMANTO (*Physalis peruviana* L.) POR BACTERIAS
PROMOTORAS DE CRECIMIENTO Y HONGOS
ENDOMICORRÍMICOS”**

PRESENTADA POR:

FIGURELLA MILAGROS ISLA PELÁEZ

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

LIMA-PERÚ

2016

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE CIENCIAS

Control biológico del *Meloidogyne incognita* en aguaymanto (*Physalis peruviana*) por bacterias promotoras de crecimiento y hongos endomicorrícicos.

Presentada por:

Fiorella Milagros Isla Peláez

Tesis para optar el título de:

BIÓLOGO

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado

Mg. Patricia Moreno

PRESIDENTE

Mg. Mercedes Flores Pimentel

MIEMBRO

Mg. Raúl Ramos

MIEMBRO

Dra. Doris Zuñiga Dávila

PATROCINADORA

Dra. Elsa Carbonell

CO-PATROCINADOR

*Agradecida infinitamente a Dios,
A mi familia, a mi padres sobretodo a mi madre por los ánimos
A mi novio por el aliento constante
y amigos, por compartir tan gratos momentos en el laboratorio.*

AGRADECIMIENTOS

Mi gratitud al Dra. Doris Zuñiga, por su apoyo y asesoramiento en la presente tesis.

A la Dra. Elsa Carbonell por los consejos, apoyo y conocimientos brindados.

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (Procyt concytec 2011. Biol 111-FDA/UNALM) por haber financiado parte de la presente tesis.

A todos mis compañeros del laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología Marino Tabusso.

I. INDICE

I. ÍNDICE	
II. RESUMEN	
III. INTRODUCCIÓN	1
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	4
4.1 EL CULTIVO DE AGUAYMANTO	4
4.1.1 Origen.....	4
4.1.2 Taxonomía	4
4.1.3 Descripción botánica	5
4.1.4 Nombres comunes	6
4.1.6 Composición físico-química y valor nutricional.....	7
4.1.7 Propiedades medicinales	8
4.1.8 Producción del aguaymanto	8
4.1.9 Mercado Internacional.....	9
4.1.10 Requerimientos del cultivo de aguaymanto	9
4.2 AGENTES PATÓGENOS DEL CULTIVO DE AGUAYMANTO (PRINCIPALES ENFERMEDADES)	11
4.3 NEMÁTODOS	13
4.3.1 Generalidades.....	13
4.3.2 Ubicación taxonómica.....	15
4.3.3 Ciclo de vida de M. incognita	15
4.3.4 Manejo.....	17

4.3.5 Hábitos de alimentación.....	20
4.4 BIODIVERSIDAD MICROBIANA EN EL SUELO	20
4.4.1 Rizobacterias promotoras de crecimiento de las plantas (PGPR).....	23
4.4.2 Hongos micorrícicos.....	27
4.4.3 Desarrollo de los hongos micorrícicos	28
V. MATERIALES Y MÉTODOS	31
5.1 LUGAR DE EJECUCIÓN	31
5.2 MATERIALES.....	31
5.2.1 Materiales biológicos.....	31
5.2.2 Medios de cultivo, materiales y equipos de laboratorio	32
5.3 MÉTODOS	34
5.3.1 Estudio con hongos endomicorrícicos	34
5.3.2 Estudio de bacterias promotoras de crecimiento (PGPRs).....	39
5.3.3 Estudio con <i>Meloidogyne incognita</i>	40
5.3.4 Evaluación de los ensayos a nivel de invernadero	43
5.3.5 Diseño experimental	44
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
6.1 EFECTO DE LA INOCULACIÓN CON PGPRS EN LA GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS DE AGUAYMANTO	45
6.2 EFECTO DE LA INOCULACIÓN EN LA EMERGENCIA DE PLÁNTULAS DE AGUAYMANTO.....	46
6.3 PROPAGACIÓN Y PRUEBA DE INFECCIÓN DE HONGOS MICORRÍCICOS EN PLANTA DE TRÉBOL	48

6.4 DETERMINACIÓN DEL GRADO DE SEVERIDAD RADICULAR EN PLANTAS DE AGUAYMANTO.....	52
6.5 BIOENSAYO SOBRE NEMATODOS CON BACTERIAS PGPRS.....	53
6.6 EFECTO DE BACTERIAS PGPRS Y HONGOS MICORRÍMICOS EN EL CONTROL DEL NEMÁTODO EN INVERNADERO	54
6.6.1 Parámetros de crecimientos de la planta.....	54
6.6.2 Parámetro de respuesta del hospedante al nemátodo.....	65
6.6.3 Efecto de la micorrización y número de esporas a nivel de invernadero en plantas inoculadas con PGPRs e infectadas con M .incognita	69
VII. CONCLUSIONES	72
VIII. RECOMENDACIONES.....	74
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
X. ANEXOS	91

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional del aguaymanto (por cada 100 g de pulpa).....	7
Tabla 2. Control biológico de enfermedades en aguaymanto.....	19
Tabla 3. Evaluación in vitro del porcentaje de emergencia 8 días después de la siembra (8dds).	47
Tabla 4. Número de colonias de hongos y mesófilos respectivamente en la estandarización de protocolo de desinfección.....	49
Tabla 5. Colonización radicular por hongos micorrícicos (%CM), Longitud radicular (LR) y peso fresco radicular (PFR) de plántulas de trébol evaluadas.	51
Tabla 6. Promedio de la longitud aérea en invernadero después de 120 días de evaluación.	56
Tabla 7. Promedio de pesos frescos aéreo (PFA) y peso fresco radicular (PFR) de la planta en invernadero.	58
Tabla 8. Promedio del peso seco aéreo (PSA) y peso seco radicular (PSR) de la planta invernadero.	60
Tabla 9. Número, Peso Fresco y Diámetro promedio de frutos por tratamientos de plantas en invernadero	63
Tabla 10. Cantidad de Vitamina C en frutos de Aguaymanto/100 g	64
Tabla 11. Prueba de LSD para los diferentes tratamientos en los Parámetros de reproducción de <i>M. incognita</i>	66
Tabla 12. Prueba de Duncan para los diferentes tratamientos en los Parámetros de reproducción de <i>M. incognita</i>	68
Tabla 13. Prueba de Duncan para efecto de la micorrización y número de esporas a nivel de invernadero en plantas inoculadas con PGPRs e infectadas con <i>M. incognita</i>	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cultivos y lugares de colecta de muestras para la identificación de especies de <i>Meloidogyne</i> spp. En el Perú. Fuente: Vera (2014).....	14
Figura 2. Ciclo de vida del <i>Meloidogyne</i> spp (Verhaeven, 2014).....	16
Figura 3. (A) Arbúsculos de las micorrizas dentro de las células de la raíz, donde ocurre el intercambio de nutrientes. (B) Los beneficios de la simbiosis son el intercambio recíproco de nutrientes y la protección contra el estrés abiótico y biótico del suelo.	30
Figura 4. Diagrama de dispersión al azar de las raíces teñidas. (Brundrett et al. 1995).....	36
Figura 5. Método de la cuadrícula para determinar el porcentaje de colonización.....	36
Figura 6. Separación de las esporas de hongos del suelo mediante centrifugación húmeda y 50 % de sacarosa. (Brundrett et al. 1995).....	38
Figura 7. Desviaciones estándar y diferencias entre tratamientos a los 7 días después de la siembra.	45
Figura 8. Germinación de semillas de aguaymanto in vitro. En (A) Tratamiento control, la semilla no muestra pelos radiculares a diferencia de las semillas inoculadas con Actinomicetos (Aa25) como se observa en (B). Germinación de semillas de aguaymanto in vitro.	46
Figura 9. Emergencia de semillas de aguaymanto en potes. (A) Control comparado con Aa25 (B) Control comparado con DA30 y (C) Comparado con Act12.....	46
Figura 10. Efecto de la inoculación con cepas PGPRs en altura en plántulas de aguaymanto después de ocho días de siembra.....	48

Figura 11. (A) Placa con agar Nutritivo con esporas desinfectadas según la metodología de Utubo. Se puede observar que las esporas pueden germinar. (B) Esporas sin desinfectar. Crecimiento de un halo alrededor de la espora, impidiendo la germinación.	49
Figura 12. Efecto del porcentaje de la colonización micorrícica en plántulas de trébol. ..	51
Figura 13. Efecto de población inicial de <i>M. incognita</i> en el grado de severidad radicular (GSR) y el peso fresco de las raíces (PFR).	52
Figura 14. Porcentaje de huevos afectados en la ooteca y número de larvas muertas de <i>M. incognita</i> expuestos a las cepas bacterianas PGPRs.....	54
Figura 15. Muestra el numero de frutos del tratamiento T10 (DA30+Nem+Mic).	62
Figura 16. Foto de tratamiento T10 a 100X, en las raíces se puede observar la formación de mayor cantidad de arbusculos, asi como también de vesículas e hifas.	68
Figura 17. Foto de tratamiento T8 a 40X, se puede observar en las raíces la formación de las hifas, arbusculos y vesículas.....	71
Figura 18. Foto de tratamiento T10 a 100X, en las raíces se puede observar las formación de las en mayor cantidad de arbusculos, asi como también de vesículas e hifas.	71
Figura 19. Foto de esporas extraidas de los diferentes tratamientos con aumento 100X....	71

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Análisis estadísticos	92
Anexo 2: Tablas.....	109
Anexo 3: Figuras	110

II. RESUMEN

En la agricultura intensiva como medida inmediata ante fitopatógenos y baja fertilidad nutricional del suelo, suelen usar pesticidas y fertilizantes químicos. Éstos son considerados de alta peligrosidad y tóxicos para la salud humana, la biología del suelo y el medio ambiente. Además, ante las exigencias del consumidor interesado en la inocuidad, conlleva a incursionar en el estudio y desarrollo de tecnologías limpias como alternativas del control biológico y fertilizantes basados en organismos asociados a las plantas como los microorganismos promotores de crecimiento (PGPRs) y hongos micorrícicos. Éstos son considerados como importantes microorganismos rizosféricos benéficos, pudiendo ser utilizados como estrategia del control biológico frente a determinados patógenos de la raíz como los nemátodos. El objetivo de este trabajo de investigación fue usar microorganismos promotores de crecimiento y hongos endomicorrícicos para controlar la propagación de nemátodos, mejorando la calidad y producción del cultivo de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.). En este trabajo se ha identificado al nemátodo *Meloidogyne incognita*, como un patógeno en el cultivo de aguaymanto. Así mismo se ha estudiado la relación entre la población inicial de nemátodos y el desarrollo en el peso fresco de la planta y se determinó el grado de severidad radicular, siendo el número de 5000 de huevos y juveniles en segundo estadio de *M. incognita* por Kg de sustrato con la que la planta se ve afectada en su desarrollo. Los resultados de las pruebas *in vitro* y en invernadero mostraron que las cepas de bacterias diazotróficas DA30 y Azo16M2 tuvieron el mayor porcentaje de capacidad de inhibición de *M. incognita*, así como también el uso de estas cepas incrementaron el porcentaje de colonización micorrícica (CM%) al igual que en el número de esporas por gramo de suelo seco (Nº Esporas/g suelo seco). Además los tratamientos donde se usaron interacciones de hongos endomicorrícicos con la cepa diazotrófica (DA30 o la cepa Azo16M2) presentaron en la mayoría de los parámetros medidos, un mayor control sobre el desarrollo de las plantas infectadas con el nemátodo, por lo cual podrían recomendarse como alternativa para reducir el uso de nematicidas.

SUMMARY

In intensive agriculture as an immediate measure to plant pathogens and poor nutritional soil fertility, they often use pesticides and chemical fertilizers. These are considered highly dangerous and toxic to human health, soil biology and the environment. In addition, consumer demands interested in safety, leads to dabble in the study and development of clean technologies such as biological control alternatives and partner agencies based plants as growth promoters microorganisms (PGPR) fertilizer and mycorrhizal fungi. These are considered as important beneficial rhizosphere microorganisms and can be used as biological control strategy against certain root pathogens such as nematodes.

The objective of this research was to use growth promoting microorganisms and endomycorrhizal fungi to control the spread of nematodes, improving quality and crop production aguaymanto (*Physalis peruviana* L.).

This work has identified the *Meloidogyne incognita*, as a pathogen in growing *Physalis peruviana* (aguaymanto). It also has studied the relationship between initial nematode population and development in the fresh weight of the plant and root determining the degree of severity, the number of eggs and juveniles 5000 between second stage of *M.incognita* per kg substrate with which the plant is affected in its development. The results of the in vitro and in greenhouse tests showed that the strains of bacteria diazotrophic Azo16M2 and DA30 had the highest percentage of capacity to inhibit *M. incognita* as well as the use of these strains increased the percentage of mycorrhizal colonization (CM%) as in the number of spores per gram of dry soil (No. spores / g dry soil). Treatments where interactions endomycorrhizal used with diazotrophic strain (strain DA30 or Azo16M2) presented in most of the measured parameters, greater control over the development of plants infected with the nematode, thus could be recommended as alternative to reduce the use of nematicides.

III. INTRODUCCIÓN

Physalis peruviana L. conocida comúnmente en el Perú como “aguaymanto”, se encuentra en estado silvestre en los Andes del Perú. Esta planta crece en las zonas tropicales altas de América, siendo su centro de origen los Andes del norte de Sudamérica, principalmente Colombia, Perú y Ecuador (Trillos, *et al.*, 2008).

La distribución geográfica de *Physalis peruviana* “aguaymanto” ha sido documentada en el Perú para siete departamentos; principalmente asociadas a regiones andinas de Ancash, Arequipa, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco y Junín (Dostert, *et al.*, 2011). En total se han identificado entre 75 a 90 especies de *Physalis* en el Perú (Medina, *et al.*, 2015).

El estudio del aguaymanto ha despertado gran interés a nivel nacional, debido a la importancia del fruto con propiedades físicas, medicinales, nutricionales y terapéuticas (Perry 1980; Wu, *et al.*, 2004).

A nivel mundial, el principal productor y exportador de aguaymanto es Colombia, sin embargo; el Perú tiene toda las condiciones y los nichos ecológicos para producir y exportar este producto con una calidad competitiva, en los últimos años ha aumentado el cultivo del aguayamanto, generando ingresos y divisas por su exportación (MINAG, 2012). En el 2014, la producción total a nivel nacional alcanzó las 166.609,74 toneladas (188% más que el año anterior), y en los últimos 4 años ha aumentado su producción en 1000%, siendo los principales mercados Estados Unidos y Alemania (exporta más del 50%) (PROMPERU, 2015).

Por esta razón, se ha convertido en una excelente alternativa agrícola en el país, incrementándose en los últimos años la siembra de aguaymanto a nivel nacional.

Como es de conocimiento la intensificación de un cultivo trae consigo problemas fitosanitarios. El aguaymanto por ser una solanácea es un cultivo susceptible a uno de los problemas más serios en el Perú que es el nemátodo del nódulo de la raíz *Meloidogyne incognita*. Por esto es de suma importancia desarrollar tecnologías biológicas que permitan el manejo en el campo de este problema.

Meloidogyne incognita es un nemátodo cosmopolita que se caracteriza por desarrollar agallas en las raíces y por sus hábitos polípagos puede afectar hasta más de 2000 especies de plantas entre ellas gramíneas, hortalizas, frutales y forestales; ocasionando considerables pérdidas en la producción. Según Eunice, *et al.*, 2008 y Castillo (2002).

M. incognita parasita las raíces de aguaymanto y es capaz de formar asociaciones con otros hongos, bacterias y/o virus patógenos del suelo, ocasionando disminución en el tamaño y número de frutos por planta, por tanto pérdidas en la producción.

El Perú por mucho tiempo ha hecho uso indiscriminado de productos químicos sintéticos, que actualmente se han retirado muchos de ellos del mercado a nivel mundial, por lo que hay una gran necesidad de buscar alternativas biológicas para el control de nemátodos por ser más seguros al ser humano y no contaminantes del medio ambiente (Margraf, *et al.*, 2001).

El mercado mundial exige que los productos agrícolas y pecuarios sean inocuos al ser humano (Comisión del *Codex Alimentarius*). Por lo que se han establecido parámetros internacionales sobre los límites máximos de plaguicidas (LM) y aún más los países importadores exigen certificaciones de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), lo que conlleva a estimular el estudio de alternativas de control biológicos basados en microorganismos asociados a las plantas.

La biotecnología nos permite estudiar el uso y empleo de microorganismos benéficos y controladores, los que fueron clasificados por primera vez en 1978 por Klöpper bajo el nombre de Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR), que es un grupo de bacterias de vida libre o simbiótica, no patógenas, habitantes de suelos y rizósferas; que presentan diversos mecanismos benéficos para las plantas como el incremento de la germinación, estimulación del crecimiento, control biológico, inducción de la resistencia a patógenos, producción de fitohormonas y mejoramiento en la asimilación de agua y nutrientes (Barka, *et al.*, 2000). Se han utilizado PGPRs, especialmente las del género *Bacillus*, actinomicetos, *Pseudomonas* y

Rhizobium como control biológico contra nemátodos patógenos como *M. incognita*. (Tian, *et al.*, 2007). A su vez dentro del sistema radicular de las plantas y el suelo mismo, existe una asociación hongos-raíz que se da entre muchas especies vegetales, la asociación más importante se da con las endomicorrizas del tipo vesículo-arbuscular (Moreno 1987). En estudios recientes se ha determinado que los hongos micorrícicos tienen la capacidad de inducir la resistencia sistémica de la planta contra el nemátodo en el sistema radicular. El establecimiento de estos hongos reduce la infección y la reproducción del nemátodo agallador *M. incognita* y reduce la severidad de la enfermedad en el suelo infectado. Además las micorrizas mejoran la toma de nutrientes del suelo, principalmente fosfato (Liu, *et al.*, 2011).

Por lo mencionado anteriormente, el objetivo del presente trabajo es desarrollar una metodología basada en el uso de microorganismos promotores de crecimiento y hongos micorrícicos como prevención a la infección de nemátodos e incrementar la producción en *Physalis peruviana*.

Los objetivos del presente trabajo fueron:

Objetivo general

Uso de microorganismos promotores de crecimiento y hongos endomicorrícicos para controlar la propagación de nemátodos, mejorando la calidad y producción del cultivo de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.).

Objetivos específicos

Propagar esporas de hongos endomicorrícicos aislados de la rizósfera de *Physalis peruviana*.

Seleccionar las cepas de bacterias aisladas previamente del banco Laboratorio Marino Tabusso (LMT) con mayor capacidad de inhibición de *Meloidogyne incognita* a nivel in vitro.

Evaluar el efecto de bacterias promotoras de crecimiento y hongos endomicorrícicos como controladores de *Meloidogyne incognita* en *Physalis peruviana* en invernadero.

Evaluar el efecto de las bacterias promotoras de crecimiento en la infección de hongos endomicorrícicos en la raíz de *Physalis peruviana*.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 El cultivo de aguaymanto

4.1.1 Origen

El cultivo del aguaymanto fue conocido desde la época de los incas, creció en diversas partes de los andes, su origen fue en los andes de Colombia, Perú, Ecuador y Bolivia, regiones en las cuales su fruto ha sido utilizado como alimento silvestre desde épocas precolombinas (National Research Council 1989); sin embargo, según Legge en 1974, considera que el centro de origen de la especie *Physalis peruviana* L. fue los andes peruanos; pero de acuerdo a un estudio realizado por los países pertenecientes al convenio Andrés bello en 1983, se ha identificado todo sudamerica, incluyendo los andes ecuatorianos, como el origen de la fruta de *P. peruviana* (Brito, 2002).

4.1.2 Taxonomía

La clasificación taxonómica de esta planta herbácea según Cronquis (1981), citado por Alarcón (2002), es la siguiente:

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Sub-clase	:	Asteridae
Orden	:	Solanales
Familia	:	Solanaceae
Sub-familia	:	Solanoideae
Tribu	:	Solanae
Género	:	<i>Physalis</i>
Especie	:	<i>Physalis peruviana L.</i>

4.1.3 Descripción botánica

El género *Physalis* es uno de los géneros más grandes de las solanaceae y comprende entre 75 a 90 especies. El aguaymanto es una dicotiledónea herbácea perenne. Posee un tallo erecto poco ramificado, cilíndrico y densamente pubescente, alcanzando una altura entre 45 y 90 cm, algunos alcanzan hasta 1.8 m. La mayoría de las raíces son fibrosas y se desarrollan a una profundidad de 50-80 cm (Bean, 2006; Paksi., *et al.*, 2007). Las hojas son alternas, densamente pubescente con base, enteras o con pocos dientes inconspicuos, y cortamente apiculadas. El pedúnculo floral es de 10-13 mm de largo; el cáliz es anchamente campanulado, en floración 15-18 mm de largo y pubescente en la cara exterior, en la maduración del fruto el cáliz cambia de color verde a beige, éste envuelve al fruto por completo protegiéndolo de los depredadores.

Las flores se disponen verticalmente erectas o algo inclinadas. La corola es amarilla, con cinco máculas púrpuras. Las flores pueden ser fácilmente polinizadas por los insectos, aire o también

por autopolinización (Puente, 2011). Las bayas maduras son amarillas anaranjadas tienen un diámetro de 1-1.5 cm y pesan entre 4 a 10 g. El fruto está protegido por un cáliz que envuelve por completo al fruto a lo largo de su desarrollo y madurez, protegiendo contra los insectos, aves, enfermedades y situaciones climáticas adversas, los frutos contienen de 100 a 200 semillas aplanadas (Fisher, *et al.*, 2005). La vida del fruto después de la cosecha con el cáliz dura un mes mientras que sin el cáliz es de 4 a 5 días.

4.1.4 Nombres comunes

El aguaymanto es conocido por la diversidad de nombres dependiendo del lugar de origen:

Perú: aguaymanto, capulí o uchuva.

Bolivia: capulí o motojobobo embolsado.

Ecuador: uvilla o tomate silvestre

Colombia: uchuva, uvilla, vejigón o guchavo

Chile: capulí o bolsa de amor

México: cereza del Perú, yuyo de ojos

Brasil: Groselha do Perú, herba noiva do Perú, Batesta, Camapu

U.S.A.: gooseberry, Peruvian cherry, golden berry or Andean Cherry

Africa del Sur: *cape gooseberry, golden berry*

Francia: *coqueret du Pérou, coquerelle.*

(Calzada, 1980 y National Research Council, 1989).

4.1.5 Distribución

Se extiende por Bolivia, Chile, Argentina, Brasil, Colombia, Perú y Venezuela. Al habitar en climas cálidos y templados, está bastante difundida en niveles andinos medios y bajos en la costa, en Perú se puede encontrar en departamentos como: Cajamarca (San Miguel), la Libertad (Chicama); Huánuco, Apurímac; Cusco (Valle del Urubamba); Lima (Cañete) y otros (Palacios, 1993).

4.1.6 Composición físico-química y valor nutricional

Analizando 100g de fruta madura de aguaymanto sin cáscara, Fisher (2000) obtuvo los resultados mostrados en el tabla 1. Los resultados en comparación con otros frutos presentan una mayor cantidad de nutrientes, como proteínas, sales minerales (hierro, fósforo y potasio), así como pro-vitamina A, ácido ascórbico (vitamina C) y vitamina del complejo B.

Tabla 1. Composición nutricional del aguaymanto (por cada 100 g de pulpa)

Factor Nutricional	Contenido
Calorías	49
Agua	85.9 g.
Proteínas	1.5 g.
Grasa	0.5 g.
Carbohidratos	11.0 g.
Fibra	0.4 g.
Ceniza	0.7 g.
Calcio	9.0 g.
Fósforo	21 mg.
Hierro	1.7 mg.
Vitamina A	1730 U.I.
Tiamina	0.1 mg.
Riboflavina	0.17 mg.
Niacina	0.8 mg.
Ácido ascórbico	20 mg.

Fuente: Fisher, Gerhard. Producción. Post- cosecha y exportación de la Uchuva. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, marzo del 2000.

4.1.7 Propiedades medicinales

La importancia de este cultivo radica en el fruto debido a que se le atribuye propiedades nutritivas y medicinales (Eunice, *et al.*, 2007), el aguaymanto se ha empleado en la medicina tradicional como agente anticancerígeno, antipirético e inmunomodulador, así como para en el tratamiento de enfermedades como malaria, asma, hepatitis, dermatitis, reumatismo, diurético y otras enfermedades (Quispe, *et al.*, 2009). El fruto del aguaymanto pertenece a la categoría de los carotenogénicos, además se determinó el contenido de flavonoides y compuestos polifenólicos (Marin, *et al.*, 2010). Se ha demostrado que este fruto tiene ambas propiedades importantes como antiinflamatorio y antioxidante. En las últimas investigaciones, en los cálices del aguaymanto, se han encontrado moléculas de azúcar conocidos como glicósidos, considerados los responsables de la actividad antiinflamatoria (Madríñan 2010) y los extractos del fruto tiene actividad anticancerígena en hepatocélulas humanas (Ching, *et al.*, 2010).

4.1.8 Producción del aguaymanto

El cultivo de aguaymanto en el Perú se ha iniciado con un enfoque comercial alrededor de hace 6 años, la producción total en el 2008 fue de 8 toneladas por hectárea por año (Tn/h/año), aumentando a 16 Tn/ha/año en el 2011; es decir en este periodo la producción nacional se duplicó como consecuencia del incremento en el área sembrada, esta mejora en la productividad se debió al uso de controladores biológicos y a la implementación de sistemas de tutorío (Schreiber, 2012).

La estacionalidad en la sierra se encuentra entre los meses de abril a junio, mientras que en la costa la cosecha se concentra en octubre a noviembre.

Bajo buenas condiciones de cultivo, los frutos de la primera cosecha son los más grandes. Se puede obtener un rendimiento de 20-33 Tn/ha. La cosecha empieza después de siete a nueve meses después de la primera siembra.

4.1.9 Mercado Internacional

Las exportaciones de aguaymanto aumentaron durante el periodo 2007-2012. En la actualidad el cultivo de aguaymanto está en crecimiento; ya que en el 2007 se exportaron 6842.37 kg y en el 2011 se exportó 59164.36 kg significando un incremento de más del 800%.

Estados Unidos es el principal destino (37% en el 2011) y Alemania (más del 50%). Otros destinos importantes son Alemania y Canadá. Hasta abril del 2012, las exportaciones totales de este producto se estimaron en un valor FOB US \$ 198 094 y un volumen de 17 979 kg. En los últimos 4 años ha aumentado su producción en 1000% (PROMPERU 2014).

4.1.10 Requerimientos del cultivo de aguaymanto

a. Altitud

El aguaymanto es capaz de crecer en un gran rango de altitud de los pisos altitudinales intermedios de los Andes, entre los 1500 y 3000 msnm (Salazar, *et al.*, 2006). Siendo el ideal entre 2400 y 2800 msnm (Roca, 2013).

b. Temperatura

La temperatura promedio óptima para el crecimiento es de 18°C. Las plantas resisten también temperaturas bajas, pero su crecimiento se ve afectado bajo los 10°C. Para la producción de frutos se ha indicado una temperatura mínima de 5°C. (Talia y Fries 2007). Se ha reportado también que el aguaymanto del ecotipo colombiano muestra la más alta producción de materia seca a una temperatura radicular constante de 29°C y la tasa fotosintética y la materia seca de frutos aumentan hasta una temperatura de 30°C (Raghava y Murty, 1987).

c. Precipitación

La precipitación óptima debe oscilar entre 1000 y 2000 mm bien distribuidos a lo largo del año, con una humedad relativa entre 70% y 80 %. El suministro de agua es importante durante los periodos secos para evitar que se rajen los frutos (Calvo, 2009).

d. Suelo

El aguaymanto prefiere suelos con textura areno-arcillosa con buen drenaje y alto contenido materia orgánica y un pH entre 5.5 y 7.3; además no es tolerante a suelo arcilloso por sus raíces superficiales. También se menciona que se han obtenido buenos resultados en suelos pobres y arenosos (Raghava y Murty 1987).

e. Iluminación y fotoperiodo

Estudios sobre el fotoperiodo muestran que las flores se abren hasta una semana antes bajo condiciones de días cortos (8 horas de luz) que bajo días largos. También es considerada fotoneutral ya que esta especie crece sin problemas en casi todos los lugares del mundo (Hansen, 1993).

f. Fertilización y abonado

La preparación del cultivo es necesario mantener el cultivo limpio y una labranza mínima. Se recomienda que el terreno este bien arado, libre de malezas y si el terreno es plano es necesario realizar surcos para evitar que las plantas sembradas se pudran debido a anegamientos. La labranza es mínima, no se debe preparar toda el área del terreno, solamente se hace hoyos de 30 cm de ancho por 30 de largo y 20 cm de profundidad, en donde se siembra las plantas sin necesidad de preparar toda la parcela.

Respecto al abonado se realiza 20 a 30 días antes de la siembra, se recomienda utilizar 1,5 kg de compost y humus de lombriz por cada planta cada tres meses o 1 - 1,5 L de abono líquido fermentado cada 15 - 20 días. Según Martínez, la respuesta a la mejor dosis de abonamiento fue con gallinaza usando de 2 a 3 kg de gallinaza por planta, dando rendimiento promedio de 9.77-10.05 t ha⁻¹ (Martínez, 1999).

g. Propagación

Para una propagación vegetativa, las estacas o esquejes pueden ser obtenidos de la planta en cualquier momento del año, estos igual presentan un buen enraizamiento inicial; pero los

mejores enraizamientos se obtienen después del tratamiento con hormonas en camas calientes con arena. Las estacas pueden ser trasplantadas después de 14 - 21 días. La propagación vegetativa permite el establecimiento del cultivo más rápido y las estacas alcanzan la edad de cosecha más rápido produciendo más frutos que las plantas propagadas por semillas (Dostert, *et al.*, 2011).

4.2 Agentes patógenos del cultivo de aguaymanto (principales enfermedades)

La problemática fitopatológica que presenta durante el ciclo vegetativo del cultivo de aguaymanto, puede llegar a generar una incidencia de la producción en los costos de producción; cuando las pérdidas son críticas, los organismos causantes de la enfermedad adquieren importancia económica y se hace necesario el diagnóstico para así determinar el patógeno e implementar las medidas adecuadas de control. Las enfermedades características que se presentan en el cultivo de aguaymanto son: Mancha gris, muerte descendente, esclerotiniosis, mal de semillero, saneamiento descendente de ápice del cáliz y nemátodos.

Diversas enfermedades pueden afectar negativamente el crecimiento de las plantas y la producción de frutos. En el Perú, la explotación comercial de *Physalis peruviana* está en aumento, pero principalmente de poblaciones silvestres, por lo que hay poca información sobre las enfermedades que atacan estos cultivos (Doster, *et al.*, 2012). Sin embargo, la problemática fitopatológica de no tener un control puede llegar a generar una gran incidencia en los costos de producción de los agricultores causando pérdidas por los organismos causantes de enfermedad, por ello se hace necesario el diagnóstico para determinar el patógeno e implementar las medidas adecuadas de control. Las enfermedades características que se presenta en el cultivo de aguaymanto.

Según Blanco (2000) las enfermedades más comunes en el cultivo de aguaymanto son: mancha gris, muerte descendente, esclerotiniosis, mal de semillero, secamiento descendente de ápice de cáliz y nemátodos.

4.2.1 Bacterias

Las pérdidas causadas por enfermedades bacterianas son generalmente menores a las causadas por hongos o virus. Los efectos de las bacterias sobre sus hospedantes son de varios tipos y

depende de la planta. Siendo los trastornos más comunes que provocan las bacterias: pudriciones blandas, manchas foliares, añubios, enfermedades vasculares, hiperplasias e hipertrofias (Gongora, 2006).

Entre las bacterias más frecuentes asociadas con enfermedades, se encuentran *Ralstonia solanacearum* y *Xanthomonas campestris*, causantes de la marchitez bacteriana.

4.2.2 Mancha grasienta

Xanthomonas sp. La enfermedad se puede apreciar en el cáliz o en el capacho antes de su cosecha. Se puede observar manchas pequeñas que en pocos días se agrandan, decoloran el tejido y dan la apariencia de papel engrasado. El patógeno no afecta el fruto pero se deteriora su apariencia externa para el mercado.

4.2.3 Marchitez bacterial

Ralstonia solanacearum, este patógeno puede atacar a varios miembros de la familia *Solanaceae*, como la papa, el ají y el tomate. La enfermedad se puede presentar en cualquier estado de desarrollo del cultivo. Se disemina rápidamente a través de la lluvia o el agua de riego. Tiene como síntoma la marchitez en la planta.

4.2.4 Hongos

Mal de semillero, damping-off, sancocho, chumasquina o chupadera. *Phytophthora* sp. este patógeno puede vivir en el suelo como saprofito. En ciertas ocasiones puede venir acompañado con otros patógenos como la *Rhizoctonia* sp. y *Phytophthora* sp. (Fisher, *et al.*, 2005). Los síntomas producidos por la enfermedad en los semilleros varían con la edad y la etapa del desarrollo de las plántulas. La sintomatología más común es la pudrición de las raíces y/o de los tallos. También se amarilla las plántulas con necrosis en la base de los tallos (Blanco, 2000).

4.2.5 Mancha gris

Es causado por *Cercospora* sp. Esta enfermedad puede afectar la planta en cualquier etapa de su desarrollo, pero casi siempre comienza en las hojas más maduras. Las esporas de este hongo se diseminan con el viento y necesitan alta humedad para su germinación. Los síntomas aparecen en las hojas, cáliz o capacho, deteriorando la calidad para la exportación. (Fisher, *et al.*, 2005).

4.3 Nemátodos

Los nemátodos parasitan generalmente las raíces de las plantas, causando cambios internos que terminan interrumpiendo el paso normal de nutrientes y agua. La deformación de las raíces paraliza el crecimiento de las plantas. Las hojas pueden volverse cloróticas. En general, presentan síntomas propios de deficiencia de agua y nutrientes, aun cuando estos abundan.

El nemátodo más frecuente encontrado en el aguaymanto es el *Meloidogyne sp.*, el cual forma nódulos en la raíz. Los nemátodos se diseminan por medio de suelos infestados, el agua de riego, implementos agrícolas, etc.

Existen 87 especies de nemátodos del nudo, de las cuales cinco abundan en suelos en que se siembra aguaymanto (Fisher, *et al.*, 2005). Los nemátodos tienen un amplio rango de hospederos, por lo cual es difícil hacer rotaciones y asociaciones que disminuyan las poblaciones.

4.3.1 Generalidades

Los nemátodos formadores de nódulos de la raíz se encuentran en todo el mundo, pero en mayor abundancia y frecuencia en regiones de climas cálidos y tórridos y de inviernos cortos y moderados. Atacan a más de 2000 especies de plantas, incluyendo a la mayoría de plantas cultivadas.

Los nemátodos son los organismos multicelulares más abundantes presentes en los agrosistemas donde pueden encontrarse a densidades superiores a 30 millones/m² (Andrés, 2009). Dentro de este grupo se encuentran los nemátodos del nudo del género *Meloidogyne* conocidos en inglés como "Root-knot nematodos", son un grupo importante de endoparásitos obligados altamente especializados; con un extenso rango de hospedantes y que además interactúan con otros fitopatógenos en complejos de enfermedades, hacen que sea el fitonemátodo de mayor impacto económico, generando grandes pérdidas en la producción principalmente en regiones con climas tropicales y sub-tropicales. Por ello estos organismos son objeto de diversas investigaciones a nivel mundial, que incluyen estudios de taxonomía, biología, interacciones planta-nemátodo para tener enfoques nuevos para su control.

En el Perú, se realizó un estudio donde se han reconocido 33 especies agrupados en 14 géneros, siendo el *Meloidogyne spp*, el más difundido y el de mayor importancia económica en la costa y la selva del país. Este género está presente en varios valles de la costa y es limitante en la producción de muchas especies de plantas como el algodón, cucurbitáceas, tomate, frijol, pallar, hortalizas, papa, maíz, plátanos, frutales entre otros (Farfan, 2011). En la figura 1 indica los cultivos y lugares donde se identificaron nemátodos de la especie *Meloidogyne spp*.

Po	Cultivo	Departamento	Provincia	Localidad
1	<i>Hypericum sp.</i>	Ancash	Yungay	Yungay
2	<i>Solanum tuberosum</i>	Apurímac	Chincheros	Uranmarca
3	<i>Capsicum annuum (Piquillo)</i>	Arequipa	Caylloma	Majes
4	<i>Capsicum annuum (Pimiento)</i>	Ica	Ica	Villacurí
5	<i>Capsicum annuum (Pimiento)</i>	Ica	Ica	Arrabales
6	<i>Pisum sativum (Holantao)</i>	Ica	Ica	Arrabales
7	<i>Capsicum annuum (Pimiento)</i>	Ica	Ica	Los Aquijez
8	<i>Capsicum annuum (Pimiento)</i>	Ica	Ica	Pachacutec
9	<i>Musa acuminata</i>	Junín	Chanchamayo	San Luis de Shuaro
10	<i>Pisum sativum</i>	La Libertad	Santiago de Chuco	Santiago de Chuco
11	<i>Passiflora edulis</i>	La Libertad	Virú	Virú
12	<i>Capsicum annuum (Piquillo)</i>	Lambayeque	Lambayeque	Olmos
13	<i>Capsicum baccatum</i>	Lima	Huaura	Huacho
14	<i>Curcubita maxima</i>	Lima	Lima	La Molina
15	<i>Capsicum baccatum</i>	Lima	Barranca	Barranca
16	<i>Solanum tuberosum</i>	Lima	Cañete	San Benito
17	<i>Solanum tuberosum</i>	Lima	Barranca	Barranca
18	<i>Capsicum baccatum</i>	Lima	Cañete	Imperial
19	<i>Lycopersicum sculentum</i>	Lima	Lima	Ate Vitarte
20	<i>Olea europea</i>	Tacna	Tacna	Inclán
21	<i>Musa acuminata</i>	Tumbes	Tumbes	Pampas Hospital
22	<i>Musa acuminata</i>	Tumbes	Tumbes	Corrales
23	<i>Lycopersicum sculentum</i>	La Libertad	Trujillo	Laredo
24	<i>Theobroma cacao</i>	Huánuco	Leoncio Prado	Rupa-Rupa
25	<i>Capsicum annuum (Pimiento)</i>	Ancash	Casma	Casma
26	<i>Dathus caryophyllus</i>	Ayacucho	Huamanga	Tambillo
27	<i>Vitis sp</i>	Piura	Piura	Piura
28	<i>Nicotiana tabacum</i>	Lambayeque	Lambayeque	Lambayeque
29	<i>Vitis vinifera</i>	Lima	Cañete	Nuevo Imperial
30	<i>Physalis peruviana</i>	Cajamarca	Celendín	Jose Gálvez

Figura 1. Cultivos y lugares de colecta de muestras para la identificación de especies de *Meloidogyne spp*. En el Perú. Fuente: Vera (2014).

4.3.2 Ubicación taxonómica *M. incognita*

El género *Meloidogyne* se ubica dentro de la siguiente clasificación taxonómica: (Canto-Sáenz, 2010):

Phylum	:	Nemata
Clase	:	Secermentea
Orden	:	Tylenchyda
Suborden	:	Tylenchina
Superfamilia	:	Tylenchoidea
Familia	:	Heteroderidae
Subfamilia	:	Meloidogyninae
Género	:	<i>Meloidogyne</i>
Especie	:	<i>Meloidogyne incognita</i>

4.3.3 Ciclo de vida de *M. incognita*

El ciclo de vida se inicia con la eclosión de los huevos y seguidamente la invasión de la raíz por los estadios infectivos. Estos estadios son larvas de vida libre que habitan en los micelios de agua presente en los suelos y que necesitan penetrar a la raíz para completar su ciclo reproductivo.

Los nemátodos generalmente se desarrollan de su estadio de huevo, luego pasan por cuatro fases en el que finalmente se convierten en adultos machos o hembras. Los juveniles que eclosionan del huevo son denominados juveniles estadio J2. En este estado este organismos tiene varias adaptaciones fisiológicas, bioquímicas (quiescencia y la diapausa) y reservas de

lípidos que permiten prolongar su viabilidad hasta que encuentre una planta hospedante (Mohamed, *et al.*, 2011).

La etapa infectiva empieza con la penetración de los nemátodos juveniles de segundo estado (J2), como se observa en la figura 2; una vez que han eclosionado se mueven a través del suelo en busca de una raíz para alimentarse.

La búsqueda de la raíz es al azar, según algunos estudios indican que los nemátodos son atraídos por los exudados radiculares, acumulándose y penetrando la raíz por la zona de elongación debajo del punto de crecimiento. Además se considera el dióxido de carbono el factor más importante para atraer a los juveniles de segundo estado J2 (Hussey y Janssen, 2011).

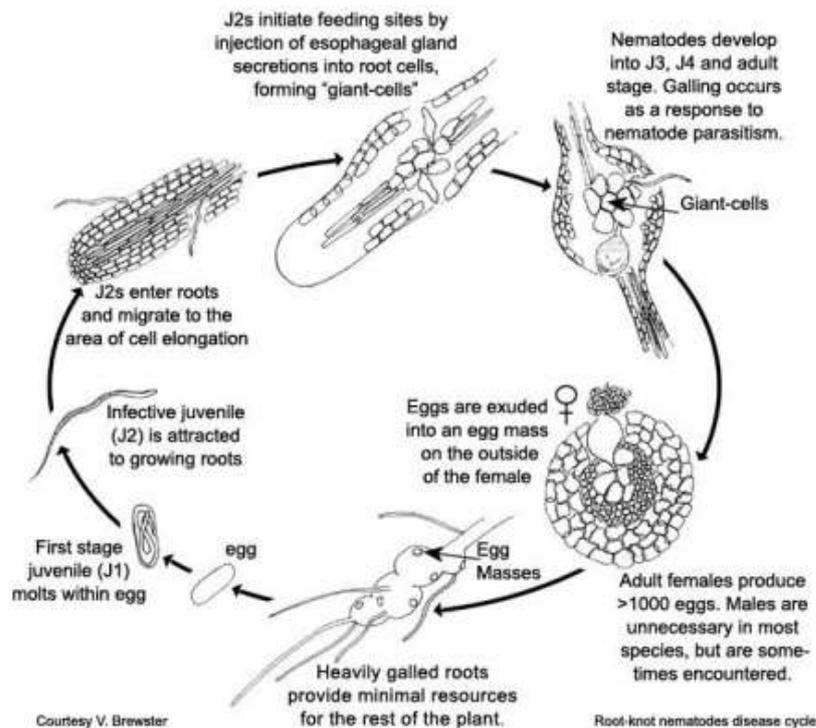


Figura 2. Ciclo de vida del *Meloidogyne* spp (Verhaeven, 2014).

Para penetrar los nematodos juveniles J2 utilizan su estilete, enzimas celulolíticas y pectolíticas permite degradar la pared celular de la raíz. Una vez en la raíz, los juveniles en estadio J2 migran intercelularmente dentro del cilindro vascular, hacia el tejido cortical dentro

de la zona de diferenciación. En esta zona es donde los nemátodos se vuelven sésiles y permanecen durante su desarrollo, hasta completar su reproducción (Verhaeven, 2014). Las células que conforman estas estructuras dejan de manifestar su patrón normal de crecimiento, la maquinaria biosintética se pone al servicio del nemátodo. Los nemátodos dentro de la raíz inducen la hiperplasia, la cual consiste en células gigantes, esto da lugar al desarrollo de un sitio de alimentación, donde los nemátodos toman el agua y los nutrientes de la planta huésped. A la vez la infección induce la hipertrófia celular lo que da lugar a la formación de agallas en raíz.

Después de instalarse en un sitio, el nemátodo llega a su etapa adulta. Los machos se vuelven filiformes y las hembras de forma piriforme. Después del apareamiento los machos salen de la raíz; las hembras producen un saco lleno de cientos de huevos, y que se deposita en la superficie de la vesícula de la raíz (Vera, 2014).

4.3.4 Manejo

a. Rotación de cultivos

Las especies de *Meloidogyne* son parásitos obligados, especializados y tienen movilidad limitada a distancias cortas, pudiéndose mover no más de 50 cm desde el lugar que eclosiona. Para el control de *Meloidogyne spp.*, los cultivos susceptibles son rotados con cultivos inmunes o resistentes. Por ejemplo después de la cosecha de tomate en un campo infestado con una población alta de *Meloidogyne spp.* se recomendaría cultivar una especie resistente a este nemátodo como el maní, éste evita que el nematodo se reproduzca y el las larvas en el suelo morirán o no serán infectivas. De haber disminuido adecuadamente la población de estos nemátodos, podría desarrollarse un cultivo de tomate sin daños severos. Sin embargo las rotaciones tienen como desventaja que los cultivos alternos deben ser prolongadas (Sasser y Taylor, 1983), generando disminución de la producción del cultivo de interés.

b. Control químico de nemátodos

Para los fitopatógenos que tiene su hábitat debajo del suelo es difícil el control químico, inclusive así se aplique el nematicida en grandes y repetidas cantidades para que el tratamiento

ocupe todo el volumen del suelo en el que se extienden las raíces de las plantas infestadas (Munif, *et al.*, 2013).

El método más usado para el control de nemátodos es el químico, siendo esta una tendencia generalizada de muchos países para disminuir los daños ocasionados por nemátodos, sin embargo el uso de estos insecticidas-nematicidas altamente tóxicos se ha visto limitado por el alza constante de sus costos, depredación indiscriminada de la microflora del suelo, destrucción de enemigos naturales, rápido surgimiento de las poblaciones tratadas, surgimiento de especies secundarias, así como los peligros directo e indirectos para la salud del hombre y el medio ambiente (Marquéz, *et al.*, 2003). Por ejemplo, el uso de insecticidas carbamatos y organofosforados tienen como modo de acción inhibir al funcionamiento de las enzimas acetilcolinesterasa, bloqueando la transmisión de impulsos nerviosos en las células neuronales de los organismos en general (Devine, G. 2008). Además, el bromuro de metilo (BrMe) es un biocida muy eficiente de nemátodos, bacterias y hongos para desinfectar suelos y sustratos para el crecimiento de plantas, tanto en campo como en invernadero. Sin embargo, en la reunión de las Partes del Protocolo de Montreal de 1992, se reconoció al bromuro de metilo como una de las sustancias responsables del deterioro de la capa de ozono (Ministerio del Ambiente -Chile, 2013). Esto debe estimular la investigación de alternativas de control de nemátodos (Nico, *et al.*, 2004.; Kiewnick y Sikora, 2006).

c. Control biológico

Según Baker y Cook (1974) el control biológico permite la reducción de la intensidad o las actividades productoras de enfermedades de un patógeno o parásito, en su estado activo de resistencia o reposo, lograda de manera natural o a través de la manipulación natural del ambiente, del hospedador o de antagonistas naturales presentes en el mismo.

Por lo tanto para lograr el control biológico puede ser mediante: Exploración en el propio medio de control y manipulación del ambiente para favorecer el desarrollo de los antagonistas naturales. Actualmente se utiliza microorganismos naturales o modificados para reducir los efectos de organismos indeseables, los cuales favorecen al mismo tiempo el desarrollo de los organismos útiles para el hombre, plantas y microorganismos beneficiosos.

Para el control de nemátodos utilizan hongos nematófagos y los agrupan en tres categorías según mecanismo de acción: hongos que atrapan nematodos, hongos parásitos y hongos tóxicos (Yang, *et al.*, 2007). Por ejemplo, el *Paecilomyces monacrosporium* controla las masas de huevos de nemátodos y juveniles de *Meloidogyne javanica*, es capaz de capturar y matar nemátodos y a su vez reducir el número de nódulos infectivos en las raíces de tomate. En la tabla 2 se menciona los microorganismos mas usados para el control biológico en aguaymanto.

Tabla 2. Control biológico de enfermedades en aguaymanto

Nombre común fitonemátodo	Nombre científico fitonemátodo	Tratamiento Biológico	
Mancha blanca de las hojas	<i>Ramularia sp.</i>	<i>Bacillus mycoides</i>	<i>Pseudomonas sp</i>
Mancha punteada de las hojas	<i>Ascochyta sp.</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	
Mancha negra redonda	<i>Alternaria solani</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i>	
	<i>Alternaria alternata</i>		
Pudrición de la raíz	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Trichoderma hamatum</i>
	<i>Rhizoctonia solan</i>		
	<i>Phytium sp.</i>		
Pudrición del fruto	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Trichoderma longibranchiatum</i>
	<i>Rhizopus stolonifer</i>		
Mancha del capuchón	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Trichoderma lignorum</i>	
	<i>Cladosporium sp.</i>		
Nemátodo de agalla	<i>Meloidogyne incognita</i>	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	<i>Pasteuria penetrans</i>
Nemátodo de la lesión	<i>Tylencorrhinchus sp.</i>	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	

Fuente: Falconí (1999). Control biológico de plagas, enfermedades, malezas y nematodos fitopatógenos de cultivos en el Ecuador. Centro de Diagnóstico y control biológico. Universidad San Francisco de Quito. p 123.

El uso de agentes biocontroladores mencionados en la tabla anterior son útiles para la disminución de las poblaciones de nemátodos fitoparásitos, pero este tipo de manejo funciona mejor con un organismo que aparte de biocontrolar, proteja a los hospedantes, proporcionen condiciones favorables para un buen desarrollo fisiológico de las plantas y generen con un alto rendimiento del cultivo (Becerra *et al.*, 2010). Como lo respalda las investigaciones las plantas asociadas a hongos micorrícicos y sobretodo aplicando endomicorrizas nativas establecen simbiosis, generando una relación más íntima y única en la planta; siendo ésta la ventaja comparativa del uso de estos hongos endomicorrícicos frente a hongos nematófagos (*Paecilomyces lilacinus* o *Pasteuria penetrans*), ya que al inocular a las plántulas con hongos micorrícicos (*Glomus intradices*, *G. mosseae* o *G. viscosum*) no solo reducen el grado de severidad radicular en las raíces y reproducción de los nemátodos, sino que además aumenta el transporte de nutrientes mejorando el desarrollo del sistema radicular y promueve un mejor desarrollo de las plantas que crecen en suelos con nemátodos (Requena, 2013).

4.3.5 Hábitos de alimentación

El aguaymanto por ser una solanácea es un cultivo susceptible a uno de los problemas más serios en el Perú que es el nemátodo del nódulo de la raíz *Meloidogyne incognita*. Por lo que es de suma importancia desarrollar tecnologías biológicas que permitan el manejo en campo de este problema.

Meloidogyne incognita es un nemátodo cosmopolita que se caracteriza por desarrollar nódulos en las raíces y por sus hábitos polífagos puede afectar hasta más de 2000 especies de plantas entre ellas gramíneas, hortalizas, frutales y forestales; ocasionando considerables pérdidas en la producción. Según Eunice, *et al.*, 2008 y Castillo (2002) el *M. incognita* parasita las raíces de aguaymanto y es capaz de formar asociaciones con otros hongos, bacterias y/o virus patógenos del suelo, ocasionando disminución en el tamaño y número de frutos por planta, por lo tanto pérdidas en la producción.

4.4 Biodiversidad microbiana en el suelo

El suelo es fundamental e insustituible; del suelo depende la productividad vegetal de los ecosistemas terrestres y mantiene los ciclos biogeoquímicos. El suelo es un sistema complejo

y dinámico, no solo por la riqueza de los componentes de origen natural, sino por la gran diversidad de los diferentes niveles de organización biológica, en los diferentes procesos, en la complejidad de interacciones y el número de niveles tróficos (Torsvik y Oreas, 2002).

La complejidad del sistema del suelo es determinado por los numerosos factores y diversas interacciones físicas, químicas, los componentes biológicos, así como los regulados por las condiciones ambientales (Buscot, *et al.*, 2005).

La diversidad puede ser también considerada por la cantidad y distribución de información, el cual directamente es aplicable para la diversidad genética total o complejidad en una comunidad.

La población que habita en el suelo incluye la macrofauna, mesofauna, microfauna y microflora. Sin embargo, las reacciones mediadas por la microflora (microbios) están a cargo del 80-90%, siendo estas las que se encarguen principalmente de la funcionalidad del suelo y de los procesos que hay en él; siendo las bacterias y hongos los más versátiles que pueden llegar a realizar todas las reacciones biológicas conocidas (Nannipieri, *et al.*, 2003).

Para entender mejor las relaciones complejas entre la diversidad microbiana y la funcionalidad del suelo se debe considerar, según Nannipieri, la complejidad del suelo como todo un sistema biológico (dificultad de medir la diversidad microbiana), las funciones específicas en el suelo y considerar las relaciones entre la diversidad y funciones del suelo.

El suelo como es un complejo microhabitat con distintas propiedades. La población microbiana del suelo es muy diversa. Según, Torskvik (1996) calculó el suelo puede albergar hasta 10 billones de microorganismos con más de 6000 diferentes especies de bacterias por gramo de suelo. El suelo es un sistema discontinuo y heterogéneo, generalmente pobre en nutrientes y fuentes de energía, comparado con la concentración óptima de nutrientes para desarrollo microbiano *in vitro*.

La población microbiana del suelo está involucrada en el sistema de las interacciones conocidas que afectan el estado de las plantas y la calidad del suelo. Estos están involucrados en actividades fundamentales que aseguran la estabilidad y la productividad del sistema agrícola y los ecosistemas naturales (Barea, *et al.*, 2005).

En particular, la variedad genética y las actividades funcionales de las poblaciones microbianas tienen un impacto crítico en las funciones del suelo, esto está basado en el hecho que los microorganismos son las fuerzas motrices de los procesos metabólicos fundamentales donde participan sus enzimas específicas. Muchas de las interacciones microbianas son reguladas por señales moleculares específicas (Pace, 1997), las cuales son responsables de los procesos ambientales claves, como el ciclo biogeoquímico de los nutrientes y materia, el mantenimiento de la salud de las plantas y la calidad del suelo (Barea, *et al.*, 2004).

La actividad microbiana en la rizósfera afecta los patrones radiculares y suministra los nutrientes disponibles a las plantas, así modificando la calidad y cuantificación de los exudados radiculares. Se puede reconocer dos tipos de interacciones en las rizósferas, estas están basadas en el material de la planta al morir (interacción basado en el detritus), el cual afecta el flujo de la energía y de los nutrientes; y la otra basada en las raíces de las plantas vivas.

Estos dos tipos de interacciones son importantes tanto para la agronomía y la ecología (Gryndler, 2000). Morgan (2005) cita a Hiltner, quien en 1904 fue el que introdujo por primera vez el término rizósfera, este derivaba de la palabra griega "rhiza", que significa raíz, y "sphere" significa el campo de influencia. El definió la rizósfera como la zona del suelo que estaba más adyacente de las raíces de las legumbres; esta zona contiene los niveles más altos de la actividad bacteriana. Sin embargo, recientemente este término ha sido ampliado para incluir el volumen del suelo influenciado por la raíces de las plantas vivas; y el tejido de la raíz colonizado por los microorganismos (Pinton, *et al.*, 2001).

Actualmente, se considera que la rizósfera tiene tres componentes separados, pero en interacción. La rizósfera (suelo), el rizoplano y la raíz misma. La rizósfera es la zona del suelo cercana a las raíces, donde estas liberan sus sustratos que afectan la actividad microbiana. El rizoplano es la superficie radicular, a esta zona también se incluye las partículas del suelo que se adhieren a la raíz. La raíz en sí misma es una parte de la rizósfera, debido a que ciertos microorganismos llamados endófitos colonizan el tejido radicular. La colonización radicular, mientras la colonización en el volumen cercano adyacente del suelo se denomina colonización rizosférica (Kloepper, *et al.*, 1991).

Este tipo de interacción entre las bacterias y hongos y las raíces de las plantas puede ser beneficiosa, así como es considerada la rizósfera, como una zona de amortiguamiento microbiológico en donde la microflora sirve de protección a la planta de la infección de patógenos (Krupa y Dommergue, 1981), existe también la interacción neutral o perjudicial para las plantas, esto se debe en algunos casos por el efecto particular de las condiciones del suelo que favorece la propagación de microorganismos patógenos (Lynch, 1990).

4.4.1 Rizobacterias promotoras de crecimiento de las plantas (PGPR)

Kloepper y Schroth (1978) definieron como PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria o rizobacteria promotora del crecimiento vegetal) a aquellas bacterias, de vida libre o simbiótica, que resultan ser altamente eficientes en el incremento del crecimiento de las plantas y en su tolerancia ante otros microorganismos patógenos.

Años después Kloepper (1993) delimitó las características de este grupo. En primer lugar debe haber una alta densidad poblacional en la rizósfera. En segundo lugar, deben poseer capacidad de colonización efectiva en la superficie de la raíz y, como consecuencia, influir positivamente en el crecimiento de la planta. Por último, deben ser inocuas para el hombre, pero capaces de controlar de manera natural y eficiente, a otros microorganismos del suelo que puedan ocasionar daños o enfermedades a las plantas.

Las PGPR pueden incrementar la germinación, mejorar la colonización de raíces, estimular el crecimiento de las plantas, realizar actividades de control biológico, inducción de resistencia a patógenos, producción de fitohormonas y mejoramiento en la asimilación de agua y nutrientes (Essaid, *et al.*, 2000).

Glick (2007) propone dos tipos de mecanismos PGPR; los mecanismos indirectos, donde se incluye la prevención de la infección por parte de microorganismos fitopatógenos, permitiendo el buen desarrollo de las plantas y los mecanismos directos que incluyen la producción de fitohormonas, la producción de sideróforos, solubilización de fosfato y fijación biológica de nitrógeno. Además ocurre el efecto rizosférico durante la germinación y crecimiento de la plántula que interacciona con un rango de microorganismos presentes alrededor del suelo. Mientras las semillas germinan y va creciendo la raíz a través del suelo; se da la emisión de material orgánico, esto provee a la plántula con la fuerza motriz para el

desarrollo de la actividad microbiana en población, tanto dentro de la zona que incluye la raíz y suelo cercano.

En recientes investigaciones se está demostrando la sinergia en el uso combinado de bacterias promotoras de crecimiento y micorrizas arbusculares. Las bacterias promotoras de crecimiento incrementan la colonización de las raíces por hongos micorrícicos, y éstos incrementan el número de bacterias en la rizósfera. Estas bacterias cohabitan con los hongos micorrícicos, jugando un rol importante en la interacción hongo-planta y promoviendo el crecimiento (Fester, *et al.*, 1999). Además, estas bacterias son capaces de promover la germinación de esporas micorrícicas, aumentar el crecimiento del micelio y la producción de esporas micorrícicas (Luiz, *et al.*, 2007).

a. Bacillus

El género *Bacillus* agrupa especies anaerobias facultativas u obligadas, catalasa positiva y formadora de endosporas. Según Garbeva, *et al.*, 2003; el 95% de bacterias Gram positivas del suelo sometidas a diferentes tipos de régimen de manejo fueron especies de *Bacillus sp.*; *B. mycoides*, *B. megaterium*, *B. thuringiensis* y *B. firmus*. Las especies de *Bacillus* se han reportado como promotoras de crecimiento en un número amplio de plantas (Kokalis-Burelle *et al.* 2002); además este género es muy efectivo en el control biológico de nemátodos como *Meloidogyne*, *Heterodera* y *Rotylenchulus*. (Gokta y Swarup, 1988; Kloeppe, *et al.*, 1992; Siddiqui y Mahmood, 1999).

Chahal y Chahal (1993) y Zukerman, *et al.*, 1993; demostraron que el *B.thuringiensis* suprime la población de *M. Jamaica* y *M. incógnita*. Ismail y Fadel (1999), evaluaron tres aislamientos de *B.thuringiensis*, ellos encontraron que existe una relación positiva en la reducción del porcentaje de la población de nemátodos y la dosis bacteriana. También se determinó que la movilidad del *M. incognita*, en estadio juvenil, cesó al agregarle las diluciones del *Bacillus spp.* después de 24 horas.

En el 2005 Nagesh, *et al.* confirmaron la importancia del genero *Bacillus*; sus resultados indican que el *B.cereus* reduce en 90% la eclosión de los huevos de nemátodos, causando la mortalidad de juveniles en 100%. Estos resultados coinciden con el de Mekete, *et al.*, 2009, que en sus ensayo *in vivo* con *B. pumilis* y *B. mycoides* reportó la reducción del número de

agallas y masas de huevos en 33 % y 99 % respectivamente en las raíces infectadas por *M. incognita*.

b. *Pseudomonas*

Pertenece a la familia Pseudomonadaceae, son bacilos gramnegativos, no esporulados y móviles; encontrándose especies fluorescentes y no fluorescentes que pueden resultar beneficiosas o patógenas a plantas o animales. Dentro de los mecanismos beneficiosos para la plantas se destacan el aumento de la toma de agua y nutrientes por la planta, la producción de fitohormonas, biocontrol de patógenos (Fernández, *et al.*, 1998; Hernández, *et al.*, 1998).

Se ha demostrado el efecto antagónico como controlador biológico de nemátodos en plantas (Giannakou *et al* 2004) y su la capacidad PGPRs de *Pseudomonas aeruginosa* y otras, como *Pseudomonas spp* (Siddiqui, *et al.*, 2000). La producción de compuestos en las *Pseudomonas* como antibióticos, quelantes de hierro y de cianuro de hidrogeno están implicados en la reducción de los daños por parte de los patógenos que se desarrollan en la rizósfera de la planta; además crean un ambiente más favorable para el desarrollo radicular (Siddiqui, 2006).

Pseudomona fluorescens es un fitoparásito de nemátodos que reduce la formación de nódulos cuando se inocula las plantas antes del ingreso del nemátodo a la raíz (Hanna 1999); pero Siddiqui y Shaukat (2002) notaron que *Pseudomona fluorescens* y *Pseudomona aeruginosa* reducían la penetración de juveniles de *Meloidogyne javanica* dentro de las raíces de tomate.

c. Diazótrofos de vida libre

La fijación biológica del nitrógeno es efectuada tanto por microorganismos simbioses del grupo de los rizobios, como por bacterias de vida libre. Las bacterias aerobias de vida libre fijadoras de N₂ más conocidas se encuentran formando parte de las familias Azotobacteriaceae, Spirillaceae y Bacillaceae. Estas bacterias utilizan pocos compuestos nitrogenados como: N₂, amonio, nitrato, nitrito, urea y ocasionalmente alguna molécula con nitrógeno orgánico (Alexander, 1994).

La aplicación de los diazótrofos en los cultivos ha sido positiva, dando notables incrementos en la producción y en el rendimiento, principalmente en los cereales. Estos resultados no solo se debe exclusivamente a la ganancia de N₂ por las plantas, ya que también estos

microorganismos, en determinadas condiciones tiene la capacidad de solubilizar fosfatos y sintetizar sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal, tales como vitaminas y hormonas vegetales que intervienen directamente en el desarrollo de las plantas (De Troch, 1993; Martínez, *et al.*, 1997; Itzigsohn, *et al.*, 2000).

d. Actinomicetos

Los actinomicetos constituyen un grupo de bacterias Gram positivas con alto contenido de GC (guanina y citosina) y se caracterizan por su capacidad de formar filamentos ramificados. El orden de los Actinomycetales comprende 63 géneros constituyendo, aproximadamente el 20-60% de la población microbiana del suelo (Ezziyani, *et al.*, 2004).

Estos microorganismos son principalmente aerobios, aunque algunos géneros son facultativos o anaerobios obligados. Representan un grupo diverso metabólicamente pudiendo ser autotrófico, heterotróficos, quimiotróficos o fototróficos (Kennedy, 1999).

Los actinomicetos son microorganismos muy ubicuos que se encuentran en la gran mayoría de sustratos naturales. En el suelo se encuentran en casi todos los tipos y el tamaño de la comunidad depende del tipo del suelo, particularmente de algunas características del suelo, el contenido de la materia orgánica y del pH del medio ambiente (Tate, 2000).

Ciertas actividades realizadas por los actinomicetos como PGPR, además dentro de sus características particulares presentan un olor típico a suelo húmedo por la producción de un metabolito llamado geosmina. Adicionalmente presentan una actividad metabólica alta, producen terpenoides, pigmentos y enzimas extracelulares con las que son capaces de degradar la materia orgánica de origen vegetal y animal (Ezziyani, *et al.*, 2004).

Son llamados agentes de biocontrol por la capacidad de producir enzimas biodegradativas como quitinasas, glucanasas, peroxidasas y otras, involucradas en el papel del micoparasitismo que llevan a cabo estos microorganismos (Franco-Correa, 1999; Tokala, *et al.*, 2002; Márquez, *et al.*, 2003). Asimismo, producen compuestos bioactivos con actividad antagonista contra microorganismos patógenos, siendo los principales productores de antibióticos. También se han reportado que las bacterias de este género muestran efectos antagónicos contra nemátodos (Tain, *et al.*, 2007).

Los *Streptomyces spp.* son el mayor grupo dentro de los actinomicetos, éstos tienen una actividad antagonista contra nemátodos parásitos en plantas, debido a la producción de metabolitos nematocidas (Pornthip, *et al.*, 2011). Faske y Starr (2006) demostraron que la abamectin, exudados fermentado de *Streptomyces avermitilis*; tenía un alto porcentaje (97%) de actividad nematocida.

4.4.2 Hongos micorrícicos

Las micorrizas son asociaciones simbióticas mutualistas entre ciertos hongos del suelo y la mayoría de plantas existentes en la naturaleza.

El 80-90 % de las familias botánicas forman esta asociación simbiótica (Smith y Read 1997). La palabra micorrizas deriva de la palabra griega “Mycos”, que significa hongo y “rhiza”, que significa raíz. Existen dos grupos de hongos formadores de micorrizas, las Ectomicorrizas que predominan en asociaciones en árboles forestales, donde el hongo se desarrolla por fuera de las células de la raíz; mientras las Endomicorrizas, que incluyen las Orchid, Ericoid y las Micorrizas arbusculares (MA), gran parte de sus hifas se desarrollan dentro de las células de las raíces del hospedero, por ello son microscópicas a diferencia de otras micorrizas. Los hongos que forman micorrizas arbusculares (AM) pertenecen al Phylum Monofilogenético Glomeromycota (Shubler, *et al.*, 2001), son probablemente la simbiosis terrestre más distribuida (Parniske, *et al.*, 2008).

Los hongos micorrícicos son organismos biotrófos obligados para completar su ciclo de vida para ello necesitan colonizar una planta hospedadora y establecer la simbiosis (González 2005). Este tipo de asociación ayuda a absorber nutrientes minerales del suelo a la planta mientras a cambio la planta le cede al hongo carbohidratos derivados de la fotosíntesis. Sin embargo, el papel de las micorrizas no solo se limita a mejorar la nutrición mineral de las plantas, sino que también contribuyen a la protección de las mismas frente a patógenos del suelo y a una mayor tolerancia frente al estrés abiótico (Van, *et al.*, 2001; Azcón-Aguilar, *et al.*, 2002; Ruiz-Lozano, *et al.*, 2003).

4.4.3 Desarrollo de los hongos micorrícicos

a. Fase Presimbiótica

Ocurre la germinación de las esporas con la retracción del núcleo y citoplasma dentro de las esporas de los hongos AM. Esta fase se caracteriza por las exploraciones de las hifas germinadas, donde el desarrollo de estas depende de las señales derivadas de los exudados de la raíz de la planta. En los últimos años se está estudiando las estrigolactonas (hormona endógena de la planta) inductor al estado pre-simbiótico, el cual se caracteriza por el crecimiento, ramificación y el incremento de la actividad fisiológica mitocondrial de las hifas hongo. Además la gradiente de concentración de la estrigolactona indica la proximidad de la hifa del hongo a la raíz de la planta (Besserer, *et al.*, 2006). Por otro lado los hongos presentan moléculas de señalización que inducen la activación transcripcional de los genes relativos a la simbiosis, a estos factores en conjunto se le denomina "Myc factores".

b. Fase de señalización molecular de hongos y receptores de plantas

En esta fase ocurre la identificación molecular de la señalización molecular que induce las respuestas específicas de la simbiosis dentro de la raíz del hospedero. Estas moléculas son llamadas factores "Myc" los cuales también estimulan el metabolismo y promueven la propagación de los hongos dentro de la raíz. (Parniske, *et al.*, 2008).

c. Fase del aparato de penetración

En esta etapa luego que las esporas germinan dependiendo de las condiciones ambientales favorables de temperatura y humedad (Giovannetti, *et al.*, 2002) y tras la emisión del tubo germinal el micelio del hongo crece hasta encontrar una raíz hospedadora, donde forma una estructura en forma de apresorio que debe penetrar la epidermis para iniciar la colonización del tejido parenquimático de la raíz (Barea, *et al.*, 2005); al penetrar las células de la corteza van formando unas estructuras en forma de árboles pequeños dentro de las células radiculares vegetales (Arbúsculos), en donde ocurre el transporte de nutrientes.

Por ello una evidencia del desarrollo de la simbiosis es la formación de los arbúsculos. Además algunas especies de estos hongos forman otras estructuras en el interior de la raíz llamadas vesículas, que contienen sustancias de reserva (Franco-Correa 2008).

En resumen, de acuerdo con la información reciente revisada (Runjin, *et al.*, 2011; Saddiqui, *et al.*, 2009; Hassan, *et al.*, 2009; Miranda, *et al.*, 2011; Parniske 2008; Xiurong, *et al.*, 2011; Cristóbal, *et al.*, 2010) las endomicorrizas les proveen a la planta lo siguiente:

- Mejoran el enraizamiento de las plantas, aumentando la actividad en la producción de hormonas, vitaminas y otras sustancias fitoactivas.
- Incrementan el suministro de nutrientes a las plantas, efecto que proviene del protagonismo de los hongos micorrícicos en los ciclos biogeoquímicos de los nutrientes en el sistema suelo-planta.
- Mejoran la estructura del suelo, como consecuencia de la contribución de las micorrizas en la formación de agregados estables en el suelo.
- Protegen a la planta frente a patógenos, ya que induce la respuesta específica de defensa, incrementando la resistencia a patógenos y contribuyendo a los procesos de control biológico de patógenos. Los hongos micorrícicos producen metabolitos secundarios con actividad nematostática, asu vez estos hongos colonizan las raíces ocupando los sitios de entrada protegiendo así a la planta ante la infestación de nemátodos.
- Incrementan la tolerancia a la salinidad, sequias, estados de deficiencia en nutrientes, exceso de metales pesados, degradación del suelo, entre otros.

Existen varios mecanismos ligados a la colonización de las raíces por hongos MA que están implicados en el control de síntomas ligados a enfermedades y en el control de la proliferación intraradical de fitopatógenos del suelo. La micorrizosfera (zona de suelo con características especiales de vida a la influencia de la asociación hongos/planta) es un entorno propicio para el desarrollo de microorganismos antagónicos a la proliferación de patógenos.

Existen investigaciones que indican que la interacción combinada entre hongos micorrícicos y bacterias que pueden aumentar el crecimiento de la planta e incrementan el área superficialde la raíz, favoreciendo de esta manera el acceso a nutrientes de la planta hospedera de estos

hongos. La zona donde solo es afectado por hongos AM es llamada micorrizosfera (Praveen, *et al.*, 2012).

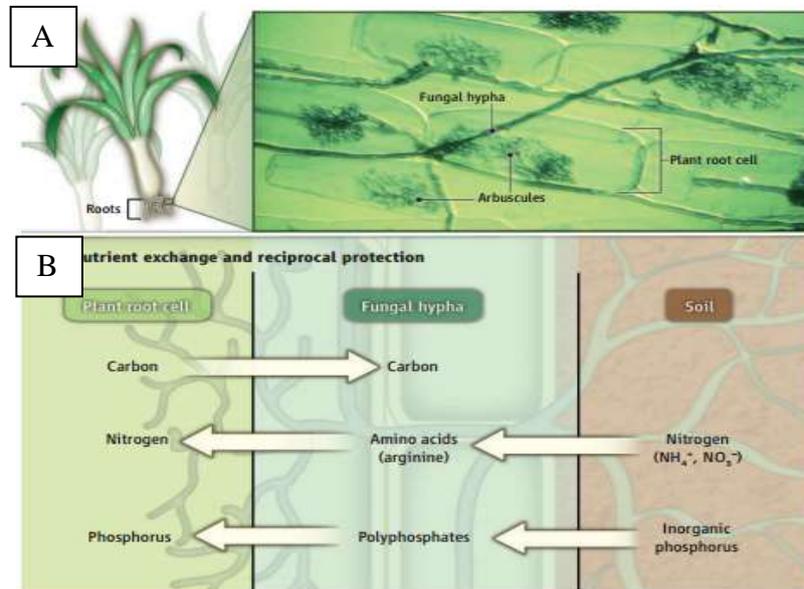


Figura 3. (A) Arbúsculos de las micorrizas dentro de las células de la raíz, donde ocurre el intercambio de nutrientes. (B) Los beneficios de la simbiosis son el intercambio recíproco de nutrientes y la protección contra el estrés abiótico y biótico del suelo.

Esta simbiosis es un gran componente de la biomasa microbiana del suelo, estos forman redes extensivas de micelios dentro de la matriz e hifas constituyendo sitios importantes para las interacciones con otros microorganismos nativos (propios) del suelo. La red extraradical de los hongos micorrícicos, como se observa en la figura 3; estaría involucrada fuertemente en la estimulación benéfica a los microorganismos (Lioussanne 2010).

La capacidad del MA del hongo para controlar los síntomas de la enfermedad y la proliferación intraradical y rizosférica de patógenos del suelo es compleja y podría estar influenciado por varios mecanismos actuando en sinergia uno con otros. Entre estos mecanismos, la capacidad de los hongos micorrícicos de la red extraradical podría estimular en su crecimiento benéficamente a los microorganismos (Lioussanne 2010).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Lugar de ejecución

- Invernadero del Departamento de Fitopatología- UNALM
- Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología Marino Tabusso- UNALM.
- Laboratorio de Nematología- CINAC-UNALM.

5.2 Materiales

5.2.1 Materiales biológicos

a. Material Vegetal

Semillas de *Physalis peruviana* obtenidas de la empresa Ecoandino S.A.C.

b. Cepas Bacterianas

Las cepas de *Bacillus* (Bac 15Mb) y la cepa diazótropa de vida libre (Azo 16M2) provienen de aislamiento de la rizósfera de papa, la cepa de *Pseudomonas* (Ps 42) y actinomicetos (Act 12) fueron aisladas de la rizósfera de maca y también se utilizaron cepas aisladas de rizósfera de aguaymanto como el *Bacillus* (BA14), una cepa de diazótrofo (DA30), una cepa de *Pseudomonas* (PA22) y una cepa de actinomicetos (Aa 25). Estas cepas PGPRs forman parte del banco del laboratorio Marino Tabusso.

c. Hongos micorrícicos

Se obtuvo esporas de endomicorrizas del cultivo de aguaymanto de la UNALM. Se tomaron 3 muestras de la rizosfera del suelo de cada planta, a una profundidad aproximada de 15 centímetros.

Luego que se propagaron estos hongos en las plantas trampas de trébol durante dos meses, y se utilizó el sustrato como inóculo de endomicorrizas para el ensayo en invernadero en aguaymanto.

d. Nemátodo

Los nemátodos de la especie *M. incognita* se extrajeron de las plantas huéspedes de tomate del laboratorio de nematología de la UNALM.

5.2.2 Medios de cultivo, materiales y equipos de laboratorio

a. Medios de Cultivo

- Medio de Plate Count, para realizar el recuento de los inóculos bacterianos. (APHA, 1998).
- Agar almidón-Caseína, para el crecimiento de los Actinos (APHA AWWA WPCF-1998).
- Agar Glucosa Triptona.
- Agar Nutritivo.
- Agar.

b. Soluciones y reactivos

- Buffer pH 4 y 7.
- Solución salina al 0.85%.
- Solución de NaOH 0.1M.
- Solución de HCl 0.1 M.
- Reactivo de Salkowski.
- Alcochol al 70%
- Cloramina T al 0.2%.
- Cefalexina.
- Twen 80.
- Azul de bromofenol.

- Glicerol.

Materiales y equipos

- Macetas de arcilla de 4 Kg de capacidad.
- Regadera.
- Suelo esterilizado.
- Hipoclorito de sodio al 5%.
- Marcadores.
- Bandejas.
- Bolsas plásticas y de papel.
- Pipetas.
- Pabilo.
- Etiquetas.
- Beakers de 1000 ml.
- Estereomicroscopio.
- Estufa
- Bandejas
- Bomba de aire tipo pecera.
- Placas de contaje.
- Picetas.
- Hipoclorito al 0.5 y 1 %.
- Colorante Fucsina de lactofenol.
- Colorante Azul de tripan.
- Papel filtro rápido.
- Botellas de vidrio de 250 ml.
- Azúcar.
- Tubos de centrifuga de 100 ml.
- Ácido clorhídrico 10 %.
- Hidróxido de potasio 10%.
- Placas petri 90 mm.
- Agitador mecánico orbital (MRC).

- Autoclave horizontal (Barnstead).
- Baguetas.
- Balanza analítica (Sartorius).
- Tamices de 500 μm , 300 μm , 275 μm , 125 μm , 45 μm y 38 μm .
- Cámara fotográfica digital (Sony CyberShot).
- Estereoscopio Leica.
- Espectrofotómetro (Genesys 6 – Thermo Electron Corp).
- Estufa eléctrica de 28°C.
- Horno de secado.
- Horno microondas (Sharp).
- Matraces Erlenmeyer de 500 ml.
- Fiolas de 100 ml, 250 ml y 500 ml.
- Mechero de Bunsen.
- Microscopio compuesto de 400X
- Pipetas graduadas de 1 ml, 5 ml y 10 ml.
- Pinzas de metal.
- Probetas de 50 ml, 100ml y 1000 ml.
- Refrigeradora (Bosch).
- Vasos de plástico 4 onz.
- Vortex (Gemmy UM-300).

5.3 Métodos

5.3.1 Estudio con hongos endomicorrícicos

a. Porcentaje de colonización de endomicorrizas en raíces

Para determinar el establecimiento de la simbiosis y su capacidad infectiva de las endomicorrizas, se realizó la tinción de raíces según la técnica modificada de Phillips y Hayman, 1970.

Para ello se lavaron las raíces y se cortaron en pedazos de 1cm de largo aproximadamente y se colocaron en los tubos de ensayo, después se agregó KOH al 10% hasta que cubriendo las raíces dentro del tubo. Seguidamente se colocó en baño María a una temperatura de 65°C por una hora media. Transcurrido este tiempo se elimina la solución básica y se enjuaga con agua destilada repetidas veces hasta que se eliminó la coloración amarillenta.

Luego, se añade una solución de HCl al 10% durante 20 minutos a temperatura ambiental, en esta etapa no se debe enjuagar las raíces, solo se decantó el ácido y, posteriormente se añadió azul de tripan al 0.05 %, dejándolo por 15 minutos en baño María a 65°C. Finalizado el tiempo de tinción se agregó las raíces en lactoglicerol 1:1 retirandose el exceso de colorante. Se dejó reposar por 7 días. Esta metodología sirvió para determinar el % de infección en raíces de aguaymanto y trébol.

Observación microscópica

Una vez teñidas las raíces, se dispersaron al azar en un diámetro de placa Petri de 9 cm, esta placa tuvo cuadrículas de 1 cm como se observa en la figura 4. Luego se montan las raíces y se agregaron gotas de lactoglicerol para la decolorar un poco y asu ves para conservar las raíces teñidas.

Las observaciones y conteos se realizaron con un lente objetivo de 4x del estereoscopio (LEICA DM750) y se contaron los campos colonizados. Para determinar el porcentaje de colonización de los hongos endomicorrícicos, se debe considerar como campo positivo las estructuras típicas de estos hongos, las cuales están formada por hifas, vesículas y arbusculos (Brundrett, *et al.*, 1996).

Para las una mejor observación de éstas las formaciones características de las endomicorizas, se colocaron las raíces en porta objetos colocándolos en un microscopio compuesto con a un lente objetivo de 10X y en algunos casos 40X para mejor observación de las estructuras.

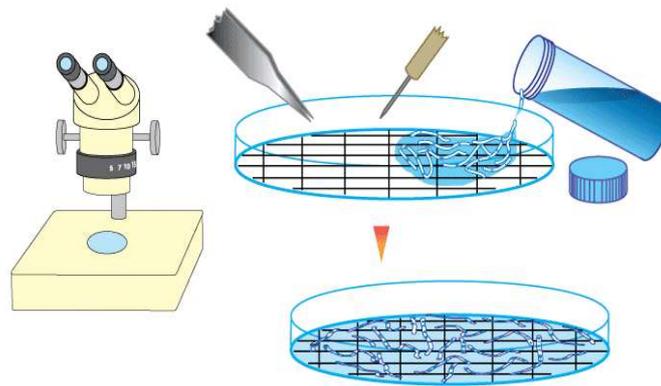


Figura 4. Diagrama de dispersión al azar de las raíces teñidas. (Brundrett et al. 1995).

Cálculo del porcentaje de colonización

Como se observa en la figura 5 se contabilizó el total de segmentos de las raíces que interseccionaron con las líneas de las cuadrículas (NTSO) en la placa Petri; luego se contaron los segmentos colonizados con micorrizas en cada intersección con las líneas horizontales y verticales de las cuadrículas. Después se sumaron todos estos segmentos colonizados (NSC). Por último, se dividió la suma total de segmentos colonizados intersectados con las cuadrículas sobre la suma total de todas las intersecciones de la raíz con las cuadrículas de la placa Petri.

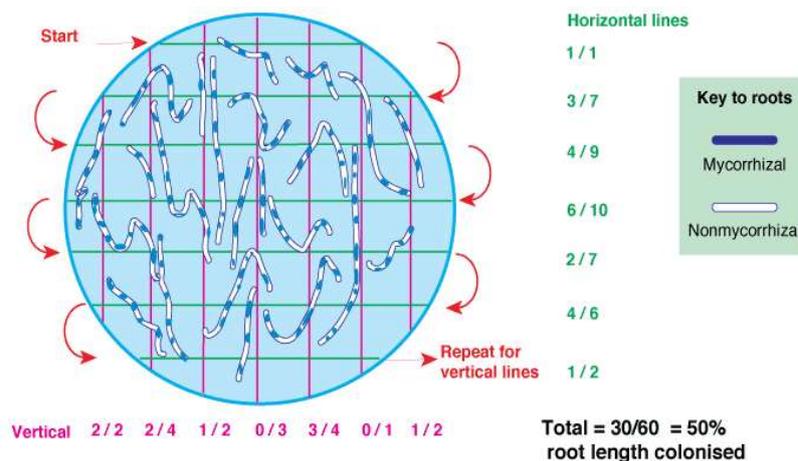


Figura 5. Método de la cuadrícula para determinar el porcentaje de colonización

Se calculó el porcentaje de colonización micorrícica (% CM) usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{colonización micorrícica} = \% \text{ CM} = \text{NSC} / \text{NTSO} \times 100$$

Donde:

NSC = Número de segmentos colonizados

NTSO = Número total de segmentos observados

Análisis estadístico del porcentaje del porcentaje Raíz Colonizada

Los datos del % colonización fueron analizados con el software estadístico STATGRAPHICS centurión, para ello se agruparon teniendo en cuenta el tipo de inóculo usado en la investigación. Estos datos fueron sometidos a un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA), siendo los tratamientos con diferencias significativas comparadas según la prueba de Duncan.

b. Extracción de esporas de hongos endomicorrícicos

Para la extracción y colección de esporas micorrícicas, a partir de las muestras de suelo, se utilizó el método del tamizado y centrifugación. Se pesaron 100 g de suelo dentro de botellas de 750 ml, a los cuales se agregaron 500 ml de agua. Luego se agitó las botellas vigorosamente para dejarlos en reposo por 3 minutos. Una vez que las estaban en suspensión se tamizaron a través de un conjunto de tamices de 275 μm , 125 μm y 45 μm . Se recolectaron las esporas de los dos últimos tamices como en la figura 6. Después se realizó una purificación para separar las esporas de las partículas orgánicas mediante una centrifugación de 2 000 rpm con solución de sacarosa al 50% durante un minuto, se filtró el sobrenadante en papel filtro, el cual permitió retener las esporas. Por último, con ayuda de un pincel y pinza fina se recolectaron las esporas. (Sieverding, 1983; Brundrett, *et al.*, 1996; Tommerup 1988).

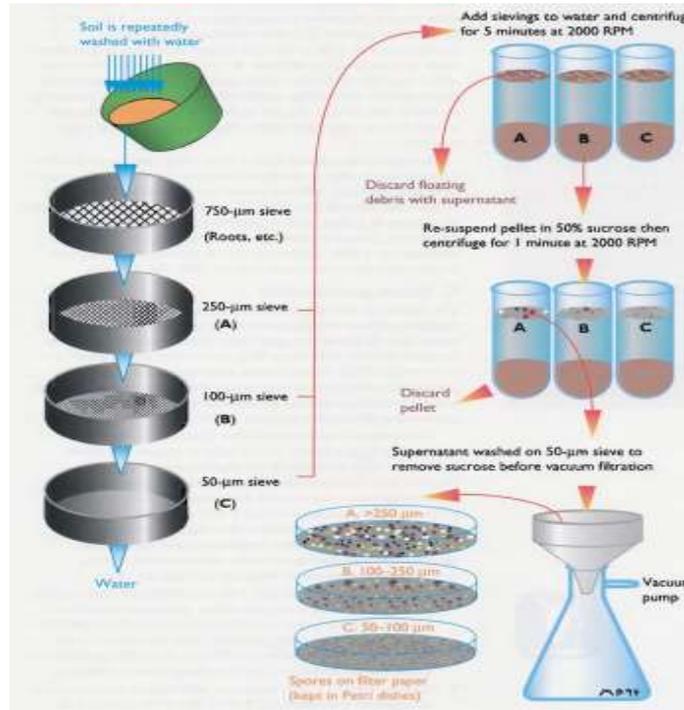


Figura 6. Separación de las esporas de hongos del suelo mediante centrifugación húmeda y 50 % de sacarosa. (Brundrett, *et al.*, 1995).

c. Desinfección de esporas micorrícicas

Las esporas aisladas de la rizósfera de aguaymanto se esterilizaron mediante la técnica modificada de Utobo (2011). Este método consiste en sumergir por 10 minutos las esporas aisladas en una solución de 0.02% de estreptomycin y 2% de cloramina T. Por último las esporas desinfectadas se guardaron en solución Ringer a 4°C.

d. Propagación de esporas de hongos endomicorrícicos en plantas trampas de trébol

Para ello se tomaron muestras de suelo de rizósfera en campos de aguaymanto cultivados en la Universidad Nacional Agraria La Molina. Luego se aislaron y caracterización las esporas de hongos micorrícicos nativos usándose los métodos explicados anteriormente. Para la propagación se utilizaron plantas trampas de trébol (*Trifolium sp.*) a las cuales se le realizaron ensayos para determinar el mejor tratamiento para que la planta logre el mayor porcentaje de colonización radicular por hongos micorrícicos (%CM).

Se tuvieron 5 tratamientos: Macetas con plántulas de trébol sin esporas, regadas con solución nutritiva (CONTROL N+); Macetas con plántulas de trébol a las que se inoculó con 300 esporas nativas extraídas del cultivo aguaymanto, regadas con solución Long Ashton (MDA); macetas con plántulas de trébol a las que se inoculó con 300 esporas nativas extraídas del cultivo aguaymanto, regadas con solución nutritiva (MDN); Macetas con plántulas de trébol las que se inoculó con 300 esporas nativas extraídas del cultivo aguaymanto sin desinfectar regadas con solución Long Ashton (MSA) y macetas con plántulas de trébol a las que se inoculó con 300 esporas nativas extraídas del cultivo aguaymanto, sin desinfectar y regadas con solución nutritiva (MSN).

Luego del éste ensayo se seleccionó el mejor tratamiento para la propagación de esporas endomicorrícicas en plantas trampa de trébol, las cuales se mantuvieron *in vitro* durante dos meses obteniendo como resultado una mayor producción del inóculo del hongo.

e. Inoculación con hongos endomicorrícicos a las plantas de aguaymanto a nivel de invernadero

Se utilizó una almaciguera estéril colocando como sustrato 20 % de suelo estéril, 20% de arena estéril, 20 % de compost estéril y se mezcló en condiciones asépticas con el 40% del suelo con esporas endomicorrícicas de las plantas trampa de trébol. Se desinfectaron las semillas de aguaymanto según CIAT, 1986. Con ayuda de una pinza se colocaron 4 semillas equidistantes a una profundidad de 0.5 cm en cada recipiente. Se dejaron crecer las plántulas de aguaymanto hasta una altura de 7 cm a nivel *in vitro*.

5.3.2 Estudio de bacterias promotoras de crecimiento (PGPRs)

a. Preparación del inóculo bacteriano

Se reactivaron las cepas como Ps42 emparentada con *Pseudomonas reinekei* MT1T y *Pseudomonas vancouverensis* DhA-51T, Act 12 (*Streptomyces* sp.), Azo16M2 (*Rahnella* sp.), Bac15Mb (*Bacillus* sp.); y otras cepas bacterianas aisladas de la rizósfera de aguaymanto (Bac 14, DA30, PA22 y Aa25).

Para la reactivación se utilizaron placas Petri con agar nutritivo (Urrea, 2011) y luego se incubaron a 28°C por 24 horas las cepas pertenecientes al género *Bacillus*, *Pseudomonas* y diazótrofos; y los actinomicetos hasta por cinco días hasta el desarrollo óptimo de las colonias.

b .Efecto de la germinación en semillas de aguaymanto inoculadas con PGPRs

Para el ensayo de germinación se desinfectaron las semillas de aguaymanto con alcohol al 70%, seguidamente se enjuagaron las semillas seis veces con abundante agua estéril, posteriormente se incorporó lejía al 3% por espacio de 3 minutos, finalmente se enjuagó con agua estéril (CIAT, 1986).

Se sembraron las cepas en los medios de cultivo seleccionados y se incubaron a 28°C hasta que alcance una densidad de 10^8 UFC/ml. Posteriormente, se embebieron las semillas estériles con las suspensiones microbianas por un periodo de 30 minutos (Ogata y Zúñiga, 2008). Finalmente, las semillas inoculadas se colocaron en placas petri con papel toalla húmeda, bajo oscuridad a 20 ± 2 °C durante 10 días, los resultados se presentan en porcentaje de germinación. Por último se evaluaron las cepas de microorganismo que tienen influencia sobre la germinación in vitro.

c. Efecto en la emergencia de plántulas inoculadas de aguaymanto

Se inocularon semillas de aguaymanto, con una suspensión densa de 10^8 UCF/ml durante un periodo de 30 minutos. Se utilizó como sustrato arena estéril. Se dispuso la arena en vasos de plástico estériles y se colocaron 5 semillas inoculadas a una profundidad de 0.5 cm. Seguidamente se agregaron 20 ml agua estéril para humedecer el sustrato. El diseño utilizado fue completamente al azar (DCA) con 9 tratamientos; 8 cepas (Bac 15Mb, Bac 14, Azo16M2, DA30, Ps42, PA22, Act 12, Aa25 y un control sin inocular; con 5 repeticiones). Se mantuvieron a 24 °C con 10 horas de luz y 14 de oscuridad. Se evaluó la altura de las plántulas.

5.3.3 Estudio con *Meloidogyne incognita*

a. Extracción de huevos de *M. incognita*

Se utilizaron tomates cuyas raíces infestadas con este nemátodo, provinieron del invernadero del Laboratorio de Nematología. La extracción de huevos del nemátodo de las raíces se empleó el método del hipoclorito de sodio, propuesto por Hussey y Barker (1973).

Para ello se lavaron una por una las raíces de cada planta de tomate en un recipiente con agua, teniendo cuidado de no perder las masas de huevos adheridos a ellas. Luego se cortaron las raíces en pequeños pedazos menores de ½ cm, los cuales fueron colocados en botellas de vidrio con tapa conteniendo en suspensión hipoclorito de sodio al 0.5%.

Las botellas herméticamente cerradas se agitaron vigorosamente por tres minutos con el objetivo de disolver las masas de huevos, luego, el contenido fue vertido a través de dos tamices unidos uno sobre otro. El tamiz de 150 µm se separó los restos gruesos de raíces y el tamiz de 38 µm, sirvió para recuperar los huevos de *M. incognita* con la ayuda de una piceta con abundante agua para remover el exceso de hipoclorito de sodio y reducir los posibles daños a los huevos. Finalmente los huevos de estos nemátodos fueron colectados del tamiz de 38 µm en un beaker hasta completar 100 ml de agua para luego determinar la concentración de la suspensión. Por último se realizó un conteo del número de huevos por mililitro de suspensión, para ello se utilizó un estereoscopio.

b. Obtención de estadios juveniles de *Meloidogyne incognita*

Se usó el método de bandeja, para lo cual se extrajo el suelo de cada maceta y se colocaron sobre una bandeja de plástico, la cual estaba con malla y cubierta con papel toalla. Sobre esta bandeja se colocó 25 cc de suelo y se adicionó agua hasta hacer contacto con el suelo. Pasadas las 48 horas, se recogió la muestra con ayuda de una piceta y se pasó a una placa para su conteo (Canto, 1985).

c. Inoculación

Se realizó dos hoyos alrededor del cuello del tallo de la planta y con ayuda de una pipeta se inoculó una alícuota con huevos del nemátodo de *M. incognita* en suspensión a todos los tratamientos indicados.

d. Efecto nematicida de bacterias PGPRs

El inóculo se obtuvo por el método de Hussey y Baker (1973), descrito anteriormente. Se transfirió 100 huevos de *M. incognita* sobre las placas Petri. Una vez que no emergió ningún juvenil se suspendieron los huevos restantes en agua. Luego se agregó 1 ml. de inóculo bacteriano (10^8 UFC/ml). Para ello se utilizó las cepas: Bac 15Mb, BA 14, Azo 16M2, DA30, Ps 42, PA22, Act12 y Aa 25. Se evaluó cada 24 horas durante 3 días. Se evaluó el número de

juveniles emergidos de cada tratamiento hasta los tres días de exposición con las cepas mencionadas, finalmente se contabilizó el número de nematodos y los resultados se evaluaron en porcentaje de nematodos emergidos en estadio juvenil J2.

e. Infección de planta de aguaymanto con nematodos para determinar el GSR a nivel de invernadero

Se utilizó un inóculo de huevos del nemátodo *M. incognita* en suspensión con agua destilada, se procedió a inocular las plantas para cada uno de los tratamientos con nemátodos, a los 20 días de haber realizado el trasplante. Las poblaciones del nemátodo inoculadas para el ensayo en invernadero para determinar el grado de severidad radicular fueron de 1000, 3000, 5000, 10000 y 20000 huevos de *M. incognita* por cada kg de sustrato. Para uniformizar la suspensión de huevos se utilizó una bomba pequeña de pecera y con una pipeta milimetrada se colocaron los huevos en cada cuello de planta en cada unidad experimental. Inmediatamente después se tapó con el mismo sustrato para evitar la desecación de los huevos depositados.

f. Inoculación, Mantenimiento y cuidados del ensayo en Invernadero

Para la realización de este ensayo se utilizaron plántulas de aguaymanto micorrizadas con 7 cm de altura, se transplantaron en suelo estéril 2:1 (suelo: arena) en invernadero. Luego de una semana de adaptación a cada plántula y de acuerdo al diseño del ensayo se inocularon con un ml de suspensión densa de 10^8 UCF/ml en cada cuello de plántula. En la segunda semana de realizarse el trasplante con ayuda de una pipeta se tomaron alícuotas de huevos en suspensión. Se aplicaron en dos hoyos circulares alrededor de la planta, posteriormente se taparon estos hoyos con el suelo esterilizado.

Las plantas fueron regadas y cuidadas todos los días durante 120 días. No se aplicaron ningún tipo de fertilizante ni insecticidas durante la conducción del experimento debido a que las plantas se desarrollaron sin presencia de plagas y enfermedades. Los riegos fueron ligeros y frecuentes, manteniéndose una humedad adecuada para el crecimiento normal de las plantas y del nemátodo en el invernadero.

5.3.4 Evaluación de los ensayos a nivel de invernadero

El ensayo se evaluó a los 120 días del trasplante de las plántulas, hasta ese momento las plantas de aguaymanto tenían botones, flores y frutos. Para ello se removieron de las macetas todas las plantas de aguaymanto y se procedió a la toma de datos, así como, procesamiento y análisis correspondientes en los laboratorios. Se evaluaron los siguientes parámetros:

a. Parámetros de crecimiento de la planta

Altura de la planta (cm)

Se midió la altura de la planta en centímetros con ayuda de una cinta métrica desde el cuello de la planta hasta el último entrenudo.

Peso fresco de la parte aérea (gramos)

Se cortó la planta a la altura del cuello (suelo) e inmediatamente se pesó toda la parte aérea. El peso de las muestras se expresó en gramos.

Peso fresco de raíces (gramos)

Las raíces se separaron del suelo y se lavaron cuidadosamente para eliminar los restos de tierra y evitar la pérdida de masas de huevos. Posteriormente se pesaron, expresando dicho valor en gramos.

Peso seco de parte aérea (gramos)

Se colocó la parte aérea en sobre de papel, llevándolos a estufa durante 10 días a 80°C.

Peso seco de parte radicular (gramos)

Las raíces fueron lavadas para eliminar los residuos del suelo y secadas con papel toalla. Luego se colocaron sobre bases de placa Petri, llevándolo a la estufa a 80°C por 8 días.

Evaluación de los frutos

Se extrajeron los frutos de cada planta, luego se procedió a pesar y se midió el diámetro en centímetro con un Vernier.

b. Parámetro de respuesta del hospedante frente al nemátodo

Grado de nodulación

Las raíces fueron evaluadas de acuerdo a la escala de nodulación del Proyecto Internacional de *Meloidogyne* (PIM) (Brigde 1980) que se toma en consideración el nivel de nodulación.

Escala de Evaluación (PIM)

Grado 0: Ausencia de nódulos y/o masas de huevos.

Grado 1: 1-2 nódulos o masas de huevos.

Grado 2: 3 a 10 nódulos o masas de huevos.

Grado 3: 11 a 30 nódulos o masas de huevos.

Grado 4: 31 a 100 nódulos o masas de huevos.

Grado 5: Más de 100 nódulos o masas de huevos.

Población de huevos y de *Meloidogyne* en su segundo estadio J2

Transcurridos 120 días después del trasplante se procesaron las raíces por el método de Hussey y Baker. Se contó el número de huevos y del nemátodo en su segundo estadio J2 en un mililitro de suspensión y luego se calculó el número final de huevos en la suspensión juveniles presentes en la raíz.

5.3.5 Diseño experimental

En la fase de laboratorio (con 4 repeticiones por tratamiento) y fase de invernadero (con 5 repeticiones por tratamiento) fue conducido mediante un ensayo de Diseño Completamente al Azar (D.C.A.). Para comparar los tratamientos de estos ensayos se usó la Prueba de Duncan con un nivel de significancia de 0.05.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Efecto de la inoculación con PGPRs en la germinación de las semillas de aguaymanto

Se observó que todas las cepas seleccionadas aumentaron el porcentaje de germinación respecto al control, pero las cepas Aa25, BAC15Mb y DA30 tuvieron los valores estadísticamente significativos más altos en la promoción de la germinación en comparación al control sin inocular (Fig. 7). Estas cepas bacterianas tienen en común que fueron aisladas de rizósfera de aguaymanto. Durante este ensayo in vitro se pudo observar que las semillas germinadas de los tratamientos inoculados con PGPRs mostraron pelos radiculares a diferencia de las semillas del control (Fig. 8).

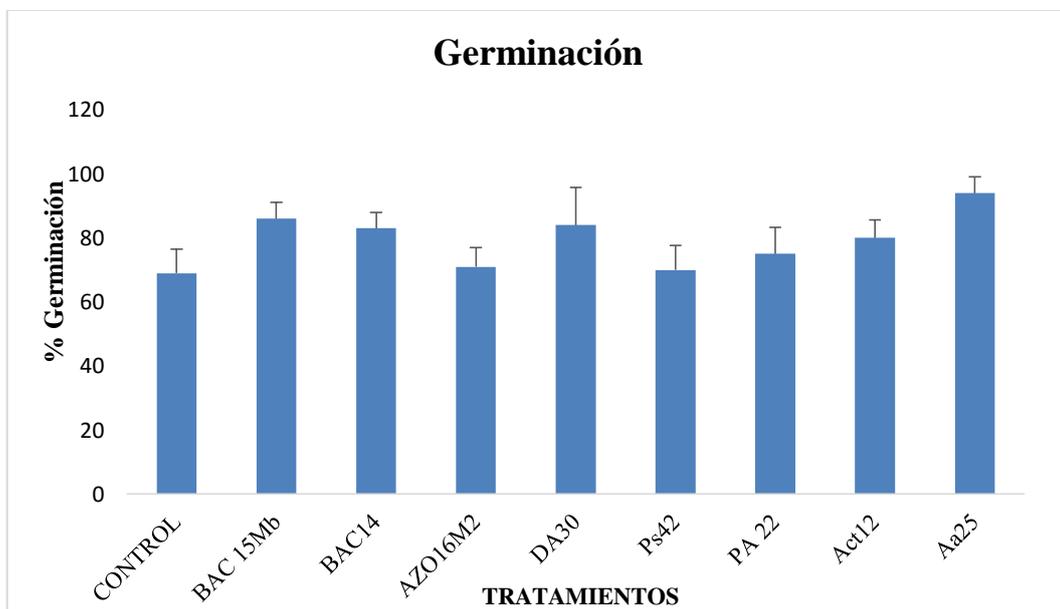


Figura 7. Desviaciones estándar y diferencias entre tratamientos a los 7 días después de la siembra.

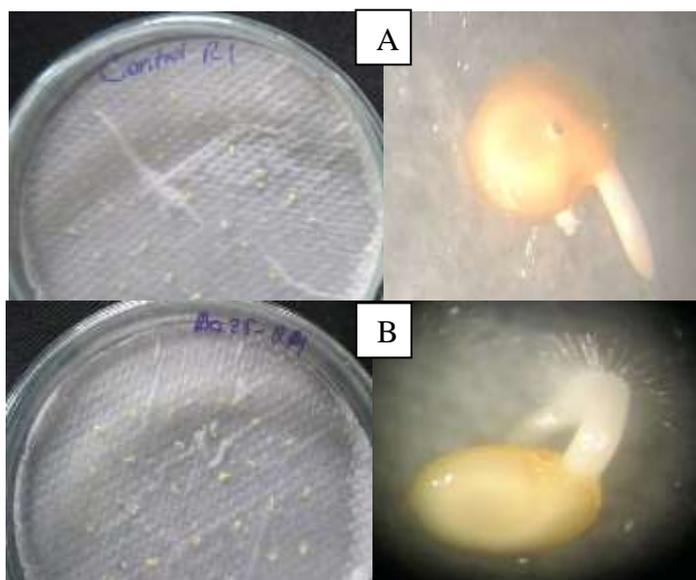


Figura 8. Germinación de semillas de aguaymanto in vitro. En (A) Tratamiento control, la semilla no muestra pelos radiculares a diferencia de las semillas inoculadas con Actinomicetos (Aa25) como se observa en (B). Germinación de semillas de aguaymanto in vitro.

6.2 Efecto de la inoculación en la emergencia de plántulas de aguaymanto

Se observó que todas las cepas seleccionadas mostraron diferencias estadísticamente respecto al control en la emergencia a los 8 días después de la siembra (8 dds), pero las cepas Aa25, DA30 y Act 12 tuvieron los valores más altos y son significativamente diferentes en comparación al control sin inocular (Tabla.3).



Figura 9. Emergencia de semillas de aguaymanto en pots. (A)Control comparado con Aa25 (B) Control comparado con DA30 y (C) Comparado con Act12.

En cuanto a la altura alcanzada a los 8 días después de la siembra las cepas BAC14 y DA30 mostraron una mayor longitud respecto al control sin inocular (Fig.10).

Tabla 3. Evaluación in vitro del porcentaje de emergencia 8 días después de la siembra (8dds).

tratamientos	% Emergencia 8 dds
Control	48 a
BAC15Mb	68 abc
BAC14	72 bc
AZO16M2	72 bc
DA30	84 c
Ps42	68 abc
PA22	60 ab
Act 12	80 bc
Aa 25	88 c

Tratamientos seguidos por la misma letra no difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de PSD (P=0.05).

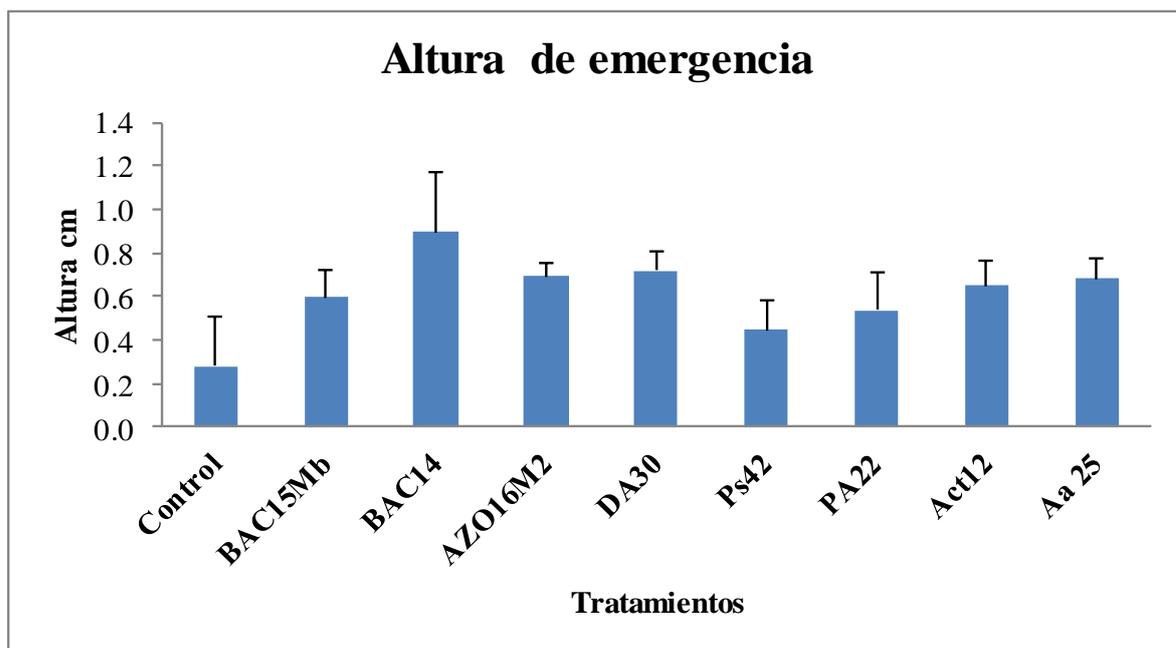


Figura 10. Efecto de la inoculación con cepas PGPRs en altura en plántulas de aguaymanto después de ocho días de siembra.

6.3 Propagación y prueba de infección de hongos micorrícicos en planta de trébol

Luego de la la extracción y colección de esporas micorrícicas se propagó en plantas trampa de trébol, para ello se desinfectó las esporas de aguaymanto según la metodología descrita (Utobo, *et al.*, 2011). Se comprobó la eficiencia de la desinfección de las esporas en placas con agar OGY (medio para recuento de hongos y levaduras) y Plate count (medio recuento de aerobios mesófilos). Como resultado las esporas desinfectadas no evidenciaron crecimiento de hongos, levaduras ni bacterias aeróbicas mesófilas a diferencia de las esporas sin desinfectar tal como se muestra en la tabla N°4.

Tabla 4. Número de colonias de hongos y mesófilos respectivamente en la estandarización de protocolo de desinfección

	OGY (N°UFC/200 esporas)	PC(N°UFC/200 esporas)
ESPORAS NO DESINFECTADAS	160	176
ESPORAS DESINFECTADAS	0	0

Además las esporas no desinfectadas mostraron un halo de microorganismos que evitaban la germinación de la hifa de la espora sin desinfección, e incluso algunas esporas con el paso de los días cambiaron de color. Las esporas desinfectadas pudieron germinar como se observa en la figura 11.

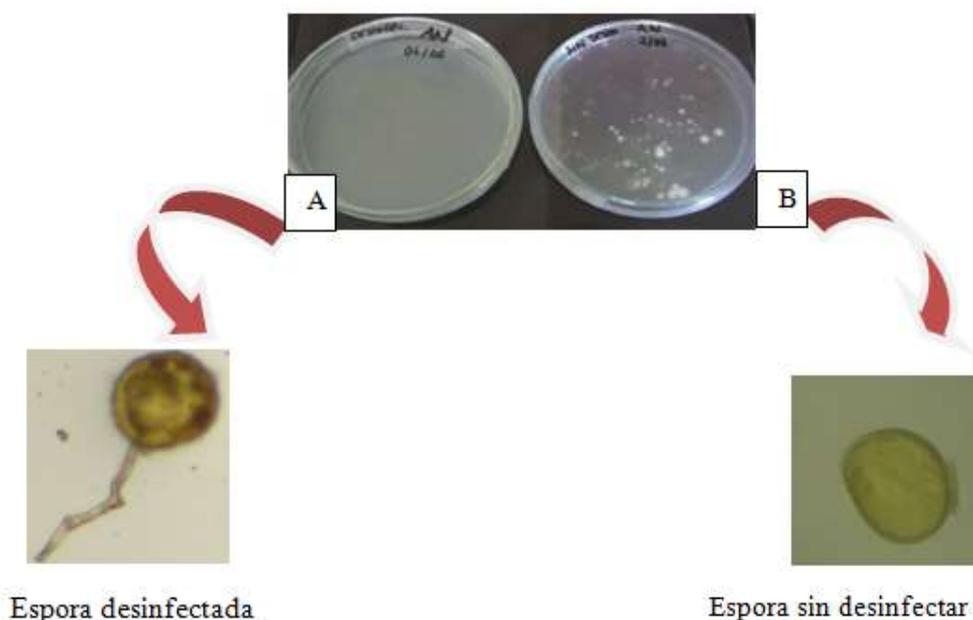


Figura 11. (A) Placa con agar Nutritivo con esporas desinfectadas según la metodología de Utubo. Se puede observar que las esporas pueden germinar. (B) Esporas sin desinfectar. Crecimiento de un halo alrededor de la espora, impidiendo la germinación.

A partir de este ensayo se puede inferir que la desinfección superficial de las esporas de hongos micorrícicos son un requisito de suma importancia para el exitoso establecimiento de la simbiosis bajo condiciones in vitro (Pérez, *et al* 2011).

Luego se realizaron ensayos para determinar la óptima propagación de las esporas en planta trampa de trébol. Este ensayo fue realizado durante 9 semanas bajo condiciones in vitro. En total fueron 5 tratamientos con 10 repeticiones cada uno, como se describió en la metodología. Las raíces de las plántulas de trébol fueron evaluadas mediante campos colonizados (Sieverding 1983).

El ensayo con mejores resultados la propagación de las plántulas de trébol inoculadas con esporas desinfectas y regadas con solución Long Ashton (MDA), regándose de forma interdiaria con 10 ml de solución Long Ashton (LA). Como lo recomiendan varios autores, ya que esta solución es baja en niveles de fosfato (15 ppm P/L) incentivando la micorrización (Balzergue, *et al.*, 2010; Lopez, *et al.*, 2010; Davies, *et al.*, 2005 y Staley, *et al.*, 1992).

En este tratamiento (MDA) se observó una infección casi del 75 % siendo significativamente mayor al tratamiento que se inóculo con esporas sin desinfectar y regadas con solución nutritiva (Fig. 12) con respecto a los parámetros de desarrollo como la longitud radicular (LR) y peso fresco radicular (PFR), este tratamiento (MDA) también tuvo mejor resultados significativos con respecto al control (CONTROL N+) y al tratamiento inoculado con esporas sin desinfectar y regado con solución nutritiva (MSN) (Tabla 5).

Tabla 5. Colonización radicular por hongos micorrícicos (%CM), Longitud radicular (LR) y peso fresco radicular (PFR) de plántulas de trébol evaluadas.

TRATAMIENTOS	%CM	LR (cm)	PFR (g)
CONTROL N+	-	9.99 a	0.018 a
MSN	45.78 a	10.14 a	0.019 a
MSA	67.6 b	10.96 ab	0.032 b
MDN	69.6 b	11.75 bc	0.033 b
MDA	74.56 c	12.11 c	0.036 b

Tratamientos seguidos por la misma letra no difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P=0.05).

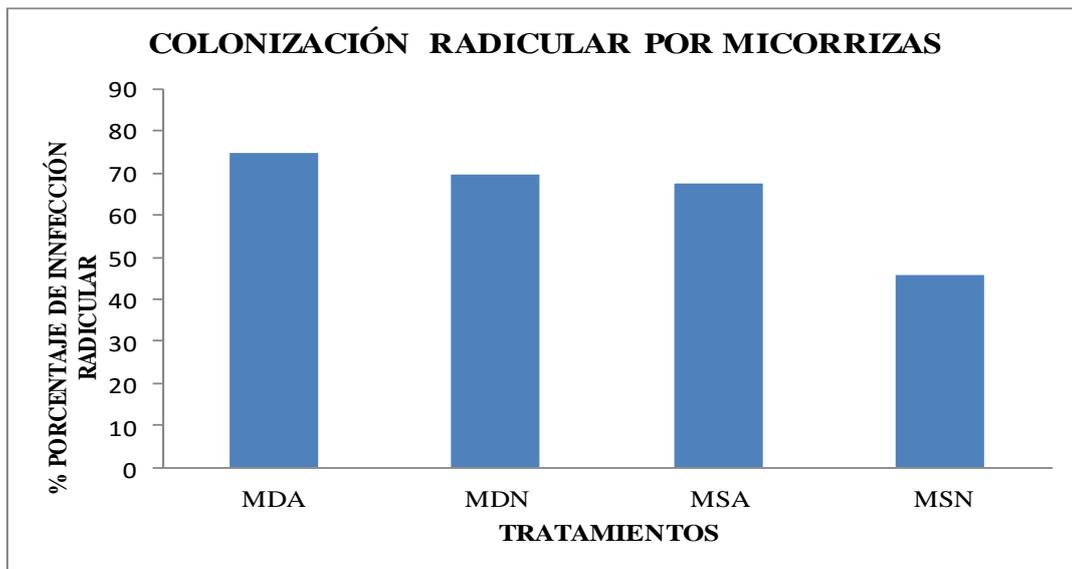


Figura 12. Efecto del porcentaje de la colonización micorrícica en plántulas de trébol.

(MDA): Tratamiento inoculado con esporas de micorrizas desinfectadas y regado con solución Long Ashton.

(MDN): Tratamiento inoculado con esporas de micorrizas desinfectado y regado con solución nutritiva.

(MSA): Tratamiento inoculado con esporas de micorrizas sin desinfectar y regado con Solución Long Ashton.

(MSN): Tratamiento inoculado con esporas de micorrizas sin desinfectar y regado con solución nutritiva.

6.4 Determinación del grado de severidad radicular en plantas de aguaymanto

Para determinar el efecto de la poblacional inicial sobre el grado de severidad radicular, se sembraron plántulas de aguaymanto en macetas de 2 kg en sustrato estéril 2:1 (suelo: arena) y se inóculo después de 1 semana con diferentes niveles de población de nemátodos. Los tratamientos fueron: control, 1000, 3000, 5000, 10000 y 20000 nemátodos por kg de sustrato. Luego se determinó el grado de severidad radicular (escala del 0 al 5) según Escala de Evaluación (PIM).

En el primer ensayo, el índice de infección radicular más alto y significativo lo presento el tratamiento de 5000 nemátodos por kg de sustrato, con un grado de 5, así también disminuyó significativamente el peso fresco radicular de la planta (Fig.13). Según los resultados mostrados la inoculación con mayor densidad poblacional 10000 y 20000 de juveniles en estadio J2 de *M.incogita*/ kg suelo tuvieron un menor grado de severidad en las raices, no mostrando un mayor efecto negativo en las plantas.

Esto, según Eunice *et al* 2013. se debe que en poblaciones muy altas de nemátodos genera competencia por la invasión a la raíz por sitios de alimentación, esto conlleva la muerte de individuos disminuyendo la multiplicación de los nematodos sedentarios.

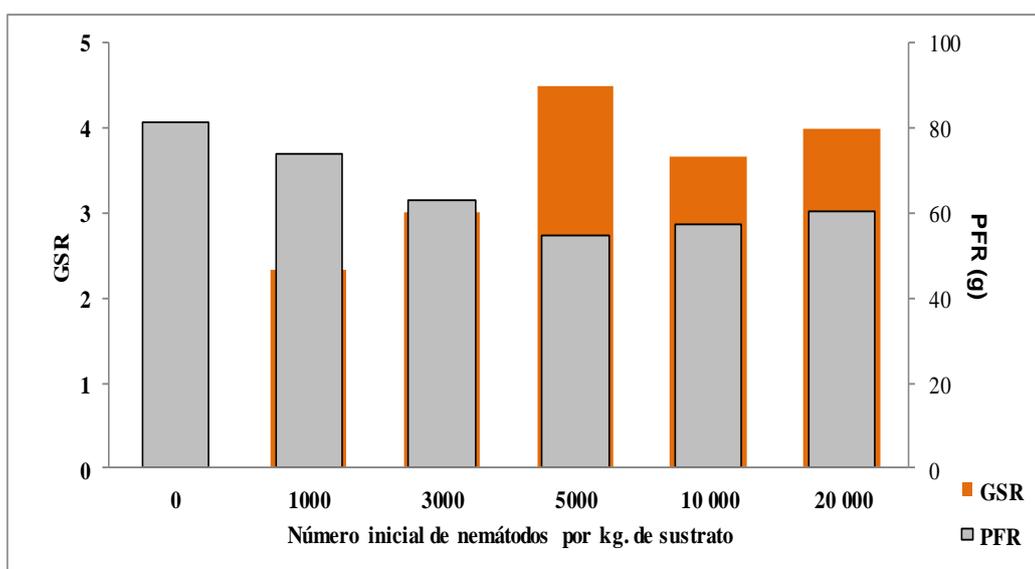


Figura 13. Efecto de población inicial de *M. incognita* en el grado de severidad radicular (GSR) y el peso fresco de las raíces (PFR).

6.5 Bioensayo sobre nematodos con bacterias PGPRs

En la figura 14 se observan los resultados de la prueba de Duncan, donde todos los tratamientos muestran un efecto negativo sobre los huevos y muerte de larvas; pero en las suspensiones con las cepas diazótroficas DA30 y AZO16M2; cepa de actinomicetos Act 12 y la *Pseudomonas* PA 22; fueron las que tuvieron mayor diferencia significativa comparada con el control (agua).

Diversos estudios mencionan que las rizobacterias excretan metabolitos, enzimas y/o toxinas que tiene como efecto la supresión y la reducción de los nemátodos parasíticos en las raíces, afectando la eclosión de los huevos y la supervivencia de los nemátodos juveniles.

Este efecto nematicida y nematotoxicó está principalmente en especies como *Bacillus*, *Pseudomonas* y Actinomicetos (Siddiqui y Mahmood, 1999).

Los Actinomicetos producen enzimas biodegradativas como quitinasas, glucanasas, y peroxidasas que están involucradas en el papel del micoparasitismo y compuestos bioactivos antagonistas de nemátodos patógenos (Franco-Correa, 1999; Tokala, *et al.*, 2002; Márquez, *et al.*, 2003; Tain, B., *et al* 2007).

En contraste a los estudios mencionados en este ensayo, la cepa diazótropa aislada de rizósfera de aguaymanto (DA30) con un porcentaje de huevos afectados (59%) y de larvas muertas (57%); y la cepa diazotrófica aislada de papa (AZO16M2) con un porcentaje de huevos afectados (55%) y de larvas muertas (55%); presentaron mayores porcentajes de nematodos afectados en 24 horas a diferencia de las demás cepas de *Bacillus*, *Pseudomonas* y Actinomicetos. Pero en los últimos estudios se han determinado que los diazotrofos poseen varios metabolitos que poseen efectos de antibiosis contra los nemátodos (Pankaj, *et al.*, 2010). Según, Bansal, *et al.*, 2005; los diazotrofos producen ácidos grasos volátiles que interrumpen e inmovilizan a los nemátodos. Además, estos ácidos orgánicos altera la embriogénesis del desarrollo de los huevos de *M. incognita*.

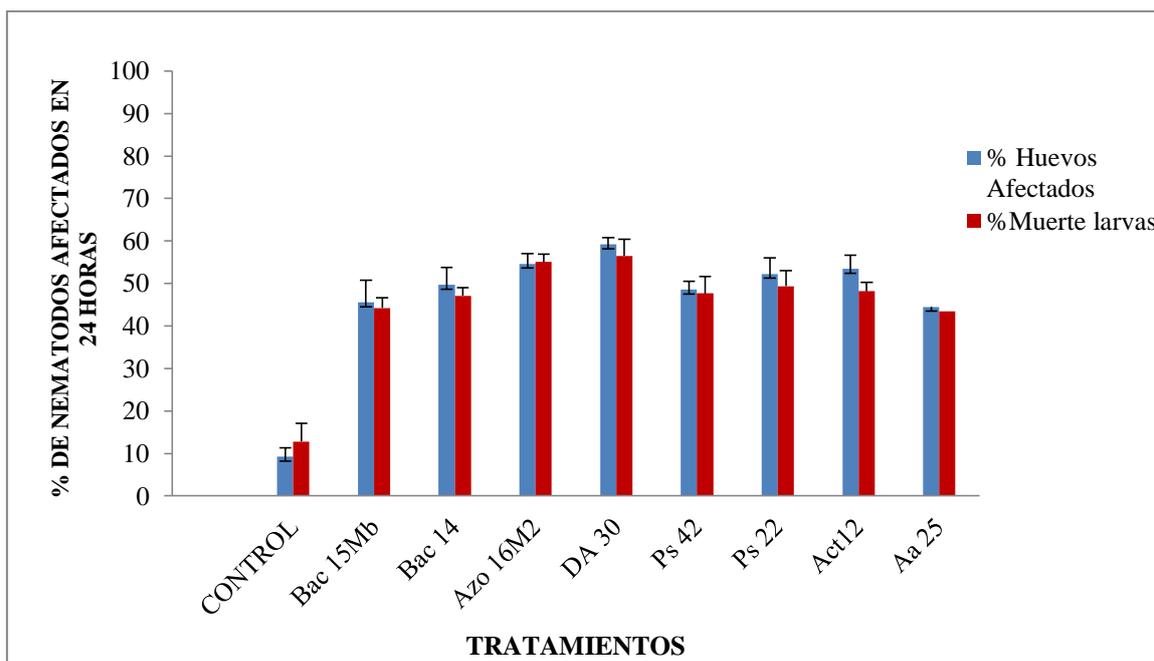


Figura 14. Porcentaje de huevos afectados en la ooteca y número de larvas muertas de *M. incognita* expuestos a las cepas bacterianas PGPRs.

6.6 Efecto de bacterias pgprs y hongos micorrícicos en el control del nemátodo en invernadero

6.6.1 Parámetros de crecimientos de la planta

a. Altura de la planta (cm)

En esta etapa del estudio se procedió a la cosecha de las 5 macetas con 2 unidades experimentales por cada tratamiento fueron evaluándose los diferentes parámetros para determinar los mejores inoculantes e interacciones con micorrizas frente a la infección de nemátodos. Se observó mediante la prueba de Duncan que todos los tratamientos inoculados con bacterias promotoras de crecimiento (PGPRs) y/o micorrizas e infectadas con nemátodos superaron la longitud de la altura respecto al control infectado solo con nemátodos (T2).

Según Dropkin (1989) una de las consecuencias notables de las plantas parasitadas por nemátodos es la reducción general del crecimiento, siendo los mecanismos que explican esta disminución en el desarrollo en las plantas de naturaleza múltiple y compleja tanto que afectan a las células directamente expuestas al parasitismo como a la planta entera, trayendo como merma la baja del rendimiento de la planta. Además los nemátodos destruyen la estructura de las células mientras consumen sus contenidos, interfiriendo en los procesos fisiológicos normales y modifican la expresión genética en el huésped (Sidhu y Webster 1981).

Por otro lado el tratamiento T10 (planta inoculada con cepa del diazótrofo DA 30 y Micorrizas infectada con nemátodos) fue el tratamiento que alcanzó una mayor longitud respecto al control infectado con nemátodos (T2), esta respuesta nos estaría demostrando que este tratamiento aparentemente tiene un adecuado control sobre los nemátodos, lo cual repercute en una menor nodulación y menor daño radicular y por ende en una mayor altura de planta (Camborda, 1998).

Cada tratamiento con doble inoculación de microorganismos (PGPRs y micorrizas) e infectado con nemátodos (T6, T8, T10, T12, T14 y T16) mostraron tener una mayor longitud a comparación de los tratamientos inoculados solo con PGPRs e infectados con nemátodos (T7, T9, T11, T13, T15 y T17) como se puede observar en la Tabla 6. Esto se puede deber a que la doble inoculación con bacterias PGPRs y hongos micorrizicos ayuda a la planta a enfrentarse mejor a los nemátodos.

Sin embargo los tratamientos con T4 (tratamiento con cepa *Bacillus* Bac 15Mb en una planta infectada) y T18 (Tratamiento con cepa de Actinomiceto Aa 25 en una planta infectada con nemátodos) mostraron tener menor altura a comparación de T5 (tratamiento con cepa *Bacillus* Bac 15Mb con micorrizas en una planta infectada con nemátodos) y T19 (tratamiento con cepa Actinomicetos Aa25 y micorrizas en planta infectada con nemátodos) respectivamente.

Según Nico (2002) los efectos negativos asociados al parasitismo de nemátodos es la disminución en el crecimiento, la marchitez temporal y aparente deficiencia nutricionales en las hojas. Esto se debe que se alteran las funciones radicales básicas como son la absorción

de agua y la nutrición mineral. Estos efectos descritos se pudo observar en el tratamiento T2 (plantas infestadas solo con nemátodos).

Tabla 6. Promedio de la longitud aérea en invernadero después de 120 días de evaluación.

TRATAMIENTOS	ALTURA (cm)	
T1 Control	110.30	fgh
T2 Control Nemat	74.80	a
T3 Control Mico	101.13	defgh
T4 Bac 15Mb + Nem + Mic	80.00	efghi
T5 Bac15Mb+ Nemat	96.85	defg
T6 BA 14 +Nem + Mic	108.63	efgh
T7 BA14+ Nemat	96.85	defgh
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	113.63	hi
T9 Azo 16M2 + Nem	90.90	bcde
T10 DA30 + Nem + Mic	116.69	i
T11 DA 30 + Nem	90.60	bcde
T12 Ps 42 + Nem + Mic	100.50	defgh
T13 Ps 42+ Nem	77.55	ab
T14 PA 22 + Nem + Mic	104.20	efghi
T15 PA 22 + Nem	96.30	cdef
T16 Act 12 + Nem + Mic	104.00	efghi
T17 Act 12 + Nem	94.10	cdef
T18 Aa 25 + Nem + Mic	90.45	bcde
T19 Aa 25+ Nem	94.10	defghi
T20 Mico + Nem	88.70	bcd

Tratamientos seguidos por la misma letra no difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P=0.05).

b. Peso fresco de la parte aérea y radicular

Para el caso de la aplicación de la doble inoculación tanto con PGPRs y micorrizas en las plantas infectadas con nemátodos según este ensayo se notó que existen diferencias significativas en los diferentes tratamientos (Tabla 7).

Observado mediante la prueba de Duncan que el mayor peso fresco de la parte aérea se registra con la aplicación de T8 (planta inoculada con Micorrizas y cepa del diazótrofo Azo 16M2 e infectada con nemátodos), el que le sigue en el mayor peso aéreo es el tratamiento T6 (planta inoculada con Micorrizas y cepa de *Bacillus* Bac 14 e infectada con nemátodos), el cual es casi estadísticamente similar al testigo sin nemátodos (T1) y T10 (planta inoculada con Micorrizas y cepa del diazótrofo DA 30 e infectada con nematodos

Los menores pesos frescos de aéreos se presentan con el tratamiento T2 y T20, esto debido a que presentan una mayor infección radicular a la causada por nemátodos (Bunt, 1987).

En contraste los que presentaron un menor peso seco fueron en orden decreciente el tratamiento T11 (planta inoculada con una cepa de diazótrofa DA30), T20 (planta inoculada solo con micorrizas) y el testigo con nemátodos (T2).

El tratamiento control con nemátodos (T2) muestra el menor peso fresco aéreo y radicular, este tratamiento muestra diferencias significativas respecto todos los demás tratamientos, según la prueba de Duncan. Esto puede deberse a que los nemátodos provocan una reducción en la absorción de agua debido a la destrucción mecánica que provocan en las raíces y a la consiguiente pérdida de biomasa funcional (Nico, 2002). Sin embargo, se ha reportado que las relaciones hídricas en la planta se ven afectadas en etapas tempranas de la infección, cuando el parasitismo aún no ha originado destrucción de tejidos ni ha reducido la relación raíz/parte aérea (Meon, *et al.*, 1978).

Como se puede observar en la Tabla 7. El mayor peso fresco radicular lo presenta el Control sin infección (T1) seguido de T3 (Control con micorrizas) y T8 (planta inoculada con una cepa del diazótrofo Azo 16M2 y Micorrizas).

Por otro lado los tratamientos T2 y T20 presentaron los menores pesos frescos radiculares, mientras que los datos de peso fresco radicular son muy similares en todos los tratamientos con nemátodos, ya que según Christie (1970).

El nemátodo induce la formación de nódulos, disminuyendo a su vez el peso de la raíz. El peso radicular puede disminuir debido a que las raíces muy infectadas son mucho más cortas, con menos raíces laterales y menos pelos radiculares; lo que conlleva a la reducción del sistema radicular y por ende a la reducción del peso (Taylor y Sasser, 1983; Agrios 1996).

Tabla 7. Promedio de pesos frescos aéreo (PFA) y peso fresco radicular (PFR) de la planta en invernadero.

TRATAMIENTOS	PFA (g)		PFR (g)	
T1 Control	38.50	cd	30.83	d
T2 Control Nemat	24.33	a	14.81	a
T3 Control Mico	34.36	abcd	26.59	cd
T4 Bac 15Mb + Nem + Mic	26.10	ab	19.18	abc
T5 Bac15Mb+ Nemat	36.71	abcd	25.70	cd
T6 BA 14 +Nem + Mic	40.21	cd	26.51	cd
T7 BA14+ Nemat	36.43	cd	26.11	cd
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	42.11	d	26.71	cd
T9 Azo 16M2 + Nem	31.49	abcd	20.98	abcd
T10 DA30 + Nem + Mic	38.07	cd	20.80	abc
T11 DA 30 + Nem	28.93	abc	22.44	abcd
T12 Ps 42 + Nem + Mic	35.38	abcd	21.11	abc
T13 Ps 42+ Nem	35.00	abcd	19.56	abc
T14 PA 22 + Nem + Mic	34.81	abcd	24.92	cd
T15 PA 22 + Nem	30.49	abcd	24.24	bcd
T16 Act 12 + Nem + Mic	36.70	bcd	22.60	abcd
T17 Act 12 + Nem	31.69	abcd	23.51	abcd
T18 Aa 25 + Nem + Mic	32.09	abcd	19.03	abc
T19 Aa 25+ Nem	40.19	d	26.53	cd
T20 Mico + Nem	26.91	ab	15.27	ab

Tratamientos seguidos por la misma letra no difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples (P=0.05)

c. Peso seco de parte aérea y radicular

Se observa que existen diferencias significativas en los diferentes tratamientos al respecto con la variable peso seco aéreo (Tabla 8). Mediante la prueba de Duncan se registró el tratamiento T8 (planta inoculada con una cepa del diazótrofo Azo 16M2 y micorrizas), siendo este el tratamiento con mayor diferencia significativa con el control infestado con nemátodo (T2) e inclusive es mayor al peso aéreo del tratamiento control sin nemátodos (T1). El que le sigue en el mayor peso seco aéreo es el tratamiento T10 (planta inoculada con una cepa del diazótrofo DA30 y Micorriza) y T7 (planta inoculada con una cepa de Bacillus BA14 y Micorrizas). Mientras que presentaron un menor peso seco fueron en orden decreciente, el tratamiento T11 (planta inoculada solo con la cepa de diazótrofa DA30 e infectada con nemátodo), T20 (planta inoculada solo con micorrizas e infectada con nemátodo) y el testigo con nemátodos (T2).

La medición del peso seco aérea es un parámetro muy eficiente y estable que determinar la capacidad de nutrición y almacenaje de nutrientes en la planta, en cambio el peso fresco aéreo es más variable y su utilidad es válida para comparar el contenido de agua en los tejidos (Camborda 1998).

Tabla 8. Promedio del peso seco aéreo (PSA) y peso seco radicular (PSR) de la planta invernadero.

TRATAMIENTOS	PSA(g)		PSR(g)	
T1 Control	7.20	ef	4.34	c
T2 Control Nemat	3.39	a	2.13	ab
T3 Control Micorriza	5.08	abcde	3.19	abc
T4 Bac 15Mb + Nem + Mic	4.03	abc	2.66	ab
T5 Bac15Mb+ Nemat	5.55	abcde	3.42	bc
T6 BA 14 +Nem + Mic	6.48	de	3.63	bc
T7 BA14+ Nemat	6.59	de	3.55	bc
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	8.95	f	3.74	bc
T9 Azo 16M2 + Nem	4.84	abcde	2.85	ab
T10 DA30 + Nem + Mic	6.87	de	2.91	ab
T11 DA 30 + Nem	3.98	ab	2.96	ab
T12 Ps 42 + Nem + Mic	5.38	abcde	2.94	bc
T13 Ps 42+ Nem	4.04	abc	2.70	ab
T14 PA 22 + Nem + Mic	5.50	abcde	3.52	bc
T15 PA 22 + Nem	5.00	abcde	3.27	abc
T16 Act 12 + Nem + Mic	6.28	bcde	3.17	abc
T17 Act 12 + Nem	4.99	abcde	3.15	bc
T18 Aa 25 + Nem + Mic	5.14	abcde	2.51	abc
T19 Aa 25+ Nem	6.34	cde	3.63	bc
T20 Mico + Nem	3.88	a	2.08	a

Tratamientos seguidos por la misma letra no difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples (P=0.05).

d. Frutos

El parámetro de producción es importante puesto que el peso de fruto es una característica necesaria para lograr un mayor rendimiento económico y de calidad de producto. Normalmente, a mayor peso promedio de fruto se tiene mayor rendimiento.

En los diferentes tratamientos se observaron que mediante la prueba de Duncan los mayores pesos promedio de fruto y significativos se obtuvieron con los tratamientos T3, T10 y T19. Además se observó que todos los tratamientos son significativamente diferentes respecto al T2 (tratamiento control infectado solo con nemátodos).

También se notó diferencias significativas en los mismos tratamientos (T3, T10, T19) y T15 para el número promedio de frutos; y con respecto al diámetro de frutos se mostró diferencias significativas en T3, T8 y T11 comparando con T2 (control infectado con nemátodos).

Por otro lado todos los tratamientos donde se aplicaron bacterias PGPRs y/o micorrizas como controladores de nemátodos mostraron tener mejor peso promedio de frutos comparado al control T1 (planta sin microorganismos) y T2 (control infectados con nemátodos), siendo con este último diferente significativamente con cada uno de los tratamientos.

Esta respuesta se debería a que las cepas bacterianas de PGPRs y micorrizas presentan un adecuado control de *M.incognita*, favoreciendo el desarrollo radicular y por tanto al no haber alteraciones que hicieran variar el flujo de agua y nutrientes de la parte radicular a la parte aérea, han hecho posible que las plantas presenten un buen desarrollo foliar y una mayor eficiencia fotosintética que trae consigo un desarrollo óptimo de frutos, así mismo es posible que los efectos bioestimulantes de la bacteria Diazótrofa DA30 y Actinomicetos Aa25 (aislados de la rizósfera de aguaymanto) y micorrizas han contribuido favorablemente lograr esta mayor eficiencia fotosintética.

En contraste los tratamientos T18 y T20 registraron el menor peso promedio de frutos respecto al T2. Mientras que presentaron un menor número promedio de frutos fue T13, T18 y T20 en orden decreciente respecto a T2. En cuanto al diámetro T9, T7 y T20 fueron los tratamientos con menor diámetro de frutos.

Además la reducción del rendimiento de las plantas afectadas por nemátodos no solo limita las funciones de la raíz, sino que como se puede observar en las Tabla 8 y Tabla 9, influyen

negativamente en los diferentes procesos de la parte aérea y/o a nivel de planta entera (Nico 2002).

Los menores pesos del fruto podría deberse a las mayores infecciones radicales; lo cual obstaculiza la normal translocación de agua, nutrientes y hormonas afectando la fisiología de las plantas notándose el efecto negativo en un menor peso promedio del fruto (Bunta 1987 y Wallace 1987).



Figura 15. Muestra el numero de frutos del tratamiento T10 (DA30+Nem+Mic).

Tabla 9. Número, Peso Fresco y Diámetro promedio de frutos por tratamientos de plantas en invernadero

TRATAMIENTOS	Nº FRUTOS	PESO DE FRUTO	DIAMETRO FRUTOS
T1 Control	10	abc	4.89 bc 0.61 bcdef
T2 Control Nemat	6	abc	1.13 a 0.37 a
T3 Control Micorriza	11	bc	11.90 f 0.80 efg
T4 Bac 15Mb + Nem + Mic	8	abc	4.81 bc 0.62 bcdef
T5 Bac15Mb+ Nemat	8	abc	5.58 bc 0.61 bcde
T6 BA 14 +Nem + Mic	9	abc	4.89 bc 0.56 abcd
T7 BA14+ Nemat	10	abc	6.05 bc 0.49 abc
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	11	bc	5.58 bc 0.74 cdef
T9 Azo 16M2 + Nem	8	abc	5.15 bc 0.51 abc
T10 DA 30 + Nem+Mic	10	abc	9.65 ef 1.05 hi
T11 DA 30 + Nem	11	abc	5.94 bc 0.76 def
T12 Ps 42 + Nem + Mic	9	abc	5.85 bc 0.70 cdef
T13 Ps 42+ Nem	7	ab	5.49 bc 0.84 fgh
T14 PA 22 + Nem + Mic	9	abc	5.31 bc 0.68 cdef
T15 PA 22 + Nem	11	bc	6.78 cd 0.70 cdef
T16 Act 12 + Nem + Mic	9	abc	5.69 bc 0.69 cdef
T17 Act 12 + Nem	8	abc	5.09 bc 1.17 i
T18 Aa 25 + Nem + Mic	7	ab	4.71 bc 0.56 abcd
T19 Aa 25+ Nem	12	c	9.17 de 1.00 ghi
T20 Mico + Nem	7	ab	3.82 b 0.43 ab

Tratamientos seguidos por la misma letra no difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples (P=0.05).

e. Cantidad de vitamina C

Al alterar la fisiología de las plantas hospedante, los nemátodos no sólo pueden reducir el rendimiento de los cultivos, sino también la calidad del producto (Moens , , *et al.*, 2009). Como se puede observar en la tabla 10 la cantidad de vitamina C disminuye en los tratamientos infectados con nematodos comparado con la cantidad de vitamina en una planta sin infectar; además, el tratamiento inoculado solo con micorrizas (T3) mostró tener mayor cantidad de vitamina C con respecto al control.

Se ha deteminado la participación del ácido jazmónico en la regulación de la biosíntesis de vitamina C (Wolucka, *et al.*, 2005). Y como es de conocimiento, dentro de la respuestas de resistencia ante el estrés abiótico o biótico en las plantas, como heridas y/o lesiones radiculares, se acumula ácido jasmónico (Yuyang. 2012). En el caso de tratamiento T19, a pesar de que la planta infectada con nemátodo e inoculada con la cepa actinomiceto Aa25, mostró un nivel de vitamina C cercano al valor de T2 (planta infectada con el nemátodo). Esto se puede deber según Lolaei, *et al.*, 2013 que los niveles de ácido jasmónico y de vitamina C disminuyen drásticamente el desarrollo de frutos en plantas al sufrir algún tipo de estrés biótico al activar la resistencia inducida en la planta.

Tabla 10. Cantidad de Vitamina C en frutos de Aguaymanto/100 g

CODIGO DE MUESTRAS	Resultado
Cantidad promedio de Vitamina C	22.0 mg/100g
T2 Planta+Nemátodo	6.20mg/100g
T3 Planta+Micorrizas	30.0mg/100g
T19 Aa 25 + Nem	6.30 mg/100g

6.6.2 Parámetro de respuesta del hospedante al nemátodo

a. Grado de severidad radicular (GSR)

Existen diferencias significativas entre tratamientos y los controles. Observamos que los resultados mediante la prueba de Duncan (Tabla 11) que el testigo sin microorganismos (T2) tuvo mayor grado de severidad radicular al igual que los tratamientos T7 y T17; por otro lado los tratamientos T8, T6 y T10 tuvieron un menor grado de severidad radicular. (GSR).

En todos los casos presentados el mayor GSR que presentan las raíces de aguaymanto es respuesta directa de una mayor infección del nemátodo *M. incognita*. Entonces se puede mencionar que existe un menor control por parte del tratamiento T7 y T17, inoculado solo con bacterias PGPRs *Bacillus* BA14 y Actinomicetos Act 12 respectivamente. Mientras que un menor GSR significa que el tratamiento ha ejercido un control adecuado, alguna acción nemostática y/o nematicida a nivel de rizósfera que ha impedido la entrada de los juveniles hacia las raíces. Este efecto se pudo observar en los tratamientos T8, T6, T10 y T12 que fueron inoculadas con micorrizas y cepas PGPRs como Diazótrofo Azo16M2 (T8), *Bacillus* BA14 (T6), Diazótrofo DA30 y *Pseudomona* Ps42 respectivamente, tienen un menor GSR comparado con los tratamientos de plantas inoculadas solo con PGPRs.

Los PGPRs pueden llevar a la resistencia inducida ISR debido a que fortalece físicamente y mecánicamente la pared celular, aumentando su espesor al acumular la celulosa y por acumulación de compuestos fenólicos. Asu vez cambia la fisiología y la capacidad bioquímica de la planta promoviendo la síntesis de compuestos químicos de defensa contra los nemátodos patógenos (Tian, *et al.*, 2007).

Tabla 11. Prueba de LSD para los diferentes tratamientos en los Parámetros de reproducción de *M. incognita*.

TRATAMIENTOS	GSR
T1 Control	0.00 a
T2 Control Nemat	4.40 e
T3 Control Micorriza	0.00 a
T4 Bac 15Mb + Nem + Mic	4.00 bcd
T5 Bac15Mb+ Nemat	3.80 bc
T6 BA 14 +Nem + Mic	3.75 bc
T7 BA14+ Nemat	4.20 de
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	3.63 b
T9 Azo 16M2 + Nem	4.00 bcd
T10 DA30 + Nem + Mic	3.80 bc
T11 DA 30 + Nem	3.90 bcd
T12 Ps 42 + Nem + Mic	3.80 bc
T13 Ps 42+ Nem	3.90 bcd
T14 PA 22 + Nem + Mic	4.00 bcd
T15 PA 22 + Nem	4.00 bcd
T16 Act 12 + Nem + Mic	4.00 bcd
T17 Act 12 + Nem	4.10 cde
T18 Aa 25 + Nem + Mic	4.00 bcd
T19 Aa 25+ Nem	3.90 bcd
T20 Mico + Nem	4.00 bcd

Tratamientos seguidos por la misma letra no difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples (P=0.05).

b. Número de huevos + J2/g de raíz

Para el caso donde se aplicaron micorrizas y/o PGPRs se ha observado que existen diferencias significativas en los diferentes tratamientos comparando con el testigo con nemátodos (Tabla 12). Los tratamientos que presentaron el menor número de N° huevos+J2/g de raíz fueron T8, T10 y T19. Estos ensayos demuestran que las bacterias endófitas influyen en la penetración y desarrollo de *M. incognita* en las raíces de las plantas. Por lo tanto el tratamiento T10 en plantas con micorrizas e inoculado con PGPRs diazotrofa Azo 16M2 reduce significativamente la reproducción y la penetración de *M. incognita* juveniles dentro de las raíces de aguaymanto al aplicar directamente esta cepa al cuello de la planta. Entonces, también se podría mencionar que existe un menor control en la reproducción y la penetración en los tratamientos T7 y T17, inoculado solo con bacterias PGPRs *Bacillus* BA14 y Actinomicetos Act 12 respectivamente.

A pesar que varios autores mencionan que las bacterias endófitas son buenos candidatos para colonizar la raíz y combatir la nemátodos endoparasitarios, ya que ocupan de manera similar el nicho ecológico con los nemátodos, la doble aplicación de micorrizas y bacterias PGPRs muestra mayor eficacia en la supresión de la penetración de nemátodos juveniles comparado con la aplicación por separado de las PGPR y micorrizas. Las recientes investigaciones sugieren que los mecanismos involucrados en la supresión de patógeno involucra la competición por el hierro y espacio; y que induce la resistencia sistémica infestada (Munif, *et al.*, 2013).

Otra observación de este ensayo es que el N° huevos+J2/g de raíz varía dependiendo del tipo de bacteria y micorrizas; es decir tienen un comportamiento singular en cada combinación (Jaizme-Vega 2005).

Este parámetro del número total de huevos por raíz es importante porque indirectamente se podría conocer la posible población remanente de nemátodos noduladores que pueden quedar en el suelo y que posteriormente podría volver a infectar a las próximas campañas del mismo cultivo u a otros cultivos susceptibles (Sasser, *et al.*, 1983). Además la capacidad reproductiva de un nemátodo (N° huevos+J2/g de raíz) se convierte en una medida del grado susceptibilidad de la planta huésped sobre la que establece la relación de parasitismo (Seinhorst 1969; Taylor 1971; Wescott y Zehr 1991).



Figura 16. Foto de tratamiento T10 a 10 X y 100X, en las raíces se puede observar la formación de mayor cantidad de arbusculos, así como también de vesículas e hifas.

Tabla 12. Prueba de Duncan para los diferentes tratamientos en los Parámetros de reproducción de *M. incognita*

TRATAMIENTOS	Nº J2+ HUEVOS
T1 Control	0.00 a
T2 Control Nemat	3.67 f
T3 Control Micorriza	0.00 a
T4 Bac 15Mb + Nem + Mic	3.31 cde
T5 Bac15Mb+ Nemat	3.19 bc
T6 BAC 14 +Nem + Mic	3.27 bcde
T7 BAC 14+ Nemat	3.34 cde
T8 AZO 16M2 + Nem + Mic	3.04 b
T9 AZO 16M2 + Nem	3.22 bcd
T10 DA30 + Nem + Mic	3.16 bc
T11 DA 30 + Nem	3.24 bcd
T12 Ps 42 + Nem + Mic	3.31 cde
T13 Ps 42+ Nem	3.24 bcd
T14 PA 22 + Nem + Mic	3.36 cde
T15 PA 22 + Nem	3.33 cde
T16 Act 12 + Nem + Mic	3.28 bcde
T17 Act 12 + Nem	3.52 ef
T18 Aa 25 + Nem + Mic	3.28 bcde
T19 Aa 25+ Nem	3.17 bc
T20 Mico + Nem	3.46 def

Tratamientos seguidos por la misma letra no difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples (P=0.05).

6.6.3 Efecto de la micorrización y número de esporas a nivel de invernadero en plantas inoculadas con PGPRs e infectadas con *M. incognita*

El análisis de los parámetros de los hongos micorrícicos permitió comparar el desarrollo de estos hongos en la raíz. Se puede observar (Tabla 13) que los tratamientos con mayor porcentaje de colonización micorrícica (%CM) en orden creciente fueron T10 (planta inoculada con Micorriza y con cepa del diazótrofo DA30), T8 (planta inoculada con Micorrizas y con cepa del Azo 16M2) y T12 (planta inoculada con Micorrizas y con una cepa de *Pseudomonas* Ps42), siendo estos estadísticamente significativos con el tratamiento T20 (planta solo inoculada con micorrizas e infectada con nemátodos). En recientes investigaciones se ha demostrado que la coinoculación de estas bacterias con micorrizas arbusculares, permite la micorrización temprana; lo cual determina un mejor establecimiento de las rizobacterias y una mejor absorción de elementos solubilizados por estos mismos (Barea, *et al.*, 2005; Zambrano, *et al.*, 2007).

Bajo estas condiciones, se puede observar que hay un efecto mayor de colonización micorrícica en los tratamientos que se aplicaron PGPRs, puede deberse que éstas bacterias son capaces de promover la germinación y la elongación del tubo germinativo de la espora mejorando la densidad micorrícica en la raíz (Jaizme- Vega, *et al.*, 2005). Además la precolonización en las plántulas con micorrizas y luego la inoculación con bacterias conlleva a la disminución de nódulos y a las masas de huevos (Reimann 2005).

El mayor número de esporas por gramo de suelo seco (Nº Esporas/g suelo seco) lo presentaron los tratamientos T10, T8 y T12. Por otro lado se determinó que el menor %CM ocurrió en los tratamientos T14 y T18. Se constató que en todas las plantas inoculadas con micorrizas y bacterias previamente a la infección de nemátodos tuvieron casi un mayor %CM frente tratamiento solo con micorrizas e infectado con nemátodos.

Los resultados evidenciaron lo beneficioso de introducir los hongos micorrícicos en los sistemas planta-hongos micorrizógenos-nemátodos fitoparasitarios, antes de que estos últimos se pongan en contacto con las plantas hospedantes (Gómez, *et al.*, 2008).

Muchos estudios confirman que la interacción planta-micorriza-nemátodos fitoparásitos pueden manifestarse de diferentes formas, ya sea para impedir el desarrollo de los nemátodos, o que estos inhiban el desarrollo las micorrizas, en alguna fase de su desarrollo, o no producirse ningún efecto adverso entre ellos (Reimann, 2005).

En este estudio se puede observar que las interacciones planta-microorganismos-micorrizas y nemátodos fitoparásitos tuvieron el efecto de disminuir el desarrollo del número de huevos y juveniles en los distintos tratamientos comparados con el testigo sólo con nemátodos.

Tabla 13. Prueba de Duncan para efecto de la micorrización y número de esporas a nivel de invernadero en plantas inoculadas con PGPRs e infectadas con *M. incognita*

TRATAMIENTOS	%CM	Nº Esporas/g suelo seco
T3 Control Micorriza	86.89 d	14.15 cd
T4 Bac 15Mb +Nem+Mic	68.44 bc	11.07 ab
T6 BA 14 +Nem + Mico	63.10 b	12.89 abcd
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	75.28 cd	13.51 bcd
T10 DA30 + Nem + Mic	75.32 cd	15.50 d
T12 Ps 42 + Nem + Mic	69.49 bc	13.66 bcd
T14 PA 22 + Nem + Mic	57.91 bc	12.33 abc
T16 Act 12 + Nem + Mic	66.94 bc	11.69 abc
T18 Aa 25 + Nem + Mic	58.26 ab	13.10 bcd
T20 Mico + Nem	50.27 a	10.18 a

Tratamientos seguidos por la misma letra no difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples (P=0.05).

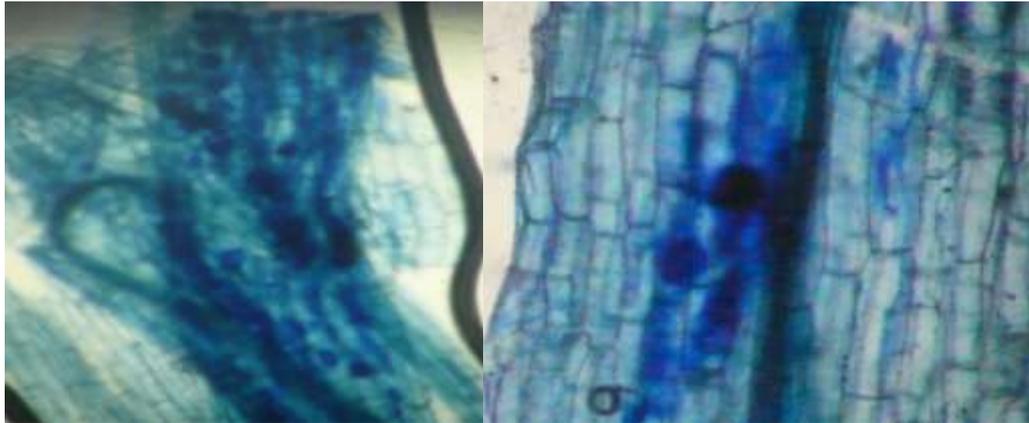


Figura 17. Foto de tratamiento T8 a 40X, se puede observar en las raíces la formación de las hifas, arbusculos y vesículas.

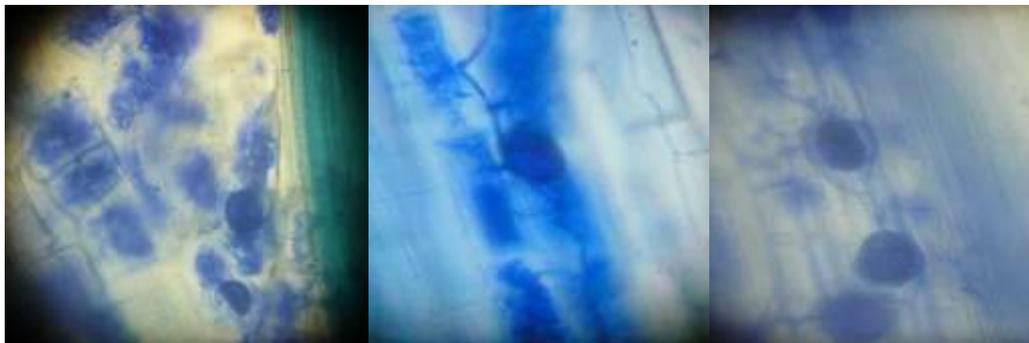


Figura 18. Foto de tratamiento T10 a 100X, en las raíces se puede observar las formación de las en mayor cantidad de arbusculos, así como también de vesículas e hifas.



Figura 19. Foto de esporas extraídas de los diferentes tratamientos con aumento 100X.

VII. CONCLUSIONES

1. La aplicación con hongos endomicorrícicos y/o microorganismos promotores de crecimiento a las plantas, previo a la infección con *M.incognita*, mostraron una mejora en su desarrollo y control en la propagación de nemátodos.
2. Se logró aislar y propagar endomicorrizas nativas del cultivo de aguaymanto en plántulas de trébol con esporas desinfectadas y regadas con solución Long Ashton (LA). Alcanzando hasta 75% de colonización micorrícica (%CM).
3. A nivel *in vitro*, las cepas de bacterias diazotróficas DA30 y Azo16M2 tuvieron el mayor porcentaje de capacidad de inhibición de *M. incognita*.
4. En cuanto a la capacidad de la promoción de la germinación de semillas *in vitro*, las cepas de Actinomicetos Aa 25, de *Bacillus* Bac 15Mb y DA30 incrementaron en 36%, 25% y 12% respectivamente comparándose con el control.
5. En cuanto a pruebas de emergencia *in vitro* las cepas nativas aisladas de cultivo de aguaymanto como el *Bacillus* BAC14 y diazotrofas DA30, lograron incrementar el porcentaje de emergencia.
6. A nivel invernadero, las plantas micorrizadas e inoculada con la cepa bacterianas AZO 16M2 o con DA30, mostraron una disminución en el número total de nemátodos, así como el grado serevidad radicular (GSR) en plantas infectadas con de *M.incognita*.

7. En cuanto a la producción de frutos todos los tratamientos donde se aplicaron bacterias PGPRs y/o micorrizas en plantas infectadas con nemátodos, mostraron un mayor peso promedio de frutos, sobretodo el tratamiento inoculado con la cepa Act 25 en plantas infectadas. Sin embargo, los análisis de cantidad de vitamina C con esta cepa fueron muy bajos al promedio normal de una planta sana.
8. A nivel invernadero, la inoculación con bacterias promotoras de crecimiento en plantas micorrizadas de aguaymanto e infectadas con *M. incognita*, mostraron un incremento en el porcentaje de colonización micorrícica (%CM) con respecto al control T20 (planta micorrizada e infectada con el nematodo). Siendo los tratamientos con mayor %CM y con mayor número de esporas por gramo de suelo seco (Nº Esporas/g suelo seco) los tratamientos que fueron inoculados con cepas Azo 16M2 y DA30.
9. A nivel de invernadero, los tratamientos donde se usaron interacciones de hongos endomicorrícicos con la cepa diazotrófica DA30 o con la cepa Azo16M2, presentaron en la mayoría de los parámetros medidos, un mayor control sobre el desarrollo de las plantas infectadas con *M. incognita*, por lo cual podrían recomendarse como alternativa para reducir el uso de nematicidas.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Estudiar el efecto del orden en la aplicación de los inoculantes ante el efecto de la infección del nemátodo.
2. Estudiar el efecto de la cantidad de vitamina C y su relación con la infección de los nemátodos.
3. Emplear las cepas bacterias promotoras de crecimiento y hongos micorrícicos en ensayos en campo para determinar su real comportamiento como controlador de *M. incognita* en condiciones naturales.
4. Formular la adecuada aplicación del microorganismo y el hongo endomicorrícico que garantice la supervivencia de los mismos y a su vez pueda tener mayor practicidad de aplicación a nivel de campo.
5. Determinar la dosis de inoculante y la forma de inoculación que permita lograr efectos óptimos en el cultivo, ya que es muy importantes para garantizar la sobrevivencia de los microorganismos promotores de crecimiento aplicados y las micorrizas.
6. Realizar seguimientos de las poblaciones de los microorganismos y hongos inoculados en la rizósfera con ayuda de técnicas moleculares que nos permitan un seguimiento más rápido y exacto para conocer las fluctuaciones en el desarrollo del cultivo.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abad P, Favery B, Rosso N, Castagnone-Sereno P. 2003. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Molecular plant Pathology*. 217-224.
2. Alarcón J. 2002. Caracterización citogenética y respuesta al cultivo in vitro de tres accesiones de *Physalis peruviana L.* Tesis para optar el grado de Magister Scientiae. Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Agronomía. 25 p.
3. Alexander M. 1994. Introducción a la Microbiología de Suelos. AGT. Editor S. A. México p. 491.
4. Altieri M. 1999. Agroecología; bases científicas para una agricultura sustentable. Editorial NORDAN – Comunidad. Montevideo, Uruguay. 338 p.
5. Andrés, M.F.2009. Nemátodos parásitos en suelos agrícolas. Fithoma España: Revista Profesional de Sanidad Vegetal.ISSN 1131-8988, Nº 149,2003, 33-42 PP.
6. Azcon-Aguilar C., Jaizme-Vega M., y Calvet C. 2002. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil borne plant pathogens. *Mycorrhizal technology in Agriculture*. Germany. 187-197.
7. Baker R. y Cook R., (1974). Biological control of pathogens. *American Phytopathological Society*. p 433.
8. Barea J., Pozo M., y Azcón-Aguilar C. 2004. Mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria. *Springler-Verlag*, 351-371.
9. Barea J., Pozo M., y Azcón-Aguilar C. 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. 56: 1761-1778.

10. Barka E., Belarbi A., Hachet C., Nowak J. y Audran J. 2000. Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth-promoting rhizobacteria. Federation of European Microbiological Societies. 186: 91–95.
11. Bansal, R., Dahiya, R., Narula, N., y Jain, R. 2005. Effect of volatile fatty acids on embryogenesis and hatching of *Meloidogyne incognita* eggs. Nematología Mediterránea. 31:135-140.
12. Bean A. 2006. *Physalis* (Solanaceae) in Australia - nomenclature and identification. Austral. Systemic Botany Society. 127: 6-9.
13. Bernal, J. 1986. Ciencia y Agricultura: "Generalidades sobre el cultivo de la Uchuva". Facultad de Ciencias Agropecuarias UTPC-TUNJA. Editorial Rana y el ÁGUILA. Colombia.
14. Besserer, A. Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. Plos Biol. 4. Pag. 1239-1247.
15. Bhatti D. y Jain R. Estimation of loss in okra, tomato and primal yield due to *Meloidogyne incognita*. Indian J Nematology. 7:37-41
16. Bridge, J. and Page, S. L. J.; Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a rating chart; Tropical Pest Management; 26:296–298; 1980.
17. Brito, D. (2002). Producción de uvilla para exportación. Agroexportación de productos no tradicionales (p.10). Quito, Ecuador: Fundación Aliñambi.
18. Brundrett M, Bougher N, Dell B, Grove T. y Malajczuk N. 1996. Working with Microrrizas in Forestry and Agriculture. ACIAR (Australian Center for International Agricultural Research) Monograph.
19. Bunt, J. 1987. Mode of action nematicides. Pp. 461-468. In: Veech, J y D. Dickson (Eds.). Vistas on Nematology. Florida. USA.

20. Calvo Villegas Ivan. (2009). El cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana*) Area: Manejo integrado de cultivos/frutales de altura. Boletín técnico N°10. Proyecto Microcuenca Planton-Pacayas. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria España.
21. Camborda Zuñiga, F. 1998. Efecto de fraccionamiento de nematicidas sobre el control de *Meloidogyne incognita* bajo condiciones en invernadero y campo. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina. p 26.
22. Canto Saenz, M. 1985. Métodos de extracción y inoculación de *Pratylenchus flakkensis*, p. 57. En resumen del IX Congreso Peruano de Fitopatología. Huánuco-Perú.
23. Canto-Sáenz, M. 2010. Separatas del Curso de Nematología. Lima, Perú. Escuela de Posgrado. Especialidad de Fitopatología. Universidad Nacional Agraria La Molina.
24. Castagnone-Sereno P. 2003. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Molecular plant Pathology*. 217-224.
25. Cazalda, J. 1980. 143 Frutas Nativas. Editorial El Estudiante. UNALM-Perú.
26. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 1986. Manual de Evaluación, Selección y Manejo de sistemas Leguminosas-Rhizobium para el incremento de la fijación de nitrógeno. Vol. A, Teoría.
27. Chahal P. y Chahal, V. 1993. Effect of thuricide on the hatching of eggs root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Current Nematology*. 4: 2-247.
28. Ching Y., Chiu C., Chang F., Chen J., Hwang C., Hseu J. y Yang H. 2010. “4β-Hydroxywithanolide E from *Physalis Peruviana*. Inhibits Growth of Human Lung Cancer Cells Through DNA Damage, Apoptosis and G2/M Arrest.” *BMC Cancer* 10: 10-46.
29. Christie, J. 1970. Nemátodos de los vegetales. AID. México. 175pp.

30. Chitwood D. 2003. Nematicides. Encyclopedia of Agrochemicals. 2: 1104-1113. Columbia University Press. 18: 1321-1542.
31. Comisión del Codex Alimentarius. 2000. Organización del las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
32. Cristóbal J; Herrera-Parra E; Reyes V; Ruiz E; Tun J. y Celis T. 2010. *Glomus intradices* para el control de *Meloidogyne incognita* (Kofied y White) chitwood en condiciones protegidas. Revista de Fitosanidad. (14): 25-29.
33. Cronquis, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plantas.
34. De Troch, P. 1993. Bacterial surface polisaccharides in relation: a genetic and chemical study of *Azospirillum brasilense*. Disertaciones de la Agricultura. : 238.
35. Devine G., Eza D., Ogasuku E. y Furlong M. 2008. Uso de Insecticidas: Contexto y Consecuencias Ecológicas. Revista Perú Medicina y Salud Pública. 25(1):74-100.
36. Dostert N., Roque J., Cano A., Torre M. y Weigend M. 2011. Hoja Botánica: Aguaymanto. Proyecto Biodiverso. Primera Edición. D38/08-17.
37. Duponnois R., Neyra M. y Senghor K. 2000. "Effects of the Root-knot Nematode *Meloidogyne javanica* on the Symbiotic Relationships Between Different Strains of Rhixobia and Acacia Holosericea. European Journal of Soil Biology. 35 (2): 99-105.
38. Encina C., Ureña M. y Ritva P. 2004. Determinación de compuestos bioactivos del aguaymanto (*Physalis peruviana*, L. 1753) y de su conserva en almíbar maximizando la retención de ácido ascórbico. Revista ECIPERU. (1):6-9.
39. Encinas C. 2005. Determinación de la máxima retención de Ácido Ascorbico de la conserva de Aguaymanto (*Physalis peruviana*) en el almibar aplicando los métodos de Taguchi y Superficie de Respuesta. Tesis para optar por el Título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Agronomía. P 10.

40. Essaid, A., Belarbi A., Hachet C., Nowak J. y Audran J. 2000. Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth promoting rhizobacteria. *FEMS Microb. Letters* 71 (4): 92 – 95.
41. Essaid, A., Belarbi A., Hachet C., Nowak J. y Audran J. 2000. Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth promoting rhizobacteria. *FEMS Microb. Letters* 71 (4): 92 – 95.
42. Eunice N., Arbeláez G. y Navarro R. 2008. Efecto de diferentes densidades poblacionales de *Meloidogyne hapla* sobre uchuva (*Physalis peruviana* L.) en invernadero. *Agronomía Colombiana*, Vol 26. (1). 58-67.
43. Ezziyyani M., Pérez C., Requena M., Ahmed A. y Candela M. 2004. Evaluación del biocontrol de *Phytophthora capsici* en pimiento (*Capsicum annum* L.) por tratamiento con *Burkholderia cepacia*. *Anales de Biología* 26: 61-68.
44. Falconí C. 1999. Control biológico de plagas, enfermedades, malezas y nematodos fitopatógenos de cultivos en el Ecuador. Centro de Diagnóstico y control biológico. Universidad San Francisco de Quito. p 123.
45. Farfan M. 2011. Comportamiento del Nemátodo Del Nódulo *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949 con 12 Productos Químicos. Tesis para optar el grado de Magister en Scientiae en Fitopatología. Universidad Nacional Agraria La Molina.
46. Faske T. y Starr J. (2006). Sensitivity of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* to abamectin. *Journal Nematology*. 38:240–244.
47. Fernández Y., Villa P., Frias A. y Díaz M. 1998. Evaluación de diferentes métodos para la producción de metabolitos secundarios a partir de dos cepas de *Pseudomonas sp.* Seminario Científico Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Programa y Resúmenes.-La Habana. 189.
48. Fester T. 1999. Accumulation of secondary compounds in barley and wheat roots in response to inoculation with an arbuscular mycorrhizal fungus and co-inoculation with rhizosphere bacteria. *Mycorrhiza*, New York, Vol. 8, (5): 241-246.

49. Fisher G., Flórez V. y Sora A. 2000. Producción, Post- cosecha y exportación de la Uchuva. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía.
50. Fisher G., Romero D., Piedrahíta, W. y Romero J. 2005. Avances en cultivo poscosecha y exportación de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) en Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Bogota. Colombia.
51. Florez J., Fischer G. y Sora A. 2000. Cultivo, Post-cosecha y Exportación de la Uchuva (*Physalis peruviana* L.). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía. Bogotá. Colombia.
52. Franco, P. y Gonzales, V. Pérdidas causadas por el nemátodo Quiste de la papa (*Globodera* sp) en Bolivia y Perú. 2011. Revista Latinoamericana de la papa. Vol. 16 (2): 235.
53. Franco-Correa M. 1999. Aislamiento, Caracterización y Evaluación de *Actinomycetes* inhibidores de algunos hongos fitopatógenos. Tesis de Maestría en Microbiología, Departamento de química, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia. Pp. 86.
54. Franco-Correa M. 2008. Evaluación de caracteres PGPR en actinomicetos e interacciones de estas rizobacterias con hongos formadores de micorrizas. Tesis Doctoral, Departamento de Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. pp. 50-160.
55. Garbeva P., Van Veen J. y Elsas J. 2003. Predominant *Bacillus* spp. In the agricultural soil under different management regimes detected via PCR- DGGE. *Microb. Ecol.* 45(3): 302-316.
56. Giannakou I., Karpouzas G. y Prophetou D. 2004. A novel non-chemical nematicide for the control of root-knot nematodes. *Applied Soil Ecology.* 26: 69-79.
57. Giovannetti M., Sbraba C. y Avio L. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungal mycelium: from germlings to hyphal networks. *Mycorrhizal Technology in Agriculture.* Birkhauser. (1): 49-58.

58. Glick B., Todoroviv B., Czarny J., Chen Z., Duan J. y McConkey B. 2007. Promotion of Plant Growth by Bacterial ACC Deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 26:227-242.
59. Gokta N. y Swarup G . 1988. On the potential of some bacterial biocides against root-knot cyst nematodes. *Indian Journal Nematology* .18: 152–153.
60. Gómez L., Rodríguez M., De La Noval B. y Hernández M. 2008. Interacción entre ECOMIC y una población cubana de *Meloidogyne incognita* en tomate. *Revista Protección vegetal*. 23(2):90-98.
61. Hansen A, Sunding P. 1993. Flora of Macaronesia. Checklist of vascular plants. 4. revised edition. *Sommerfeltia* 17: 1-295.
62. Hassan S., Elsheikh M. y Yassin A. 2009. Effects of Interaction between Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal (VAM) Fungi and Root-Kknot Nematodes on Dolichos Bean plants. *American- Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*. 3(4): 678-683.
63. Hawkes G. 1991. Centros de diversidad genética vegetal en Latinoamerica. *Diversity*. 7 (1-2): 7-9.
64. Hernández, A.; Hernández, A. y Fernández, A. 1998. Identificación de cepas *Pseudomonas fluorecens* y *Pseudomonas cepacia* asiladas de la rizosfera de maíz. *Cultivos tropicales*. 19(1):5-8.
65. Hussey, R. y Barker, R.1973. A comparison of methods of collecting and inoculation of *Meloidogyne* spp. *Plant Disease*. 57:1020-1028.
66. Hussey, S. y Janssen, G. 2001. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species. *Plant Resistance to Parasitic Nematodes*. UK. CAB International. p. 43- 70.
67. Ismail A. y Fadel M. (1999). Field application of three local isolates of *Bacillus thuringiensis* for controlling the citrus nematode, *Tylenchus semipenetrans*. *Egyptian Journal. Biological Pest Control*. 9 (1): 21-27.

68. Itzigsohn R., Burdman S. y Okon Y. 2000. Plant growth promotion in natural pastures by inoculation with *Azospirillum brasilense* under suboptimal growth conditions. *Arid Soil Research and Rehabilitation*. 13: 151-158.
69. Kennedy C. 1999. Bacterial diversity in agroecosystems. *Agriculture Ecosystems and Environmental*. 74:65-76.
70. Kiewnick S. y Sikora R. 2006. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. *Biol. Cont.* 38, 179-187.
71. Klöpper J, Rodriguez-Kabana R, Mcinroy A y Young R. (1993). Rhizosphere bacteria antagonistic to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root-knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes: identification by fatty acid analysis and frequency of biological control activity. *Plant Soil*. 139: 75–84.
72. Klöpper J. y Schroth N. 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: *Proceedings of the fourth International Conference on Plant pathogenic bacteria*. INRA. Angers. (2): 879–882.
73. Kofoid D. *Meloidogyne Incognita*. (2010). “Control Biológico *Glomus intraradices* para el control”. 14 (1): 25–29.
74. Kokalis-Burelle N., Vavrina E., Roskopf E. y Shelby R. 2002. Field evaluation of plant growth-promoting rhizobacteria amended transplant mixed and soil solarization for tomato and pepper production in Florida. *Plant soil*. 238: 257-266.
75. Krupa S., y Dommergues Y. 1981. *Ecology of root pathogens*; 2da. Edic. Elsevier scientific publishing company. EEUU. pp270.
76. Legge, A. (1974). Notes on the history, cultivation and uses of *Physalis peruviana* L. *Journal of the Royal Horticultural Society*, 99(7), 310–314.
77. Lioussanne, L. 2010. Review. The Role of the Arbuscular Mycorrhiza-associated Rhizobacteria in the Biocontrol of Soilborne Phytopathogens. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 8 (S1):S51–S55.

78. Liu R. Dai M., Wu X., Li M. y Liu W. (2012). Suppression of the root- knot nematode [*Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood] on tomato by dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria Mycorrhiza. 22 (4): 289-296.
79. Lolaei A, Zamani S, Ahmandian E., y Mobasheri S. 2013. Effect of Methyl Jasmonate on the composition of yield and growth of strawberry. International Journal of Agriculture and Crop science. 5(3), 200-2006.
80. Luiz E., Azcon R., Barea M., Saggin-Júnior O. y Ribeiro da E. 2007. Indolacetic acid production by Indolacetic acid production by P-solubilizing microorganisms and interaction with arbuscular mycorrhizal fungi. Maringá. 29(3) : 315-320.
81. Madriñan C. 2010. Caracterización morfológica de accesiones de *Physalis peruviana* L. del banco de germoplasma de la Universidad de Colombia sede Palmir. Tesis para optar el grado de Magister en Ciencias. Pp. 23
82. Margraf V. y Krieger J. 2001. "Agricultural Impact of Nematodes". Academic Press San Diego. 17 : 1104–1115.
83. Marin Z., Cortes M. y Montoya O. 2010. Frutos de Uchuva (*Physalis peruviana* L.) Ecotipo 'Colombia' Minimamente Procesados, Adicionados con Microorganismos Probióticos Utilizando la Ingeniería de Matrices. Revista de la Facultad Nacional de Agricultura de Medellín. 63: 5395-5407
84. Marquéz M., Torres L. y Escobar M. 2003. Evaluación del efecto nematocida de cepas de *Bacillus* spp. Revista de Fitosanidad. 7: 55-58.
85. Martínez M., y Franco M. 2003. Aislamiento de *Trichoderma* sp. y actinomicetes a partir de suelos de clavel (*Dianthus caryophyllus*) y evaluación de su capacidad antagónica in vitro sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Revista Agronomía Colombiana. 19: 81-88.

86. Martínez R., Dibut B., Casanova I. y Ortega M. 1997. Acción estimuladora de *Azotobacter chroococcum* sobre el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mil.) en suelo Ferralítico Rojo. Efecto sobre el semillero. Revista de Agrotecnia de Cuba. 27 (1): 23.
87. Medina M., Aviña G., y Pereyra J. 2015. Revisión de flavonoides identificados en el género *Physalis* (Solanaceae), y capacidad antioxidante e importancia como marcadores químicos. Revista Naturaleza y Desarrollo. 12 (1): 16-27.
88. Mekete T., Iman J., Kiewnick S. y Sikora R. (2009) Endophytic bacteria from Ethiopian coffee plants and their potential to antagonize *Meloidogyne incognita*. Nematology. 11 (1): 117-127.
89. Meon, S., Wallace, H. R. y Fisher, J. R. (1978) Water relations of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill cv. Early Dwarf Red) infected with *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. Physiol. Plant. Pathol. 13:275-281
90. MINAG (Ministerio de Agricultura, PE). 2012. Fichas técnicas: Aguaymanto En:<http://www.minag.gob.pe/download/pdf/sectoragrario/agricola/lineasdecultivosemergentes/AGUAYMANTO.pdf>.
91. Mincetur-Promperu. 2010. Guía de requisitos sanitarios y fitosanitarios para exportar alimentos a la Unión Europea. Primera Edición. pp12.
92. Miranda D., Fischer G. y Ulrichs C. 2011. The influence of arbuscular mycorrhizal colonization on the growth parameters of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) plants grown in a saline soil. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 11 (2): 18-30.
93. Mohamed H. and Kamal A. 2011. Management of the Root-knot Nematode *Meloidogyne Incognita* on Tomato with Combinations of Different Biocontrol Organisms. Crop Protection 30 (3) (March): 285–292.
94. Moreno Díaz, P. 1987. Endomicorrizas en Papa (*Solanum sp*). Efecto en el crecimiento y Estado Nutricional de Plantas Inoculadas. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae. Universidad Nacional Agraria La Molina.

95. Morgan J., Bending G. y White P. 2005. Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of experimental botany*. 56, 1729–1739.
96. Munif A., Hallmann J. y Sikora R. 2013. The influence of endophytic bacteria on *Meloidogyne incognita* infection and tomato plant growth. *J. ISSAAS Vol.19, N|2:68-74*.
97. Nagesh M., Asokan R. y Mohan K. 2005. Partial characterization of novel nematicidal toxins from *Bacillus cereus* and their effect on root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood. *Journal of Biological Control*. 19 (1), 65-69.
98. Nannipieri J., Ascher M., Ceccherini L., Landi, G., Pietramellara G., y Renella G. 2003. Microbial Diversity and Soil Functions. *European Journal of Soil Science*. 54: 655–670.
99. National Research council (NRC).1989.Lost Crop of the Incas. Little-Plants of the Andes with promise for world wide Cultivation. National Academy Press. Washington D.C.USA. 250p.
- 100.Nico A. 2002. Incidencia y patogenicidad de nematodos fitopatógenos en plántones de olivo (*Olea europea* L.) en viveros de Andalucía, y estrategias para su control.
- 101.Nico, A., Jimenez R., Castilla P. 2004. Control of root nematodes by composted agro-industrial wastes in potting mixtures. *Crop Prot*. 23, 581-587.
- 102.Nowak, J. y Lazarovits, G. 1997. Rizobacteria for improvement of plant growth and establishment. *Hort. Sci*. 32: 188-192.
- 103.Nowak, J., Asiedu, S., Bensalim, S., Richards, J., Stewart, A., Smith, C., Stevens, D. y Sturz, A. 1998. From laboratory to applications: challenges and progress with in vitro dual cultures of potato and beneficial bacteria. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 52: 97-103.

- 104.Ogata K. y Zúñiga D. 2008. Efecto de diferentes bacterias aisladas de rizósfera de *Caesalpinia spinosa* en la germinación de diferentes cultivos. *Revista Zonas Áridas* 12(1):137-153.
- 105.Paksi, AM, Kassai T, Lugasi A, Ombódi A, Dimény J. 2007. *Physalis peruviana* L. an alternative crop for small scale farms. *Cereal Research Communications*. 35(2/):877-880.
- 106.Palacios, J. 1993. "Plantas Medicinales Nativas del Perú". CONCYTEC-Perú.
- 107.Pankaj, K., Bansal, R., y Nandal, S. 2010. Biocontrol of *Meloidogyne graminícola* using *Rhizobacteria* on rice seedlings. *Nematology mediterranea*. 38:115-119.
- 108.Parniske- Martin. 2008. Arbuscular Mycorrhiza: The Mother of Plant Root Endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*. 6 (10): 763–75.
109. Perry M. 1980. Medicinal plants of east and Southeast Asia: attributed properties and uses. The Mit press Cambridge Massachusetts London England.393.
- 110.Phillips J. y Hayman D. 1970. Improved procedures for clearing roots and vesicular-arbuscular fungi for rapid assessment of the infection. *Transactions of the British Mycological. Society*. 55: 158-161.
- 111.Pinton R., Varanini Z., Nannipieri P. (eds) 2001. *The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the oil-plant interface*. New York.
- 112.Pornthip R., Hartmut L., Nuchanart T. y Saisamom L. 2011. Nematicidal activity of *Fervenulin* actinomicete, *Streptomyces* sp. CMU-MH021, on *Meloidogyne incógnita*. *World J Micro Biotechnol*. 27(6): 1373-1380.
- 113.Praveen K., Kishore N., Daniel Amalraj., Hassan M., Rasul A. y Desai S. 2012. Evaluation of fluorescent *Pseudomonas* spp. With single and multiple PGPR traits for plant growth promotion of sorghum in combination with AM fungi. *Plant Growth Regul*. 67:133-140.

114. Piedadmag R, Fernando J y Hernández M. 2007. Eficiencia de Nematicidas Biológicos en el control de *Meloidogyne incognita* en tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bajo invernadero, en Socapamba Imbabur. Universidad Técnica del Norte. Ecuador.
115. Puente L., Castro E. y Cortes M. 2011. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review, Food Research International, In Press, Corrected Proof.
116. Quispe M., Callacondo D., Rojas J., Zavala D., Posso M., y Vaisberg A. 2009. Actividad citotóxica de *Physalis peruviana* (aguaymanto) en cultivos celulares de adenocarcinoma colorectal, próstata y leukemia mieloide crónica. Revista de Gastroenterología del Perú. Vol. 29. N°3. 239-246.
117. Raghava RP, Murty YS. 1987 Studies on the floral biology of *Physalis peruviana* and: *angulata* Geobios New Rep. 6. 47-50.
118. Reimann, S. 2005. The interrelationships between rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi and their importance in the integrated management of nematodes and soilborne plant pathogens. Tesis para optar el grado de Magister. Universidad de Alemania.
119. Requena, A. 2013. Control Biológico de *Meloidogyne incognita* en Pimiento (*Capsicum annuum*). Universidad Politécnica de Cartagena- España. Departamento de Ciencias y Tecnología Agraria. Tesis Doctoral.
120. Roca Páucar, J. 2013. Experiencias en el cultivo de Aguaymanto ecotipo Colombiano, en condiciones de costa central. Distrito Vegueta. Huaralima. Trabajo Monográfico para optar por el título de Ingeniero Agrónomo.
121. Ruiz-Lozano J. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies Mycorrhiza 13: 309-317.
122. Salazar MR, Chaves-Cordoba B, Cooman A, Jones JW. 2006. A simple phenological and potential production model for cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). Acta horticulturae. 718:105-112.

- 123.Schreiber F. 2012. Estudio de prefactibilidad para la producción y comercialización de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) en condiciones de valles andinos. Siera Exportadora. Lima-Perú.
- 124.Schubler A., Schwarzott D. y Walker C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*. 105: 1413-1421.
- 125.Selosse M. y Rousset. 2011. The Plant-Fungal Marketplace. *Science*. Vol.333. 823-824.
- 126.Siddiqui A y Mahmood I. 1999. Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes. *Bioresource Technology*. 69: 167–179.
- 127.Siddiqui A. y Sayeed A. 2009. Effects of antagonistic fungi, plant growth-promoting rhizobacteria, and arbuscular mycorrhizal fungi alone and in combination on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. *The Phytopathological Society of Japan and Springer*. 75:144-153.
- 128.Siddiqui A. y Shaukat, S. 2002. Rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance (ISR) in tomato against *Meloidogyne javanica*. *Phytopathology*. 150: 469-473.
- 129.Siddiqui A. 2006. PGPR: prospective biocontrol agents of plant pathogens. *Biocontrol and Biofertilization*. Springer, The Netherlands. 111-142.
- 130.Siddiqui A., Oureshi S., Sultana V., Ehteshamul-Haque S. y Ghaffar, A. 2000. Biological control of root rot-knot disease complex of tomato. *Plant Soil*. 227: 163-169.
- 131.Sieverding E. 1983. Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular en el laboratorio. Centro Internacional de Agricultura Tropical. 123.
- 132.Smith S. y Read D. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis*. San Diego: Academic Press. Pp 26-160.

- 133.Sullivan R. 2004 .The genus *Physalis* (Solanaceae) in the southeastern United States. *Rhodora*. 106. 305-326.
- 134.Sasser J. y Taylor L. 1983. Biología, identificación y control de nemátodos de nódulo de la raíz. Proyecto Internacional de *Meloidogyne* spp. Publicación Cooperativa entre el Departamento de Fitopatología de la Universidad del Estado de Carolina del Norte y La Agencia de EEUU para el desarrollo Internacional.pp.111
135. Tian B., Yang J. y Zhang K. 2007. Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes: populations, mechanisms of action, and future prospects. *FEMS Microbial Ecology*. 61. 197–213.
- 136.Tokala K., Strap C., Jung D., Crawford D., Salove M., Deobald L., Bailey J. y Morra M. 2002. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). *Applied and Environmental Microbiology* 68:2161-2171.
- 137.Tommerup I. 1988. The vesicular-arbuscular, mycorrhizal fungi. *Methodos in Microbiology*. Vol 24. Techniques for the study of Micorrhiza. Academic Press. London, 23-45.
- 138.Trillos O., Cotes M., Medina C., Lobo M. y Navas A. 2008. Caracterización de cuarenta y seis accesiones de uchuva (*Physalis peruviana* L.), en Antioquia. *Revista de Brasil de Fruticultura Jaboticabal*. 30 (3):708-715.
- 139.Urrea R., Cabezas L., Sierra R., Cárdenas M., Restrepo S. y Jiménez, P. 2011. Selection of antagonistic bacteria isolated from the *Physalis peruviana* rhizosphere against *Fusarium oxysporum*. *Journal of Applied Microbiology*. 111(3): 707-716.
- 140.Utobo E., Ogbodo E. y Nwogbaga A. 2011. Techniques for Extraction and Quantificacion of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Libyan Agriculture Reserch Center Journal International*. 2 (2): 68-78.

141. Van Tichelen K., Colpaert J. y Vangronsveld J. 2001. Ectomycorrhizal protection of *Pinus Sylvestris* against copper toxicity. *New Phytologist*. 150: 203-113.
142. Vera Obando, N. 2014. Técnicas molecular de PCR para identificar las principales especies de *Meloidogyne* spp. En poblaciones provenientes de Perú. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae en Fitopatología.
143. Verhaeven, Myrtille. 2014. Root-Knot nematodes in Tanzania: biocontrol and species characterization based on isozyme phenotypes and mitochondrial sequences. Thesis submitted to obtain the degree of Master in Biology. Universiteit Gent.
144. Wolucka B, Goossens A., y Inze D. 2005. Methyl jasmonate stimulates the de novo biosynthesis of vitamin C in plant cell suspensions. *Journal of experimental botany*. 56, Nº 149, pp 22527-2538.
145. Wu S., Ng L., Chen C., Lin D. y Wang S. 2010. Antihepatoma activity of *Physalis angulata* and *P. peruviana* extracts and their effects on apoptosis in human Hep G2 cells. *Life Science Elsevier*. 74:2061–73.
146. Xiurong W., Pan Q., Chen F., Yan X. y Liao H. 2011. Effects of Co-inoculation with Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizobia on Soybean Growth as Related to Root Architecture and Availability of N and P. *Journal Mycorrhiza* 21 (3): 173–81.
147. Yang J., Tain B., Liang L., y Zhang K. 2007. Extracellular enzymes and the pathogenesis of nematophagous fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 75; 21-31.
148. Yuyang, Zang. 2012. Ascorbic acid in plants, biosynthesis, regulation and enhancement. *Springer briefs in plants science*. Pag. 22-25.
149. Zukerman M., Dicklow M. y Acosta N. 1993. A strain of *Bacillus thuringiensis* for the control of plant-parasitic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*. 3 (1): 41-46.

X. ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: ESTADISTICA

1. ANOVA SIMPLE - % GERMINACIÓN POR TRATAMIENTOS

Tabla anova para % germinación por tratamientos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2307.56	8	288.444	5.53	0.0003
Intra grupos	1408.0	27	52.1481		
Total (Corr.)	3715.56	35			

Pruebas de Múltiple Rangos para % GERMINACIÓN por TRATAMIENTOS

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>TRATAMIENTOS</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Control	4	69.0	X
Ps42	4	70.0	XX
AZO16M2	4	71.0	XX
PA22	4	75.0	XXX
Act12	4	80.0	XXX
Ba14	4	83.0	XX
DA30	4	84.0	XXX
Bac15mb	4	86.0	XX
Aa25	4	94.0	X

2. ANOVA SIMPLE - % EMERGENCIA 8 DIAS POR TRATAMIENTOS

Tabla ANOVA para % EMERGENCIA 8 DIAS por TRATAMIENTOS

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	6044.44	8	755.556	2.27	0.0447
Intra grupos	12000.0	36	333.333		
Total (Corr.)	18044.4	44			

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>TRATAMIENTOS</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Control	5	48.0	X
PA22	5	60.0	XX
Ps42	5	68.0	XXX
BAC15Mb	5	68.0	XXX
BAC14	5	72.0	XX
AZO16M2	5	72.0	XX
Act12	5	80.0	XX
DA30	5	84.0	X
Aa 25	5	88.0	X

3. ANOVA SIMPLE - ALTURA 8 DDS POR TRATAMIENTOS

Resumen Estadístico para ALTURA 8 DDS

<i>TRATAMIENTOS</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Coefficiente de Variación</i>	<i>Mínimo</i>
AZO16M2	5	0.692	0.0571839	8.26357%	0.62
Aa 25	5	0.682	0.0917606	13.4546%	0.57
Act12	5	0.648	0.113446	17.5071%	0.5
BAC14	5	0.894	0.274554	30.7108%	0.66
BAC15Mb	5	0.596	0.124419	20.8756%	0.38
Control	5	0.28	0.223495	79.8196%	0
DA30	5	0.718	0.0852643	11.8752%	0.63
PA22	5	0.538	0.173695	32.2853%	0.37
Ps42	5	0.444	0.142934	32.1922%	0.2
Total	45	0.610222	0.220046	36.06%	0

Tabla ANOVA para ALTURA 8 DDS por TRATAMIENTOS

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1.23754	8	0.154692	6.24	0.0000
Intra grupos	0.89296	36	0.0248044		
Total (Corr.)	2.1305	44			

Pruebas de Múltiple Rangos para ALTURA 8 DDS por TRATAMIENTOS

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Control	5	0.28	X
Ps42	5	0.444	XX
PA22	5	0.538	XX
BAC15Mb	5	0.596	XX
Act12	5	0.648	X
Aa 25	5	0.682	X
AZO16M2	5	0.692	XX
DA30	5	0.718	XX
BAC14	5	0.894	X

4. ANOVA SIMPLE - PESO FRESCO RADICULAR POR TRATAMIENTOS

Resumen Estadístico para PESO FRESCO RADICULAR

tratamientos	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Mínimo	Máximo
0	3	81.3	8.78465	10.8052%	73.0	90.5
10 000	3	57.1667	2.3029	4.02839%	55.2	59.7
1000	3	73.9667	21.3346	28.8435%	51.2	93.5
20 000	3	60.5	4.57056	7.55464%	55.7	64.8
3000	3	62.8667	6.98737	11.1146%	58.2	70.9
5000	3	36.6	23.4911	64.1832%	10.0	54.5
Total	18	62.0667	18.5978	29.9642%	10.0	93.5

Tabla ANOVA para PESO FRESCO RADICULAR por tratamientos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3561.56	5	712.312	3.69	0.0297
Intra grupos	2318.36	12	193.197		
Total (Corr.)	5879.92	17			

Método: 95.0 porcentaje LSD

tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
5000	3	36.6	X
10 000	3	57.1667	XX
20 000	3	60.5	XX
3000	3	62.8667	X
1000	3	73.9667	X
0	3	81.3	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 10 000		24.1333	24.7272

0 - 1000		7.33333	24.7272
0 - 20 000		20.8	24.7272
0 - 3000		18.43333	24.7272
0 - 5000	*	44.7	24.7272
10 000 - 1000		-16.8	24.7272
10 000 - 20 000		-3.333333	24.7272
10 000 - 3000		-5.7	24.7272
10 000 - 5000		20.5667	24.7272
1000 - 20 000		13.4667	24.7272
1000 - 3000		11.1	24.7272
1000 - 5000	*	37.3667	24.7272
20 000 - 3000		-2.36667	24.7272
20 000 - 5000		23.9	24.7272
3000 - 5000	*	26.2667	24.7272

* indica una diferencia significativa.

5. ANOVA SIMPLE - GRADO DE INFESTACION POR TRATAMIENTOS

Resumen Estadístico para GRADO DE INFESTACION

tratamientos	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo
0	3	0	0	%	0	0
10 000	3	3.66667	0.57735	15.7459%	3.0	4.0
1000	3	2.66667	0.57735	21.6506%	2.0	3.0
20 000	3	4.33333	0.57735	13.3235%	4.0	5.0
3000	3	3.0	0	0%	3.0	3.0
5000	3	4.66667	0.57735	12.3718%	4.0	5.0
Total	18	3.05556	1.62597	53.2137%	0	5.0

Tabla ANOVA para GRADO DE INFESTACION por tratamientos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	42.2778	5	8.45556	38.05	0.0000
Intra grupos	2.66667	12	0.222222		
Total (Corr.)	44.9444	17			

Pruebas de Múltiple Rangos para GRADO DE INFESTACION por tratamientos

Método: 95.0 porcentaje LSD

tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	0	X
1000	3	2.66667	X
3000	3	3.0	XX
10 000	3	3.66667	XX
20 000	3	4.33333	XX
5000	3	4.66667	X

6. ANOVA SIMPLE - ALTURA POR TRATAMIENTO

Resumen Estadístico para ALTURA

TRATAMIENTO	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación
Act 12 + Nem + Mic T18	5	104.0	10.8397	10.4228%
Act 12 + Nem T10	5	94.1	7.64362	8.12287%
BA 14 + Nem T5	5	100.6	9.2358	9.18072%
CONT NEMAT T2	5	74.8	10.5688	14.1294%
CONTROL T1	5	110.3	10.1895	9.23795%
Ps 22 + Nem T9	5	96.3	11.8933	12.3502%
Ps 42+ Nem T8	5	77.55	15.7146	20.2639%
Aa 25 + Nem + Mic T19	5	90.45	9.93793	10.9872%
Aa 25+ Nem T11	5	102.6	10.1452	9.88811%
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	4	113.625	5.97739	5.26063%
Azo 16M2 + Nem T6	5	90.9	9.21548	10.138%
BA 14 +Nem + Mico T13	4	108.625	7.87798	7.25245%
Bac 15Mb + Nem T4	5	96.85	5.77062	5.9583%
Bac 16M5b + Nem + Mico T12	5	80.0	3.79144	4.7393%
CONT MICOR T3	4	101.125	7.1458	7.06631%
DA 30 + Nem T7	5	90.6	8.81334	9.72775%
DA30 + Nem + Mic T15	4	116.688	9.71977	8.32975%
Mico + Nem T20	5	88.7	10.4976	11.835%
PA 22 + Nem + Mic T17	5	104.2	14.0561	13.4896%
Ps 42 + Nem + Mic T16	5	100.5	8.95824	8.91367%
Total	96	96.5885	14.1813	14.6822%

Tabla ANOVA para ALTURA por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	11715.0	19	616.577	6.34	0.0000
Intra grupos	7390.53	76	97.2439		
Total (Corr.)	19105.5	95			

Pruebas de Múltiple Rangos para ALTURA por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje Duncan/ LSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
CONT NEMAT T2	5	74.8	X
Ps 42+ Nem T8	5	77.55	XX
Bac 15Mb + Nem + Mic T12	5	80.0	XXX
Mico + Nem T20	5	88.7	XXX
Aa 25 + Nem + Mic T19	5	90.45	XXX
DA 30 + Nem T7	5	90.6	XXX
Azo 16M2 + Nem T6	5	90.9	XXX
Act 12 + Nem T10	5	94.1	XXX
Ps 22 + Nem T9	5	96.3	XXXX
Bac 15Mb + Nem T4	5	96.85	XXXX

Ps 42 + Nem + Mic T16	5	100.5	XXXXXX
BA 14 + Nem T5	5	100.6	XXXXXX
CONT MICOR T3	4	101.125	XXXXXX
Aa 25+ Nem T11	5	102.6	XXXX
Act 12 + Nem + Mic T18	5	104.0	XXXX
PA 22 + Nem + Mic T17	5	104.2	XXXX
BA 14 +Nem + Mic T13	4	108.625	XXX
CONTROL T1	5	110.3	XX
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	4	113.625	XX
DA30 + Nem + Mic T15	4	116.688	X

7. ANOVA SIMPLE - PFA POR TRATAMIENTO

Resumen Estadístico para PFA

TRATAMIENTO	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
Act 12 + Nem + Mic T18	5	36.7	8.67554	23.6391%
Act 12 + Nem T10	5	31.69	7.79578	24.6001%
BA 14 + Nem T5	5	36.43	5.59694	15.3635%
CONT NEMAT T2	5	24.33	6.49429	26.6925%
CONTROL T1	5	38.5	5.15837	13.3984%
Ps 22 + Nem T9	5	30.49	5.73164	18.7984%
Ps 42+ Nem T8	5	35.0	20.4369	58.3913%
Aa 25 + Nem + Mic T19	5	32.09	10.8578	33.8355%
Aa 25+ Nem T11	5	40.19	10.7752	26.8107%
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	4	42.1125	7.17651	17.0413%
Azo 16M2 + Nem T6	4	31.4875	5.85397	18.5914%
BA 14 +Nem + Mico T13	4	40.2125	10.8967	27.0977%
Bac 15Mb + Nem T4	5	36.71	3.86481	10.5279%
Bac 16M5b + Nem + Mico T12	5	26.1	5.96532	22.8556%
CONT MICOR T3	4	34.3625	2.7539	8.01426%
DA 30 + Nem T7	5	28.93	3.63105	12.5511%
DA30 + Nem + Mic T15	5	38.07	8.10676	21.2943%
Mico + Nem T20	5	26.91	5.91454	21.979%
PA 22 + Nem + Mic T17	5	34.81	11.6729	33.5332%
Ps 42 + Nem + Mic T16	5	35.38	9.8103	27.7284%
Total	96	33.8995	9.24015	27.2575%

Tabla ANOVA para PFA por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2204.57	19	116.03	1.49	0.1125
Intra grupos	5906.57	76	77.718		

Pruebas de Múltiple Rangos para PFA por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje Duncan

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
CONT NEMAT T2	5	24.33	X
Bac 16M5b + Nem + Mico T12	5	26.1	XX
Mico + Nem T20	5	26.91	XXX

DA 30 + Nem T7	5	28.93	XXXX
Ps 22 + Nem T9	5	30.49	XXXX
Azo 16M2 + Nem T6	4	31.4875	XXXX
Act 12 + Nem T10	5	31.69	XXXX
Aa 25 + Nem + Mic T19	5	32.09	XXXX
CONT MICOR T3	4	34.3625	XXXX
PA 22 + Nem + Mic T17	5	34.81	XXXX
Ps 42+ Nem T8	5	35.0	XXXX
Ps 42 + Nem + Mic T16	5	35.38	XXXX
BA 14 + Nem T5	5	36.43	XXXX
Act 12 + Nem + Mic T18	5	36.7	XXXX
Bac 15Mb + Nem T4	5	36.71	XXXX
DA30 + Nem + Mic T15	5	38.07	XXXX
CONTROL T1	5	38.5	XXX
Aa 25+ Nem T11	5	40.19	XX
BA 14 +Nem + Mico T13	4	40.2125	XX
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	4	42.1125	X

8. ANOVA SIMPLE - PFR POR TRATAMIENTO

Resumen Estadístico para PFR

TRATAMIENTO	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
Act 12 + Nem + Mic T18	5	22.598	6.97778	30.8779%
Act 12 + Nem T10	5	23.51	5.666	24.1004%
BA 14 + Nem T5	5	26.11	4.44544	17.0258%
CONT NEMAT T2	5	14.812	3.30987	22.3459%
CONTROL T1	5	30.826	6.31445	20.4842%
Ps 22 + Nem T9	5	24.244	3.2972	13.6001%
Ps 42+ Nem T8	5	19.558	7.88455	40.3137%
Aa 25 + Nem + Mic T19	5	19.026	5.36001	28.172%
Aa 25+ Nem T11	5	26.532	5.24613	19.7729%
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	4	26.71	5.86889	21.9726%
Azo 16M2 + Nem T6	5	20.982	6.99062	33.3172%
BA 14 +Nem + Mico T13	4	26.505	4.68416	17.6727%
Bac 15Mb + Nem T4	5	25.702	5.85688	22.7876%
Bac 16M5b + Nem + Mico T12	5	19.176	2.18924	11.4166%
CONT MICOR T3	5	26.586	8.92998	33.589%
DA 30 + Nem T7	5	22.436	5.56166	24.789%
DA30 + Nem + Mic T15	5	20.796	4.85487	23.3452%
Mico + Nem T20	5	15.268	3.8702	25.3484%
PA 22 + Nem + Mic T17	5	24.919	11.1822	44.8744%
Ps 42 + Nem + Mic T16	5	21.109	5.26516	24.9427%
Total	98	22.794	6.74062	29.5719%

Tabla ANOVA para PFR por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1555.63	19	81.8755	2.24	0.0070
Intra grupos	2851.66	78	36.5597		

Total (Corr.)	4407.29	97			
---------------	---------	----	--	--	--

Pruebas de Múltiple Rangos para PFR por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje Duncan

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
CONT NEMAT T2	5	14.812	X
Mico + Nem T20	5	15.268	XX
Aa 25 + Nem + Mic T19	5	19.026	XXX
Bac 16M5b + Nem + Mico T12	5	19.176	XXX
Ps 42+ Nem T8	5	19.558	XXX
DA30 + Nem + Mic T15	5	20.796	XXX
Azo 16M2 + Nem T6	5	20.982	XXX
Ps 42 + Nem + Mic T16	5	21.109	XXX
DA 30 + Nem T7	5	22.436	XXXX
Act 12 + Nem + Mic T18	5	22.598	XXXX
Act 12 + Nem T10	5	23.51	XXXX
Ps 22 + Nem T9	5	24.244	XXX
PA 22 + Nem + Mic T17	5	24.919	XX
Bac 15Mb + Nem T4	5	25.702	XX
BA 14 + Nem T5	5	26.11	XX
BA 14 +Nem + Mico T13	4	26.505	XX
Aa 25+ Nem T11	5	26.532	XX
CONT MICOR T3	5	26.586	XX
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	4	26.71	XX
CONTROL T1	5	30.826	X

9. ANOVA SIMPLE - PSA POR TRATAMIENTO

Resumen Estadístico para PSA

TRATAMIENTO	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
Act 12 + Nem + Mic T18	5	6.28	1.90447	30.3259%
Act 12 + Nem T10	5	4.99	1.46091	29.2767%
BA 14 + Nem T5	5	6.594	1.39765	21.1958%
CONT NEMAT T2	5	3.39	1.05558	31.1381%
CONTROL T1	5	7.2	1.04103	14.4588%
Ps 22 + Nem T9	5	5.0	1.17633	23.5266%
Ps 42+ Nem T8	5	4.04	1.56621	38.7675%
Aa 25 + Nem + Mic T19	5	5.14	2.53264	49.2731%
Aa 25+ Nem T11	5	6.34	1.77954	28.0684%
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	4	8.95	0.953939	10.6585%
Azo 16M2 + Nem T6	5	4.84	1.66486	34.3979%
BA 14 +Nem + Mico T13	4	6.475	2.21152	34.1548%
Bac 15Mb + Nem T4	5	5.55	0.552268	9.95078%
Bac 16M5b + Nem + Mico T12	5	4.03	0.419225	10.4026%
CONT MICOR T3	5	5.08	1.42285	28.0088%
DA 30 + Nem T7	5	3.98	0.985901	24.7714%
DA30 + Nem + Mic T15	5	6.87	1.22607	17.8467%
Mico + Nem T20	5	3.88	0.935147	24.1017%
PA 22 + Nem + Mic T17	5	5.5	2.13219	38.7672%

Ps 42 + Nem + Mic T16	5	5.38	2.21094	41.0955%
Total	98	5.4298	1.886	34.7342%

Tabla ANOVA para PSA por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	162.058	19	8.52938	3.64	0.0000
Intra grupos	182.969	78	2.34576		
Total (Corr.)	345.027	97			

Pruebas de Múltiple Rangos para PSA por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
CONT NEMAT T2	5	3.39	X
Mico + Nem T20	5	3.88	XX
DA 30 + Nem T7	5	3.98	XX
Bac 16M5b + Nem + Mic T12	5	4.03	XX
Ps 42+ Nem T8	5	4.04	XX
Azo 16M2 + Nem T6	5	4.84	XXX
Act 12 + Nem T10	5	4.99	XXXX
Ps 22 + Nem T9	5	5.0	XXXX
CONT MICOR T3	5	5.08	XXXX
Aa 25 + Nem + Mic T19	5	5.14	XXXX
Ps 42 + Nem + Mic T16	5	5.38	XXXX
PA 22 + Nem + Mic T17	5	5.5	XXXX
Bac 15Mb + Nem T4	5	5.55	XXXX
Act 12 + Nem + Mic T18	5	6.28	XXX
Aa 25+ Nem T11	5	6.34	XXX
BA 14 +Nem + Mic T13	4	6.475	XXX
BA 14 + Nem T5	5	6.594	XXX
DA30 + Nem + Mic T15	5	6.87	XX
CONTROL T1	5	7.2	XX
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	4	8.95	X

Pruebas de Múltiple Rangos para PSA por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje Duncan

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
CONT NEMAT T2	5	3.39	X
Mico + Nem T20	5	3.88	X
DA 30 + Nem T7	5	3.98	XX
Bac 16M5b + Nem + Mic T12	5	4.03	XXX
Ps 42+ Nem T8	5	4.04	XXX
Azo 16M2 + Nem T6	5	4.84	XXXX
Act 12 + Nem T10	5	4.99	XXXXX
Ps 22 + Nem T9	5	5.0	XXXXX
CONT MICOR T3	5	5.08	XXXXX
Aa 25 + Nem + Mic T19	5	5.14	XXXXX
Ps 42 + Nem + Mic T16	5	5.38	XXXXX
PA 22 + Nem + Mic T17	5	5.5	XXXXX
Bac 15Mb + Nem T4	5	5.55	XXXXX
Act 12 + Nem + Mic T18	5	6.28	XXXX
Aa 25+ Nem T11	5	6.34	XXX

BA 14 +Nem + Mic T13	4	6.475	XX
BA 14 + Nem T5	5	6.594	XX
DA30 + Nem + Mic T15	5	6.87	XX
CONTROL T1	5	7.2	XX
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	4	8.95	X

10. ANOVA SIMPLE - PSR POR TRATAMIENTO

Tabla ANOVA para PSR por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	28.6784	19	1.50939	2.23	0.0072
Intra grupos	52.773	78	0.676577		
Total (Corr.)	81.4514	97			

Pruebas de Múltiple Rangos para PSR por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Mico + Nem T20	5	2.078	X
CONT NEMAT T2	5	2.132	XX
Aa 25 + Nem + Mic T19	5	2.51	XXX
Bac 16M5b + Nem + Mic T12	5	2.664	XXXX
Ps 42+ Nem T8	5	2.698	XXXX
Azo 16M2 + Nem T6	5	2.854	XXXX
DA30 + Nem + Mic T15	5	2.91	XXXX
Ps 42 + Nem + Mic T16	5	2.936	XXXX
DA 30 + Nem T7	5	2.962	XXXX
Act 12 + Nem T10	5	3.15034	XXX
Act 12 + Nem + Mic T18	5	3.166	XXX
CONT MICOR T3	5	3.19	XX
Ps 22 + Nem T9	5	3.272	XX
Bac 15Mb + Nem T4	5	3.42	XXX
PA 22 + Nem + Mic T17	5	3.522	XXX
BA 14 + Nem T5	5	3.55	XX
BA 14 +Nem + Mic T13	4	3.63	XX
Aa 25+ Nem T11	5	3.634	XX
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	4	3.74	XX
CONTROL T1	5	4.344	X

Pruebas de Múltiple Rangos para PSR por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje Duncan

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Mico + Nem T20	5	2.078	X
CONT NEMAT T2	5	2.132	X
Aa 25 + Nem + Mic T19	5	2.51	XX
Bac 16M5b + Nem + Mic T12	5	2.664	XX
Ps 42+ Nem T8	5	2.698	XX

Azo 16M2 + Nem T6	5	2.854	XX
DA30 + Nem + Mic T15	5	2.91	XX
Ps 42 + Nem + Mic T16	5	2.936	XX
DA 30 + Nem T7	5	2.962	XX
Act 12 + Nem T10	5	3.15034	XXX
Act 12 + Nem + Mic T18	5	3.166	XXX
CONT MICOR T3	5	3.19	XXX
Ps 22 + Nem T9	5	3.272	XXX
Bac 15Mb + Nem T4	5	3.42	XX
PA 22 + Nem + Mic T17	5	3.522	XX
BA 14 + Nem T5	5	3.55	XX
BA 14 +Nem + Mic T13	4	3.63	XX
Aa 25+ Nem T11	5	3.634	XX
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	4	3.74	XX
CONTROL T1	5	4.344	X

11. ANOVA SIMPLE - N° DE FRUTOS POR TRATAMIENTO

Resumen Estadístico para N° DE FRUTOS

<i>TRATAMIENTO</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Rango</i>	<i>Sesgo Estandarizado</i>
Aa 25 + Nem + Mic T19	6.5	7.5	1.0	0
Aa 25+ Nem T11	9.0	18.0	9.0	1.80379
Act 12 + Nem + Mic T18	6.5	12.0	5.5	0.823597
Act 12 + Nem T10	5.0	11.5	6.5	0.0356378
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	9.0	16.0	7.0	1.61021
Azo 16M2 + Nem T6	5.5	11.0	5.5	0.450883
BA 14 + Nem T5	6.5	17.0	10.5	1.58436
BA 14 +Nem + Mico T13	5.5	16.0	10.5	1.32499
Bac 15Mb + Nem T4	4.0	11.5	7.5	0.0381809
Bac 16M5b + Nem + Mico T12	6.0	10.0	4.0	0
CONT MICOR T3	8.5	15.0	6.5	1.00643
CONT NEMAT T2	4.5	7.5	3.0	0.331618
CONTROL T1	6.5	13.5	7.0	0.868431
DA 30 + Nem T7	5.0	17.0	12.0	0.331618
DA30 + Nem + Mic T15	6.5	13.0	6.5	-0.70288
Mico + Nem T20	5.0	8.5	3.5	-0.222166
PA 22 + Nem + Mic T17	6.5	12.5	6.0	0.938746
Ps 22 + Nem T9	8.0	13.5	5.5	-0.54263
Ps 42 + Nem + Mic T16	5.0	13.0	8.0	0.142545
Ps 42+ Nem T8	1.5	11.5	10.0	-0.167062
Total	1.5	18.0	16.5	2.38169

Resumen Estadístico para N° DE FRUTOS

<i>TRATAMIENTO</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Coficiente de Variación</i>
Aa 25 + Nem + Mic T19	5	7.0	0.353553	5.05076%
Aa 25+ Nem T11	5	11.8	3.54612	30.0519%
Act 12 + Nem + Mic T18	5	8.6	2.32916	27.0833%
Act 12 + Nem T10	5	7.9	2.8592	36.1924%
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	4	10.875	3.42479	31.4923%
Azo 16M2 + Nem T6	5	7.9	2.45967	31.1351%
BA 14 + Nem T5	5	10.0	4.10792	41.0792%
BA 14 +Nem + Mico T13	5	8.5	4.62331	54.3919%
Bac 15Mb + Nem T4	5	7.8	3.19374	40.9454%
Bac 16M5b + Nem + Mico T12	5	8.0	1.76777	22.0971%
CONT MICOR T3	5	11.2	2.36114	21.0816%
CONT NEMAT T2	5	5.9	1.29422	21.9359%
CONTROL T1	5	9.5	2.52488	26.5776%
DA 30 + Nem T7	5	10.6	5.17687	48.8384%
DA30 + Nem + Mic T15	5	10.2	2.43926	23.9143%
Mico + Nem T20	5	6.9	1.38744	20.1079%
PA 22 + Nem + Mic T17	5	8.8	2.43926	27.7189%
Ps 22 + Nem T9	5	11.2	2.19659	19.6124%
Ps 42 + Nem + Mic T16	5	8.9	3.17017	35.6199%
Ps 42+ Nem T8	5	6.8	4.89387	71.9687%
Total	99	8.89899	3.21189	36.0927%

Pruebas de Múltiple Rangos para N°FRUTOS por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>TRATAMIENTO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
CONT NEMAT T2	5	5.9	X
Ps 42+ Nem T8	5	6.8	XX
Mico + Nem T20	5	6.9	XX
Aa 25 + Nem + Mic T19	5	7.0	XX
Bac 15Mb + Nem T4	5	7.8	XXX
Azo 16M2 + Nem T6	5	7.9	XXX
Act 12 + Nem T10	5	7.9	XXX
Bac 16M5b + Nem + Mic T12	5	8.0	XXXX
BA 14 +Nem + Mic T13	5	8.5	XXXX
Act 12 + Nem + Mic T18	5	8.6	XXXX
PA 22 + Nem + Mic T17	5	8.8	XXXX
Ps 42 + Nem + Mic T16	5	8.9	XXXX
CONTROL T1	5	9.5	XXXX
BA 14 + Nem T5	5	10.0	XXX
DA30 + Nem + Mic T15	5	10.2	XXX
DA 30 + Nem T7	5	10.6	XXX
Azo 16M2 + Nem + Mic T14	4	10.875	XXX
CONT MICOR T3	5	11.2	XX
Ps 22 + Nem T9	5	11.2	XX
Aa 25+ Nem T11	5	11.8	X

12. ANOVA SIMPLE - GSR POR TRATAMIENTO

Resumen Estadístico para GSR

TRATAMIENTO	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
T11 DA 30 + Nem	5	3.9	0.41833	10.7264%
T 14PA 22 + Nem + Mic	5	4.0	0	0%
T10 DA30 + Nem + Mic	5	3.8	0.273861	7.20688%
T12 Ps 42 + Nem + Mic	5	3.8	0.447214	11.7688%
T13 Ps 42+ Nem	5	3.9	0.547723	14.0442%
T16 Act 12 + Nem + Mic	5	4.0	0	0%
T18 Aa 25 + Nem + Mic	5	4.0	0	0%
T2 CONT NEMAT	5	4.4	0.547723	12.4482%
T4 Bac 15Mb + Nem + Mico	5	4.0	0	0%
T5 Bac 15Mb + Nem	5	3.8	0.273861	7.20688%
T6 BA 14 +Nem + Mico	4	3.75	0.288675	7.698%
T7 BA 14 + Nem	5	4.2	0.273861	6.52051%
T9 Azo 16M2 + Nem	5	4.0	0.353553	8.83883%
T1 CONTROL	5	0	0	%
T15 Ps 22 + Nem	5	4.0	0	0%
T17 Act 12 + Nem	5	4.1	0.41833	10.2032%
T19 Aa 25+ Nem	5	3.9	0.223607	5.73351%
T20 Mico + Nem	5	4.0	0	0%
T3 CONT MICOR	5	0	0	%
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	4	3.625	0.478714	13.2059%
Total	98	3.55612	1.24537	35.0204%

Tabla ANOVA para GSR por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	143.304	19	7.54231	82.42	0.0000
Intra grupos	7.1375	78	0.0915064		
Total (Corr.)	150.441	97			

Pruebas de Múltiple Rangos para GSR por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T3 CONT MICOR	5	0	X
T1 CONTROL	5	0	X
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	4	3.625	X
T6 BA 14 +Nem + Mico	4	3.75	XX
T10 DA30 + Nem + Mic	5	3.8	XX
T5 Bac 15Mb + Nem	5	3.8	XX
T12 Ps 42 + Nem + Mic	5	3.8	XX
T13 Ps 42+ Nem	5	3.9	XXX
T11 DA 30 + Nem	5	3.9	XXX
T19 Aa 25+ Nem	5	3.9	XXX
T18 Aa 25 + Nem + Mic	5	4.0	XXX
T9 Azo 16M2 + Nem	5	4.0	XXX
T16 Act 12 + Nem + Mic	5	4.0	XXX
T15 Ps 22 + Nem	5	4.0	XXX
T20 Mico + Nem	5	4.0	XXX
T4 Bac 15Mb + Nem + Mico	5	4.0	XXX

T 14PA 22 + Nem + Mic	5	4.0	XXX
T17 Act 12 + Nem	5	4.1	XXX
T7 BA 14 + Nem	5	4.2	XX
T2 CONT NEMAT	5	4.4	X

13. ANOVA SIMPLE - N° HUEVOS+ J2/G RAÍZ POR TRATAMIENTO

Resumen Estadístico para N° HUEVOS+ J2/g raíz

TRATAMIENTO	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación
T11 DA 30 + Nem	5	3.239	0.347777	10.7372%
T 14PA 22 + Nem + Mic	5	3.3594	0.348003	10.3591%
T10 DA30 + Nem + Mic	5	3.157	0.167437	5.30366%
T12 Ps 42 + Nem + Mic	5	3.3134	0.227417	6.86354%
T13 Ps 42+ Nem	5	3.239	0.347777	10.7372%
T16 Act 12 + Nem + Mic	5	3.28	0.178237	5.43406%
T18 Aa 25 + Nem + Mic	5	3.2806	0.121763	3.71162%
T2 CONT NEMAT	5	3.6686	0.12911	3.51932%
T4 Bac 15Mb + Nem + Mico	5	3.3136	0.121001	3.65165%
T5 Bac 15Mb + Nem	5	3.1888	0.147766	4.6339%
T6 BA 14 +Nem + Mico	4	3.27225	0.186216	5.69075%
T7 BA 14 + Nem	5	3.3384	0.0643879	1.9287%
T9 Azo 16M2 + Nem	5	3.2164	0.180431	5.60971%
T1 CONTROL	5	0	0	%
T15 PA 22 + Nem	5	3.3298	0.0484995	1.45653%
T17 Act 12 + Nem	5	3.5232	0.250418	7.10769%
T19 Aa 25+ Nem	5	3.1696	0.218889	6.90588%
T20 Mico + Nem	5	3.4566	0.173856	5.02967%
T3 CONT MICOR	5	0	0	%
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	4	3.0405	0.213411	7.01895%
Total	98	2.96549	1.02918	34.7053%

Tabla ANOVA para N° HUEVOS+ J2/g raíz por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	99.614	19	5.24284	130.64	0.0000
Intra grupos	3.13025	78	0.0401315		
Total (Corr.)	102.744	97			

El StatAdvisor

Pruebas de Múltiple Rangos para N° HUEVOS+ J2/g raíz por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T1 CONTROL	5	0	X
T3 CONT MICOR	5	0	X
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	4	3.0405	X
T10 DA30 + Nem + Mic	5	3.157	XX
T19 Aa 25+ Nem	5	3.1696	XX
T5 Bac 15Mb + Nem	5	3.1888	XX
T9 Azo 16M2 + Nem	5	3.2164	XXX
T13 Ps 42+ Nem	5	3.239	XXX

T11 DA 30 + Nem	5	3.239	XXX
T6 BA 14 +Nem + Mico	4	3.27225	XXXX
T16 Act 12 + Nem + Mic	5	3.28	XXXX
T18 Aa 25 + Nem + Mic	5	3.2806	XXXX
T12 Ps 42 + Nem + Mic	5	3.3134	XXX
T4 Bac 15Mb + Nem + Mico	5	3.3136	XXX
T15 PA 22 + Nem	5	3.3298	XXX
T7 BA 14 + Nem	5	3.3384	XXX
T 14PA 22 + Nem + Mic	5	3.3594	XXX
T20 Mico + Nem	5	3.4566	XXX
T17 Act 12 + Nem	5	3.5232	XX
T2 CONT NEMAT	5	3.6686	X

14. ANOVA SIMPLE - %CM POR TRATAMIENTOS

Resumen Estadístico para %CM

TRATAMIENTOS	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo
T10 DA30 + Nem + Mic	5	75.316	10.4196	13.8345%	57.35
T20 Mico + Nem	5	50.27	4.81662	9.58149%	44.59
T3 CONTROL MICORRIZA	5	86.558	10.8982	12.5906%	77.05
T4 Bac 15Mb +NEM+Mic	5	68.44	17.7252	25.8988%	54.69
T6 Bac 14 +Nem + Mic	5	63.104	5.25792	8.33215%	56.9
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	5	69.488	9.86632	14.1986%	57.69
T12 Ps 42 + Nem + Mic	5	75.278	6.00507	7.97719%	68.06
T14 PA 22 + Nem + Mic	5	57.908	10.4771	18.0927%	45.83
T16 Act 12 + Nem + Mic	5	66.938	6.83208	10.2066%	59.18
T18 Aa 25 + Nem + Mic	5	58.26	4.15217	7.12696%	53.62
Total	50	67.156	13.1782	19.6232%	44.59

Tabla ANOVA para %CM por TRATAMIENTOS

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4911.72	9	545.747	6.07	0.0000
Intra grupos	3597.84	40	89.9459		
Total (Corr.)	8509.56	49			

Pruebas de Múltiple Rangos para %CM por TRATAMIENTOS

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T20 Mico + Nem	5	50.27	X
T14 PA 22 + Nem + Mic	5	57.908	XX
T18 Aa 25 + Nem + Mic	5	58.26	XX
T6 Bac 14 +Nem + Mic	5	63.104	X
T16 Act 12 + Nem + Mic	5	66.938	XX
T4 Bac 15Mb +NEM+Mic	5	68.44	XX
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	5	69.488	XX
T12 Ps 42 + Nem + Mic	5	75.278	XX

T10 DA30 + Nem + Mic	5	75.316	XX
T3 CONTROL MICORRIZA	5	86.558	X

15. ANOVA SIMPLE - N° ESPORAS/G SUELO SECO POR TRATAMIENTOS

Resumen Estadístico para N° ESPORAS/g suelo seco

TRATAMIENTOS	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Mínimo
T15 DA30 + Nem + Mic	5	22.848	10.1226	44.3043%	15.93
T20 Mico + Nem	5	10.176	0.740459	7.27653%	9.25
T3 CONTROL MICORRIZA	5	12.214	0.692373	5.66868%	11.18
T12 Bac 15Mb +NEM+Mic	5	11.068	1.80103	16.2724%	9.59
T13 Bac 14 +Nem + Mic	5	13.896	2.29478	16.514%	11.53
T14 Azo 16M2 + Nem + Mic	5	12.59	2.34961	18.6625%	8.81
T16 Ps 42 + Nem + Mic	5	13.656	1.9637	14.3798%	10.75
T17 PA 22 + Nem + Mic	5	14.658	3.33593	22.7584%	10.1
T18 Act 12 + Nem + Mic	5	11.688	2.30624	19.7316%	8.49
T19 Aa 25 + Nem + Mic	5	16.11	5.2142	32.3662%	8.16
Total	50	13.8904	5.04002	36.2842%	8.16

Tabla ANOVA para N° ESPORAS/g suelo seco por TRATAMIENTOS

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	584.62	9	64.9578	3.94	0.0012
Intra grupos	660.068	40	16.5017		
Total (Corr.)	1244.69	49			

Pruebas de Múltiple Rangos para N° ESPORAS/g suelo seco por TRATAMIENTOS

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T20 Mico + Nem	5	10.176	X
T12 Bac 15Mb +NEM+Mic	5	11.068	XX
T18 Act 12 + Nem + Mic	5	11.688	XX
T3 CONTROL MICORRIZA	5	12.214	XX
T14 Azo 16M2 + Nem + Mic	5	12.59	XX
T16 Ps 42 + Nem + Mic	5	13.656	XX
T13 Bac 14 +Nem + Mic	5	13.896	XX
T17 PA 22 + Nem + Mic	5	14.658	XX
T19 Aa 25 + Nem + Mic	5	16.11	X
T15 DA30 + Nem + Mic	5	22.848	X

16. ANOVA SIMPLE - %CM POR TRATAMIENTOS

Resumen Estadístico para %CM

TRATAMIENTOS	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo
T10 DA30 + Nem + Mic	5	75.316	10.4196	13.8345%	57.35
T20 Mico + Nem	5	50.27	4.81662	9.58149%	44.59
T3 CONTROL MICORRIZA	5	86.558	10.8982	12.5906%	77.05
T4 Bac 15Mb +NEM+Mic	5	68.44	17.7252	25.8988%	54.69
T6 Bac 14 +Nem + Mic	5	63.104	5.25792	8.33215%	56.9
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	5	69.488	9.86632	14.1986%	57.69
T12 Ps 42 + Nem + Mic	5	75.278	6.00507	7.97719%	68.06
T14 PA 22 + Nem + Mic	5	57.908	10.4771	18.0927%	45.83
T16 Act 12 + Nem + Mic	5	66.938	6.83208	10.2066%	59.18
T18 Aa 25 + Nem + Mic	5	58.26	4.15217	7.12696%	53.62
Total	50	67.156	13.1782	19.6232%	44.59

Tabla ANOVA para %CM por TRATAMIENTOS

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4911.72	9	545.747	6.07	0.0000
Intra grupos	3597.84	40	89.9459		
Total (Corr.)	8509.56	49			

Pruebas de Múltiple Rangos para %CM por TRATAMIENTOS

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T20 Mico + Nem	5	50.27	X
T14 PA 22 + Nem + Mic	5	57.908	XX
T18 Aa 25 + Nem + Mic	5	58.26	XX
T6 Bac 14 +Nem + Mic	5	63.104	X
T16 Act 12 + Nem + Mic	5	66.938	XX
T4 Bac 15Mb +NEM+Mic	5	68.44	XX
T8 Azo 16M2 + Nem + Mic	5	69.488	XX
T12 Ps 42 + Nem + Mic	5	75.278	XX
T10 DA30 + Nem + Mic	5	75.316	XX
T3 CONTROL MICORRIZA	5	86.558	X

17. ANOVA SIMPLE - N° ESPORAS/G SUELO SECO POR TRATAMIENTOS

Tabla ANOVA para N° ESPORAS/g suelo seco por TRATAMIENTOS

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	584.62	9	64.9578	3.94	0.0012
Intra grupos	660.068	40	16.5017		
Total (Corr.)	1244.69	49			

Pruebas de Múltiple Rangos para N° ESPORAS/g suelo seco por TRATAMIENTOS

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>TRATAMIENTOS</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T20 Mico + Nem	5	10.176	X
T12 Bac 15Mb +NEM+Mic	5	11.068	XX
T18 Act 12 + Nem + Mic	5	11.688	XX
T3 CONTROL MICORRIZA	5	12.214	XX
T14 Azo 16M2 + Nem + Mic	5	12.59	XX
T16 Ps 42 + Nem + Mic	5	13.656	XX
T13 Bac 14 +Nem + Mic	5	13.896	XX
T17 PA 22 + Nem + Mic	5	14.658	XX
T19 Aa 25 + Nem + Mic	5	16.11	X
T15 DA30 + Nem + Mic	5	22.848	X

ANEXO 2: TABLAS

1) Resultado de Vitamina C

Facultad de Industrias Alimentarias
Laboratorio de Análisis Físico-Químico de Alimentos

INFORME DE ENSAYOS

N° 30-10-13

Producto : Aguaymanto
Marca : s/m
Identificación de muestra : T1, T2, T3
Número de muestras : 3
Cantidad recibida : 30g aprox. de muestra proporcionada por el solicitante
Forma de presentación : 03 Tapers de plástico
Fecha de recepción :
Ensayo solicitado : Det. De vitamina C

Resultados:

Nº de muestras	Ensayos	Resultados
• T2	• Determinación de vitamina C	6.23mg/100g
• T3	• Determinación de vitamina C	30.95mg/100g
• T19	• Determinación de vitamina C	6.29mg/100g

Métodos utilizados en el laboratorio: 1. Determinación de vitamina C según la AOAC 967.21

Fecha de realización de los ensayos: del 20/09/13 al 25/09/13

La Molina, 10 de Octubre del 2013

.....

Ing. Mg Sc Carlos Elias Peñafiel

Jefe del Laboratorio de Análisis

Físico-Químico de Alimentos

FIAL-UNALM

ANEXO 3: FIGURAS

1) Resultado de caracterización de suelos



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
 FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : KATTY OGATA

Departamento : LIMA Provincia : LIMA
 Distrito : LA MOLINA Predio :
 Referencia : H.R. 40655-055C-13 Fecha : 26/06/13

Número de Muestra		pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase Textural	CIC	Cationes Cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat. De Bases
Lab	Claves							Arena %	Limo %	Arcilla %			Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺ + H ⁺			
8509		7.54	2.84	1.60	1.94	36.6	260	71	18	11	Fr.A.	14.55	12.61	1.27	0.47	0.20	0.00	14.55	14.55	100
8510		7.63	2.86	1.60	1.81	30.9	259	69	18	13	Fr.A.	11.20	9.21	1.38	0.47	0.14	0.00	11.20	11.20	100

A = Arena ; A.F. = Arena Franca ; Fr.A. = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L. = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A. = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso ; Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A. = Arcillo Arenoso ; Ar.L. = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso

Número de Muestra		N %
Lab	Claves	
8509		0.05
8510		0.07



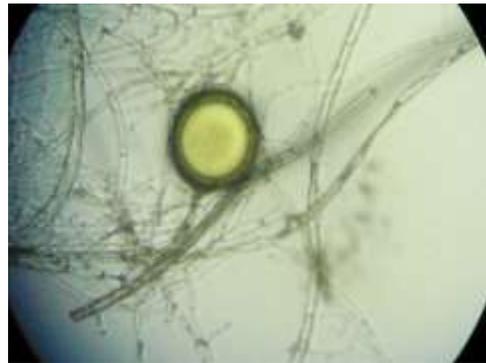
Bráulio La Torre Martínez
Ing. Bráulio La Torre Martínez
 Jefe del Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM - Telf.: 614-7800 Anexo 222 Telefax: 348-5622 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

2) Fotografía a 100X de esporas de endomicorrizas.



3) Fotografía a 50X de una endospora almacenada por una semana en solución Ringer.



4) Fotografía del proceso del conteo del nemátodo *M.incognita* en el laboratorio de Nematología UNALM.



5) Fotografía de nódulos dentro de las raíces del nemátodo de *M.incognita*.



6) Fotografía con aumento 100X de nemátodo de *M.incognita* en su estado juvenil y huevo extraídos de las raíces infectadas.



7) Almaciguera de plántulas de aguaymanto micorrizadas.



8) Fotografía del ensayo en invernadero a las 2 semanas del transplante



6) Fotografía del ensayo en invernadero dos meses después del transplante.



7) Fotografía del ensayo en invernadero a los 3 meses del transplante.



8) Fotografía del efecto de bacterias PGPRs y hongos micorrícicos en el control del nemátodo en invernadero sobre su desarrollo.



(A) T20 (B) T2 (C) T10 (D) T1 control