



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución - 4.0 Internacional \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Vea una copia de esta licencia en <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>





FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

Tesis

**Efecto protector de hongos micorrícicos
arbusculares sobre la pudrición de la raíz causada
por *Fusarium verticillioides* en
Plukenetia volubilis L.**

Para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

Autor:

Elvin Delgado Mera

<https://orcid.org/0000-0002-6432-2952>

Asesor:

Ing. M. Sc Mike Anderson Corazon Guivin

<https://orcid.org/0000-0001-6027-4255>

Coasesor:

Blgo. Angel David Hernández Amasifuen

<https://orcid.org/0000-0001-8267-409X>

Tarapoto, Perú

2023



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

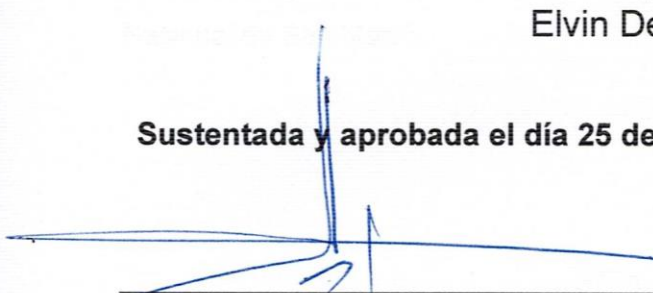
Tesis

**Efecto protector de hongos micorrícicos
arbusculares sobre la pudrición de la raíz causada
por *Fusarium verticillioides* en
Plukenetia volubilis L.**


Para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

Autor:
Elvin Delgado Mera

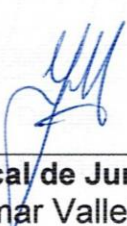
Sustentada y aprobada el día 25 de julio del 2023, ante el honorable jurado



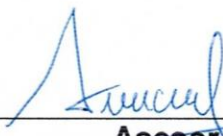
Presidente de Jurado
Dr. Agustín Cerna Mendoza



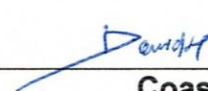
Secretario de Jurado
Ing. M. Sc. María Emilia Ruíz
Sánchez



Vocal de Jurado
Dr. Geomar Vallejos Torres



Asesor
Ing. M. Sc. Mike Anderson Corazon
Guivin



Coasesor
Blgo. Angel David Hernández
Amasifuen

Tarapoto, Perú
2023



"Año de la Unidad, la paz y el desarrollo"

ACTA DE SUSTENTACIÓN

Para optar el Título de Ingeniero Agrónomo Modalidad Informe de Tesis

En la Universidad Nacional de San Martín- Tarapoto, Auditorio de la Facultad de Ciencias Agrarias- Ciudad Universitaria, a las...10:16... horas, del día25..... del mes.....Julio..... del año dos mil veintitrés, se reunió el Jurado de Tesis, integrado por:

- PRESIDENTE : Dr. Agustín Cerna Mendoza
SECRETARIO : Ing. M. Sc. Maria Emilia Ruiz Sánchez
VOCAL : Dr. Geomar Vallejos Torres
ASESOR : Ing. M. Sc. Mike Anderson Corazon Guivin
CO-ASESOR : Blgo. Angel David Hernández Amasifuen

Para evaluar el Informe de tesis titulado: " Efecto protector de hongos micorrizicos arbusculares sobre la pudrición de la raíz causada por Fusarium verticillioides en Plukenetia volubilis L.", Presentado por el Bachiller en Ciencias Agrarias: ELVIN DELGADO MERA.

Los Miembros de Jurado del Informe de tesis, después de haber observado la sustentación, las respuestas a las preguntas formuladas y terminada la réplica, luego de debatir entre sí, reservada y libremente lo declaran.....Aprobado.....con el calificativo de...Muy Bueno....., en fe de lo cual se firmó la presente acta, siendo las...12:00... horas del mismo día, dándose por terminado el acto de sustentación.

Dr. Agustín Cerna Mendoza PRESIDENTE

Ing. M. Sc. Maria Emilia Ruiz Sánchez SECRETARIO

Dr. Geomar Vallejos Torres VOCAL

Ing. M. Sc. Mike Anderson Corazon Guivin ASESOR

Blgo. Angel David Hernández Amasifuen CO-ASESOR

Elvin Delgado Mera SUSTENTANTE

RECIBIDO POR: Elvin Delgado Mera DNI N.º 61560474 FECHA: 25/07/23

Declaratoria de autenticidad

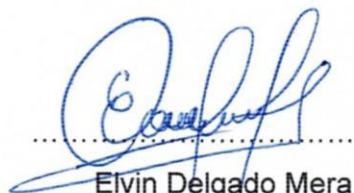
Elvin Delgado Mera, con DNI N° 61560474, egresado de la Escuela Profesional de Agronomía, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Martín, autor de la tesis titulada: Efecto protector de hongos micorrícicos arbusculares sobre la pudrición de la raíz causada por *Fusarium verticillioides* en *Plukenetia volubilis* L.

Declaro bajo juramento:

1. La tesis presentada es de mi autoría.
2. La redacción fue realizada respetando las citas y referencias de las fuentes bibliográficas consultadas.
3. Toda información en los resultados es real, no han sido plagiada.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido alterados ni copiados, por tanto, la información de esta investigación debe considerarse como aporte a la realidad investigada.

Por lo antes mencionado asumo bajo responsabilidad las consecuencias que deriven de mi accionar, sometiéndome a las leyes de nuestro país y normas vigentes de la Universidad Nacional de San Martín.

Tarapoto, 25 de julio del 2023


.....
Elvin Delgado Mera
DNI N° 61560474



Ficha de identificación

Título del proyecto Efecto protector de hongos micorrícicos arbusculares sobre la pudrición de la raíz causada por <i>Fusarium verticillioides</i> en <i>Plukenetia volubilis</i> L.	Área de investigación: Ciencias Agrarias Línea de investigación: Gestión Integral y Sostenible de los Recursos Naturales. Sublínea de investigación: Biotecnología, protección de cultivos, bioprospección y recursos genéticos. Grupo de investigación (indicar resolución): Tipo de investigación: Básica <input checked="" type="checkbox"/> , Aplicada <input type="checkbox"/> , Desarrollo experimental <input type="checkbox"/>
Autor: Elvin Delgado Mera	Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Agronomía https://orcid.org/0000-0002-6432-2952
Asesor: Ing. M. Sc. Mike Anderson Corazon Guivin	Dependencia local de soporte: Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Agronomía Unidad o Laboratorio Agronomía https://orcid.org/0000-0001-6027-4255
Coasesor: Blgo. Angel David Hernández Amasifuen	Contraparte científica: Facultad o Institución: Facultad de Ciencias agrarias Unidad o Laboratorio: Laboratorio de Biología y Genética Molecular País: Perú https://orcid.org/0000-0001-8267-409X

Dedicatoria

A Dios por darme la vida, la sabiduría, la salud y la fortaleza para superar barreras y dificultades durante mi carrera profesional y en la ejecución de esta tesis, ya que él es el que guía nuestro camino hacia el éxito.

A mis progenitores Elder y Virma, por inculcarme valores correctos para el bien de la sociedad, por su apoyo incondicional, el empuje y la motivación que me han brindado durante toda mi etapa universitaria, porque en este mundo ellos son mi fuente de inspiración que me impulsa a seguir luchando cada día.

A mis hermanas Yeni y Carmen que a pesar de la distancia siempre me han brindado fuerza y amor para lograr esta meta.

Agradecimientos

Al Instituto de investigación y desarrollo de la UNSM, por el financiamiento para realizar mi proyecto de investigación, mediante el concurso de proyectos de tesis, periodo 2021, con resolución N° 074-2021-UNSM-T/FCA/NLU.

Al Ing. M. Sc. Mike Anderson Corazon Guivin por su apoyo insustituible, el seguimiento continuo en la ejecución de mi tesis y por la confianza hacia mi persona para ingresar al Laboratorio de Genética y Biología Molecular (LBGM).

Al Blgo. Angel David Hernández Amasifuen por su enseñanza, ayuda desinteresada y por ofrecerme su apoyo leal y duradero cuando más lo necesité.

A la Universidad Nacional de San Martín (UNSM), por los conocimientos brindados durante los cinco años de estudio.

A la institución pública PRONABEC por otórgame la beca permanencia académica que fue de gran apoyo económico para poder culminar esta bonita carrera profesional.

A mis compañeros (as) y amigos (as) del LBGM: Huber, Farlin, Jhender Paquito, José Maximino, Alexandra, Marlon, Angel, Sofía, Jhoon, Maycol y Paolo gracias por su amistad brindada y por apoyarme siempre mutuamente para llegar hasta el final con la realización de este trabajo de tesis.

Índice general

Ficha de identificación	6
Dedicatoria	7
Agradecimientos	8
Índice general	9
Índice de tablas.....	11
Índice de figuras	13
RESUMEN.....	18
ABSTRACT	19
CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN A LA INVESTIGACIÓN	20
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO.....	22
2.1. Antecedentes de la investigación.....	22
2.2. Fundamentos teóricos	29
2.3. Definición de términos	38
CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS	40
3.1. Ámbito y condiciones de la investigación.....	40
3.1.1 Contexto de la investigación.....	40
3.1.2 Periodo de ejecución.....	41
3.1.3 Autorizaciones y permisos.....	41
3.1.4 Control ambiental y protocolos de bioseguridad	41
3.1.5 Aplicación de principios éticos internacionales	41
3.2. Sistema de variables	41
3.2.1 Variables principales	41
3.2.2 Variables secundarias	41
3.3 Procedimientos de la investigación.....	42
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	73
CONCLUSIONES	138
RECOMENDACIONES.....	139

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	140
ANEXOS.....	157

Índice de tablas

Tabla 1. Localización geográfica de las muestras colectadas de <i>F. verticillioides</i>	42
Tabla 2. Primers utilizado para la amplificación de (<i>F. verticillioides</i>).....	48
Tabla 3. Escala ordinal visual de severidad externa para plantas de sachá inchi.	52
Tabla 4. Escala ordinal visual de severidad interna para plantas de sachá inchi.	53
Tabla 5. Contenido de solución nutritiva Long Ashton.	58
Tabla 6. Preparación de las mezclas de reacción para determinar el contenido de malondialdehído.....	69
Tabla 7. Composición de la mezcla de reacción para determinar el contenido de GSH. 70	
Tabla 8. Curva de calibración para determinar la concentración del GSH.	71
Tabla 9. Datos calculados para determinar los coeficientes de la función lineal.	71
Tabla 10. Análisis de varianza para la altura de planta (cm) en <i>P. volubilis</i> L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	73
Tabla 11. Análisis de varianza para el número de hojas en <i>P. volubilis</i> L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	77
Tabla 12. Análisis de varianza para el contenido de clorofila en <i>P. volubilis</i> L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	81
Tabla 13. Análisis de varianza para el peso fresco de biomasa aérea en <i>P. volubilis</i> L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	84
Tabla 14. Análisis de varianza para el peso seco de la biomasa aérea en <i>P. volubilis</i> L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	87
Tabla 15. Análisis de varianza para el diámetro del tallo en <i>P. volubilis</i> L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	90
Tabla 16. Análisis de varianza para el peso fresco de la raíz en <i>P. volubilis</i> L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	94
Tabla 17. Análisis de varianza para el peso seco de la raíz en <i>P. volubilis</i> L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	96
Tabla 18. Análisis de varianza para el área foliar en <i>P. volubilis</i> L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	99
Tabla 19. Análisis de varianza para el número de hojas cloróticas en <i>P. volubilis</i> L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero	101

Tabla 20. <i>Análisis de varianza para el contenido de nitrógeno en la biomasa aérea de P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	106
Tabla 21. <i>Análisis de varianza para el contenido de fósforo en la biomasa aérea de P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	108
Tabla 22. <i>Análisis de varianza para el contenido de potasio en la biomasa aérea de P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	109
Tabla 23. <i>Análisis de varianza para la colonización micorrícica en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	112
Tabla 24. <i>Análisis de varianza para el succinato deshidrogenasa sin actividad en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	115
Tabla 25. <i>Análisis de varianza para el succinato deshidrogenasa baja actividad en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	115
Tabla 26. <i>Análisis de varianza para el succinato deshidrogenasa alta actividad en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	116
Tabla 27. <i>Análisis de varianza para densidad poblacional de F. verticillioides en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	119
Tabla 28. <i>Análisis de varianza para la incidencia de la enfermedad en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	122
Tabla 29. <i>Análisis de varianza para la severidad de la enfermedad en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	124
Tabla 30. <i>Análisis de varianza para glutatión reducido en hojas de P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	127
Tabla 31. <i>Análisis de varianza para glutatión reducido en raíces de P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	128
Tabla 32. <i>Análisis de varianza para catalasa en hojas de P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	131
Tabla 33. <i>Análisis de varianza para catalasa en raíces de P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	132
Tabla 34. <i>Análisis de varianza para malondialdehído en hojas de P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	134
Tabla 35. <i>Análisis de varianza para malondialdehído en raíces de P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.</i>	135

Índice de figuras

Figura 1. Áreas de estudio para el experimento. A. Vivero del LBG. B. Laboratorio de Biología y Genética Molecular.	40
Figura 2. Proceso de aislamiento del <i>F. verticillioides</i> . A. Corte transversal del tejido con sintomatología B. Aislamiento de tejido en medio PDA. C. Incubación de <i>F. verticillioides</i> aislado. D-E. Crecimiento y pigmentación de <i>F. verticillioides</i> , anverso y reverso de la placa.	43
Figura 3. Purificación de <i>F. verticillioides</i> . A. Medio PDA estéril. B. Preparación de placas Petri con medio PDA. C. Repique de <i>F. verticillioides</i> en medio PDA. D. <i>F. verticillioides</i> purificado.	43
Figura 4. Proceso de cultivo monospórico. A. Colocación de micelio del <i>F. verticillioides</i> en tubo con agua estéril. B. Agitación de muestra en vortex. C. Colocación de muestra agitada en placa Petri con agar agua al 2%. D. Desecho y secado de la muestra líquida. E. Observación y marcación del conidio solitario en microscopio. F. Incubación vertical del conidio solitario.	44
Figura 5. Estructuras macroscópicas de <i>Fusarium verticillioides</i> en medios de cultivo. A-B. Color del micelio de <i>F. verticillioides</i> en medio SNA. C-D. <i>F. verticillioides</i> en medio CLA. E-F. <i>F. verticillioides</i> en medio PDA.	45
Figura 6. Estructuras microscópicas de <i>Fusarium verticillioides</i> . A. Microconidios. B. Hifas. C. Macroconidios. D. Fiálides. E. Conidióforos.	46
Figura 7. Proceso de extracción de ADN. A. Peso de muestra. B. Adición de CTAB. C. Adición de mercaptoetanol. D. Trituración de la muestra. E. Adición de proteinasa. F. Homogenización de los componentes. G. Muestra en baño maría. H. Centrifugación de la muestra. I - J: Separación del sobrenadante. K. Centrifugación del isopropanol. L: Lavado de muestra con etanol. M: Repetición del paso L. N. Observación del pellet. O. Cuantificación del ADN en nanodrop.	47
Figura 8. Electroforesis para la integridad de ADN de <i>F. verticillioides</i>	48
Figura 9. A. Electroforesis para PCR. A. Toma de muestra PCR. B. Siembra del producto final PCR. C. Observación de muestras amplificadas en gel de agarosa.	49
Figura 10. A. Proceso para la preparación del inóculo. A. Matraces con PDB estériles. B-C: Corte de la muestra patógena y colocación en el medio PDB. D. Medio PDB cargados con micelio del <i>F. verticillioides</i> puesto en agitación. E: Caldo completamente infestado con el <i>F. verticillioides</i> . F-G: Colado del micelio y puestos en tubos falcon. H-I: Centrifugación	

del sobrenadante. J-K: Desechado del sobrenadante y suspensión del precipitado con agua estéril.	50
Figura 11. Cuantificación de conidios en un hemocitómetro. A. Inóculo de <i>F. verticillioides</i> diluido en agua. B. Conteo de conidios.....	51
Figura 12. Escala ordinal de la severidad externa de la <i>Fusarium verticillioides</i> . A. Grado 0. B. Grado 1. C. Grado 2. D. Grado 3. E-F: Grado 4.	52
Figura 13. Escala de la severidad interna de la severidad de la <i>Fusarium verticillioides</i> . A-B: Grado 0. C-D: Grado 1. E-F: Grado 2. G-H: Grado 3. I-J: Grao 4.	54
Figura 14. Proceso de esterilización del suelo. A. Ubicación del suelo en la autoclave. B. Suelo autoclavado listo para macetas.....	55
Figura 15. Preparación de sustrato estéril A. Mezcla de suelo y arena proporción 2:0.5. B. llenado de sustrato en macetas. C. Macetas ordenadas por tratamiento.	55
Figura 16. Selección y germinación de semillas de saha inchi. A. Semillas de sachá inchi seleccionado. B. Desinfección de semillas. C. Semillas sembradas en arena estéril.	56
Figura 17. Inoculación de los HMA. A. Inóculo homogenizado. B. Siembra de semilla inoculado con HMA.....	56
Figura 18. Siembra de semillas pregerminadas en macetas. A. Semilla pregerminada. B. Siembra de semillas.....	57
Figura 19. Inoculación de <i>F. verticillioides</i> . A. Inóculo líquido de <i>F. verticillioides</i> cuantificado. B. Ejecución de agujeros para el inóculo. C. Inoculación cuantificada en las plántulas.	57
Figura 20. Aplicación de la solución nutritiva Long Ashton en plantas de saha inchi. A. Reactivos preparados para solución nutritiva. B. Medición de la solución nutritiva. C. Aplicación de solución nutritiva.....	58
Figura 21. Riego en plántulas de sachá inchi.....	59
Figura 22. Evaluación de altura en plántulas de sachá inchi.	59
Figura 23. Evaluación de diámetro del tallo en plántula de sachá inchi de 70 días en condiciones de vivero.	60
Figura 24. Evaluación de números de hojas en sachá inchi.....	60
Figura 25. Evaluación del peso fresco de la biomasa aérea.....	61
Figura 26. Evaluación del contenido de clorofila.	61
Figura 27. Escaneo de hojas para la evaluación del área foliar en el programa FIJI.	62

- Figura 28.** Proceso de tinción de raíces. **A.** Corte de raíces secundarias. **B.** Aplicación de KOH a las raíces. **C.** Raíces con KOH en baño maría. **D.** Aplicación de peróxido de hidrógeno. **E.** Raíces con H₂O₂ en reposo. **F.** Lavado del H₂O₂ con agua de caño. **G.** Adición de tinta Parker. **H.** Muestras en baño maría para la tinción. **I.** Desecho de la tinta Parker. **J.** Adición de lactoglicerol. **K.** Raíces teñidas lista para observar en microscopio..... 63
- Figura 29.** Proceso de evaluación de la colonización micorrícica. **A.** Corte de raíces teñidas y Montaje de raíces en laminas portaobjetos. **B.** Observación en microscopio. **C-D.** Estructuras fúngicas de HMA (vesículas e hifas)..... 64
- Figura 30.** Evaluación de la densidad poblacional de *F. verticillioides* (UFC /g⁻¹ de raíz). **A.** Medio agar selectivo estériles para *Fusarium*. **B.** Tamizado de raíces. **C.** Peso del tamizado de raíces en polvo. **D.** Raíces en polvo previamente desinfectados puestas en medio SFA..... 66
- Figura 31.** Efecto biofertilizante y bioprotector de los HMA frente a *F. verticillioides* sobre la altura de plantas de sachá inchi bajo diferentes tratamientos durante 70 días de crecimiento vegetativo medido a intervalos de 10 días. 74
- Figura 32.** Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la altura de planta (cm) en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero. 75
- Figura 33.** Efecto biofertilizante y bioprotector de los HMA frente a *F. verticillioides* sobre el número de hojas en plantas de sachá inchi bajo diferentes tratamientos durante 70 días de crecimiento vegetativo medido a intervalos de 10 días. 78
- Figura 34.** Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para número de hojas en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero. 79
- Figura 35.** Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para cantidad de clorofila en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero. 82
- Figura 36.** Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para peso fresco de la biomasa aérea en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero..... 85
- Figura 37.** Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para peso seco de la biomasa aérea en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero..... 88
- Figura 38.** Efecto biofertilizante y bioprotector de los HMA frente a *F. verticillioides* sobre el diámetro en plantas de sachá inchi bajo diferentes tratamientos durante 70 días de crecimiento vegetativo medido a intervalos de 10 días. 91
- Figura 39.** Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el diámetro del tallo en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero. 92

Figura 40. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para peso fresco de la raíz en <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	94
Figura 41. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para peso seco de la raíz en <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	97
Figura 42. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el área foliar en <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	100
Figura 43. Efecto biofertilizante y bioprotector de los HMA frente a <i>F. verticillioides</i> sobre el número de hojas cloróticas en plantas de sachá inchi bajo diferentes tratamientos durante 70 días de crecimiento vegetativo medido a intervalos de 10 días.	102
Figura 44. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el número de hojas cloróticas en <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	103
Figura 45. Mapa de calor que muestra el porcentaje de inicio de guías de los tratamientos en estudio.	105
Figura 46. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el contenido de nitrógeno en la biomasa aérea de <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	107
Figura 47. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el contenido de fósforo en la biomasa aérea de <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	108
Figura 48. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el contenido de fósforo en la biomasa aérea de <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	110
Figura 49. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la colonización micorrícica en <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	113
Figura 50. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el succinato deshidrogenasa en raíces de <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	117
Figura 51. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la densidad poblacional de <i>F. verticillioides</i> en <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	119
Figura 52. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la incidencia de la enfermedad en <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	122
Figura 53. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la severidad de la enfermedad en <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	125
Figura 54. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el GSH en hojas y raíces de <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	129
Figura 55. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la CAT en hojas y raíces de <i>P. volubilis</i> L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.	132

- Figura 56.** Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el MDA en hojas y raíces de *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero. 136
- Figura 57.** Evaluación de la actividad antioxidante no enzimático (GSH) y marcador de daño oxidativo (MDA). **A-B:** Corte y pesado de raíz y hoja. **C.** Trituración de muestras con nitrógeno líquido. **D.** Centrifugación de las muestras con sus reactivos respectivos tanto para MDH y CAT. **E-F:** Extracción del sobrenadante para hoja y raíz. **G.** Curva de calibración solo para GSH. **H-I.** Toma de muestra y medición mediante espectrofotometría en un nanodrop..... 157
- Figura 58.** Evaluación de la actividad antioxidante enzimático (CAT). **A.** Aplicación de buffer de extracción a las muestras trituradas. **B.** Tomar el sobrenadante **C.** Preparación de mezcla de reacción con buffer y sobrenadante. **D.** Medición de la enzima por espectrofotometría..... 158
- Figura 59.** Evaluación de la actividad SDH para HMA. **A.** Raíz sin actividad de SDH. **B.** Raíz con alta actividad de SDH. **C.** Raíz con baja y alta actividad de SDH. **D.** Raíz sin actividad de SDH..... 158
- Figura 60.** UFC de *F. verticillioides* en tejidos de raíces de plantas infectadas en medio selectivo. **A.** Baja densidad de UFC de *F. verticillioides*. **B.** Moderadamente baja densidad de UFC de *F. verticillioides*. **C.** Baja densidad de UFC de *F. verticillioides*. **D.** Alta densidad de UFC de *F. verticillioides*. 159
- Figura 61.** Comparación de altura de las plantas de sachá inchi evaluados a los 70 días en condiciones de vivero. 160
- Figura 62.** Comparación de la biomasa fresca de la raíz de sachá inchi evaluados a los 70 días en condiciones de vivero..... 161

RESUMEN

La pudrición radicular causada por *Fusarium verticillioides*, es la enfermedad más grave que amenaza a las plantas de sachá inchi. La colonización de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) en las raíces aumenta la tolerancia de las plantas contra los patógenos del suelo. En este contexto, el estudio tuvo como objetivo investigar la eficacia de *Rhizogloium dunense* y *Paragloium laccatum* como agente bioprotector contra *Fusarium verticillioides* en plantas de sachá inchi bajo condiciones de vivero. Para este experimento las plantas de sachá inchi fueron inoculadas con 1000 esporas/maceta de HMA al momento de la siembra e infestadas con *F. verticillioides* en un volumen final de 1×10^8 UFC/planta a los 20 días después de la siembra. Se utilizó un diseño completamente aleatorio con arreglo factorial de 4A x 2B caracterizado por las especies de HMA e inoculación del *F. verticillioides*. Se establecieron 8 tratamientos y 15 repeticiones. Se evaluaron las características morfológicas de la planta, las estructuras fúngicas en las raíces, la densidad poblacional de *F. verticillioides*, incidencia y severidad de la enfermedad, los sistemas de defensa antioxidante y niveles de estrés oxidativo. Los resultados obtenidos muestran que los HMA exhibieron aumentos significativos frente *F. verticillioides* sobre el peso de la biomasa aérea y radicular, altura de la planta, contenido de clorofila, área foliar, número de hojas y en el contenido de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) de la biomasa aérea y una reducción en el número de hojas cloróticas. Las altas tasas de colonización de raíces (superiores al 50%) y una alta actividad de la enzima succinato deshidrogenasa (SDH) redujo la densidad poblacional de *F. verticillioides* (67,43 %). La micorrización redujo la incidencia (25%) y severidad de la enfermedad (65,28%) respecto a las plantas inoculadas con solo *F. verticillioides*. Las plantas inoculadas con HMA e infestados con *F. verticillioides* exhibieron aumentos significativos en las actividades de defensa antioxidante enzimática (CAT) y no enzimática (GHS) respecto a las plantas control, y una disminución en los niveles de marcadores de daño oxidativo (MDA) en comparación con el control (*F. verticillioides* no micorrizado). El estudio ha demostrado que *Rhizogloium dunense* y *Paragloium laccatum* actúan como repotenciadores en la morfología de la planta y como agentes bioprotectores contra *F. verticillioides* en plantas de sachá inchi bajo condiciones de vivero.

Palabras clave: Sachá inchi, densidad poblacional, incidencia, severidad, defensa antioxidante, UFC, agente bioprotector.

ABSTRACT

Root rot caused by *Fusarium verticillioides* is the most serious disease threatening sacha inchi plants. The colonization of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on roots increases plant tolerance against soil pathogens. In this context, the study aimed to investigate the efficacy of *Rhizoglyphus dunense* and *Paraglyphus laccatum* as a bioprotective agent against *Fusarium verticillioides* in sacha inchi plants under nursery conditions. For this research, sacha inchi plants were inoculated with 1000 AMF spores/pot at planting and infested with *F. verticillioides* at a final volume of 1×10^8 CFU/plant 20 days after planting. A completely randomized design with 4A x 2B factorial arrangement characterized by AMF species and *F. verticillioides* inoculation was used. Eight treatments and 15 replicates were established. Plant morphological characteristics, fungal root structures, *F. verticillioides* population density, disease incidence and severity, antioxidant defense systems and oxidative stress levels were evaluated. The results obtained show that AMF exhibited significant increases against *F. verticillioides* on aerial and root biomass weight, plant height, chlorophyll content, leaf area, number of leaves and regarding the nitrogen (N), phosphorus (P) and potassium (K) content of aerial biomass and a reduction in the number of chlorotic leaves. High root colonization rates (above 50%) and high succinate dehydrogenase (SDH) enzyme activity reduced the population density of *F. verticillioides* (67.43%). Mycorrhization reduced disease incidence (25%) and severity (65.28%) compared to plants inoculated with only *F. verticillioides*. Plants inoculated with AMF and infested with *F. verticillioides* exhibited significant increases in enzymatic (CAT) and non-enzymatic (GSH) antioxidant defense activities relative to control plants, and a decrease in oxidative damage marker (MDA) levels compared to the control (non-mycorrhizal *F. verticillioides*). The study has shown that *Rhizoglyphus dunense* and *Paraglyphus laccatum* act as repotentiators in plant morphology and as bioprotective agents against *F. verticillioides* in sacha inchi plants under nursery conditions.

Keywords: Sacha inchi, population density, incidence, severity, antioxidant defense, CFU, bioprotective agen



CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN A LA INVESTIGACIÓN

El sacha inchi (*Plukenetia volubilis*. L) es un alimento oleaginoso de una amplia distribución geográfica en varias regiones tropicales de los países de Latinoamérica (Perú, Brasil, Bolivia, Colombia y Ecuador) como planta silvestre y cultivada (Gillespie, 1993; Cai et al., 2013; Kodahl y Sørensen, 2021). En los últimos años este producto ha ido posicionándose cada vez mejor en los mercados internacionales por su consumo en aceite y entre otras presentaciones, debido a su alto contenido proteico y ácidos grasos como omega 3, 6 y 9, así como vitamina A y E, superando y reemplazando a otros aceites vegetales. Igualmente, debido a que la población cada vez necesita tener una buena alimentación y una vida saludable, esta semilla se presenta como una elección para reducir problemas cardiovasculares, los niveles de colesterol y triglicéridos frente al alto consumo de grasas de origen animal (Chirinos et al., 2013; Cárdenas et al., 2021; Jitpinit et al., 2022).

Debido a la alta demanda que ofrece estas semillas, en el Perú se registró un incremento en áreas de siembra con más de 2 000 ha de sacha inchi, permitiendo considerarse el principal productor a nivel mundial con una producción de 3 t/ha, liderando con mayor cosecha nuestra región (Amasifuen, 2020). En esta región el sacha inchi se siembra como monocultivo o asociado con especies forestales y especies agrícolas en suelos de baja fertilidad sumándole los problemas sanitarios como la asociación de *Meloidogyne* spp. y *Fusarium* spp. (Manco, 2006). Un estudio realizado por el LBG-M-UNSM, han reportado a *F. solani* (M32C1) y *F. verticillioides* (M33C1) como los principales patógenos presentes en diferentes parcelas de sacha maní de nuestra región, destacando que el complejo *F. verticillioides* y los nematodos son los más agresivos contra las plantas de sacha maní (Guerrero-Abad et al., 2021).

F. verticillioides (sinónimo: *Fusarium moniliforme*) es considerado el principal patógeno de la mazorca del maíz, presentando una amplia gama de hospederos y se distribuye en zonas con clima tropical y subtropicales (Castro, 2013; Hassan y Hamed, 2015; Zakaria, 2023). Los síntomas característicos en plántulas de *F. verticillioides* son las lesiones rojizas en las raíces (Galvez, 2012; Zakaria, 2023). En el cultivo de sacha inchi no es la excepción, debido a que se han reportado daños severos por *Fusarium* spp. en distintas partes de la planta (tallo, raíces, flores y frutos) (Manco, 2006), siendo la enfermedad más agresiva debido a que en sus tejidos vasculares xilémicos no permite el ingreso de sustancias inorgánicas a la parte aérea de la planta provocando posteriormente su muerte (Dostert et al., 2009; Zakaria, 2023), reduciendo la productividad y rentabilidad de este cultivo. Como principal medio de control se encuentra el uso excesivo de los pesticidas

para prevenir esta enfermedad. Frente a esto surge la necesidad de encontrar opciones constructivas con el medio ambiente y una alternativa prometedora es el uso de microorganismos bioprotectores.

En nuestra región se han identificado nuevas especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) en plantaciones de sachá inchi, desconociéndose su efecto bioprotector (Corazon-Guivin et al. 2019; Corazon-Guivin et al., 2020). Estos microorganismos del suelo presentan una alternativa para una agricultura ecológica por su potencial bioprotector y biofertilizante en diferentes cultivos agrícolas en el mundo (Panwar et al., 2008; Shukla et al., 2014; Kaur y Suseela 2020, Abdel-Azeem et al., 2021; Weng et al., 2022). Por estas razones, la utilización de estos microorganismos como inoculantes micorrícicos representan un método de biocontrol para antagonizar patógenos presentes en el suelo.

La presente investigación consideró como hipótesis, que la inoculación con hongos micorrícicos arbusculares (*Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum*) inoculados en plántulas de sachá inchi ejercen un control bioprotector sobre *Fusarium verticillioides*.

Bajo este contexto el objetivo primordial fue evaluar el efecto protector de los hongos micorrícicos arbusculares (*Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum*) en la pudrición radicular causada por *Fusarium verticillioides* en *Plukenetia volubilis* L. para ello se han fijado los siguientes objetivos específicos:

- a) Evaluar el efecto de la inoculación con *Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum* sobre el desarrollo y contenido nutricional de plántulas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) infestado con *Fusarium verticillioides*.
- b) Evaluar la influencia de la colonización micorrícica y la actividad succinato deshidrogenasa del HMA en sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) sobre la densidad poblacional radicular de *Fusarium verticillioides*.
- c) Evaluar la incidencia y severidad causada por *Fusarium verticillioides* en plántulas de sachá inchi, inoculadas con *Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum*.
- d) Evaluar la actividad antioxidante enzimática, no enzimática y marcadores de daño oxidativo en plántulas de sachá inchi, inoculado con *Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum* e infestado por *Fusarium verticillioides*.

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Los trabajos realizados en plantas de sachá inchi con simbiosis micorrícicas han demostrado que tiene un efecto benéfico en su crecimiento y protección contra nemátodos, sin embargo no existen investigaciones publicadas en cuanto a la relación de los HMA contra *Fusarium* spp. Estudios elaborados en otras especies vegetales han demostrado que existe un efecto de protección de la inoculación micorrícica frente a fusariosis.

Spagnoletti et al. (2021), en Buenos Aires, Argentina, evaluaron la eficacia de *Rhizophagus intraradices* como bioprotectores hacia *F. pseudograminearum* en plantas de trigo cultivadas en invernadero. Para ello propagaron los HMA en *Sorgo bicolor* y *Trifolium repens*, aislaron al patógeno de un campo de trigo en la localidad de Solís, provincia de Buenos Aires. Inocularon a la especie de HMA en una cantidad de 10 g/planta antes de la siembra, infestaron al patógeno de la siguiente manera: primeramente, aislaron e identificaron la especie para luego multiplicarlos en un medio de cultivo de granos de avena y luego lo incorporaron al sustrato a razón de 3 g por maceta, luego de 15 días de la siembra del trigo. En el experimento evaluaron 4 tratamientos: T1) testigo; T2) *R. intraradices*; T3) *F. pseudograminearum*; y T4) *R. intraradices* + *F. pseudograminearum*. Realizaron el análisis estadístico con el software INFOSTA y lo analizaron mediante una prueba de (Tukey < 0,05). Para los síntomas observados en la corona y las raíces, utilizaron una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis cuando observaron diferencias. Ellos concluyeron que el T4= *Rhizophagus intraradices* más *Fusarium pseudograminearum* contrarrestó los efectos negativos a este patógeno con una densidad poblacional en un 75,7% y la gravedad de la enfermedad en un 39% a comparación con el T1, y que en el T2 obtuvieron mejor biomasa aérea y radical, mejor número de espigas y altura de la planta. Así mismo tanto las hojas como las raíces de las plantas infectadas con patógenos mostraron un aumento en el contenido de TBARS. En las hojas, el contenido de GSH de las plantas infectadas con patógenos fue mayor que el detectado en las plantas de control, y en las raíces los niveles de GSH de las plantas inoculadas con HMA fueron más altos que los controles. En las hojas, la actividad CAT de las plantas inoculadas con HMA y co-inoculadas fue mayor que la del control (76 % y 63 %, respectivamente). Por otro lado, en raíces, la actividad CAT de plantas inoculadas con HMA, infectadas con solo patógeno y co-inoculadas fue mayor que la del control (68%, 98% y 72%, respectivamente).

Olowe et al. (2018), en Ibadan, Nigeria, evaluaron a los hongos micorrícicos arbusculares como bioprotectores hacia *F. verticillioides* en el cultivo de maíz. Obtuvieron las cepas de *F. verticillioides* cepa 05, cepa 06 y cepa 005 de las colecciones de cultivos del laboratorio de fitopatología, Departamento de Botánica, Universidad de Ibadan. Obtuvieron los inóculos (*Glomus clarum* y *G. deserticola*) de la Unidad de Biología del Suelo del Departamento de Botánica de la Universidad de Ibadan. Realizaron la inoculación de HMA en 10 g (20 esporas), 20 g (48 esporas) y 30 g (72 esporas) de *G. deserticola* y *G. clarum* en 8 kg de suelo a las 4 semanas después de la siembra e infestaron al patógeno en una concentración $1,0 \times 10^6$ esporas / ml a las 8 semanas después de la siembra utilizando una jeringa y una aguja estéril de acuerdo con el procedimiento de Cardwell et al. (1981). En el experimento emplearon un total de 12 tratamientos: T1 = C05; T2 = C06; T3 = C005; T4 = *G. deserticola*; T5 = *G. deserticola* + C05; T6 = *G. deserticola* + C06; T7 = *G. deserticola* + C005; T8 = *G. clarum*; T9 = *G. clarum* + C05; T10 = *G. clarum* + C06; T11 = *G. clarum* + C005; T12 = Control. Realizaron los análisis en un ANOVA al 5% ($P < 0,05$). Realizaron el análisis de componentes principales (PCA) y la regresión lineal multivariante utilizando el software estadístico PAST 03. Concluyeron que aplicando 20 g de *Glomus clarum* y 30 g de *Glomus deserticola* redujeron significativamente los efectos de *F. verticillioides* sobre crecimiento y el peso aéreo en maíz. Mientras que 30 g de *G. clarum* y *G. deserticola* redujeron la severidad de *F. verticillioides*.

Trinidad-Cruz et al. (2017), en Tlaxcala, México, evaluaron el comportamiento de la inoculación micorrícica hacia *Fusarium oxysporum* (Fox) en plantas de *Agave cupreata*. Como inóculos utilizaron 4 consorcios de HMA nativos, una micorriza comercial (MI) y un control absoluto. Para inocular utilizaron 100 esporas de HMA por semilla de agave. Purificaron al patógeno en un medio de cultivo PDA e incubados a 27°C por 11 días. Para incrementar la cantidad de propágulos del patógeno, realizaron un medio de cultivo de hojuelas de avena. A continuación, mezclaron la avena con el propágulo de Fox en un sustrato estéril, para producir una concentración final de 1×10^4 UFC g⁻¹ de sustrato seco. Sembraron las semillas en unas charolas de plástico y colocadas dentro de un contenedor con 4 litros de agua. Para el experimento utilizaron un DCA con arreglo factorial con 12 tratamientos. Analizaron sus datos mediante el software StatGraphics Centurion XV. Concluyeron que los tratamientos con consorcios y la micorriza comercial reflejaron una reducción del 33 % de la severidad de la marchitez del agave respecto al testigo Fox (*F. oxysporum*) que tuvo un 74 % de severidad de *F. oxysporum*.

Ren et al. (2015), en Lanzhou, China, evaluaron los efectos de la colonización de los HMA sobre el marchitamiento por *Fusarium* en sandía y las exudaciones de las raíces. En su metodología emplearon lo siguiente: Las plántulas las trasplantaron a macetas de plástico

dos semanas después de la emergencia. Inocularon al HMA (*Glomus mosseae*) con 50 g a una profundidad de 4 cm al momento de la siembra. Para *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* aislaron plántulas de sandía infectadas. Inocularon los tratamientos con patógenos dos veces cerca de las raíces con esporas de FON ($4,0 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; 100 ml/maceta), a los 20 y 25 días después del trasplante. Para el experimento emplearon 4 tratamientos: (1) control, es decir, inoculación sin HMA y FON (-HMA - FON), (2) inoculación con FON solamente (-HMA+FON), (3) inoculación con HMA solamente (+HMA - FON), y (4) inoculación dual con HMA y FON (+HMA +FON). Los datos los analizaron con el software estadístico SPSS. Sus resultados que obtuvieron mostraron que los HMA colonizando en las raíces redujo el índice de enfermedad del patógeno en un 89,3 %. La inoculación con HMA y FON disminuyó la UFC de FON en un 58,1 y un 47,7 % en las raíces de sandía y la rizosfera, respectivamente, y disminuyó en un 52,1–84,5 % la secreción de aminoácidos libres de las raíces. Concluyeron que la colonización micorrícica alivia la enfermedad de la sandía y modularon las exudaciones radiculares formados por la inoculación del *Fusarium*.

Shukla et al. (2014), en Jhansi, India, estudiaron una estrategia de inoculación efectiva en el tiempo de los HMA para mitigar las pérdidas de rendimiento de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) hacia *Fusarium oxysporum*. Realizaron tres experimentos separados en dos años sucesivos (2011 y 2012). Utilizaron material biológico previamente esterilizado con agua destilada. Emplearon un consorcio de HMA llamado Myc que tenía tres especies autóctonas de HMA (*Funneliformis mosseae*, *Glomus fasciculatum* y *Rhizophagus irregularis*) que estaba compuesto de partes iguales en peso. La inoculación de Myc lo realizaron con 15 gramos (promedio de 96 esporas / 50 g de arena) y los inóculos de Foc (promedio de $1,5 \times 10^3$ UFC / 15 g de arena) lo aplicaron en la cavidad del sustrato (3 kg de arena esterilizada / maceta). El análisis estadístico que utilizaron fue el paquete estadístico SYSTAT (versión 12) utilizando la prueba ($p < 0,05$). Concluyeron que la preinoculación con Myc más Foc (*Fusarium oxysporum*) en plantas de garbanzo redujo considerablemente la densidad de población del patógeno y que con una inoculación combinada (Myc / Foc) y temprana (Myc + Foc) de HMA redujo el índice de gravedad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* en un 68% y 89,5% respectivamente.

Tian et al. (2013), en Mengla, China, evaluaron los efectos de la inoculación de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) sobre el desarrollo de las plantas y la tolerancia al estrés hídrico en plántulas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.), ellos evaluaron 4 tratamientos en dos niveles de riego (bien regado vs sequía) cada tratamiento con 5 repeticiones con una muestra de 3 plantas por repetición, donde los tratamientos que emplearon fue: T1=testigo; T2= *Glomus versiforme*, T3= *Paraglomus occultum*, T4= *Glomus versiforme* + *Paraglomus occultum*. Inocularon a los HMA con 500 esporas; 10 g por maceta. El

tratamiento del agua inició después de un mes de aclimatación en condiciones de invernadero, macetas bien regadas y con estrés por sequía controladas al 80 y al 40% del contenido relativo de agua del suelo. Para el experimento emplearon un DBCA y los datos obtenidos lo realizaron mediante el ANOVA con un análisis de dos vías para cada variable (agua y la inoculación de hongos MA), utilizando el programa SPSS 16,0. Con los resultados obtenidos concluyeron que *Glomus versiforme* fue mejor que *Paraglomus occultum* para la altura de la planta sin importar las condiciones de agua, el mayor desarrollo, mayor área foliar y volumen radicular lo observaron en plantas inoculadas con la combinación de ambas especies bajo riego. Por otro lado, micorrización mejoró las actividades de las defensas antioxidantes enzimáticas, incluidas guayacol peroxidasa (GPX) y catalasa (CAT), especialmente para GPX en condiciones de sequía y riego abundante.

Al-Askar y Rashad (2010), en Riyadh, Arabia Saudita, investigaron la eficacia de los HMA contra *Fusarium* en las plantas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Para la inoculación de los HMA lo realizaron en forma de suspensión en concentración de 1×10^6 unidad/l⁻¹ a una dilución de 5 ml/ l¹ agua. Para la inoculación de *Fusarium solani* utilizaron una concentración de 1×10^6 esporas/ml⁻¹. Emplearon los siguientes tratamientos: T1=CNM (control no micorrizado); T2= CM (control micorrizado); T3= PNM (patógeno no micorrizado y T4= PM (patógeno micorrizado). Los datos que obtuvieron fueron analizados con el programa estadístico CoStat Pro 2005. Todas las comparaciones múltiples primero lo sometieron a un ANOVA y las comparaciones entre promedios lo realizaron utilizando una prueba de rango múltiple (Duncan). En sus resultados obtenidos mostraron que la colonización de micorrizas pudo reducir el porcentaje de severidad e incidencia del patógeno, aumentó significativamente los parámetros de crecimiento, las concentraciones de nutrientes minerales, el contenido fenólico y las actividades de las defensas enzimáticas (fenilalanina amoniaco-liasa, polifenol oxidasa y enzima peroxidasa). Concluyeron que los HMA tienen un efecto de biocontrol en las plantas de frijol contra la infección de *F. solani*.

Jaiti et al. (2007), en Marrakech, Marruecos, indagaron la efectividad de los HMA en las plantas de palmera datilera (*Phoenix dactylifera* L.) frente *F. oxysporum* f.sp. *albedinis* (Foa). Para los HMA *Glomus monosporus* (Gm), *Glomus clarum* (Gc), *Glomus deserticola* (Gd) y Complejo de *Aoufous* (CAF) utilizaron fragmentos de raíces desinfectados, aplicaron 2,8 g/l contra la raíz de las plantas a inocular. Cuatro meses después de la inoculación de los HMA inocularon Foa en una suspensión conidial de 5 ml/maceta en una concentración de 2×10^6 esporas/ml. Para el experimento emplearon cinco tratamientos T1= control (C), T2= *Glomus monosporus* (Gm), T3= *Glomus clarum* (Gc), T4= *Glomus deserticola* (Gd) y T5= Consorcio nativo de plantaciones de palma (CAF). Los datos los analizaron

estadísticamente usando ANOVA con un Programador STATI-TCF. La prueba de Newman y Keuls la utilizaron para la comparación de medias. Concluyeron que los tratamientos con HMA presento un mejor efecto biofertilizante y redujo la gravedad de la enfermedad entre un 8% y un 77% según el aislado de HMA utilizado. Además, encontraron que los HMA en cuanto a los ensayos enzimáticos relacionados a la defensa de la planta, la actividad peroxidasas (POX) y polifenoloxidasas (PFOX) no fueron afectadas por la micorrización, sin embargo se incrementó la actividad por la inoculación del patógeno.

Kapoor (2008), en Delhi, India, realizó un estudio donde los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) son capaces de impartir tolerancia a enfermedades como *Fusarium Oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (FOL) en tomate. Obtuvo al patógeno de la división de patología vegetal, Instituto de Investigación Agrícola de la India (IARI), cultivo a FOL en medio PDA (papa dextrosa agar). Inoculó al patógeno 10 días después de la germinación inyectando una suspensión de conidios cerca de las raíces a razón de 10 ml^{-1} /plántula en una concentración de $2,8 \times 10^6$ esporas/ml¹. La micorrización de *Glomus Macrocarpum* (GM) y *Glomus Fasciculatum* (GF) en plántulas de tomate lo realizó 20 días después de la infección con FOL a razón de 10 g/maceta (96-98 esporas). Para su experimento utilizó 3 tratamientos: T1= C - control, T2= GM - *Glomus Macrocarpum*, T3= GF - *Glomus Fasciculatum*. Realizó el análisis estadístico en un ANOVA, usó la prueba de Tukey para diferenciar a los tratamientos (al nivel del 5%). Los resultados los procesó mediante el paquete SPSS versión 10. En sus resultados obtuvo que los HMA redujo la propagación del patógeno y la gravedad de la enfermedad en un 75 y un 78 % respectivamente, mostraron mayor crecimiento, mayor actividad de fenilalanina amoníaco liasa (PAL), mayor concentración de fenol y densidad de tricomas foliares, esto debido al aumento de hasta nueve veces en la concentración del ácido jasmónico (AJ) en comparación con las plantas de control (infectadas con FOL). Concluyó que el AJ estaba involucrado con la resistencia sistémica inducida por el micosimbionte.

Ahammed et al. (2020), en Luoyang, China, investigaron el rol de la melatonina en la resistencia inducida por hongos micorrícicos arbusculares frente a *Fusarium oxysporum* en pepino. En su metodología emplearon lo siguiente: La semilla de pepino fue previamente germinada y después de 4 días fueron trasplantadas en macetas de 13 x 13. Durante el trasplante inocularon *Glomus claroideum*, añadiendo 720 esporas/maceta. A partir del quinto día rociaron 100 μM con melatonina (MT). Para *F. oxysporum* inocularon 20 ml/planta en una concentración de 1×10^6 CFU/ml 20 días después del trasplante. Para el experimento emplearon 8 tratamientos: T1= control; T2= HMA; T3= MT; T4= HMA+MT; T5=HMA+FO; T6= MT+FO; T7= HMA+MT+FO; T8= FO. Para el análisis estadístico utilizaron el ANOVA y lo analizaron con el paquete estadístico SPSS 20,0. Como resultado

mostraron que la colonización de HMA redujo la severidad causada por *F. oxysporum* en plantas de pepino y mejora la actividad de defensas antioxidantes frente a las especies reactivas de oxígeno (ROS). Para el contenido de mayor defensa antioxidante enzimática (CAT, SOD, APX y POD) destacó el tratamiento combinado e inoculadas con *Fusarium*. Para el contenido de malondialdehído los tratamientos individuales como HMA o melatonina tuvieron un efecto significativo en la disminución del daño oxidativo. Para el glutatión reducido respecto al control, la inoculación de solo *Fusarium* redujo significativamente las concentraciones de GSH en un 31,9 %. Sin embargo, la inoculación de HMA o la aplicación foliar de melatonina en plantas inoculadas con *Fusarium* aumentó el contenido de GSH, y su tratamiento combinado mostró un efecto aditivo en el contenido de GSH, causando un aumento del 96,7 % en comparación con el contenido de GSH en plantas inoculadas solo con *Fusarium*.

Hashem et al. (2021), en Riyadh, Arabia Saudita, examinaron el papel que desempeñan los HMA en la reducción del estrés causado por *Fusarium* mediante la activación de sus mecanismos defensivos en el cultivo de tomate. En su metodología realizaron lo siguiente: Las semillas fueron esterilizadas y sembradas en macetas de plástico (25x25x5 cm) que contenían turba, perlita y arena esterilizadas en proporción (1:1:1, v/v/v), durante dos semanas. Aislaron al patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) de campos con tomate en la ciudad de Saleheyah Al Gadidah. Inocularon al patógeno tres semanas después del trasplante mediante el método de inmersión de raíces, que consistió en cortar las puntas de la raíz y sumergir durante 30 min en la suspensión de conidios (10^6 UFC/ml⁻¹). Para la inoculación del HMA que contenían las especies *Rhizophagus intraradices*, *Funneliformis mosseae*, *Claroideoglossum etunicatum* aplicaron 2500 esporas/maceta al momento de la siembra. En su experimento emplearon los siguientes tratamientos: T1: Control; T2: solo FOL; T3: FOL + HMA; T4: solo HMA. Para el análisis estadístico utilizaron un ANOVA con la ayuda del software SAS versión 9,1. En sus resultados mostraron que las evaluaciones morfológicas de crecimiento fueron significativamente mayores en el T4 en comparación con el T1. La inoculación de HMA en plantas provocó una disminución significativa en la incidencia de enfermedades y acumulación de ácido fumárico en raíces (79,04% y 10,92%, respectivamente) comparado a las plantas sin HMA. Así mismo la inoculación con FOL en plantas de tomate provocó una disminución drástica de las actividades de la fosfatasa ácida y alcalina en un 41,91 % y un 55,97 %, respectivamente, por el contrario, desencadenaron el incremento de las enzimas de SOD, APX, DHAR y GR.

Pu et al. (2022), en Nanjing, China, evaluaron el impacto de los hongos arbusculares microbianos en la capacidad de *Salvia miltiorrhiza* para defenderse de las enfermedades

causadas por *Fusarium*. Recolectaron las semillas de *S. miltiorrhiza* de una plantación en Laiwu. Propagaron al HMA (*G. versiforme*) usando *Sorghum bicolor* como huésped. Preinocularon al hongo micorrícico con 1250 esporas/maceta. Al patógeno identificado como *F. oxysporum* lo aislaron de raíces de *S. miltiorrhiza*. Transplantaron la plantas a 30 días después del preinoculado con HMA en macetas de 7 cm x 7 cm a una mezcla 1:1 (v/v) de suelo de arroz y vermiculita e inoculados con *F. oxysporum* en una concentración de 10^6 esporas/ml. En su experimento emplearon los siguientes tratamientos: (T1) NM-Fo; (T2) NM+Fo; (T3) MA-Fo; (T4) MA+Fo. Para el análisis de sus datos emplearon un ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Tukey, y las diferencias informaron como significativas para valores de $P < 0,05$ mediante el programa estadístico IBM SPSS Statistics 24. En sus resultados mostraron que la incidencia de enfermedad y el índice de enfermedad del T2 fueron 48,3% y 41,5% respectivamente, a comparación del T4 que fueron solo 18,3% y 15,5%. Los parámetros morfológicos con *G. versiforme* mostraron un mayor aumento en peso fresco de biomasa aérea y peso fresco de raíz en un 11,74% y 34,56%, a comparación con el T2 que fue de 37,5% y 40,6% respectivamente. Respecto a la actividad de defensa enzimática la inoculación de HMA más patógeno aumentó la actividad de la β -1,3-glucanasa en un 125 % mientras que la inoculación de HMA o patógeno disminuyó la actividad de β -1,3-glucanasa en un 28% y un 34%, respectivamente. Asimismo, la actividad de la quitinasa disminuyó significativamente en un 39 % y un 45 % después de la colonización por HMA o la infección por patógenos, respectivamente.

Wang et al. (2022), en Beijing, China, estudiaron los efectos de los HMA contra *Fusarium* en la biosíntesis de jasmonato mutante defectuoso y tipo salvaje de tomate. Esterilizaron las semillas superficialmente con H_2O_2 al 10 % durante 10 min y las enjuagaron con agua estéril. Obtuvieron al hongo MA *R. irregularis* del instituto de silvicultura de Beijing. La inoculación del HMA lo realizaron al momento de la siembra dónde comprendía fragmentos de raíces colonizadas, hifas extrarradicales e esporas de hongos (67 esporas g^{-1}). Al patógeno *F. oxysporum* lo obtuvieron de la universidad de agricultura de Fujian. La concentración lo determinaron con un hemocitómetro y ajustado a 10^8 conidios ml^{-1} . La inoculación del patógeno lo realizaron 55 días después del procedimiento de siembra, aplicaron sumergiendo las raíces durante 30 min en una suspensión de conidios. Para su estudio evaluaron ocho tratamientos, incluidos dos genotipos diferentes (CM y spr8) inoculados con (+M) o sin (-M) *R. irregularis* e inoculados con (+F) o libres de (-F) *F. oxysporum*. Para el análisis estadístico ellos realizaron comparaciones múltiples entre todos los tratamientos usando ANOVA unidireccional seguido de la prueba de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Sus datos los analizaron con el programa IBM SPSS Statistics 21,0. En sus hallazgos mostraron que el efecto simbiótico de *R. irregularis* en

plantas CM pudo reducir la gravedad de la enfermedad, todo lo contrario, sucedió en plantas spr8, lo cual no se observaron. La expresión inducida de los genes de síntesis de ácido jasmónico (JA), incluidos el gen de la ciclasa de óxido de aleno (AOC) y el gen de la lipoxigenasa D (LOXD), y el incremento del polifenol oxidasa (PPO) y la fenilalanina amoníaco liasa (PAL) lo registraron en plantas de genotipo CM micorrizadas e infectadas con *F. oxysporum*, pero no en plantas spr8.

2.2. Fundamentos teóricos

2.2.1 Cultivo del sachá inchi

a) Diversidad y taxonomía

Plukenetia volubilis L. comúnmente conocido como “sachá inchi” o “maní del inca” es una planta que se distribuye geográficamente en toda la amazonia de América central y del sur, pero encontrándose principalmente en las regiones amazónicas de Brasil, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela, siendo aprovechado como fuente de alimentación por las comunidades indígenas y poblaciones más vulnerables (Yang et al., 2017; Cárdenas et al., 2021). La especie fue descrita por el naturalista Linneo en 1753 en la amazonia peruana (Antonioli y Arfini, 2013).

El cultivo de sachá inchi ha tomado interés en la población humana debido a que presenta un gran potencial industrial y alimentario principalmente por sus compuestos oleaginosos (54 %), proteicos (22-30 %), ácidos grasos poliinsaturados (77,5 a 84,4 %), monoinsaturados (8,4 a 13,2 %) y saturados (6,8 a 9,1 %) y propiedades antioxidantes, superando a otras oleaginosas (oliva, soya, maíz, girasol, algodón, y palma) (Cai et al., 2012; Sterbova et al., 2017; Chirinos et al., 2013; Cisneros et al., 2014; Calero, 2013; Jitpinit et al., 2022). Así mismo debido a las características del cultivo que posee la planta de ser un arbusto trepador, genera beneficios ecológicos frente a los altos escenarios de deforestación (Manco, 2006).

En unos años atrás Perú tuvo la mayor producción de sachá inchi en el mundo, seguido por Brasil, Colombia, Ecuador, Venezuela y las Islas de Barlovento (Vecco, 2015). Pero en los últimos años ha ido disminuyendo la producción de sachá inchi, ubicándose en el 3 puesto en producción de aceite respecto a los países latinoamericanos, debajo de Brasil y Chile (Penadillo, 2021). En el Perú se encuentra cultivada en varios departamentos, pero existiendo como especie nativa principalmente en la selva alta y baja de los siguientes departamentos: San Martín, Amazonas, Ucayali, Loreto y Madre de Dios. En la selva central se encuentra en Huánuco, Junín y Pasco (Calero, 2013). Registrándose 4 especies en Perú aparte de *P. volubilis* está *P. brachybotrya*, *P. lorestensis*, *P. polyadenia* y *P.*

huayllabambana (Dostert et al., 2009; Chirinos et al., 2013; Antonioli y Arfini, 2013). Estas semillas generan beneficios económicos y primordialmente alimentarios para muchas familias rurales.

El género *Plukenetia* L. (Euphorbiaceae) comprende 25 especies, varias de las cuales han sido descritas recientemente (Cardinal-McTeague y Gillespie, 2020). La circunscripción del género ha sufrido varios cambios durante los últimos cuatro siglos, pero la clasificación fue revisada recientemente por Cardinal-McTeague y Gillespie (2020).

Según el Bánki. et al (2023), la especie de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) contiene la siguiente taxonomía.

Reino: Plantae

Sub-división: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malpighiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Plukenetia*

Especie: *Plukenetia volubilis* Linneo.

b) Características de la planta de sachá inchi

El sachá maní presenta un alto grado de variabilidad en cuanto a sus características fenotípicas determinándose varios ecotipos, pero de acuerdo a lo más representativo de la especie y género presenta las siguientes características:

La planta es perenne y tiene un tallo rastrero o trepador, semileñosa, voluble y presenta un desarrollo en forma de guía; sus hojas son de tipo acorazonadas y alternas de un color verde oscuro con un promedio de 11 a 12 cm de largo y 9 a 11 cm de ancho, elípticas serradas con un peciolo de 3 a 7 cm de largo; las flores masculinas son pequeñas y de color blanquecino con una inflorescencia tipo racimo y en la base del racimo en forma lateral se encuentran entre una, dos hasta tres flores femeninas; el fruto tiene forma de capsula dehiscente que presenta 4 a 7 lóbulos aristados de lo cual se tienen 4 a 7 semillas; la semilla se caracteriza por su forma ovalada, presenta como una hinchazón en el centro, aplanadas hacia los bordes y de color marrón fluctuando entre 1,3 y 2,1 cm dependiendo del ecotipo (Gillespie, 1993).

c) Requerimientos agronómicos

Según Manco (2006), las características edafoclimáticas que requiere el cultivo de sachá maní son las siguientes:

Temperatura: Para una buena fase vegetativa y reproductiva el cultivo debe estar entre un rango mínimo 10°C y máximo 36°C que es característico de la amazonia peruana. Se observó que a temperaturas extremadamente bajas y 78% de humedad relativa del aire, las plantas prácticamente no se enferman, ya que las altas temperaturas no son favorables para este cultivo, provocando daños fisiológicos en las plantas y haciéndolas más susceptibles a enfermedades.

Altitud: Se reporta que se cultiva desde los 100 msnm en la Selva Baja y 2 000 msnm en la Selva Alta.

Luz: A mayor disposición de luz solar se obtiene mejor productividad y a una menor tasa fotosintética se alarga su periodo fenológico, su floración disminuye y su producción es baja.

Agua: La planta necesita de riego permanente siendo mejor las épocas lluviosas que contengan una precipitación anual de (850 a 1 000 mm/ año). Periodos prolongados de sequía causa problemas en el desarrollo de la planta. Así como también el exceso de agua trae como consecuencia daños por enfermedades.

Suelo: Por ser una planta rústica no tiene preferencia a un suelo específico, creciendo en suelos ácidos y de alto contenido de aluminio, siendo mejor los suelos francos a francos arcillosos con un pH entre 5,5 y 6,5 donde posibilitan mejor desarrollo y productividad.

Drenaje: Esto depende de la textura del suelo, pero necesita de un buen drenaje y aireación. Suelos saturados se obtienen daños por enfermedades.

d) Problemas fitosanitarios de *Plukenetia volubilis*. L

El sachá maní es una planta susceptible a nemátodos, pero existen daños considerables por hongos siendo principalmente el de gran importancia *Fusarium* spp. causando daños a la hoja, al cuello del tallo y raíces en estado de plántula y en estado de producción (Manco, 2006; Dostert et al., 2009; Calero, 2013).

2.2.2 *Fusarium verticillioides*

a) Características y Taxonomía

F. verticillioides es el patógeno conocido de cultivos de importancia agrícola debido a su gran variabilidad con respecto a sus propiedades morfológicas, fisiológicas y genéticas (Deepa et al., 2018).

Las características principales que posee *F. verticillioides* son: Los macroconidios, se presentan en forma infrecuente, son hialinos delicados presentan una pared delgada con

una célula basal en forma de pie y una célula apical curvada, su tamaño es de (25-60 x 2,5-4 µm) y su forma varia de curva a casi recto, tienen de tres a siete septos, producen estructuras que aparentan racimos denominados esporodoquios y nunca produce clamidiosporas en el micelio. Así mismo presentan macroconidióferos que no se encuentran estructuras ramificados, pero presentan monifiálides ramificados (De la Torre-Hernández et al., 2014; Ismail et al., 2015; Munkvold, 2017).

Los microconidios son células abundantes y de forma ovalada con una base aplanada, nacen como largas cadenas y cabezas falsas, siendo principalmente hialinos unicelulares, su tamaño es de (5-12 x 1,5-2,5 µm) y además una de las características que presenta este hongo es que cuando existe una alta cantidad de microconidios muestra un aspecto polvoriento de la colonia (De la Torre-Hernández et al., 2014; Ismail et al., 2015; Munkvold, 2017). Las colonias producen micelio blanco, pigmento violeta con la edad (Martínez-Fernández et al., 2015; Refai et al., 2016). No presentan clamidiosporas, aunque algunos aislados pueden producir células hinchadas en las hifas (De la Torre-Hernández et al., 2014; Ismail et al., 2015; Munkvold, 2017).

La taxonomía de esta especie ha presentado muchas variaciones a lo largo del tiempo. *Fusarium verticillioides* (Saccardo) Nirenberg pertenece al teleomorfo *Gibberella moniliformis* (Wineland) y *G. fujikuroi* (Sawada) a la sección Liseola. El nombre *F. verticillioides* ha sido aceptado como reemplazo del nombre *F. moniliforme*. Las razones para el reemplazo fueron principalmente nomenclaturales. Es necesario que *F. verticillioides* tenga un nombre significativo, para ello es importante realizar un diagnóstico cuidadoso y no simplemente se sustituya mecánicamente donde quiera que se haya usado *F. moniliforme* (Leslie y Summerell, 2006; Ismail et al., 2015; Munkvold, 2017; Summerell, 2019).

Según el Bánki et al (2023), *F. verticillioides* presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Subdivisión: Deuteromycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium*

Especie: *Fusarium verticillioides*.

b) Ecología del hongo

Es un hongo que tiene una amplia distribución geográfica que se puede encontrar en todo el globo terráqueo, pero teniendo un mayor predominio en zonas de climas templados a calurosos, presentando un extenso número de hospederos, pero principalmente siendo la enfermedad más importante en cultivos de cereales principalmente en la mazorca del maíz (Leslie y Summerell, 2006; Ismail et al., 2015; Munkvold, 2017; Summerell, 2019).

El crecimiento de *F. verticillioides* ocurre a 25° C y la infección en la planta se da por varios caminos infestando raíces, tallo y semillas (De la Torre-Hernández et al., 2014). Muchos de los casos no son tan visibles los síntomas de este patógeno en la planta (Rodríguez y Flores, 2018).

F. verticillioides es un organismo saprófito que sobrevive en el rastrojo de las cosechas hasta 630 días en condiciones bajo campo y hasta 900 días en condiciones frescas y secas. (Leslie y Summerell, 2006, De la Torre-Hernández et al., 2014). La capacidad de sobrevivencia de *F. verticillioides* en el suelo se da por hifas y conidios ya que no producen clamidosporas (Leslie y Summerell, 2006).

F. verticillioides depende de varios factores para su desarrollo, permanencia en el suelo e infestación en la planta (la disponibilidad del agua, origen genético de las plantas, las condiciones ambientales y el patógeno) (Oren et al., 2003).

c) Patogénesis en sachá inchi

La patogénesis de este hongo es igual para varios cultivos. A continuación, se detalla el proceso infectivo del *Fusarium*.

La infección sistemática de las plántulas se da debido a que el hongo está presente en los suelos y en las semillas, estando aptas para la infección durante la germinación de la semilla y a medida que va desarrollándose la plántula. El hongo ingresa directamente al pericarpio y a las células de la epidermis de la raíz, tres días después de que se siembran las semillas. Para después colonizar las células del parénquima del escutelo y llegar hasta el cortex, pero esto ocurre en raras ocasiones. Después de 25 a 30 días las raíces ya se encuentran colonizadas y pueden notarse los síntomas de la pudrición radicular, la agresividad dependerá de la población del hongo y los factores del ambiente. La mayor concentración del daño ocasionado por el hongo se observa en la raíz, en el tallo el daño es menor, pero el hongo puede cursar de manera asintomática por varios tejidos afectando a varios órganos en la fase reproductiva de la planta. Entre el tejido de corona y el tallo de la plántula es el único sitio donde el hongo tiene una limitada tasa de daño (De la Torre-Hernández et al., 2014).

d) Métodos de cultivo

El crecimiento y la esporulación del micelio de *Fusarium* varían las características y la morfología de la colonia, de acuerdo al tipo de medio de cultivo y las condiciones ambientales (Moura et al., 2020; Crous et al., 2021). El agar de hoja de clavel (CLA), el agar sintético pobre en nutrientes (SNA) y los medios ricos en carbohidratos como el agar papa dextrosa (PDA) son los medios de cultivo estándar para los análisis micromorfológicos (Leslie y Summerell, 2006; Moura et al., 2020., Crous et al., 2021).

El cultivo PDA es el adecuado para obtener una mayor apariencia morfológica y coloración de la colonia (Moura et al., 2020). En este tipo de medio el micelio al inicio es blanco algodonoso formándose una coloración rosado y violeta. En algunos cultivos ya envejecidos, el hongo forma estructuras llamada esclerocios por su acción de producir melanina (De la Torre-Hernández et al., 2014).

El medio SNA generalmente se utiliza en busca de microconidios, que pueden ser más abundantes y diversos (Summerell et al., 2003).

El medio de cultivo CLA es el más adecuado para la identificación de especies de *Fusarium* por su formación de macroconidios robustos y uniformes. En este medio se forma todas las estructuras dentro de la colonia lo cual facilita su identificación (Summerell et al., 2003; Moura et al., 2020).

F. verticillioides una vez sembrado en medios de cultivo necesita ciertas condiciones de incubación como una temperatura de entre 25 y 28 °c y bajo oscuridad (Oren et al., 2003; Summerell et al., 2003; Crous et al., 2021).

2.2.3 Hongos micorrízicos arbusculares

a) Diversidad y taxonomía

La diversidad de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) forman una relación simbiótica en un 90 % con las especies de las plantas vasculares incluyendo cultivos agrícolas (Diagne et al., 2020).

Los HMA se encuentran distribuidos en una amplia variedad de ecosistemas a nivel mundial formando asociaciones simbióticas con angiospermas, gimnospermas, briofitas, equisetofitas y las pteridofitas, donde las especies que mayor destacan son del género *Glomus* (Panwar et al., 2008; Schüßler et al., 2001; Saparrat et al., 2020).

En la región San Martín se identificó taxonómicamente 31 especies de HMA en el cultivo de café en 4 diferentes zonas altitudinales encontrándose una nueva especie

(*Funneliglomus sanmartinensis*) (Arteaga, 2019). Así mismo para el cultivo de saha inchi se identificó 32 especies de HMA, lográndose hallar la misma especie de HMA en café (Acosta, 2021).

Para la caracterización taxonómica de los HMA se realiza mediante sus esporas: tamaño, grosor, tipo, forma, color y la naturaleza de las paredes que la constituyen (conexión hifal, ornamentaciones, etc.) (Rodríguez-Morelos et al., 2011).

Los HMA actualmente se describen alrededor de 300 especies de HMA y se clasifican en 33 géneros, doce familias y cuatro órdenes (Montoliu-Nerin et al., 2021).

b) Estructura de los HMA

Cuando el micelio de HMA entra en la raíz de la planta, crece a lo largo del tejido de la raíz y forma estructuras características de esta simbiosis como: Arbúsculos (penetran como dedos en un guante, denominándose “invaginaciones de la membrana celular” y mantienen el intercambio bidireccional de nutrientes entre hongo-planta); Vesículas (estructuras ovoides, redondas entre otras y cumplen la función de almacenar reservas para el hongo); hifas (al conjunto se llama micelio y se encuentran de dos tipos: Arum (hifas intercelulares y arbúsculos) y Paris (hifas enrolladas, y arbúsculos ausentes) y esporas simples o esporocarpicas (medio reproductivo del hongo que forman estructuras llamadas hifas en el suelo), así mismo existen algunas especies que se propagan intracelularmente (Camargo-Ricalde et al., 2012).

c) Proceso de colonización de raíces por HMA

La colonización por HMA del sistema radicular comienza con la germinación de esporas estacionarias o con hifas que crecen a partir de las existentes propagadas en el suelo, donde el micelio se ramifica para infectar las raíces. El sistema micelial tiene dos etapas: una etapa interna ubicada en la corteza de la raíz (micelio endo-raíz) y una etapa externa que está en contacto directo con el suelo y difiere en reproducción y extensión (micelio exo-raíz). (Smith y Read, 2010).

La colonización por diferentes HMA podría resultar en diferentes respuestas en la misma especie de la planta (Camargo-Ricalde et al., 2012).

Los exudados de raíces pueden aumentar la actividad micelial al proporcionar sustratos que pueden activar el desarrollo micelial más rápido. Las hifas al momento que interactúan con la epidermis celular o los pelos radiculares, producen células de adhesión, una estructura pegajosa que permite que las hifas infecciosas penetren y rompan la cutícula epidérmica o los pelos radiculares para llegar a la primera capa de células corticales.

Cuando las hifas infectan la corteza hasta la segunda corteza, la colonización intracelular rompe la pared celular y forma arbusculos dentro de las células para el sinergismo nutricional entre los dos simbioses. (Smith y Read, 2010).

Para que exista una buena relación simbiótica de las micorrizas con las plantas esto dependerá de la rapidez en la que se formen y crezcan las hifas, así como la velocidad del sistema radical, en lo cual esto dará a un buen porcentaje de colonización (Begum et al., 2019).

d) Ecología de las micorrizas arbusculares

El efecto del suelo y su fertilidad sobre la eficiencia de los HMA ha sido un aspecto de investigación a nivel mundial, y se ha informado que la eficiencia de los HMA está estrechamente relacionada con suelos pobres con baja fertilidad y un alto uso de nutrientes, especialmente fósforo (P), reduce sus efectos beneficiosos, y algunas especies de HMA son específicas para ciertas condiciones, mientras que otras se adaptan a diferentes condiciones de suelo y clima y toleran cambios en los niveles de acidez, nitrógeno (N) y fósforo (P). Un factor simbiótico para los HMA y los cultivos es el pH del suelo, ya que las diferentes especies de hongos tienen diferentes preferencias de pH, el pH óptimo para el desarrollo de HMA es 5,5-6. (Rodríguez-Morelos et al., 2011; Camargo-Ricalde et al., 2012).

e) Efecto bioprotector de los HMA

El HMA han sido ampliamente utilizado como método de macroorganismos bioprotectores para patógenos fúngicos (Weng et al., 2022). Los HMA presentan indiscutiblemente efectos beneficiosos en la planta como el incremento de la absorción de P y N, protección frente a patógenos, tolerancia a la sequía, crecimiento vegetal, mejor retención de agua, tolerancia a los metales pesados del suelo y mejora la formación de la estructura del suelo (Rodríguez-Morelos et al., 2011; Begum et al., 2019; Melo et al., 2020; Kaur y Suseela, 2020; Abdel-Azeem et al., 2021; Weng et al., 2022).

La bioprotección de los HMA son mayormente estudiados contra los patógenos que pertenecen principalmente a los géneros *Pythium*, *Phytophthora*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Verticillium* (Xavier y Boyetchko, 2004; Shukla et al., 2014; Abdel-Azeem et al., 2021; Weng et al., 2022).

El efecto bioprotector de la HMA depende de varios factores como las especies de HMA involucradas, el genotipo del hospedador y la eficiencia de la colonización de raíces (Xavier y Boyetchko, 2004; Giachero, 2015). Sin embargo, la protección ofrecida por los hongos

micorrícicos arbusculares no son efectivos contra todos los patógenos vegetales y están modulados por el suelo y otras condiciones ambientales (Shukla et al., 2014).

2.2.4 Defensa antioxidante

Las plantas poseen numerosos sistemas de defensas antioxidantes para asegurar sus funciones de señalización (Gill y Tuteja, 2010). Estas respuestas de defensa son desencadenadas por factores biológicos como patógenos, parásitos y simbioses, así como por factores abióticos como temperaturas altas o bajas, radiación, salinidad y otras condiciones, entre otras, y no siempre en situaciones de estrés (Gill y Tuteja, 2010; Guidi y Tattini, 2021; Kaur et al., 2022).

Una de las respuestas de defensa más efectivas contra el ataque de patógenos en las plantas es el llamado estallido oxidativo, que se generan en el sitio de invasión a partir de las ROS, principalmente de oxígeno y peróxido de hidrógeno, y para controlar el efecto nocivo de las ROS antes de causar daños al metabolismo y la estructura celular de la planta, las plantas han diseñado dos sistemas de defensas (Gill y Tuteja, 2010, Kaur et al., 2022; Sharma et al., 2022). Estos sistemas de defensa incluyen componentes antioxidantes enzimáticos como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX), entre otras, y antioxidantes no enzimáticos como glutatión (GSH) y ascorbato (ASC), que son responsables de reducir o mantener en equilibrio las concentraciones de ROS (O_2 y H_2O_2) (Qamer et al., 2021; Fujita y Hasanuzzaman, 2022).

a) Defensas antioxidantes enzimáticas

Catalasa (CAT): Es una enzima primordial para la defensa antioxidante de las plantas, se encuentra distribuidos de forma fija en los órganos de la planta, cumpliendo con la función principal de controlar intracelularmente las concentraciones de H_2O_2 descomponiéndolo en H_2O y O_2 asimismo proteger al ADN, proteínas y lípidos (Beltrán-García, et al., 2006).

Succinato deshidrogenasa (SDH): Es una enzima del ciclo del ácido tricarbónico del HMA, reacciona con el cloruro de nitro azul de tetrazolio (NBT) y da como resultado formazán insoluble, que se puede distinguir claramente en la raíz (Vierheilig et al. 2001, 2005). El SDH es una actividad enzimática que evalúa la viabilidad de estructuras microscópicas o el estado funcional del tejido fúngico metabólicamente activo (MacDonald, y Lewis, 1978).

b) Defensas antioxidantes no enzimáticas

Glutatión reducido (GSH): Es un tripéptido no proteico que tiene un bajo peso molar formado por los aminoácidos L-cisteína, ácido L-glutámico y glicina que está ubicada en

los distintos tejidos de las plantas (Hasanuzzaman et al., 2017; Dorion et al., 2021; Fujita y Hasanuzzaman, 2022). EL 90% del glutatión se encuentra en GSH que se ubica en el citosol y los cloroplastos de las células vegetales y tiene un rol multifuncional en el metabolismo de las plantas (Noctor y Foyer, 1998; Khalid et al., 2022; Wangsanut y Pongpom 2022), mantiene estables los grupos tiol de las proteínas, neutraliza los radicales libres interviniendo en la química antioxidante, reduce los enlaces disulfuro inducidos por el estrés oxidativo, entre otras funciones (Meyer et al., 2001, Foyer y Noctor, 2011; Hasanuzzaman et al., 2017; Dorion et al., 2021; Khalid et al., 2022; Wangsanut y Pongpom, 2022). El glutatión se requiere para la defensa eficaz contra patógenos de las plantas en respuesta al estrés que causa estos mismos que implican estrés oxidativo (Noctor y Foyer, 1998; Meyer et al., 2001). El aumento o la disminución de los niveles normales de GSH puede aumentar la susceptibilidad al estrés oxidativo y puede contribuir a la señalización redox en procesos importantes como las interacciones planta-patógeno incompatibles o la muerte celular programada (Foyer y Noctor, 2011; Wangsanut y Pongpom, 2022).

c) Determinación de Marcadores de Estrés Oxidativo

Malondialdehído (MDA): Es el primer producto de la peroxidación lipídica, la medición del contenido del MDA sirve para analizar y estimar la cantidad de daño oxidativo particularmente en aquellos estudios centrados en las respuestas de las plantas al estrés abiótico y biótico. (Morales y Munné-Bosch, 2019; Alché, 2019; Zhang et al., 2021). El MDA causa daño a las membranas internas celulares, como la fluidez, el transporte de iones, la pérdida de enzimas y la combinación de proteínas (Singh et al., 2011; Kong, et al., 2016). La formación de MDA puede ser inducida de forma no enzimática por ROS o enzimáticamente por la actividad de la lipoxigenasa (Farmer y Mueller, 2013).

2.3. Definición de términos

Colonia: Desarrollo de un microorganismo en masa, especialmente como un cultivo puro en el laboratorio (Olsson, 2001).

Colonización: Proceso inter e intracelular dentro de la corteza de la raíz del hospedante y el hongo para el intercambio de nutrientes (Souza, 2015).

Medio de cultivo: Es un conjunto de componentes nutritivos que crean las condiciones esenciales para el crecimiento microbiano (Moura et al., 2020).

Conidios: Esporas asexuales inmóviles que se originan en diversas formas a partir del conidióforo y se encuentran de dos tipos macroconidias y microconidias (Garcés de Granada et al., 2003).

Células conidiógenas: Son células fértiles especializadas que producen microconidios en las que las esporas pueden emerger de un solo poro (monofiálides) o de múltiples poros (polifiálidas). (Garcés de Granada et al., 2003).

Conidióforo: Zonas de hifas fértiles únicas o ramificadas especializadas que soportan células conidiógenas (Garcés de Granada et al., 2003).

Clamidospora: Células grandes y duraderas de paredes gruesas producidas en condiciones estresantes que permiten que el hongo se multiplique y sobreviva (Garcés de Granada et al., 2003).

Macroconidios: Son constantes en tamaño y forma, presentan una célula basal, célula apical y septos característica principal para la identificación del hongo (Garcés de Granada et al., 2003).

Microconidios: Son pequeñas, generalmente unicelulares y con formas variables (ovoide, oval, Reniforme, periformes, etc.) que se producen en el micelio aéreo que se pueden observar de formas solitarias, en grupos o alineadas (Garcés de Granada et al., 2003).

Micelio: Conjunto de hifas entrelazadas y ramificadas (Souza, 2015).

Micorrizas: Es un micosimbionte que entra en contacto mediante sus hifas con las raíces de las plantas (Souza, 2015).

UFC: Unidad que se utiliza en microbiología para estimar el número de bacterias u hongos viables en una muestra (Olsson, 2001).

CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ámbito y condiciones de la investigación

3.1.1 Contexto de la investigación

a) Ubicación política

- Departamento: San Martín.
- Provincia: San Martín.
- Distrito: Morales.
- Localidad: Vivero del Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM) - Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto (UNSM-T).

b) Ubicación geográfica

EL presente experimento se realizó en vivero como en el LBGM - Facultad de Ciencias Agrarias, ubicado en el campus de la UNSM-T, con las siguientes coordenadas: latitud sur: 06°35'28"; longitud oeste: 76°18'47"; altitud: 230 msnm; zona de vida: bosque seco-tropical.

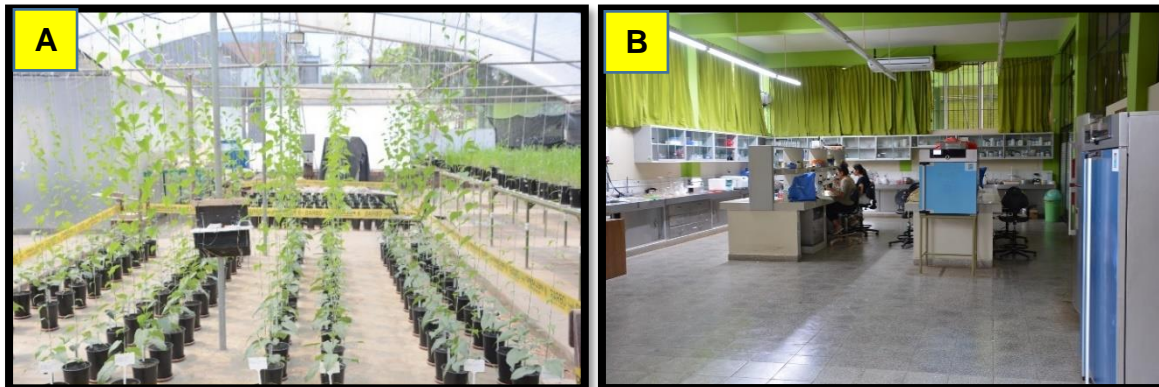


Figura 1.

Áreas de estudio para el experimento. **A.** Vivero del LBGM. **B.** Laboratorio de Biología y Genética Molecular.

El experimento estuvo desarrollado bajo condiciones semicontroladas (vivero) con los siguientes datos meteorológicos: temperatura (T° max: 35,9°C, T° med: 29,6°C y T° min: 22,6°C), humedad (H° max: 95,1%, H° med: 68,9% y H° min: 46%). En la noche la temperatura oscilaba entre 17°C y 20°C con una humedad del 80%, durante los meses de julio – septiembre del 2022.

3.1.2 Período de ejecución

El presente estudio de investigación se realizó entre agosto de 2021 a octubre de 2022.

3.1.3 Autorizaciones y permisos

La utilización de microorganismos del banco de germoplasma de hongos micorrícicos arbusculares, no está restringida para su uso en bio-ensayos de investigación.

3.1.4 Control ambiental y protocolos de bioseguridad

Los protocolos de bioseguridad se llevaron a cabo en los ambientes del LBGGM durante la manipulación de los microorganismos, insumos, reactivos y equipamiento. Así mismo se tuvo en cuenta los protocolos de seguridad ante el COVID 19.

3.1.5 Aplicación de principios éticos internacionales

Este estudio sigue los principios generales de la ética de la investigación: entre los que se destacan: totalidad/integridad, respeto por las personas, respeto por los ecosistemas, beneficencia y justicia.

3.2. Sistema de variables

3.2.1 Variables principales

Variable independiente

- Cepas/ especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA).

Variable dependiente

- Desarrollo y contenido nutricional de plántulas de sachá inchi.
- Determinación de la colonización y viabilidad micorrícica.
- Incidencia y severidad causada por *F. verticillioides*.
- Actividad de la defensa antioxidante enzimática, no enzimática y datos bioquímicos.

3.2.2 Variables secundarias

- Contaminación no controlada de *F. verticillioides in vitro*.
- Condiciones semicontroladas de plagas y enfermedades para el desarrollo de las plantas de sachá inchi.

- Condiciones semicontroladas de temperatura y humedad para la infestación de *F. verticillioides* en vivero.

3.3 Procedimientos de la investigación

3.3.1 Evaluar el efecto de la inoculación con *Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum* sobre el desarrollo y contenido nutricional de plántulas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) infestado con *Fusarium verticillioides*.

Actividades preliminares.

a) Colecta de muestra biológica

La colecta de muestras biológicas se realizó en 4 localidades (parcelas) de la provincia de Picota (Tabla 1). Para la colecta se identificó en cada parcela 3 plantas de sachá inchi con síntomas de marchitez, clorosis y enanismo de la planta (Presencia de *Fusarium*). En cada sitio se tomaron las lecturas de localización con la ayuda de un GPS Garmín.

Tabla 1

Localización geográfica de las muestras colectadas de F. verticillioides

N° de muestra	Localidad	Altitud (m.s.n.m.)	Coordenadas	Tejido aislado
1	Leoncio prado	255	6°59'21" S 76°13'32" W	Tallo y Raíz
2	Nueva América	254	6°59'00" S 76°15'08" W	Tallo y Raíz
3	Huañipo	288	6°59'55" S 76°11'23" W	Tallo y Raíz
4	Paucar	290	7°00'16" S 76°09'46" W	Tallo y Raíz

Fase laboratorio

a) Aislamiento de *F. verticillioides*

El aislamiento se realizó de raíces y cuello del tallo con los síntomas de la enfermedad. El procedimiento fue lo siguiente: se cortaron muestras de tejido de 1 a 2 cm de la zona herida, luego se desinfectó con alcohol al 70% por 30 segundos y con NaClO al 1% por 10 minutos, luego se lavó con agua estéril y secados posteriormente en papel filtro estéril. Finalmente fueron cortados en trozos más pequeños (5 mm) y transferidos en medio de cultivo PDA e incubados a 25°C por 7 días (Guerrero-Abad et al., 2021).

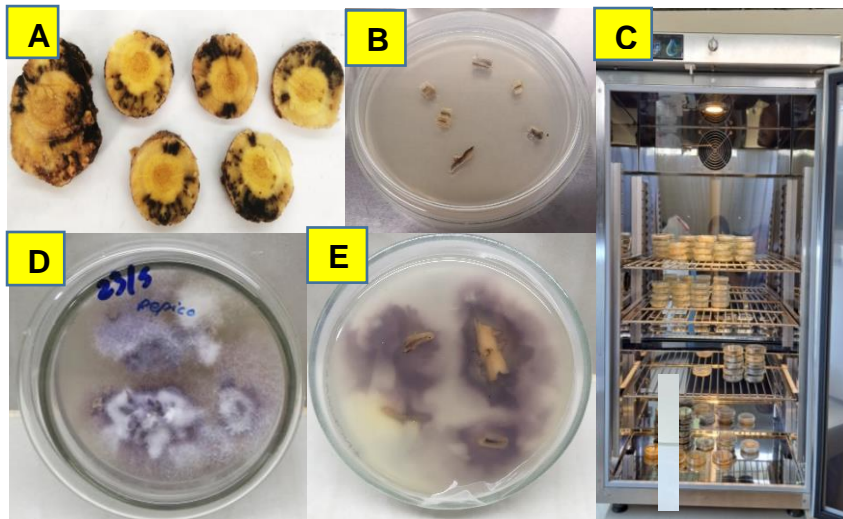


Figura 2.

Proceso de aislamiento del *F. verticillioides*. **A.** Corte transversal del tejido con sintomatología **B.** Aislamiento de tejido en medio PDA. **C.** Incubación de *F. verticillioides* aislado. **D-E.** Crecimiento y pigmentación de *F. verticillioides*, anverso y reverso de la placa.

b) Purificación

Una vez obtenido el crecimiento de *F. verticillioides* a partir del aislamiento, se tomaron puntas de hifas con la ayuda de un bisturí estéril y se transfirió a otras placas Petri con medio de cultivo PDA. Este proceso se repitió hasta la obtención de cultivos puros.

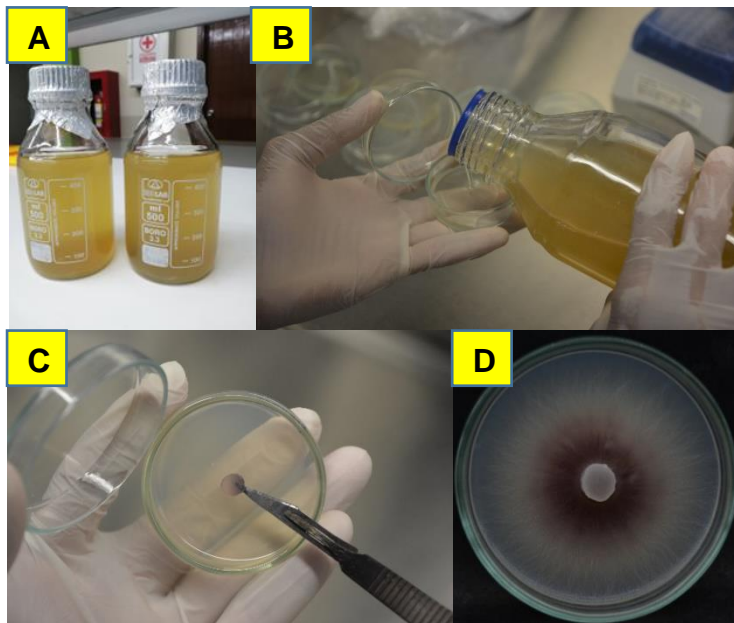


Figura 3.

Purificación de *F. verticillioides*. **A.** Medio PDA estéril. **B.** Preparación de placas Petri con medio PDA. **C.** Repique de *F. verticillioides* en medio PDA. **D.** *F. verticillioides* purificado.

c) Cultivos monospóricos

A partir de la purificación de *F. verticillioides* se realizó el proceso de subcultivo de una sola espora. La técnica consistió en el método de esporas por incubación vertical estandarizado por García-Bastidas et al. (2020). Primeramente, con la ayuda de un asa bacteriológica se tomó una pequeña porción de micelio conteniendo esporas y macroconidios. Se suspendió en un tubo con 10 ml de agua estéril. Después de agitar en un vórtex, la suspensión de conidios se vierte en una placa de Petri que contiene agar agua al 2%. El exceso de agua es sacudido inmediatamente. La placa se incuba en una posición inclinada a 25-28 °C en oscuridad durante unas 18 a 24 horas. Las placas son directamente examinadas usando un microscopio compuesto, y con la ayuda de un plumón indeleble fino se marca el conidio solitario. se extrae un solo conidio germinado en un pequeño cuadrado de agar agua con una aguja de transferencia o un bisturí y se transfiere a una placa PDA o SNA o CLA. La placa con la espora individual se incuba durante 2-4 semanas a 25-28 °C.

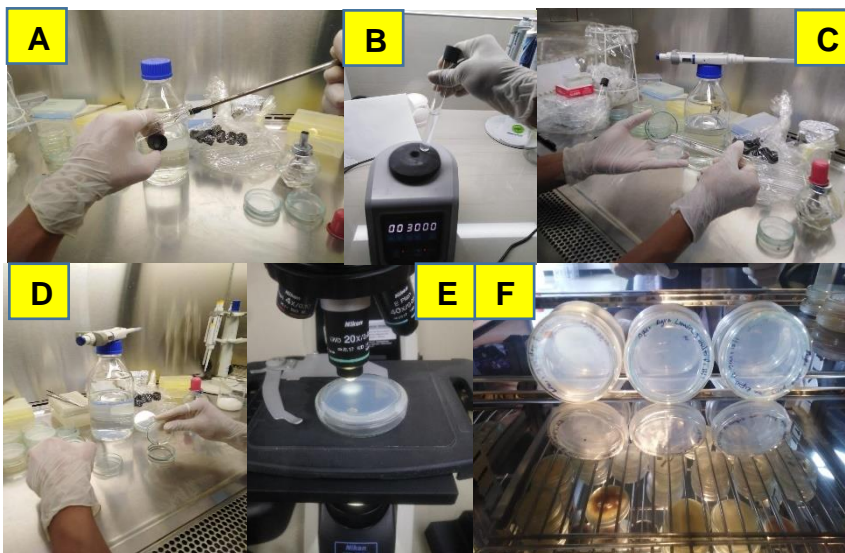


Figura 4.

Proceso de cultivo monospórico. **A.** Colocación de micelio del *F. verticillioides* en tubo con agua estéril. **B.** Agitación de muestra en vortex. **C.** Colocación de muestra agitada en placa Petri con agar agua al 2%. **D.** Desecho y secado de la muestra líquida. **E.** Observación y marcación del conidio solitario en microscopio. **F.** Incubación vertical del conidio solitario.

d) Identificación morfológica

Para la identificación de la especie se utilizaron tres medios de cultivo: papa dextrosa agar (PDA), Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA) y hojas agar clavel (CLA). La descripción morfológica se realizó en base a estructuras de características macroscópicas (pigmentación y textura de la colonia) y microscópicas (microconidios, macroconidios y

clamidosporas). Para ello se utilizaron las claves taxonómicas de Gerlach y Nirenberg (1982), Leslie y Summerell (2006) y Ismail et al., (2015).

Las características morfológicas observadas macroscópicamente de las colonias de *F. verticillioides* fueron lo siguiente: las colonias son de rápido crecimiento, el micelio aéreo va de color blanco a violeta oscuro o púrpura. Las características microscópicas mostraron lo siguiente: microconidios abundantes unicelulares en forma ovoide con la base truncada de 2-3 x 5-12 μm y macroconidios casi rectas con 3 a 6 septos de 2,5-5 x 15-60 μm y no se encontraron clamidosporas.

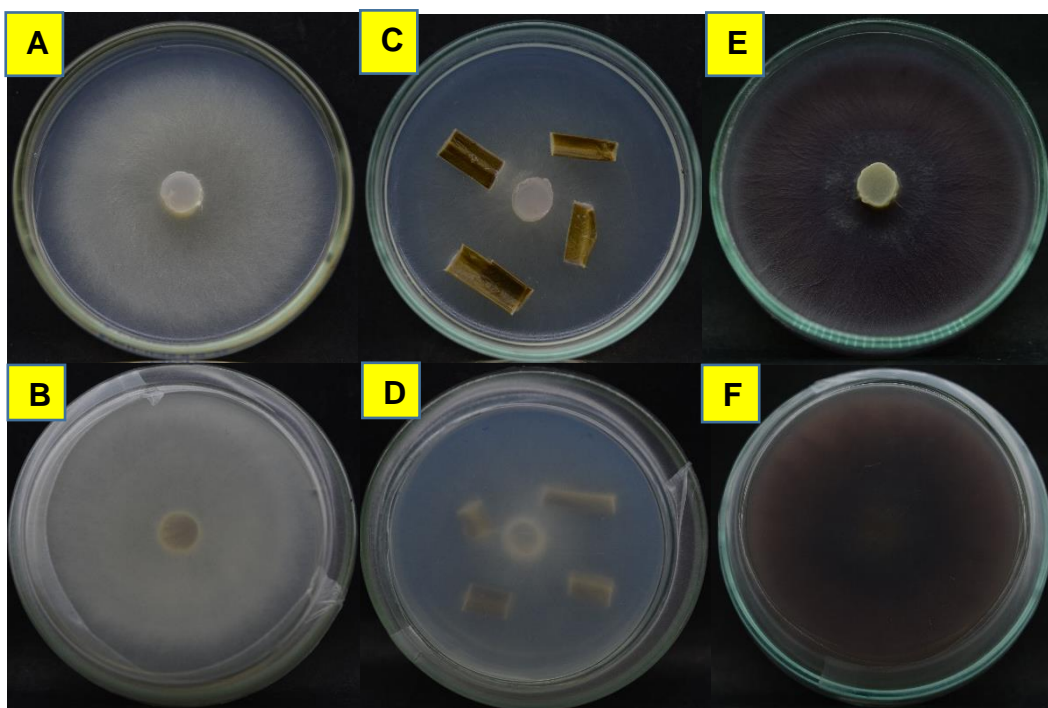


Figura 5.

Estructuras macroscópicas de *Fusarium verticillioides* en medios de cultivo. **A-B.** Color del micelio de *F. verticillioides* en medio SNA. **C-D.** *F. verticillioides* en medio CLA. **E-F.** *F. verticillioides* en medio PDA.

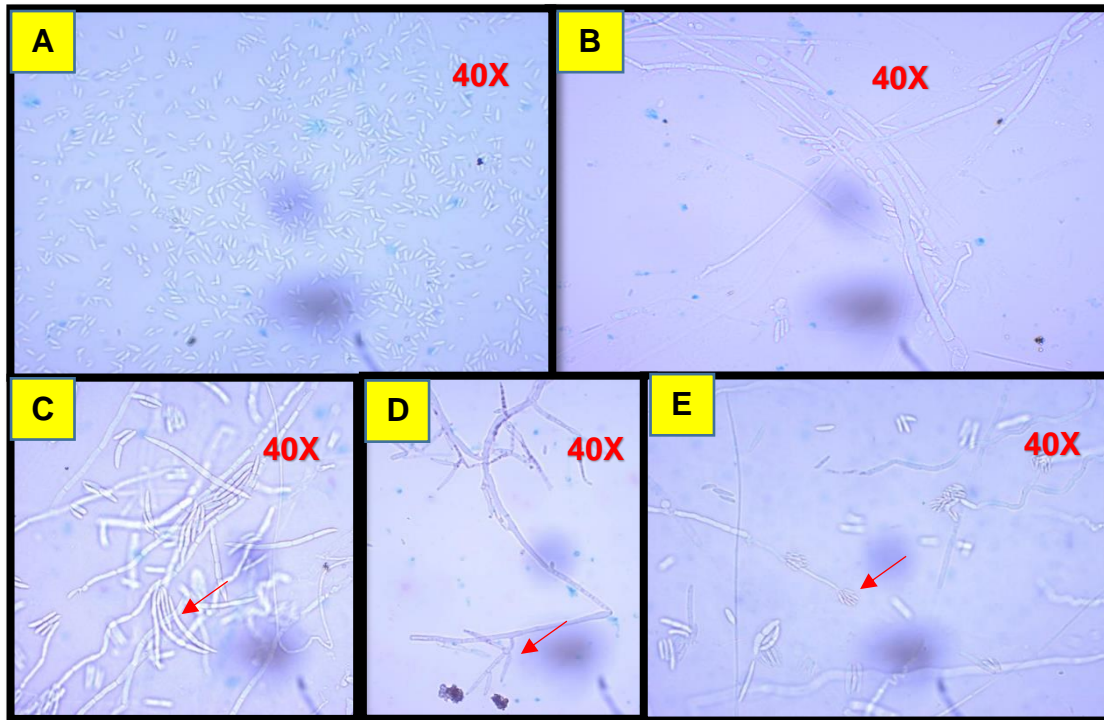


Figura 6.

Estructuras microscópicas de *Fusarium verticillioides*. **A.** Microconidios. **B.** Hifas. **C.** Macroconidios. **D.** Fiálides. **E.** Conidióforos.

e) Identificación molecular

- Extracción del ADN por CTAB:

La extracción de ADN se realizó siguiendo el protocolo de CTAB (Cetiltrimetil-bromuro de amonio) descrito por Doyle y Doyle (1987) con modificaciones. Pesar 100 mg de micelio de *F. verticillioides* en tubo de 2 ml; verter 200 μ l de CTAB en cada tubo (antes debe ser calentado a 60°C en baño maría); agregar a cada tubo 2 μ l de mercaptoetanol; con la ayuda de un pilón moler la muestra hasta conseguir una consistencia pastosa; agregar 10 μ l de proteinasa K; enrazar a cada tubo a 1 ml con CTAB; mezclar en un vortex durante 30 segundos; colocar en baño maría a 60°C y dejar toda la noche; añadir 1 ml de cloroformo a cada tubo; mezclar por inversión durante 5 minutos; centrifugar a 8 000 rpm durante 5 minutos; tomar 500 μ l del sobrenadante y colocar en tubos de 1,5 ml; adicionar 750 μ l de isopropanol frío y mezclar por inversión durante 2 minutos; congelar 2 horas a -20°C; centrifugar a 13 000 por 5 minutos; desechar el líquido sin perder el pellet; agregar 750 μ l de etanol al 70% y centrifugar a 13 000 rpm durante 15 minutos. Desechar la solución y repetir el proceso una vez más; secar el pellet a temperatura ambiente (2 a 3 horas); resuspender el pellet 30 μ l de agua miliq. Almacenar a -20°C.

Para la cantidad y calidad del ADN se empleó el NanoDrop a una longitud de onda de 260 nm (A260), posteriormente se ajustó a un rango de concentración de 50 ng/ μ l con agua ultra pura.

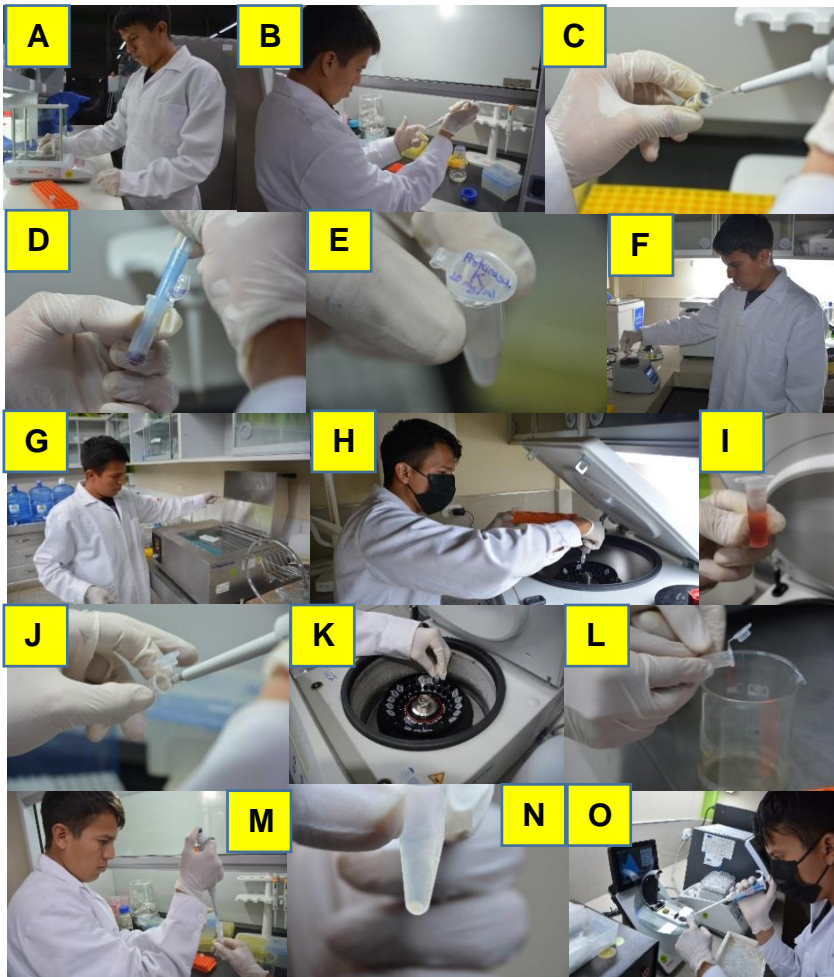


Figura 7.

Proceso de extracción de ADN. **A.** Peso de muestra. **B.** Adición de CTAB. **C.** Adición de mercaptoetanol. **D.** Trituración de la muestra. **E.** Adición de proteinasa. **F.** Homogenización de los componentes. **G.** Muestra en baño maría. **H.** Centrifugación de la muestra. **I - J:** Separación del sobrenadante. **K.** Centrifugación del isopropanol. **L:** Lavado de muestra con etanol. **M:** Repetición del paso L. **N.** Observación del pellet. **O.** Cuantificación del ADN en nanodrop.

- **Electroforesis del ADN**

La presencia e integridad del ADN fue observada mediante electroforesis. Para lo cual, se tomó 1 μ l de ADN y se mezcló con 3 μ l diamond, y 3 μ l de buffer; la mezcla se cargó en el gel de agarosa al 1% (p/v) y se dejó correr en tampón TAE 1X, a 90 voltios, 180 amperios durante 40 minutos. Concluido el tiempo, se colocó el gel en un transiluminador de luz UV para visualizar la integridad del ADN.

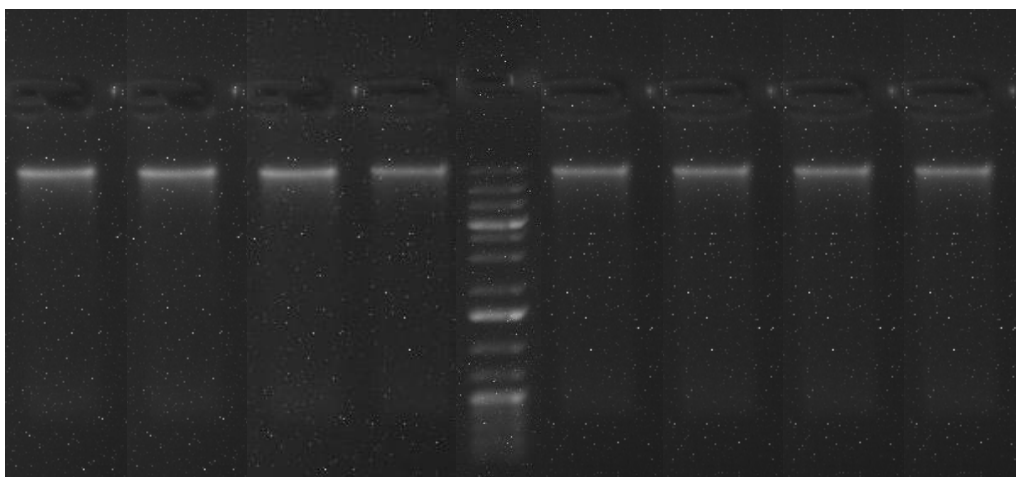


Figura 8.

Electroforesis para la integridad de ADN de *F. verticillioides*.

- PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)

El volumen final de reacción del PCR fue de 10 μL , el cual contenía 5,95 μL de agua ultra pura; 2 μL de buffer de reacción para PCR (10X); 0,2 μL de dNTP's (10 mM); 0,4 μL de cada primer (10 μM); 0,05 μL de Taq ADN polimerasa ($5\text{U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$); y 1 μL de ADN a una concentración de 50ng/ μL . El proceso de amplificación se llevó a cabo en el termociclador cuyas condiciones fueron; incubación a 95°C por 2 minutos; 40 ciclos de segunda desnaturalización a 95°C por 30 segundos, hibridación a 64°C por 30 segundos, y elongación a 72°C por 1 minuto; y una extensión final a 72°C por 5 minutos.

Tabla 2

Primers utilizado para la amplificación de (F. verticillioides).

Nombre	Secuencia del oligo 5' - 3'	Tamaño (pb)	Referencia
VERT-FV	5' GTCAGAATCCATGCCAGAACG 3'	800	Patiño et al.,2004
VERT-RV	5' CACCCGCAGCAATCCATCAG 3'		

- **Electroforesis:** Los productos de PCR amplificados fueron visualizados en geles de agarosa al 1% con TAE 1x, con un marcador de peso molecular de 20000 pb (GeneRuler 1kb). Al volumen final (10 μL) de las muestras de PCR se agregó 5 μL de diamond, luego se corrió durante 40 minutos a 90 Voltios y 180 Amperios. La visualización de las bandas se realizó en un transiluminador UV (Invitrogen).

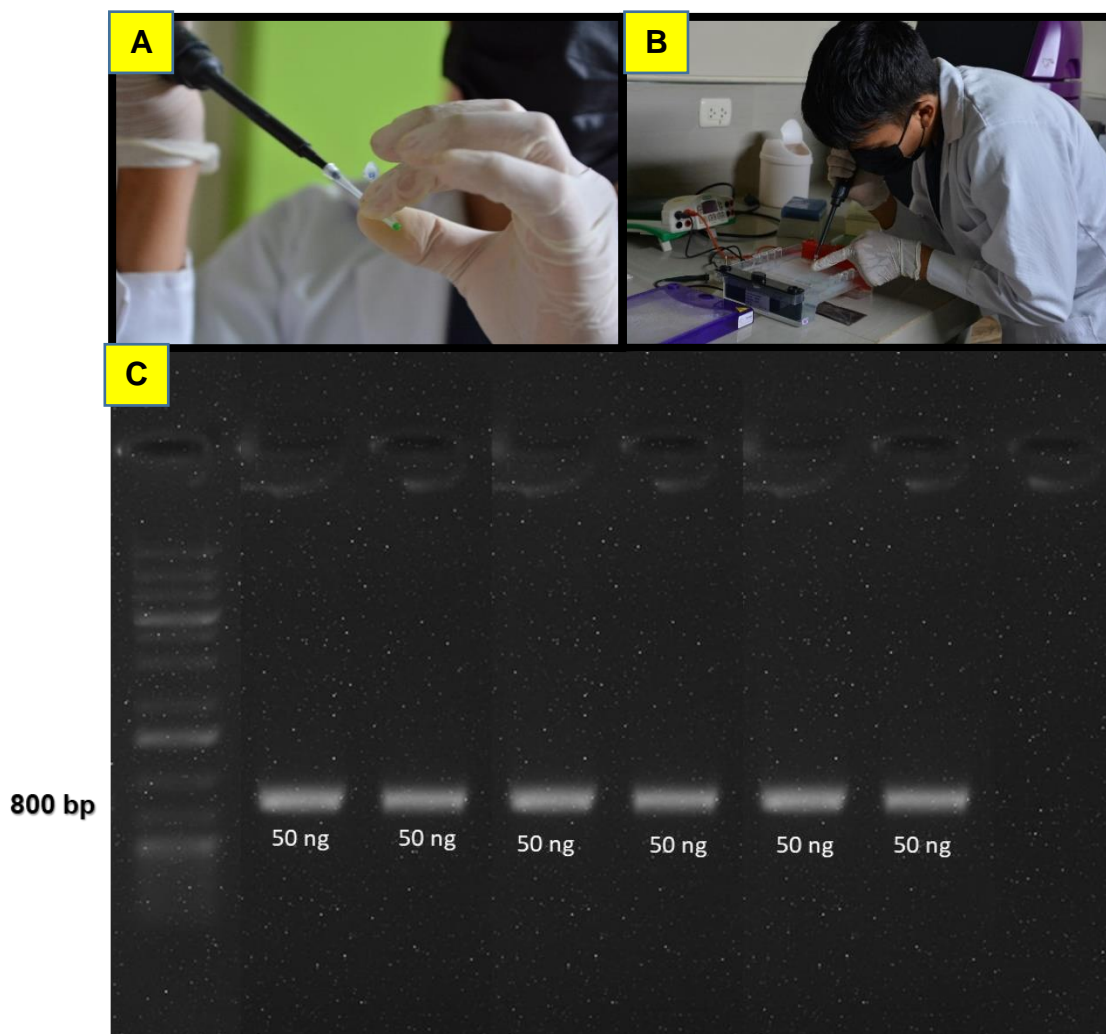


Figura 9.

A. Electroforesis para PCR. **A.** Toma de muestra PCR. **B.** Siembra del producto final PCR. **C.** Observación de muestras amplificadas en gel de agarosa.

f) Preparación del inóculo del *F. verticillioides*

Se utilizó papa dextrosa líquido (PDB: papa 250 g, dextrosa 15 g, y agua destilada 1000 ml) y completar hasta 100 ml de volumen en matraces Erlenmeyer (250 ml de volumen). Luego se coloca en el caldo una pequeña alícuota (<0,5 cm²) de PDA con el micelio de la especie a evaluar y el control positivo. El caldo que contenía el inóculo se agitó continuamente a 120 rpm durante 5 días a temperatura ambiente para producir conidios o esporas que sirvieron como inóculo (Balogun et al., 2008; Inami et al., 2012).

Al final del período de incubación, filtrar la solución con una gasa en un tubo de 50 ml, centrifugar inmediatamente a 3000 rpm durante 15 min, luego retirar el sobrenadante y almacenar el precipitado donde se encontró. Agregar 10 ml de agua destilada al precipitado donde están los conidios y homogenizar por agitación vorticial (Balogun et al., 2008).



Figura 10.

A. Proceso para la preparación del inóculo. **A.** Matracas con PDB estériles. **B-C:** Corte de la muestra patógena y colocación en el medio PDB. **D.** Medio PDB cargados con micelio del *F. verticillioides* puesto en agitación. **E:** Caldo completamente infestado con el *F. verticillioides*. **F-G:** Colado del micelio y puestos en tubos falcon. **H-I:** Centrifugación del sobrenadante. **J-K:** Desechado del sobrenadante y suspensión del precipitado con agua estéril.

g) Conteo de conidios en cámara de Neubauer

Primero se diluyó el inóculo con agua destilada estéril y se realizaron diluciones seriadas debido a que la concentración inicial de conidios era muy alta y difícil de contar. La cantidad de conidios puede variar en la concentración inicial. Luego, usando un hemocitómetro de 0,2 mm, colocamos 4 μ l de inóculo en una rejilla (arriba y abajo) y observamos el número de conidios en algunas celdas (alrededor de 16 celdas/campo) en cuatro campos grandes

bajo un microscopio (Caballo-Linares et al., 2020). El número de conidios/célula se contó visualmente y el número de conidios/ml se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula.

$$\frac{N \text{ células}}{\# \text{ cuadros grandes}} \cdot \frac{1 \text{ cuadro}}{L.A.P \text{ mm}^3} \cdot \frac{1000 \text{ mm}^3}{\text{cm}^3} \cdot \frac{\text{cm}^3}{1 \text{ ml}} \cdot FD$$

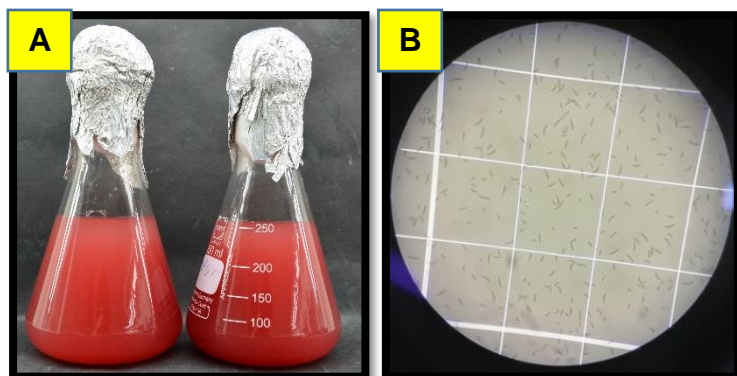


Figura 11.

Cuantificación de conidios en un hemocitómetro. **A.** Inóculo de *F. verticillioides* diluido en agua. **B.** Conteo de conidios.

h) Prueba de patogenicidad

El esquema de hipótesis de Koch se utilizó para probar la patogenicidad de *Fusarium verticillioides*. En macetas de plástico de 3 kilogramos con mezcla de suelo agrícola y arena estéril en proporción 2:0,5 se sembró semillas de sachá inchi previamente germinadas en cámara húmeda. Se realizó la inoculación líquida al suelo de *Fusarium verticillioides* en las plantas de sachá inchi 20 días posteriores a la siembra (dps). La concentración del inóculo fue ajustada de acuerdo a la metodología de Chai et al. (2018), que fue 5×10^6 UFC/ml y según Ahammed et al. (2020), se añadió 20 ml/planta de la suspensión celular que equivale a 1×10^8 UFC/planta. Los conidios se contaron en una cámara de Neubauer. *F. verticillioides* fue nuevamente reaislado con éxito de las plantas inoculadas artificialmente, cumpliendo la hipótesis de Koch.

i) Escala de severidad externa de *Fusarium verticillioides*

La escala se determinó mediante la prueba de patogenicidad lo cual después de la inoculación de *F. verticillioides* las plantas se controlan regularmente hasta que aparezcan síntomas de marchitamiento. Esta escala se desarrolló durante 4 meses en vivero. La aparición de los primeros síntomas como grado 1 se mostró a los 20 dpi; el grado 2 se mostró a los 36 dpi; el grado 3 a los 46 dpi; el grado 4 a los 106 dpi.

Tabla 3

Escala ordinal visual de severidad externa para plantas de *sacha inchi*.

GRADO	DESCRIPCIÓN
0	Sin síntomas.
1	Amarillamiento, secamiento y caída de las primeras hojas bajas.
2	Clorosis moderada de las hojas en forma ascendente.
3	Marchitez y defoliación severa de las hojas en forma ascendente.
4	Muerte de la planta (Defoliación completa de las hojas y pudrición radicular).

Fuente: Propia

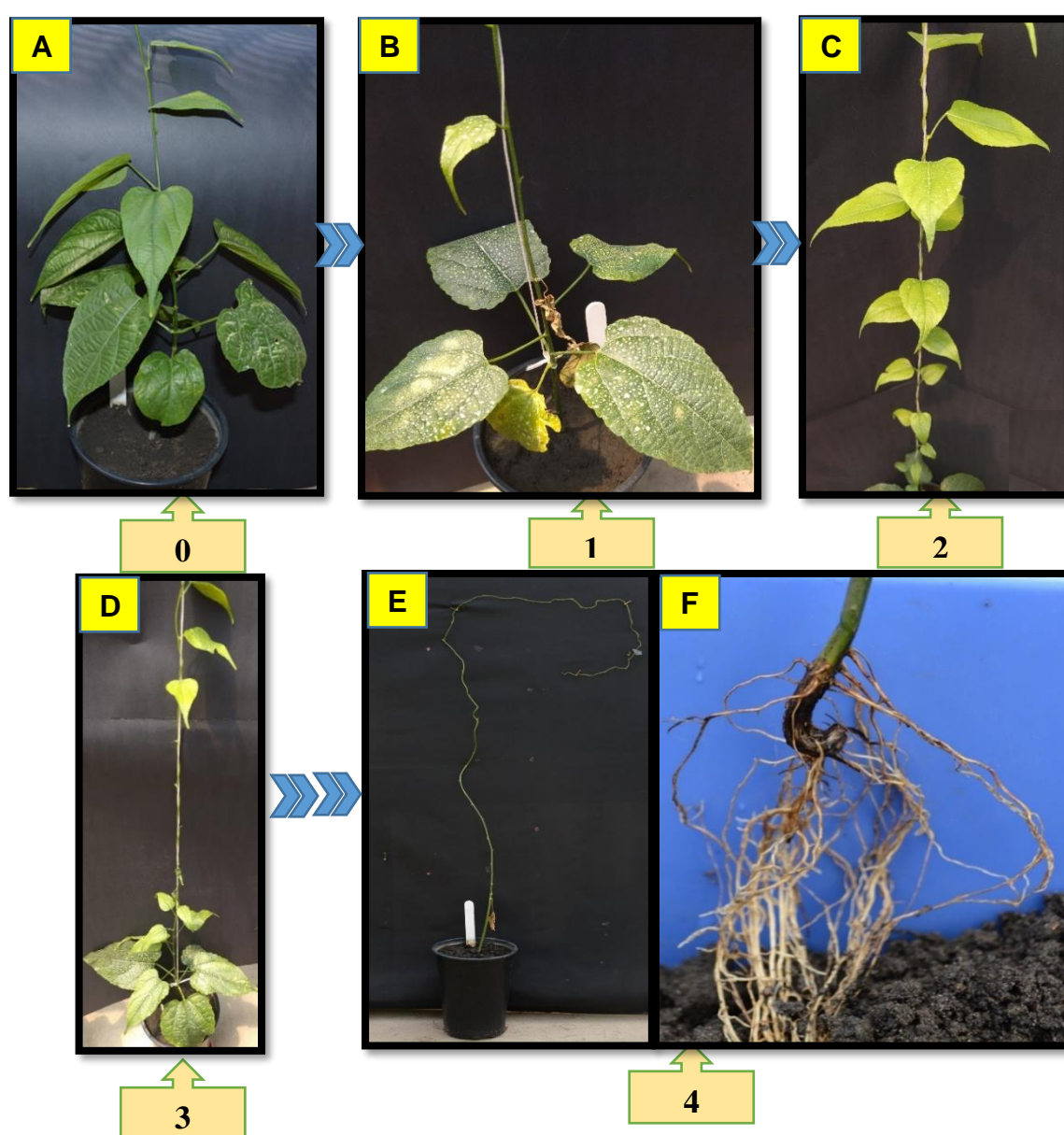


Figura 12.

Escala ordinal de la severidad externa de la *Fusarium verticillioides*. A. Grado 0. B. Grado 1. C. Grado 2. D. Grado 3. E-F: Grado 4.

j) Escala de severidad interna de *Fusarium verticillioides*

Esta escala se desarrolló simultáneamente con la severidad externa.

Tabla 4

Escala ordinal visual de severidad interna para plantas de sachá inchi.

GRADO	DESCRIPCIÓN
0	Ausencia de síntomas en el cuello y raíz de la planta.
1	Puntos y líneas dispersas color café oscuro en el tejido vascular del cuello y raíz de la planta.
2	Coloración café oscuro y manchas necróticas en el cuello y raíz de la planta menor al 50%.
3	Coloración café oscuro y necrosis del 50% al 75% en el cuello y raíz de la planta.
4	Coloración café oscuro y necrosis del 75% al 100% en el cuello y raíz de la planta.

Fuente: Propia

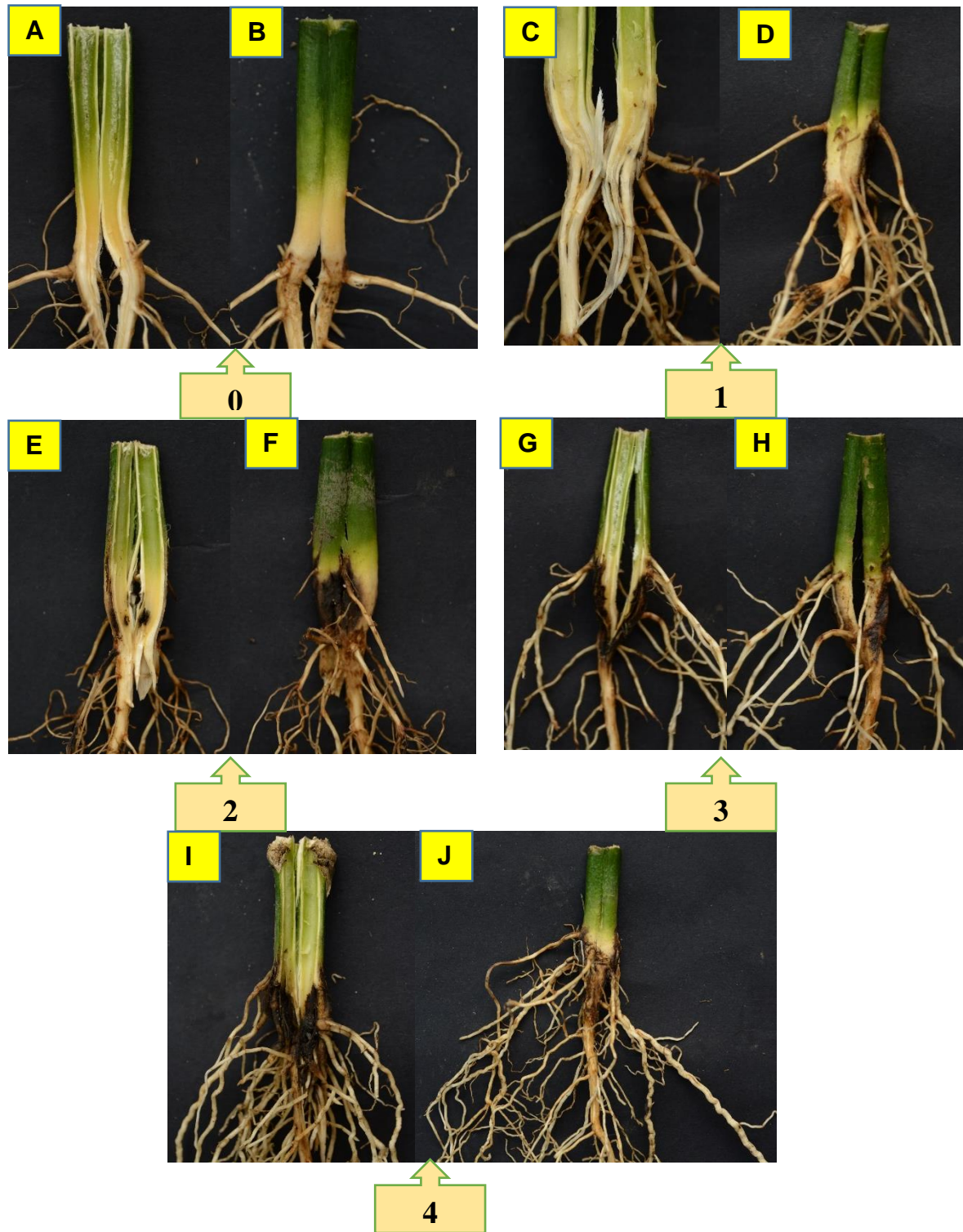


Figura 13.

Escala de la severidad interna de la severidad de la *Fusarium verticillioides*. **A-B:** Grado 0. **C-D:** Grado 1. **E-F:** Grado 2. **G-H:** Grado 3. **I-J:** Grao 4.

Fase vivero

a) Esterilización del suelo agrícola y arena

El sustrato se esterilizó en una autoclave a 121°C a 15 lb de presión por 60 minutos en un periodo de tres días. Para confirmar el éxito de la esterilización, se colocó partículas del sustrato del suelo en placas Petri, que contenía agar papa dextrosa (PDA), incubándolas en condiciones de humedad durante tres días a 25 ° C, para verificar y asegurarse si existe algún hongo o bacteria creciendo a partir del sustrato.



Figura 14.

Proceso de esterilización del suelo. **A.** Ubicación del suelo en la autoclave. **B.** Suelo autoclavado listo para macetas.

b) Preparación de sustrato y llenado de macetas

Para la preparación del sustrato se incluyó suelo agrícola y arena de cuarzo, en proporción 2:0.5. La mezcla se llenó en macetas de plástico de 3 kg.



Figura 15.

Preparación de sustrato estéril **A.** Mezcla de suelo y arena proporción 2:0.5. **B.** Llenado de sustrato en macetas. **C.** Macetas ordenadas por tratamiento.

c) Colecta y germinación de la semilla

Las semillas fueron cosechadas de pinto recodo, recolectadas de plantas cultivadas con mayor producción y libre de enfermedades. Para la germinación se seleccionaron semillas de un solo tamaño y color. Luego se desinfectó con lejía al 2 % por 10 minutos, posteriormente se lavó con agua destilada para eliminar todo el residuo de la solución. Seguidamente se sembró en macetas con arena esterilizada. Las semillas fueron regadas con agua libre de patógenos.

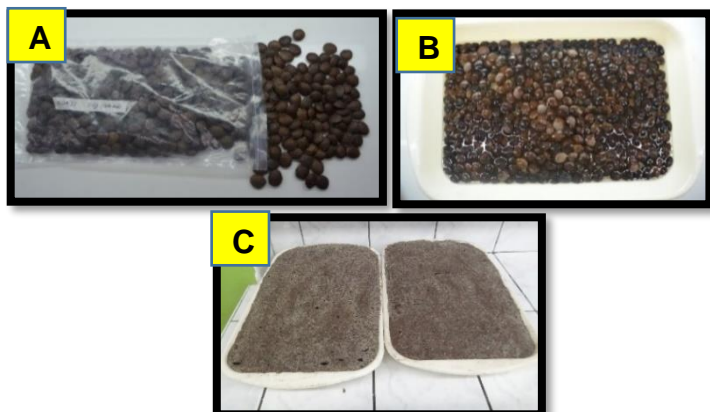


Figura 16.

Selección y germinación de semillas de saha inchi. **A.** Semillas de saha inchi seleccionado. **B.** Desinfección de semillas. **C.** Semillas sembradas en arena estéril.

d) Inoculación de los HMA

Se emplearon dos especies de HMA (*Rhizoglosum dunense* y *Paraglosum laccatum*) identificados molecularmente, ambas especies fueron recolectadas de plantaciones de saha inchi de la localidad de Chazuta, provincia de San Martín, región San Martín teniendo las siguientes coordenadas UTM (18 M) 377,2029,274,203. Las dos cepas fueron multiplicadas con 4 tipos de sustratos utilizando plantas trampas (sorgo y brachiaria) en condiciones de vivero. Posteriormente almacenados y conservados a 4°C en el LBGSM de la UNSM hasta su uso. El inóculo de las especies de *Rhizoglosum dunense* y *Paraglosum laccatum* fue de 1 000 esporas/maceta e inoculados mediante recubrimiento de semilla.



Figura 17.

Inoculación de los HMA. **A.** Inóculo homogenizado. **B.** Siembra de semilla inoculado con HMA.

e) Siembra de la semilla

Para la siembra se estandarizó semillas previamente germinadas con una longitud de 2 cm de su embrión para homogenizar el crecimiento.

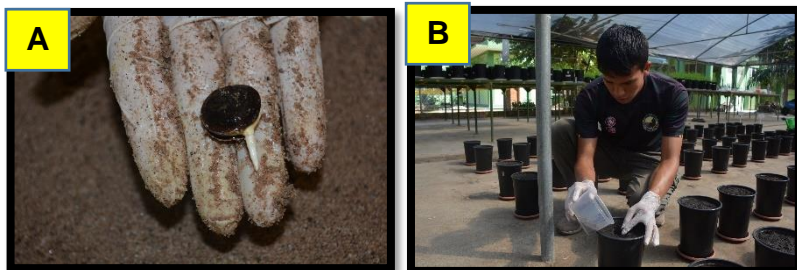


Figura 18.

Siembra de semillas pregerminadas en macetas. **A.** Semilla pregerminada. **B.** Siembra de semillas.

f) Inoculación de *F. verticillioides*

Para la inoculación primeramente se realizó previamente la preparación del inóculo y el conteo que previamente ya se mencionó anteriormente. La inoculación se realizó 20 días posteriores a la siembra (dps), para ello se realizaron cuatro pequeñas incisiones circulares de 5 cm de profundidad con una espátula o palo de anticucho estéril cerca a la raíz, para así permitir la infección de *F. verticillioides*, seguidamente con una pipeta de 10 ml se inoculó 20 ml/ planta en una concentración de 5×10^6 UFC/ml.

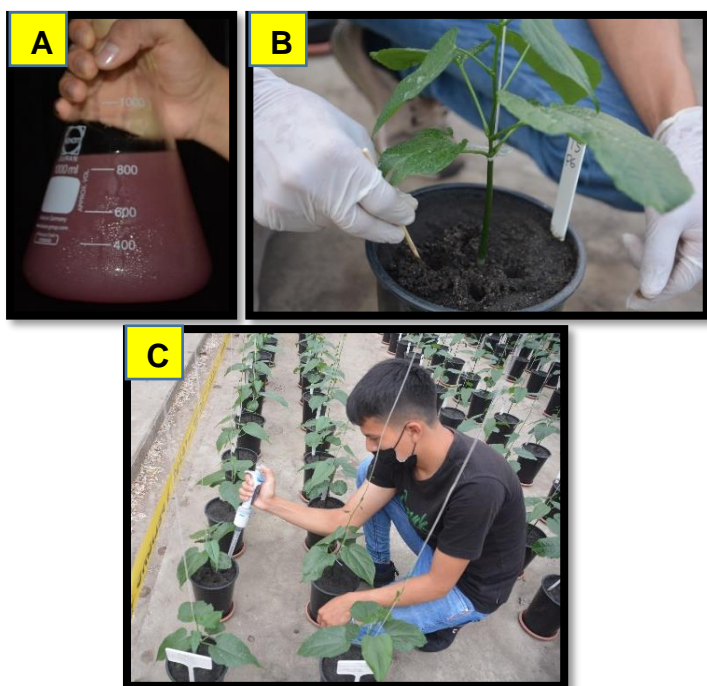


Figura 19.

Inoculación de *F. verticillioides*. **A.** Inóculo líquido de *F. verticillioides* cuantificado. **B.** Ejecución de agujeros para el inóculo. **C.** Inoculación cuantificada en las plántulas.

g) Aplicación de solución nutritiva

Se aplico la solución nutritiva Long Ashton a razón de 50 ml/ planta cada 15 días a partir del primer mes hasta los 60 días.

Tabla 5

Contenido de solución nutritiva Long Ashton.

Compuestos nutritivos	Cantidad para 1L de solución (ml)
Nitrato de potasio (KNO_3)	5,0
Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	5,0
Nitrato de calcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	5,0
Monofosfato de sodio ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{H}_2\text{O}$)	1,25
Elementos traza	1,0
Solución de citratos	5,0

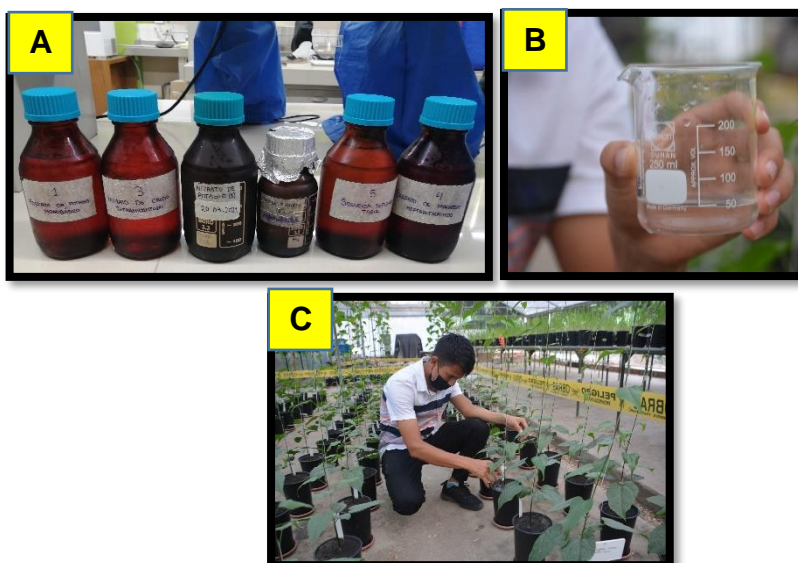


Figura 20.

Aplicación de la solución nutritiva Long Ashton en plantas de saha inchi. **A.** Reactivos preparados para solución nutritiva. **B.** Medición de la solución nutritiva. **C.** Aplicación de solución nutritiva.

h) Riego

El riego se realizó con agua destilada a razón de 100 ml/ planta tres veces al día y de forma diaria hasta 15 días después de la inoculación con *F. verticillioides*, con el fin de darle las condiciones de humedad y temperatura al hongo, así mismo es el tiempo necesario en que el *F. verticillioides* infecta a la planta según la prueba de patogenicidad.



Figura 21.

Riego en plántulas de sachá inchi.

Evaluaciones fase vivero:

a) Altura

Para esta evaluación se utilizó una regla métrica y se tomaron medidas desde el fondo del suelo hasta la parte superior de la planta cada 10 días después de la siembra (DDS).



Figura 22.

Evaluación de altura en plántulas de sachá inchi.

b) Diámetro

La medición se realizó cada 10 DDS con un vernier digital tomándose como punto de medida a 1 cm del suelo.



Figura 23.

Evaluación de diámetro del tallo en plántula de sachá inchi de 70 días en condiciones de vivero.

c) Número de hojas

Se realizó mediante la observación desde la base hasta la parte apical de la planta cada 10 DDS.



Figura 24.

Evaluación de números de hojas en sachá inchi.

d) Número de hojas cloróticas

Se realizó después de la inoculación de *F. verticillioides* cada 10 días. Se considero hojas con síntomas de amarillamiento y caída.

$$\% \text{ de hojas cloróticas} = (\text{hojas cloróticas} / \text{total}) * 100$$

e) Inicio de guías

Se realizó visualmente desde que las plantas iniciaron a guiar.

f) Peso fresco de la biomasa aérea

Las plantas de sachá inchi se cortaron a 1 cm de la superficie del suelo a los 70 días y se pesaron tallo y hojas en una balanza analítica. Las raíces no se consideraron porque fue sometida para la evaluación el porcentaje de colonización y densidad poblacional de *F. verticillioides*.



Figura 25.

Evaluación del peso fresco de la biomasa aérea.

g) Peso seco de la biomasa aérea

Después de obtener la biomasa fresca, estas mismas fueron puestas a una estufa de 60°C por 3 días, después de ese tiempo se pesó en una balanza analítica.

h) Clorofila

Se evaluó seleccionando 5 hojas completamente desarrolladas, ubicadas en la parte media de la planta. La medición se realizó utilizando un medidor de clorofila (SPAD 502 plus).



Figura 26.

Evaluación del contenido de clorofila.

i) Área foliar

Se realizó al final del experimento donde se recolectó de la parte media de la planta 10 hojas/planta con el fin de tener muestras homogéneas. Las hojas fueron escaneadas para luego procesarlas por el programa FIJI (Fiji Is Just Image) y determinar el área foliar (cm²).

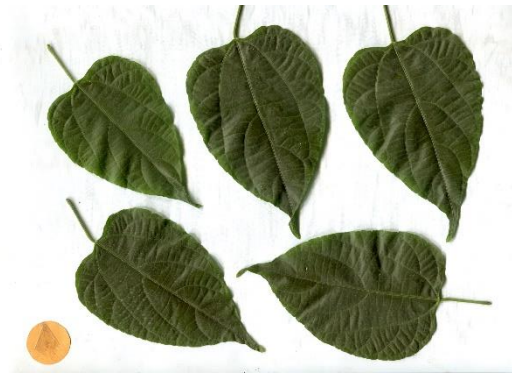


Figura 27.

Escaneo de hojas para la evaluación del área foliar en el programa FIJI.

j) Peso fresco de la raíz

Se realizó al final del experimento, lo cual se extrajo las raíces de las macetas, se lavó, se secó y se pesó en una balanza analítica.

k) Peso seco de la raíz

Las raíces frescas se colocaron en una estufa a 60°C por 72 horas, luego fueron pesadas en una balanza analítica.

l) Análisis foliar de NPK

El análisis se realizó en el ICT (Instituto de Cultivos Tropicales) a partir de la biomasa seca aérea (hoja y tallo).

3.3.2 Evaluar la influencia de la colonización micorrícica y la actividad succinato deshidrogenasa del HMA en sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) sobre la densidad poblacional radicular de *Fusarium verticillioides*.

a) Porcentaje de colonización micorrícica

Tinción de raíces

Se eligieron secciones de raíces de 1,5-2,5 cm de largo (secundarias y terciarias) y luego se colocaron en tubos Falcon con alcohol al 70% para conservar la muestra. La tinción y clarificación se realizó con la técnica descrita por Phillips y Hayman (1970) con modificaciones.

Las raíces se colocaron en tubos de 50 ml en una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% hasta cubrir la muestra, las raíces se colocaron en un baño María a 90 ° C durante 60 minutos para eliminar el contenido citoplasmático y limpiar el tejido cortical, luego se

retiraron y se agregaron 20 volúmenes de H_2O_2 en la misma proporción de KOH a temperatura ambiente durante 1 minuto para terminar de blanquear las raíces, luego, paralelamente se realizó 3 lavados con agua de caño y se dejaron en reposo hasta eliminar el contenido líquido, Seguidamente, se sumergieron en tinta Parker al 5,7% durante 20 minutos a temperatura ambiente, al mismo tiempo se llevaron las muestras al baño María a $90\text{ }^\circ\text{C}$ durante 10 minutos y finalmente, se enjuagaron tres veces con agua corriente y se añadió lactoglicerol para conservar las muestras.

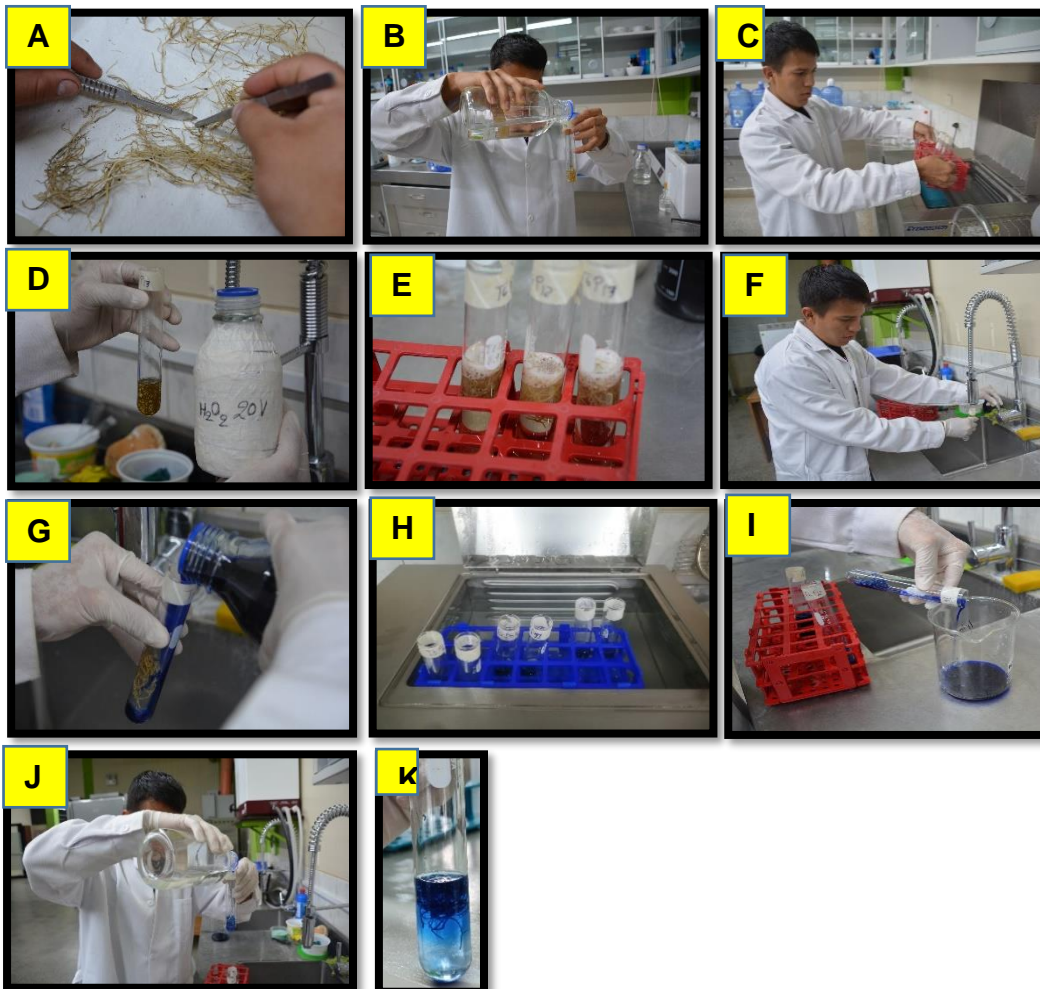


Figura 28.

Proceso de tinción de raíces. **A.** Corte de raíces secundarias. **B.** Aplicación de KOH a las raíces. **C.** Raíces con KOH en baño maría. **D.** Aplicación de peróxido de hidrógeno. **E.** Raíces con H_2O_2 en reposo. **F.** Lavado del H_2O_2 con agua de caño. **G.** Adición de tinta Parker. **H.** Muestras en baño maría para la tinción. **I.** Desecho de la tinta Parker. **J.** Adición de lactoglicerol. **K.** Raíces teñidas lista para observar en microscopio.

Determinación del nivel de colonización

El porcentaje de colonización se dio mediante el método de Brundrett et al., (1996) con modificaciones. Se montó 20 raíces coloreadas de 1 cm de largo sobre una lámina portaobjeto colocadas verticalmente. Para la observación las muestras fueron llevadas a un microscopio trinocular y con el software “Leica LAS EZ for digital camera” se cuantificó las raíces micorrizadas. El método de observación fue mirar por la esquina superior izquierdo y desplazar la platina de forma horizontal en dirección a las otras raíces. Cada lámina fue sometida a 3 pasadas, teniendo 60 observaciones. Para determinar la colonización se basó en que, si la raíz presentaba estructuras como hifas, vesículas y arbusculos, se consideraba signo positivo (+); y si no, un signo negativo (-). El porcentaje de colonización se determinó utilizando la fórmula que se muestra a continuación.

$$\% \text{ colonización} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de raíces colonizadas}}{\text{N}^\circ \text{ total de raíces colonizadas}} \times 100$$

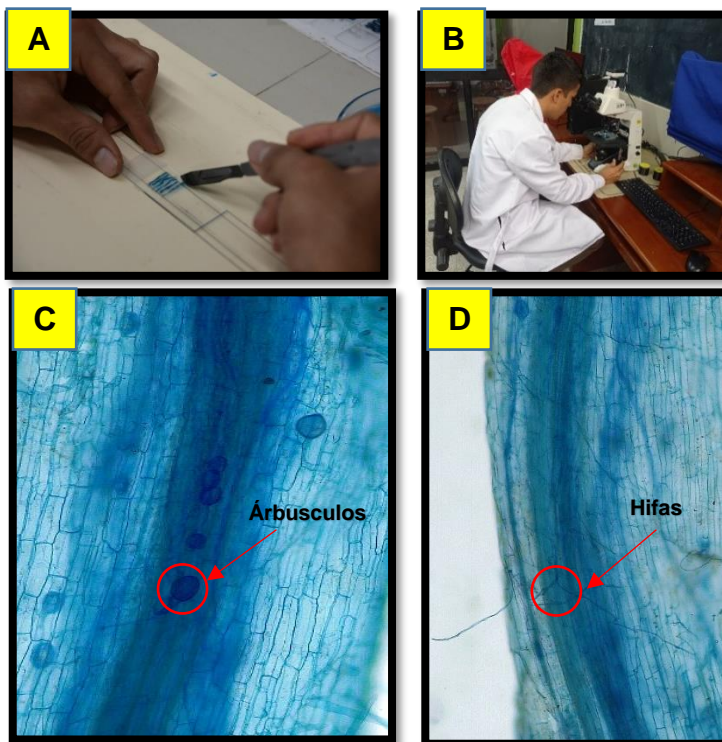


Figura 29.

Proceso de evaluación de la colonización micorrícica. **A.** Corte de raíces teñidas y Montaje de raíces en laminas portaobjetos. **B.** Observación en microscopio. **C-D.** Estructuras fúngicas de HMA (vesículas e hifas).

b) Determinación de la enzima succinato deshidrogenasa

Se realizó mediante la metodología de Saito et al. (1993).

Reactivos:

- Buffer SD: 50mM Tris HCl (pH 7,4), 0,5 mM MgCl, 1 mg/ml de nitroazul de tetrazoilo, 0,25 M de succinato de disodio.
- Hidrato de cloral al 10% (100 g en 1 l).
- Fucsina ácida (2 g/litro en lactoglicerol).

Procedimiento:

- Se lavan las raíces y se cortan en trozos de 1 a 1,5 cm de longitud.
- Incubar una porción de raíces frescas en la solución Buffer SD en tubos de 2 ml (lo suficiente para cubrir las raíces) e incubar a 25° por 5 h.
- Se elimina la solución incubadora, se añade hidrato de cloral y se colocan por 60 minutos a 90 °C en baño maría.
- Se elimina el hidrato de cloral, se cubren las raíces con fucsina y contrateñir durante 2 días para permitir penetración completa de la contratación.
- Finalizada la tinción, las muestras se enjuagaron en lactoglicerol hasta la cuantificación.
- Cortar las raíces de 1 cm y montar en láminas portaobjeto y luego observar en el microscopio a 20x. Las zonas donde actuó la SDH se visualizan de color azul oscuro y las áreas de micelio inactivo o muerto se tiñen de rosado.
- Escala: sin actividad (sin tinción), baja actividad (tinción normal) y alta actividad (tinción densa) (Saito et al., 1993).

c) Densidad poblacional de *F. verticillioides* (UFC /g-1 de raíz)

Las raíces frescas se secaron en un horno a 40°C durante 7 días y se pasó a través de un tamiz de malla de 1 mm. Luego, se tomaron 20 mg de cada raíz en polvo y se colocarán en tubos Eppendorf con lejía al 3 % durante 3 min, para luego lavarlos tres veces con agua estéril. El material desinfectado se vertió en placas Petri con 20 ml. de medio agar selectivo para *Fusarium* (SFA) (Leslie y Summerell, 2006) previamente esterilizados en autoclave (Spagnoletti et al., 2021). Las placas se incubarán a 25°C en la oscuridad durante 5 días y luego las colonias de *F. verticillioides* fueron contadas (UFC/ g⁻¹ raíz).

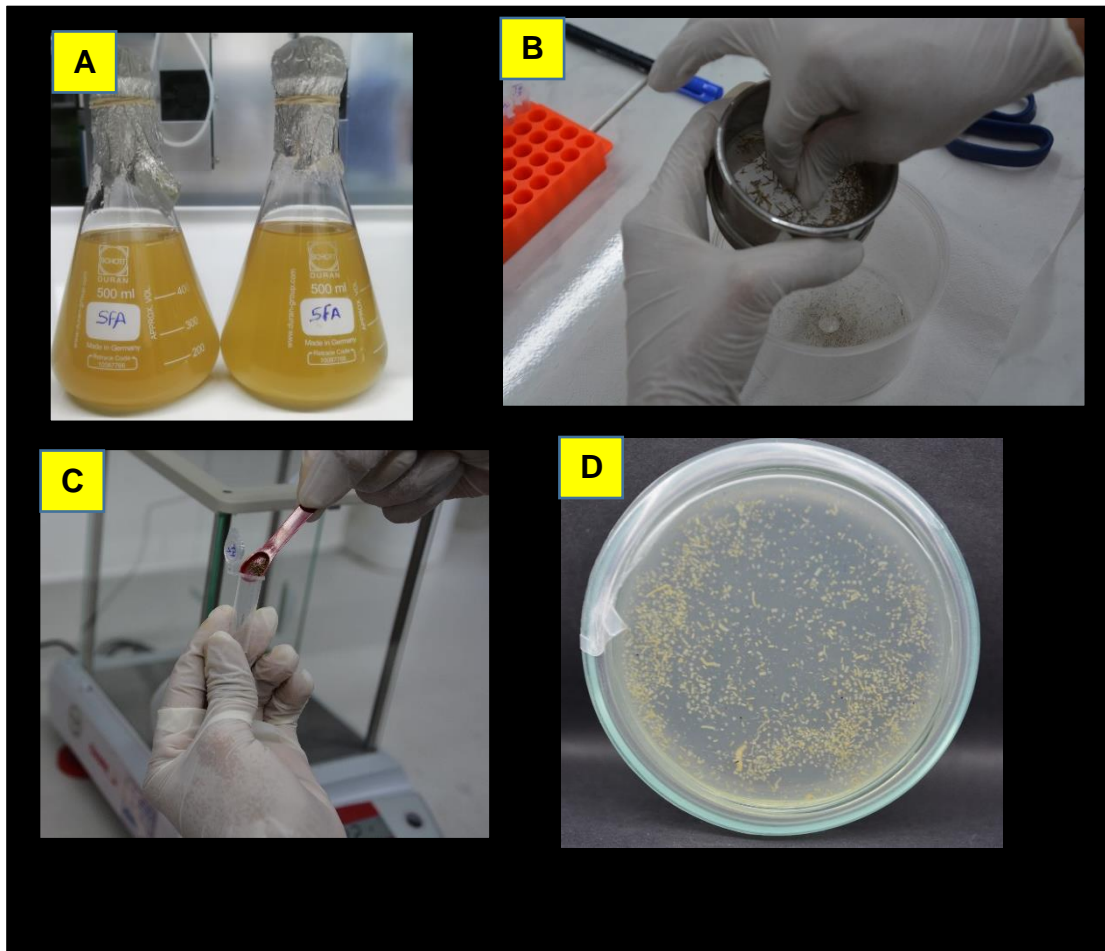


Figura 30.

Evaluación de la densidad poblacional de *F. verticillioides* (UFC /g⁻¹ de raíz). **A.** Medio agar selectivo estériles para *Fusarium*. **B.** Tamizado de raíces. **C.** Peso del tamizado de raíces en polvo. **D.** Raíces en polvo previamente desinfectados puestas en medio SFA.

3.3.3 Evaluar la incidencia y severidad causada por *Fusarium verticillioides* en plántulas de sachá inchi, inoculadas con *Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus lacatum*.

a) Incidencia de la enfermedad %

La incidencia de la enfermedad se calculó como: % Incidencia de enfermedad = $n / N \times 100$, donde: n = número de plantas que muestran síntomas de enfermedad con al menos una coloración marrón del tallo y N = número total de plantas (Persson et al., 1997).

b) Severidad de la enfermedad (escala)

La severidad de la enfermedad se evaluó a los 20 días después de la inoculación tanto en la parte externa como en la parte interna de la planta. Para la severidad externa se evaluó mediante una escala ordinal de 0-4 basado en los síntomas de las hojas: 0= sin síntomas; 1= amarillamiento, secamiento y caída de las primeras hojas bajas; 2= clorosis moderada de las hojas en forma ascendente; 3= marchitez y defoliación severa de las hojas en forma ascendente; 4= muerte de la planta (defoliación completa de las hojas y pudrición radicular). Para la severidad interna se evaluó usando una escala de 0 a 4 en base a la necrosis de la raíz: 0= ausencia de síntomas en el cuello y raíz de la planta; 1= puntos y líneas dispersas color café oscuro en el tejido vascular del cuello y raíz de la planta; 2= coloración café oscuro y manchas necróticas en el cuello y raíz de la planta menor al 50%; 3= coloración café oscuro y necrosis del 50% al 75% en el cuello y raíz de la planta; 4= coloración café oscuro y necrosis del 75% al 100% en el cuello y raíz de la planta. El índice de severidad de la enfermedad (DSI, siglas en inglés) se calculó mediante la siguiente fórmula descrita por Akköprü y Demir, (2005).

$$DI = \frac{\sum \text{Número de plantas enfermas} \times \text{grado de la escala}}{\text{Número total de plantas observadas} \times \text{grado mayor de la escala}} \times 100$$

3.3.4 Evaluar la actividad antioxidante enzimática, no enzimática y marcadores de daño oxidativo en plántulas de sachá inchi, inoculado con *Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum* e infestado por *Fusarium verticillioides*.

Evaluaciones fase laboratorio

a) Determinación de la enzima catalasa

Se realizó mediante la metodología de Javalera (2013) con modificaciones.

Reactivos:

- Buffer fosfato 50 mM (pH 7,0): preparar soluciones A y B y mezclar en proporción 1:1.55
 - A) Disolver 6,81 g de KH_2PO_4 en 1 l de agua.
 - B) Disolver 8,90 de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 1 l de agua.
- Buffer de extracción de extracto enzimático: Buffer fosfato con 50 mM (pH 7,4), 1 mM EDTA, 1 g (0,1%) PVP y 0,5% (v/v) Triton X-100.
- H_2O_2 (100 mM): preparar disolución con buffer fosfato en cada uso.

Procedimiento

- Triturar tejido (hojas y raíces) en nitrógeno líquido y pesar 500 mg.
- Añadir inmediatamente 4 ml de buffer de extracción, mezclar por inversión y centrifugar a 10 000 g por 20 min a 4°C. Separar sobrenadante.
- Preparar mezcla de reacción conteniendo 500 μL de buffer de fosfatos 50 mM (pH 7,0), 400 μL del sobrenadante (diluido 1:10 en buffer fosfato – 4°C).
- Iniciar reacción adicionando 100 μL de H_2O_2 100 mM.
- Medir absorbancia a 240 nm durante 1 min (cada 10 segundos) a 25°C.
- Utilizar como blanco el buffer de fosfatos.
- Estimar la actividad catalasa con la siguiente fórmula:

$$\text{U/mL}:(\Delta \text{Abs}) / \epsilon \text{bt} (\text{Vf})$$

Donde:

ΔAbs = cambio de absorbancia de la muestra.

ϵ =coeficiente de extinción del peróxido de hidrógeno (0.036 $\text{cm}^2 / \mu\text{M}$)

B = espesor de la celda (1cm)

t = Tiempo (1 min)

Vf = Volumen final de la mezcla de reacción (1 ml)

b) Determinación del malondialdehído por el método TBA/TCA

Se realizó mediante la metodología de Grümberg (2015) con modificaciones.

Reactivos: ácido tricloroacético (TCA) y ácido tiobarbitúrico (TBA)

- **TCA 0.1%**= diluir 100 mg en 100 ml de solución agua (Frasco oscuro, a 4°C).
- **TCA 20%** = diluir 20 g de TCA en 70 ml de agua y aforar a 100 ml (Frasco oscuro, a 4°C).
- **TCA 20% + TBA 0.5%**= diluir 20 g de TCA en 70 ml de agua y luego añadir 0,5 g de TBA y aforar a 100 ml (Frasco oscuro, a 4°C).

Procedimiento:

- Pesar 2 alícuotas de 100 mg de tejido (hoja y raíz) y triturar en nitrógeno líquido.
- Añadir 1,6 ml de TCA al 0.1% y mezclar por inversión 8 veces.
- Centrifugar a 13 500 rpm por 10 minutos.
- Separar cuidadosamente y con ayuda de una micropipeta de 200 µl, 510 µl de sobrenadante y añadir 510 µl de TCA 20%/TBA 0,5% para el problema y 510 µl de TCA 20% para el testigo ver tabla inferior.
- Preparar las siguientes mezclas de reacción.

Tabla 6

Preparación de las mezclas de reacción para determinar el contenido de malondialdehído.

MUESTRAS	
Problema (+TBA)	0,51 ml de muestra + 0,51 ml de TCA 20 %/TBA 0,5%
Testigo (-TBA)	0,51 ml de muestra + 0,51 ml de TCA 20%
BLANCOS	
Problema (+TBA)	0,51 ml de TCA 0,1% + 0,51 ml de TCA 20 %/TBA 0,5%
Testigo (-TBA)	0,51 ml de TCA 0,1% + 0,51 ml de TCA 20%

- Incubar a 92 °C por 20 min en baño maría.
- Centrifugar a 13 500 rpm por 10 min.
- Separar 1000 µl de sobrenadante y leer absorbancia a 532, 600 y 440 nm.
- Estimar la cantidad de malondialdehído a través de la siguiente formula:

$$A = [(Abs\ 532\ +TBA - Abs\ 600\ +TBA) - (Abs\ 532\ -TBA - Abs\ 600\ -TBA)]$$

$$B = [(Abs\ 440\ +TBA - Abs\ 600\ +TBA) * 0.0571]$$

Se realiza este cálculo para la MUESTRA y para el BLANCO

- Una vez obtenidas las absorbancias, realizar los cálculos:

$$\text{Equivalentes de MDA (nmoles/mg)} = [(A-B) / \epsilon] * 10^6$$

$$\text{MDA (nmoles/mg)} = (\text{equivalentes MDA} * \text{vol. extracción} * \text{dilución}) / \text{PF}$$

- **Vol. de extracción:** en este caso es 1,6 ml.
- **Dilución:** Vol. Final de reacción/ vol. Alícuota (en este caso 1,02/0,51=2,0)
- ϵ : Coeficiente de extinción molar 155 mM⁻¹ cm⁻¹
- **PF (mg):** peso fresco de muestra, en este caso va a ser entre 100 mg.
- **10⁶:** para convertir de mM a nmoles/ml

c) Determinación del glutatión reducido (GSH)

Se realizó mediante la metodología de Grümberg (2015) con modificaciones.

Reactivos:

- TCA (Trichloroacetic acid, T6399-100G) 3%: diluir 3 g en 100 ml de agua (Almacenar en frasco oscuro a 4°C).
- GSH (L-Glutathione reduced, G4251-1G) 100 Mm (PM= 307): Diluir 30,7 mg en 1ml de TCA 3% (una vez preparado almacenar reactivo a -20 °c. (g= 307 x 0,1M x 0,001L= 30,7g) (Almacenar en frasco oscuro a 4°C).
- Buffer TRIS-HCL 1M pH8 (PM: 121,1): Para preparar 100 ml: diluir 12,11 g en 80 ml de H2O llevar a pH8 con HCl y aforar hasta 100 ml. (g= 121,1 x 1M x 0,1L= 12,11 g)
- DTNB (5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid), D8130-1G) 5 mM (PM: 396,35): diluir 49,5 mg en 25 ml en Buffer TRIS-HCL 1M pH8. (g= 396,35 x 0,005M x 0,025L= 49,5 g) (Almacenar en frasco oscuro a 4°C).

Procedimiento

- Pesar 100 mg de tejido (hojas y raíces) y triturar en N líquido.
- Añadir 750 µl de TCA 3% y mezclar por inmersión 8 veces.
- Centrifugar a 13500 rpm durante 10 minutos y traspasar cuidadosamente el sobrenadante para preparar la siguiente mezcla de reacción.

Tabla 7

Composición de la mezcla de reacción para determinar el contenido de GSH.

REACTIVOS	VOLUMEN (µl)
Muestra (TCA 3% en el caso de blanco)	300
Buffer Tris HCL 1M PH8	400
Agua	250
Total	950

- Esta mezcla de reacción incubar mezcla a 28°C por 30 minutos.

- Agregar 50 µl de DNTB a 5 mM.
- Incubar mezcla a temperatura ambiente por 15 minutos.
- Medir el BLANCO: 300 µl TCA 3% + 400 µl Tris HCL 1M PH8 + 250 µl agua + 50 µl DNTB a 5 mM.
- Medir absorbancia a 412 nm.
- Determinar el contenido de glutatión por medio de una curva de concentración o calibración de GHS.
 - [Reemplazar para la muestra 300 µl las distintas diluciones en la mezcla de reacción y seguir el mismo procedimiento hasta la medición de la absorbancia].

Tabla 8

Curva de calibración para determinar la concentración del GSH.

CONCENTRACIÓN	VOLUMEN DE GSH 1mM. (µl)	VOLÚMEN DE TCA 3% (µl)	TOTAL (µl)
15	15	985	1000
30	30	970	1000
60	60	940	1000
120	120	880	1000
200	200	800	1000
240	240	760	1000
300	300	700	1000

- Con los resultados anteriores, encontrar los coeficientes de la función lineal para determinar la concentración de GSH.

$$\text{Abs} = ax [\text{GSH}] + b \quad a = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad b = \frac{\sum y - a \sum x}{n}$$

$$Y = ax + b \quad \text{Abs} = y \quad \text{GSH} = x \quad n = \text{número de datos}$$

Tabla 9

Datos calculados para determinar los coeficientes de la función lineal.

X (GSH µM)	Y (Abs412)	X ²	xy
15	0	225	0
30	0,05	900	1,5
60	0,17	3600	10,2
120	0,43	14400	51,6
200	0,79	40000	158
240	0,94	57600	225,6
300	1,17	90000	351
Σx	Σy	Σ X²	Σxy

- Una vez determinadas las variables calculamos la concentración de GSH (Para cada muestra del ensayo).

$$\text{GSH} = (\text{Abs} - \text{b}) / \text{a}$$

Abs: datos de cada tratamiento por planta.

- Reemplazar los valores anteriores en la siguiente fórmula:

$$\text{GSH (nmol/g)} = [\text{GSH}] * \text{vol. de reacción} * \text{vol. Extracción} / \text{vol. Alícuota} * \text{PF} * 100$$

- Vol. Reacción (μl) = 1000
 - Vol. Extracción (μl) = 750
 - Vol. Alícuota (μl) = 300
 - PF (g) = 0,1g
- Vol. Reacción (μl): volumen de la mezcla de reacción, que en este caso va a ser 1000.
 - Vol. Extracción (μl): volumen de extracción, que en este caso va a ser 750.
 - Vol. alícuota (μl): volumen de alícuota de extracto utilizada en la mezcla de reacción, que en este caso es 300.
 - PF (g): peso fresco de la muestra que en este caso va a ser alrededor de 0,1g.

3.3.5 Diseño experimental y evaluación de variables

El presente estudio presenta un tipo de investigación básica-aplicada, de nivel experimental. Presentó 8 tratamientos con 15 repeticiones haciendo un total de 180 unidades experimentales. Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de 4A x 2B, donde se tuvo como factor A: especies de HMA; factor B: inoculación del *F. verticillioides*. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante ANOVA con la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0,05$ y fueron procesados utilizando el programa estadístico Rstudio.

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Evaluar el efecto de la inoculación con *Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum* sobre el desarrollo y contenido nutricional de plántulas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) infestado con *Fusarium verticillioides*.

a) Altura

La tabla 10 y la figura 32 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para la altura de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

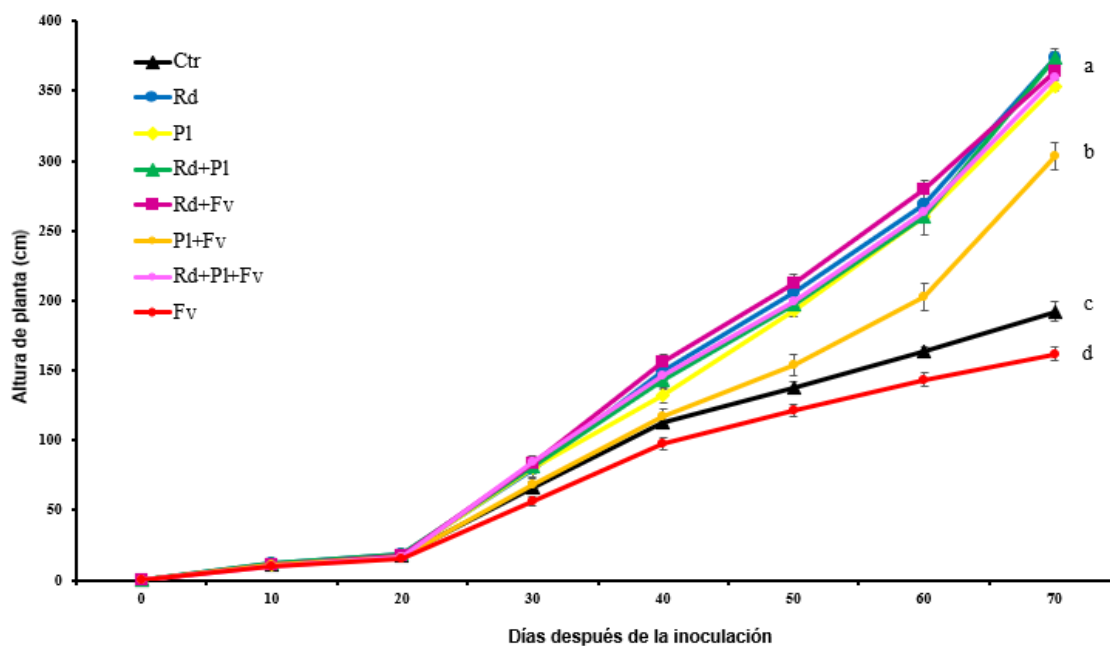
Tabla 10

Análisis de varianza para la altura de planta (cm) en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	493 845	164 615	420,06	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	13 690	13 690	34,93	< 0,0001 ***
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	5 026	1 675	4,27	0,0078 **
Error	72	28 216	392		
Total	79	540 777			

NS = no significativo ** = altamente significativo *** = muy altamente significativo
 C.V= 6,38% R²= 95%

El ANOVA (Tabla 10) para altura de planta (cm) en sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que para el factor especies de HMA y para el factor inoculación con *Fusarium* existen diferencias muy altamente significativas y para la interacción especie HMA más inoculación de *F. verticillioides* existe diferencias altamente significativas. Aceptándose que para la altura en sachá inchi depende del HMA, del *Fusarium* y del HMA más *Fusarium*. Se obtuvo un C.V de 6,38% y un R² de 95%.

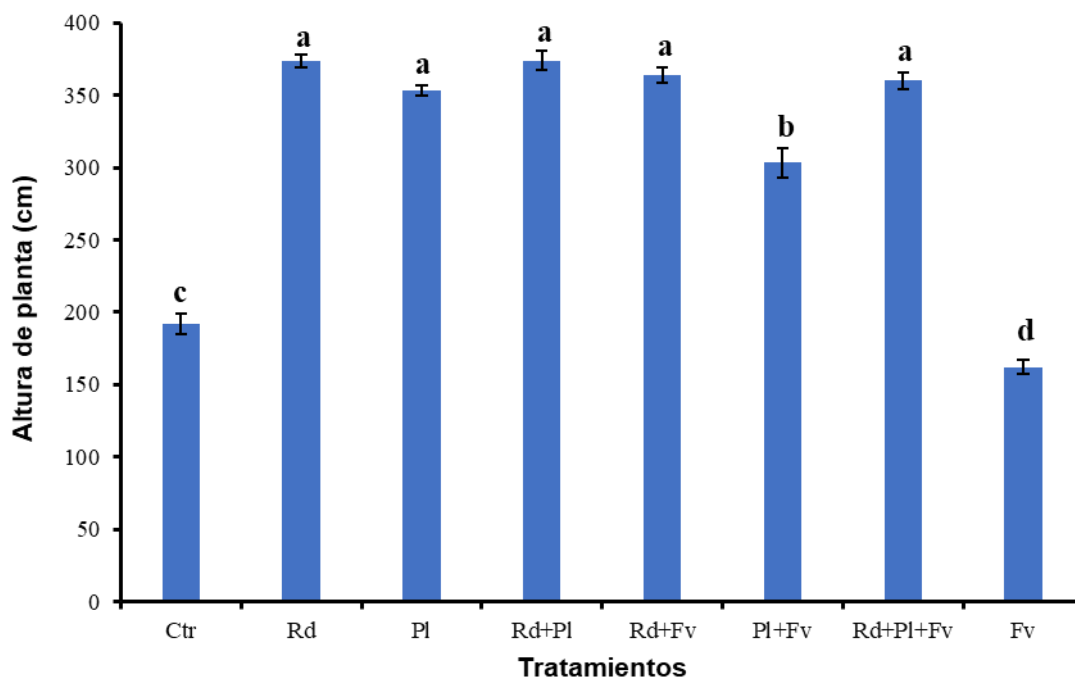


Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglyphus dunense*; **Pl:** *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 31.

Efecto biofertilizante y bioprotector de los HMA frente a *F. verticillioides* sobre la altura de plantas de sachá inchi bajo diferentes tratamientos durante 70 días de crecimiento vegetativo medido a intervalos de 10 días.

La figura 31, muestra la línea de crecimiento de los ocho tratamientos durante las siete fechas de evaluación (0;10;20;30;40;50;60;70 DDI) en vivero, en la que es notoria la dispersión de los tratamientos con la aplicación solo de especies micorrícicas y la combinación de HMA más *Fusarium* respecto a los demás tratamientos a partir de la tercera hasta la última fecha de evaluación, entendiéndose que estas plantas tuvieron mejor comportamiento con la inoculación de especies de HMA que una planta no micorrizada y que probablemente el tiempo transcurrido en vivero fue suficiente para establecer una buena relación simbiótica entre planta y HMA.



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglyphus dunense*; **PI:** *Paraglyphus laccatum*; **Rd+PI:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **PI + Fv:** *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + PI + Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 32.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la altura de planta (cm) en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 32 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que de los tratamientos con mayor altura de planta inoculados con HMA y HMA + *Fusarium verticillioides* fue el T1 (*Rhizoglyphus dunense*), T2 (*Paraglyphus laccatum*), T3 (*Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*), T4 (*Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*) y T6 (*Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) con promedios de 373,70 cm, 353,60 cm, 373,90 cm, 363,50 cm, 359,90 cm respectivamente, seguido del T5 (*Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) con promedio de 303,20 cm de altura. Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron mayor altura de planta que el control negativo T0 (Control) y el control positivo T7 (*Fusarium verticillioides*) con promedios de 192,05 cm y 162,00 cm de altura respectivamente.

Estos hallazgos muestran que los tratamientos con mejor promedio en altura de planta para el efecto bioprotector fue con la inoculación de *Rhizoglyphus dunense* y la combinación de esta misma más *Paraglyphus laccatum*. Mientras que la inoculación sola

de *Paraglomus laccatum* mostró el menor promedio. Estas diferencias estadísticas en los resultados se deben a que el beneficio conferido por los HMA varía de acuerdo a los géneros/especies/consorcios de HMA, las especies/genotipos de plantas y las condiciones ambientales (Kaur y Suseela, 2020; Kaur y Suseela 2022).

Sin embargo, es notorio el efecto positivo de los inóculos micorrícicos (*Rhizoglomus dunense* y *Paraglomus laccatum*) contra *F. verticillioides* en sachá inchi respecto al control negativo y positivo. Dándonos a entender que los HMA tienen un efecto biofertilizante y bioprotector frente a *Fusarium verticillioides* y que son actualmente un nuevo enfoque prometedor para controlar los patógenos presentes en el suelo. Esto debido a que los HMA interactúan con una amplia variedad de plantas con sus raíces generando beneficios de mayor biomasa y desarrollo radicular para la transferencia de nutrientes, por lo tanto, las plantas en mejor estado nutricional hacen que se encuentren en mejores condiciones para hacer frente al ataque de hongos fitopatógenos como *Fusarium* spp. reflejándose en un aumento de la tasa de crecimiento vegetativo (Rodríguez-Morelos et al., 2011; Lin et al., 2021; Kaur y Suseela 2020; Saparrat et al., 2020). En un estudio realizado por Qin et al. (2021), afirman que, en otros estudios realizados para determinar el efecto de los HMA en los patógenos de las plantas sobre su crecimiento, revelaron que los patógenos de las plantas promovieron el efecto de los HMA en el crecimiento de las plantas, a excepción de la biomasa fresca de raíces. Lo cual esto demuestra que los microorganismos patógenos de las plantas aumentan la dependencia de la planta huésped de los HMA.

Los resultados encontrados para esta variable se obtuvo un incremento de 48,6% y 55,4% en altura de planta en comparación con el control negativo (sin HMA) y el control positivo solo (*F. verticillioides*) respectivamente. Teniendo similitud con los resultados de Spagnoletti et al. (2021), donde reportan que mediante la inoculación con la especie de HMA *Rhizophagus intraradices* frente a la enfermedad causado por el patógeno *Fusarium pseudograminearum* en el cultivo de trigo evaluados a los 70 días en condiciones de vivero, tuvo un incremento en un 50% en la altura de planta comparado con el control (solo *F. pseudograminearum*). De igual modo concuerdan con Hashem et al. (2021), donde reportan que mediante la inoculación de un consorcio de HMA frente a *F. oxysporum* en condiciones de estrés en tomate, obtuvieron un incremento en altura de planta del 30,07% para el control sin HMA (efecto biofertilizante) y 61,33% para el control solo patógeno (efecto bioprotector). Resultados similares también presenta Luqueño (2021), donde reporta un incremento con la inoculación de *Aucalospora tuberculata* en un 38,8% de altura en comparación con el control positivo (solo *Fusarium andiyazi*) en caña de azúcar. Así mismo encontramos resultados similares por Olowe et al. (2018), donde concluyen que la

inoculación de dos especies de HMA frente a *Fusarium verticillioides* en maíz, la altura se incrementó en un 24% a 33% en comparación con el control positivo (solo *F. verticillioides*).

De igual modo Orbe (2019), obtuvo como resultado que la inoculación con especies de HMA contra *M. incognita* en plántulas de sachá inchi evaluados a los 75 días en condiciones de vivero se incrementaron en un 17,1% frente al testigo absoluto (sin HMA) para el efecto biofertilizante y en un 41,6 % frente a la inoculación solo con *M. incognita* para el efecto bioprotector. Resultados semejantes también reportó Mozombite (2017), donde sus valores establecidos en el ensayo muestran que los consorcios de HMA y el nematodo agallador en sachá inchi evaluados a los 105 días en condiciones de vivero hubo un incremento del 44% para el efecto biofertilizante y un 38% para el efecto bioprotector. Mientras tanto Vásquez (2019), reportó que inoculando consorcios de HMA mostraron efectos visibles en el desarrollo del sachá inchi a 45 días de evaluación en condiciones de vivero incrementándose en un 59,4% al control negativo (sin HMA) para el efecto biofertilizante. Bajo este escenario es notorio que los hongos micorrícicos arbusculares tienen un potencial benéfico para la mayoría de los cultivos agrícolas porque ejercen un efecto positivo contra muchos patógenos y participan en la sostenibilidad de la naturaleza al actuar como biofertilizantes y bioprotectores (Kaur y Suseela, 2020, Diagne et al., 2020; Saparrat et al., 2020).

b) Número de hojas

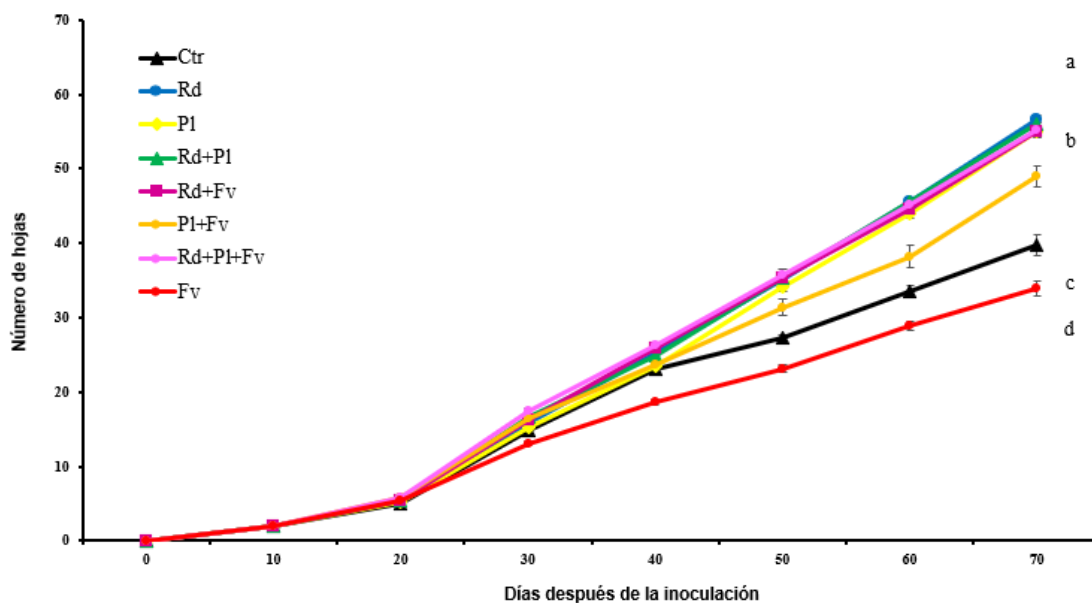
La tabla 11 y la figura 34 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el número de hojas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 11

Análisis de varianza para el número de hojas en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	7 357	2452,40	181,62	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	382	381,60	28,26	< 0,0001 ***
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	166	55,40	4,10	0,0083 **
Error	112	1 512	13,50		
Total	119	9 417			
NS = no significativo		** = altamente significativo		*** = muy altamente significativo	
C.V= 7,34%			R ² = 84%		

El ANOVA (Tabla 11) para el número de hojas en sachas inchi evaluados en los ocho tratamientos indica que para el factor especies de HMA y para el factor inoculación con *Fusarium* existen diferencias muy altamente significativas y que para la interacción de ambos existen diferencias altamente significativas. Demostrando que al menos uno de las inoculaciones con HMA, *Fusarium* y HMA más *Fusarium* es diferente a las demás. Se obtuvo un C.V de 7,34% y un R^2 de 84%.

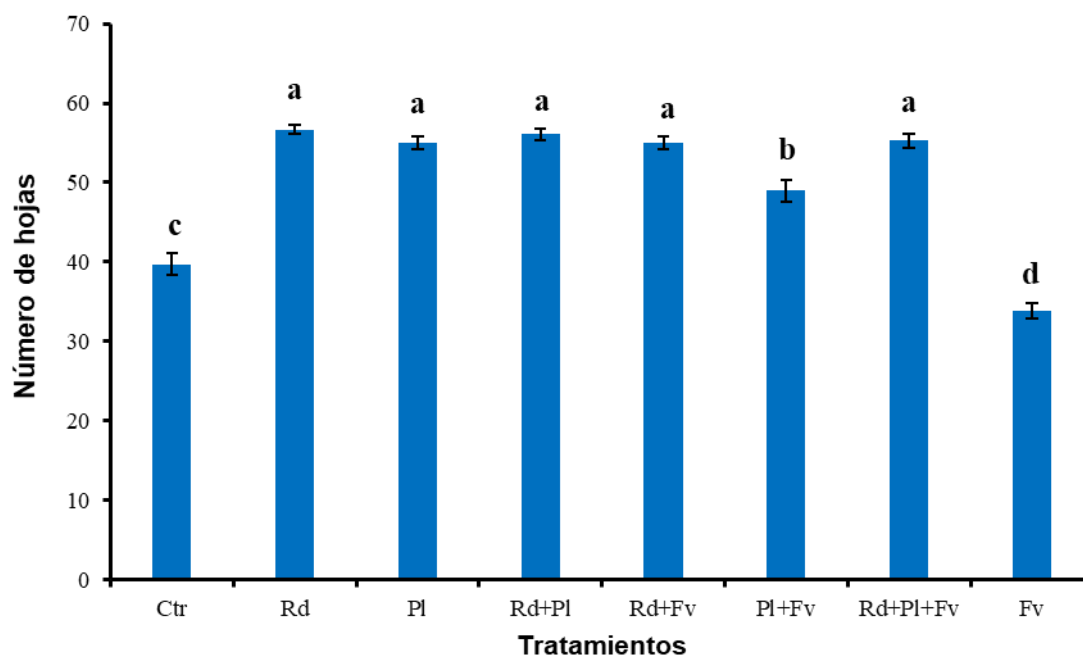


Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglozum dunense*; **Pl:** *Paraglozum laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglozum dunense* + *Paraglozum laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglozum dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglozum laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglozum dunense* + *Paraglozum laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 33.

Efecto biofertilizante y bioprotector de los HMA frente a *F. verticillioides* sobre el número de hojas en plantas de sachas inchi bajo diferentes tratamientos durante 70 días de crecimiento vegetativo medido a intervalos de 10 días.

La figura 33, muestra la línea de aumento para número de hojas de los ocho tratamientos durante las siete fechas de evaluación (0;10;20;30;40;50;60;70 DDI) en vivero, en la que es notoria la separación de los tratamientos inoculados con especies de HMA y la combinación de las mismas más *Fusarium* respecto a los controles negativos y positivos a partir de la tercera evaluación hasta la última fecha de evaluación, compartiendo misma similitud con la altura de planta, entendiéndose que los HMA presentan efectos beneficiosos en la parte vegetativa de la planta y que el tiempo de la duración experimental fue lo suficiente para que se determine el efecto de los hongos micorrícicos arbusculares sobre el número de hojas en experimentos con macetas en vivero.



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglopus dunense*; **Pl:** *Paraglopus laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglopus dunense* + *Paraglopus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglopus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglopus dunense* + *Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 34.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para número de hojas en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 34 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que los tratamientos con mayor número de hojas fue el T1 (*Rhizoglopus dunense*), T2 (*Paraglopus laccatum*), T3 (*Rhizoglopus dunense* + *Paraglopus laccatum*), T4 (*Rhizoglopus dunense* + *Fusarium verticillioides*) y T6 (*Rhizoglopus dunense* y *Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) con promedios de 56,67 Unid; 55,00 Unid; 56,07 Unid; 55,00 Unid y 55,27 Unid. respectivamente, seguido del T5 (*Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) con un promedio de 49,00 unidades. Todos los tratamientos con HMA, tuvieron mayor número de hojas que el control negativo T0 (Control) y el control positivo T7 (*Fusarium verticillioides*) que son estadísticamente diferentes con promedios de 39,67 Unid y 33,87 Unid respectivamente.

Los resultados en esta variable presentan similitud a la variable altura de planta. Esto se debe a que las especies de HMA al favorecer la nutrición de las plantas, también se refleja

en el aumento de número de hojas. Sin embargo, para el efecto bioprotector el tratamiento inoculado solo con *Paraglomus laccatum* presentó el mismo comportamiento como en la evaluación altura de planta. Esto explica que esta especie micorrícica no tiene una gran relación simbiótica con el cultivo de sachá inchi, asimismo puede a ver interferido algunos factores abióticos (temperatura y nutrientes) para su gran potencial. Existen algunas especies que no son tan efectivas con todas las plantas (Kaur y Suseela 2022). En un metanálisis reciente han concluido que los HMA pertenecientes al género *Rizofago* presentan mínima eficiencia en absorción de nutrientes y protección contra patógenos en comparación con los HMA del género *Gigaspora* (Kaur y Suseela 2022).

Los resultados muestran que la inoculación de las especies micorrícicas en comparación con el control sin inoculó de HMA y con el control solo *F. verticillioides* hubo un incremento de 28,49% y 38,71%, respectivamente.

Estos resultados encontrados tienen similitud con Spagnoletti et al. (2021), donde muestran que la inoculación del HMA *Rhizophagus intraradices* frente al patógeno del trigo *Fusarium pseudograminearum* en comparación con control positivo (solo *Fusarium pseudograminearum*) tuvieron un incremento del 45% en número de hojas. Así mismo Jaiti et al. (2007), obtuvieron resultados semejantes a lo nuestro dónde muestran que la inoculación de las especies de HMA más *F. oxysporum* f. sp. *Albedinis* aumentó en un 34 % en número de hojas comparado con el control (solo patógeno) en palma aceitera. De igual modo coinciden con Trinidad-Cruz et al. (2017), dónde mencionan que las plantas inoculadas con consorcios nativos de HMA frente a *F. oxysporum* en plantas de *Agave cupreata* existió un incremento de dos a tres hojas en comparación con el testigo sin HMA.

Resultados similares obtuvo Orbe (2019), donde reporta que los HMA (*Rhizoglosum intraradices* + *Glomus* sp.) infestados con nematodos en sachá inchi tuvo un incremento de 6 hojas en comparación con el tratamiento inoculado solo con *M. incognita* y para el efecto biofertilizante tuvo un incremento de 6 a 7 hojas en comparación del control absoluto (sin HMA). Mozombite (2017), reporta que la inoculación con consorcios de HMA frente a *M. incognita* en sachá inchi tuvo un incremento de 6 a 8 hojas en comparación con el control positivo (solo *M. incognita*).

Sin embargo, algunos estudios han encontrado que la inoculación de HMA no aumentó significativamente en número de hojas de las plantas. Un estudio reportado por Al-Askar y Rashad (2010), muestran que la inoculación de los HMA contra *Fusarium* en *Phaseolus vulgaris* L. para el efecto biofertilizante y bioprotector no encontraron diferencias estadísticas significativas. Del mismo modo sucedió con Olowe et al. (2018), donde reportan que las especies de HMA contra el patógeno del maíz *F. verticillioides* en

comparación con el tratamiento (solo patógeno), se encontró mayor número de hojas en los tratamientos inoculados solo con cepas patogénicas que en los tratamientos inoculados con HMA. Sin embargo, la inoculación de HMA influyó en la altura de planta. Esto es debido a que las condiciones ambientales del lugar del experimento fueron desproporcionales con la intensidad de luz e irregularidad del agua, lo cual se muestra en la vigorosidad de la planta y número de hojas, así mismo, a la simbiosis de los micorrizas arbusculares que en combinaciones con otros microorganismos puede tener un impacto en los procesos biológicos y morfológicos de la planta, debido a la compleja relación entre los HMA, el método de inoculación, las especies de los cultivos agrícolas y factores naturales (Shukla et al., 2014, Giachero, 2015; ALHadidi et al., 2021, Jumrani et al., 2022).

c) Clorofila

La tabla 12 y la figura 35 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para cantidad de clorofila de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 12

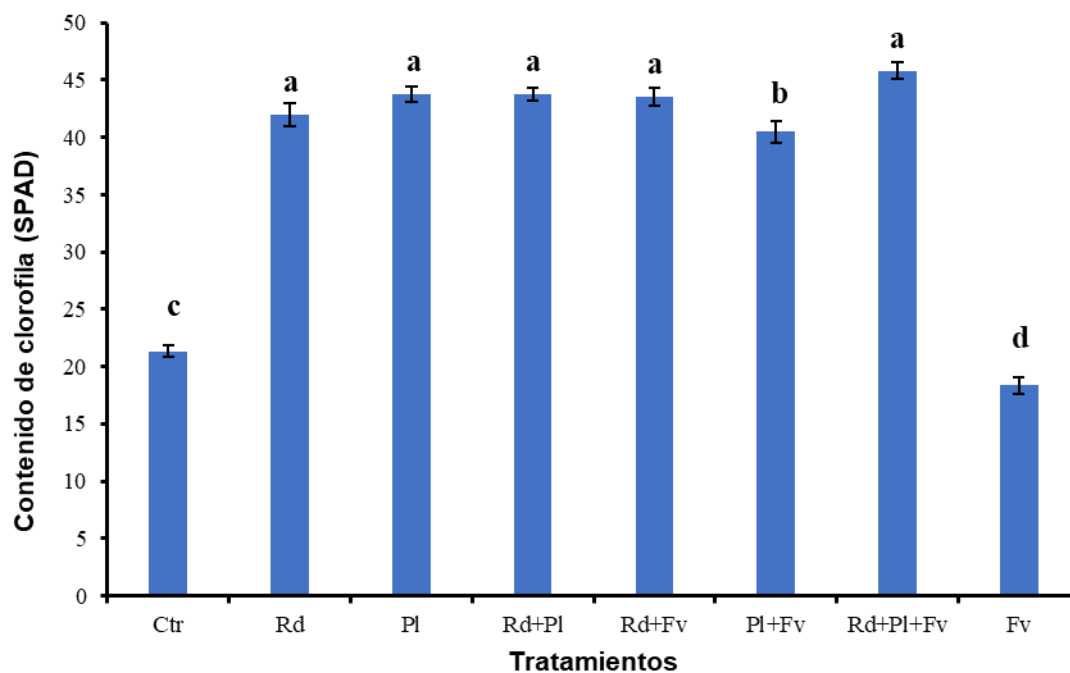
Análisis de varianza para el contenido de clorofila en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	12 525	4 175	502,70	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	19	19	2,30	0,132 NS
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	188	63	7,52	< 0,0001 ***
Error	112	1 512	13,50		
Total	119	14 244			

** = altamente significativo *** = muy altamente significativo

NS = no significativo C.V= 7,72% R²= 93%

El ANOVA (Tabla 12) para el contenido de clorofila en sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, resultó muy altamente significativo para el factor especies de HMA y para la interacción HMA más *F. verticillioides*, muy al contrario, sucedió para el factor inoculación de *Fusarium* quien no mostró diferencias significativas. El C.V fue de 7,72% y el R² fue de 93%.



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglo mus dunense*; **Pl:** *Paraglo mus laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglo mus dunense* + *Paraglo mus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglo mus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglo mus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglo mus dunense* + *Paraglo mus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 35.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para cantidad de clorofila en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 35 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la variable morfológica, contenido de clorofila, muestra que los tratamientos con mayor cantidad de clorofila fue el T1 (*Rhizoglo mus dunense*), T2 (*Paraglo mus laccatum*), T3 (*Rhizoglo mus dunense* + *Paraglo mus laccatum*), T4 (*Rhizoglo mus dunense* + *Fusarium verticillioides*) y T6 (*Rhizoglo mus dunense* y *Paraglo mus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) con promedios de 41,99 unid. SPAD; 43,79 unid. SPAD; 43,73 unid. SPAD; 43,54 unid. SPAD y 45,84 unid. SPAD, respectivamente, seguido del T5 (*Paraglo mus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) con promedio de 40,49 unid. SPAD. Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron contenido de clorofila superiores que el control negativo T0 (Control) y el control positivo T7 (*Fusarium verticillioides*) que son estadísticamente diferentes con promedios de 21,33 unid. SPAD y 18,34 unid. SPAD respectivamente.

Estos resultados muestran que los HMA al beneficiar en mayor altura de planta, número de hojas también está asociado a mayor tasa fotosintética tal como se muestra en esta

variable para las plantas de sachá inchi, donde se observa la similitud con los anteriores resultados. Predominando para el efecto bioprotector la inoculación sola de *Rhizoglyphus dunense* y coinoculados con *Paraglomus laccatum* mostrando mejores promedios de clorofila, así mismo se mostró que *Paraglomus laccatum* inoculado solo, tiene menor contenido de clorofila respecto a los otros tratamientos con HMA para el efecto bioprotector. Todas las plantas micorrizadas generaron en mayor o menor proporción aumentos de tasa fotosintética respecto a las plantas no micorrizadas destacándose la importancia de la simbiosis de los HMA en la mejora del contenido de clorofila del sachá inchi en suelos con presencia de patógenos. Se observó incrementos con la inoculación de HMA de aproximadamente 50% comparado con el control sin HMA y un 60% en comparación con las plantas inoculadas solo con *F. verticillioides*. Esto atribuye que una buena relación simbiótica de los HMA conduce a una mayor tasa fotosintética en las plantas, por lo tanto, se tiene mayor metabolismo en las plantas hospedantes y esto está directamente relacionado con el verdor de las hojas y el crecimiento de las plantas (Khan et al., 2022).

Estos hallazgos concuerdan con Hashem et al. (2021), donde muestran que la inoculación de un consorcio de HMA frente a *F. oxysporum* en condiciones de estrés en tomate, obtuvieron un incremento del 17,77% y 61,93% de contenido de clorofila en comparación con el control sin HMA (efecto biofertilizante) y al control solo patógeno (efecto bioprotector) respectivamente. Así mismo coinciden con Pu et al. (2022), donde informan que la inoculación del HMA *Glomus versiforme* contra *F. oxysporum* en *Salvia miltiorrhiza* Bunge para el contenido de clorofila aumentó en un 9% en comparación con el control (solo *F. oxysporum*). Igual forma concuerdan con Elgharably y Nafady (2021), donde reportan que la inoculación con los HMA (*Funneliformis geosporum*, *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus clarus* y *Scutellospora persica*) contra *Fusarium oxysporum* en trigo en condiciones de suelo salino aumentó el contenido de clorofila en un 15% para el efecto biofertilizante y un 40% para el efecto bioprotector. Resultados similares presentan Orbe (2019) y Mozombite (2017), donde reportan que para el efecto bioprotector de los HMA frente a *M. incognita* en el contenido de clorofila en sachá inchi, los tratamientos inoculados con HMA se incrementó significativamente en un 30% a 55% en comparación con el control positivo (solo *M. incognita*). El aumento de clorofila en plantas inoculadas con HMA puede estar asociado con la movilización de los iones, mejorando el intercambio de carbohidratos y estimulando mayor tasa de fotosíntesis (Weng et al., 2022; Wu, et al., 2022).

Así mismo estos resultados obtenidos para el efecto biofertilizante se comparan con Saboor et al., (2021), donde reportan que la inoculación de los HMA sobre el comportamiento fisiológico del maíz en suelos deficientes de zinc aumentó su contenido de clorofila entre un

15% y 20% en comparación con las plantas no inoculadas con HMA. Resultados similares presentó Jumrani et al. (2022), donde mencionan que al aplicar los HMA obtuvieron un incremento de 24% en el contenido de clorofila en comparación con las plantas no micorrizadas frente a los efectos adversos de las altas temperaturas en la soja. Wu, et al. (2022), reportaron que la aplicación de los HMA frente a sus parámetros morfológicos de las plantas en condiciones de secano, aumentó un 40,6 % en el contenido de clorofila de la planta en comparación con las plantas no micorrizadas. Del mismo modo concuerdan con Tian et al. (2013), donde concluyen que el efecto sinérgico que causan los HMA frente a condiciones de estrés por sequía en *sacha inchi*, el contenido de clorofila fue superior y diferente estadísticamente al control sin inoculación de HMA. Demostrando que las ventajas obtenidas por las plantas debido a la interacción HMA no solo mejoran el suministro de nutrientes, sino también una mayor resistencia a los patógenos del suelo y una alta tolerancia al estrés contra el agua, deficiencia de nutrientes, la sal y los contaminantes (ALHadidi et al., 2021; Felföldi et al., 2022).

d) Peso fresco de la biomasa aérea

La tabla 13 y la figura 36 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el peso fresco de la biomasa aérea en plantas de *sacha inchi* evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

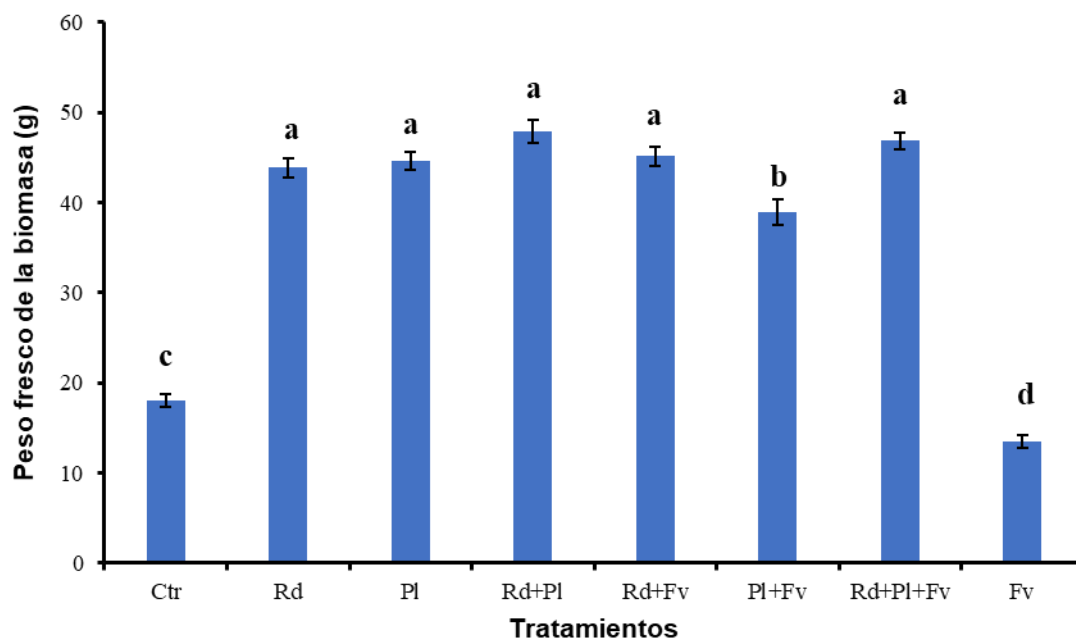
Tabla 13

Análisis de varianza para el peso fresco de biomasa aérea en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	12 744	4 248	393,39	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	127	127	11,74	0,0010 **
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	153	51	4,73	0,0046 **
Error	72	777	11		
Total	79	13 801			
NS = no significativo		** = altamente significativo		*** = muy altamente significativo	
C.V= 8,79%				R ² =94%	

El ANOVA (Tabla 13) para el peso fresco de la biomasa aérea en plantas de *sacha inchi* evaluados en los ocho tratamientos, indica que existen diferencias muy altamente significativas para el factor especies de HMA y diferencias altamente significativas para el factor inóculo *Fusarium* y la interacción de ambos. Aceptándose que el peso fresco de la

biomasa aérea depende de los HMA, de *F. verticillioides* y de la interacción HMA más *Fusarium*. Se obtuvo un C.V de 8,79% y un R² de 94%.



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglyphus dunense*; **Pl:** *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 36.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para peso fresco de la biomasa aérea en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 36 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) indica que los tratamientos con mayor peso fresco de biomasa aérea fue el T1 (*Rhizoglyphus dunense*), T2 (*Paraglyphus laccatum*), T3 (*Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*), T4 (*Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*) y T6 (*Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) con promedios de 43,86 g; 44,64 g; 47,94 g; 45,14 g y 46,84 g respectivamente, seguido del T5 (*Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) con un promedio de 38,96 g. Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron mayores promedios en peso fresco de biomasa aérea en comparación con el control negativo T0 (sin HMA) y el control positivo T7 (*Fusarium verticillioides*) que fueron estadísticamente diferentes con promedios de 18,06 g, 13,49 g respectivamente.

Estos resultados muestran el mismo comportamiento en la altura de planta, número de hojas y contenido de clorofila. Esto es debido a que los HMA al aportar sus beneficios morfológicos y fisiológicos en las plantas también estará influenciado directamente en la

biomasa aérea. Teniendo a *Paraglomus laccatum* como el de menor peso fresco de la biomasa aérea respecto a los otros tratamientos inoculados con HMA para el efecto bioprotector.

Las plantas micorrizadas con *Rhizoglomus dunense* y *Paraglomus laccatum* tienen mayor peso fresco de la biomasa aérea en sacha inchi con un aumento del 62,3% y 71,1% respecto a los controles inoculados sin HMA y solo *F. verticillioides*, respectivamente. Esto probablemente se deba a las siguientes razones. En primer lugar, los HMA generan beneficios en el parte morfológico de las plantas debido a la mejora del estado del agua y la disponibilidad de nutrientes del suelo mediante la extensión de las hifas micorrícicas. En segundo lugar, el micelio de HMA mejoró el alcance de la absorción de nutrientes y agua por parte de las raíces. Además, porque la raíz de la planta hospedante absorbió más agua, lo que provocó que las estomas de las hojas permanecieran abiertas por más tiempo (Saboor et al., 2021; ALHadidi et al., 2021; Felföldi et al., 2022; Wu, et al., 2022; Khan et al., 2022). Así mismo otro de los factores reflejados para esto fue: la duración experimental, la relación raíz y biomasa (R/S) de la planta y el tamaño de la maceta, estas fueron las tres condiciones más importantes para predecir los efectos de los HMA en la biomasa fresca aérea de la planta (Qin et al., 2022).

Estos resultados obtenidos están de acuerdo con Klinsukon et al. (2021), dónde declaran que *Gigaspora margarita* infestado con *Cylindrocladium quinqueseptatum* en plantas de eucalipto tuvo un aumento de un 6,25% para la biomasa aérea tanto para el control sin HMA y el control solo patógeno. Olowe et al. (2018), mencionan que los HMA frente al patógeno del maíz *F. Verticillioides* tuvieron un incremento para la biomasa fresca aérea del 26,8% y 54,1% con la aplicación de *G. deserticola* y *G. clarum* respectivamente, comparado con la cepa patogénica (AKR 05) y un aumento del 45,8 y 58% con la inoculación de *G. deserticola* y *G. clarum* respectivamente en comparación con el control sin HMA (efecto biofertilizante).

Semejante a estos resultados presenta Trinidad-Cruz et al. (2017), donde reportan que los inóculos de consorcios nativos de HMA en plantas de *Agave cupreata* en el biocontrol de *Fusarium oxysporum* existió un incremento de peso fresco de biomasa aérea del 186, 168 y 154 % con respecto al testigo sin HMA. Así mismo Shukla et al. (2014), encontraron diferencias significativas con los inóculos de HMA contra *F. oxysporum* en garbanzo donde mencionan que la inoculación de Myc (consorcio HMA) una semana antes que el patógeno se incrementó en un $(8,389 \pm 1,314 \text{ mg/planta})$ en comparación con las plantas co-inoculadas al mismo tiempo (Myc+FOC) que tuvo un $(8,177 \pm 1,356 \text{ mg/planta})$ de peso fresco de biomasa.

De igual modo Al-Askar y Rashad (2010), informan que mediante la inoculación de los HMA contra *Fusarium* en frijol se incrementó en un 14,2% para el peso fresco de la biomasa respecto al control solo patógeno. Estos hallazgos también concuerdan con Jaiti et al. (2007), donde reportan que con la aplicación de los HMA contra la enfermedad causada por *Fusarium* en la palma aceitera aumentó en un 4% a 61,6% en peso de biomasa fresco comparado con el control inoculado solo con *Fusarium*.

e) Peso seco de la biomasa aérea

La tabla 14 y la figura 37 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el peso seco de la biomasa aérea en plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 14

Análisis de varianza para el peso seco de la biomasa aérea en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	657,80	219,28	261,10	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	1,10	1,06	1,26	0,2654 NS
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	6,10	2,02	2,40	0,0744 NS
Error	72	60,50	0,84		
Total	79	725,50			

** = altamente significativo

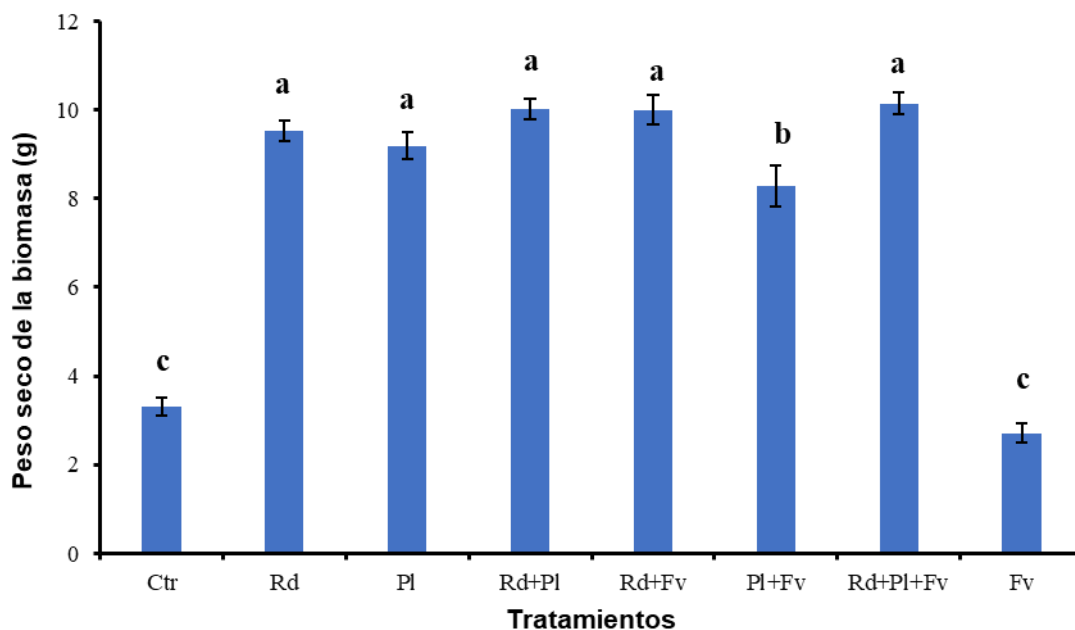
*** = muy altamente significativo

NS = no significativo

C.V=11,61 %

R²=92%

El ANOVA (Tabla 14) para el peso seco de la biomasa aérea en plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que solo existen diferencias muy altamente significativas entre las especies de HMA, demostrando que al menos una de las especies de HMA es diferente a las demás. En cambio, el factor inoculación de *Fusarium* resultó ser no significativo, al igual que para la interacción especie HMA más *F. verticillioides*. Se obtuvo un C.V de 11,61% y un R² de 92%.



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizogloium dunense*; **Pl:** *Paragloium laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizogloium dunense* + *Paragloium laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizogloium dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paragloium laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizogloium dunense* + *Paragloium laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 37.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para peso seco de la biomasa aérea en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 37 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) indica que los tratamientos con mayor peso seco de biomasa aérea fue el T1 (*Rhizogloium dunense*), T2 (*Paragloium laccatum*), T3 (*Rhizogloium dunense* + *Paragloium laccatum*), T4 (*Rhizogloium dunense* + *Fusarium verticillioides*) y T6 (*Rhizogloium dunense* y *Paragloium laccatum* + *Fusarium verticillioides*) siendo estadísticamente iguales con promedios de 9,53 g; 9,18 g; 10,02 g; 10,00 g y 10,14 g respectivamente, seguido del T5 (*Paragloium laccatum* + *Fusarium verticillioides*) con un promedio de 8,27 g. Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron mayores promedios en peso fresco de la biomasa aérea en comparación con el control negativo T0 (Control) y el control positivo T7 (*Fusarium verticillioides*) que fueron estadísticamente iguales con promedios de 3,30 g y 2,70 g respectivamente.

Estos resultados mostraron el mismo comportamiento para la biomasa fresca aérea. Debido a que se obtuvieron la misma proporción de muestra para el peso fresco por ende refleja el mismo resultado para el peso seco. Excepto hubo una variación entre el control negativo y positivo mostrándose ninguna diferencia estadística. Esto debido a que pudo

haber influenciado el riego a las macetas al momento de la evaluación de la biomasa aérea. Los hallazgos encontrados demuestran que los inóculos micorrícicos arbusculares tuvieron un efecto significativo incrementándose en un 73% y 63% respecto al control negativo (T0) y positivo (T7) respectivamente. En general los hongos micorrícicos arbusculares promovieron una mayor biomasa fresca y seca de las plantas, pero bajo la condición patógena de la planta, los HMA tienen estadísticamente igual efecto, excepto el T5. Está claro que la inoculación de HMA generan aumentos significativos en las concentraciones de macro y micronutrientes, lo cual existirá una mayor producción de fotosintatos y, por lo tanto, mayor contenido de biomasa aérea en la planta (Wu, et al., 2022; Khan et al., 2022). En un estudio a través de un metanálisis dado por Qin et al. (2021), mencionan que los HMA inoculados solos, tuvieron efectos más altos en la biomasa de la planta en comparación con los tratamientos inoculados HMA más patógeno, tanto para la biomasa fresca y seca. Una explicación a esto se debe a que los HMA compiten por el mismo recurso de ácidos grasos con los microbios patógenos, lo que presenta un mecanismo indirecto para aumentar el efecto de los HMA en la biomasa de las plantas al reducir el daño de los patógenos de las plantas (Kaur y Suseela, 2020).

Sin embargo varios estudios ya han demostrado el efecto positivo de HMA en los parámetros físicos de las plantas. Spagnoletti et al. (2021), informan que la inoculación con *Rhizophagus intraradices* frente *Fusarium pseudograminearum* en trigo aumentó en un 21,3% en peso seco de biomasa en comparación con el control positivo (solo *F. pseudograminearum*). Resultados similares son informados por Lin et al. (2021), quienes reportaron que, en el caso del banano, la inoculación de HMA mejoró el peso seco de la planta en 47,5; 124 y 129% para el tallo, la hoja y la planta entera respectivamente, frente al *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*. De igual forma Wang et al. (2022), en sus estudios realizados mencionan que se produjeron interacciones significativas en el peso seco de la biomasa aérea de los genotipos vegetales en tomate sobre la inoculación de *R. irregularis* y *F. oxysporum* en comparación con el control inoculado solo *F. oxysporum*. De manera similar Kapoor (2008), descubrió que los hongos MA en tomate protegen a las plantas del *F. oxysporum* en un 22,1% respecto al control solo *Fusarium*. Trinidad-Cruz et al. (2017), reportan que las plantas de agave mediante aplicación micorrícica e infestación de *F. oxysporum* tuvo un incremento de 148 a 239% en peso de biomasa seca respecto a las plantas testigo que no fueron inoculadas con ninguna micorriza. Según Shukla et al. (2014), la resistencia de plantas de garbanzo a *Fusarium oxysporum* aumentó en $20,33 \pm 3,57$ g/planta tras la inoculación del consorcio Myc en comparación con el control sin HMA. Sin embargo, Ahammed et al. (2020), reportan en su estudio que la aplicación de la micorriza incrementó el peso seco en plantas de pepino entre un 18,18% y 35,7% en comparación

con el testigo solo *Fusarium* y que la inoculación de *Fusarium* disminuyó dramáticamente el peso seco en 48,9% en comparación con el control (sin HMA). otros autores. Jaiti et al. (2007), reportan que la inoculación de los HMA frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* en la palma tiene la capacidad de promover el peso seco en un 40% comparado con el control (puro *Fusarium*).

Los resultados encontrados para el efecto biofertilizante coinciden con Jumrani et al. (2022), donde muestran que las plantas de soya micorrizadas en altas temperaturas aumentó en un 20% para el peso seco de la biomasa aérea en comparación con las plantas no micorrizadas. Del mismo modo Felföldi et al. (2022), mostraron la diferencia significativa que existe en el peso seco de los brotes cuando se utilizó los HMA en genotipos de tomate en comparación con los controles (sin tratamiento, sin fertilizantes y HMA).

f) Diámetro

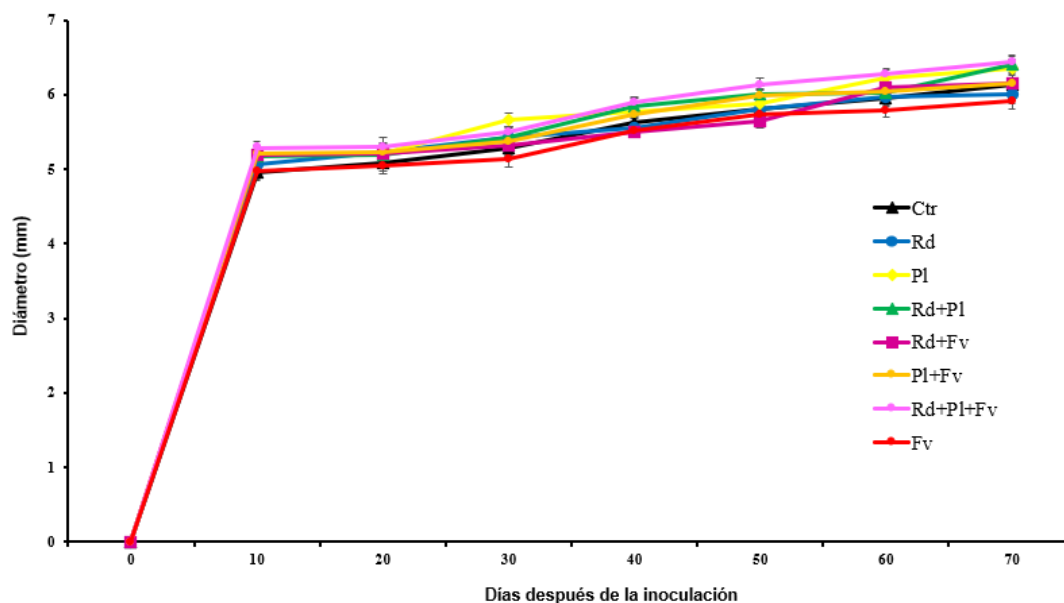
La tabla 15 y la figura 39 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el diámetro del tallo en plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 15

Análisis de varianza para el diámetro del tallo en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	2,76	0,92	5,02	0,0027 **
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	0,09	0,09	0,54	0,4632 NS
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	0,70	0,23	1,27	0,2855 NS
Error	110	20,17	0,18		
Total	117	23,74			
NS = no significativo				** = altamente significativo	
C.V= 6,91%				R ² =15%	

El ANOVA (Tabla 15) para el diámetro del tallo en sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que solo existen diferencias altamente significativas para el factor especies de HMA, demostrando que al menos una de las especies de HMA es diferente a las demás. En cambio, el factor inoculación de *Fusarium* resultó ser no significativo, al igual que la interacción HMA más *F. verticillioides*. Se obtuvo un C.V de 6,91% y un R² de 15%.

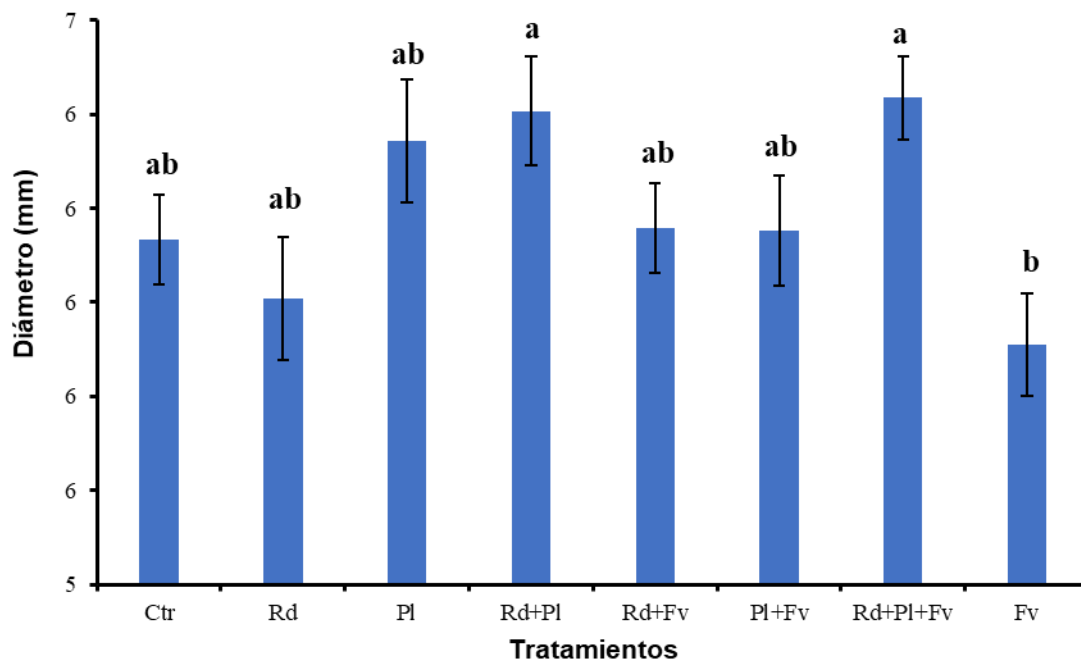


Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglyphus dunense*; **Pl:** *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 38.

Efecto biofertilizante y bioprotector de los HMA frente a *F. verticillioides* sobre el diámetro en plantas de sachá inchi bajo diferentes tratamientos durante 70 días de crecimiento vegetativo medido a intervalos de 10 días.

La figura 38, muestra la línea de aumento para el diámetro del tallo en los ocho tratamientos durante las siete fechas de evaluación (0;10;20;30;40;50;60;70 DDI) en vivero, en la que es notoria la separación de los tratamientos inoculados con especies de HMA y la combinación de las mismas más *Fusarium* respecto a los controles negativos y positivos a partir de la tercera evaluación hasta la última fecha de evaluación, compartiendo misma similitud con la altura de planta y número de hojas, entendiéndose que los HMA presentan efectos beneficiosos en la morfología de la planta y que la simbiosis entre los dos organismos fue lo necesario para reflejarse en el diámetro del tallo en sachá inchi.



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglopus dunense*; **Pl:** *Paraglopus laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglopus dunense* + *Paraglopus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglopus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglopus dunense* + *Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 39.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el diámetro del tallo en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 39 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) indica que los tratamientos con mayor diámetro del tallo fue el T3 (*Rhizoglopus dunense* + *Paraglopus laccatum*) y T6 (*Rhizoglopus dunense* y *Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) siendo estadísticamente iguales con promedios de 6,41 mm y 6,44 mm respectivamente, seguido del T0 (Control negativo), T1 (*Rhizoglopus dunense*), T2 (*Paraglopus laccatum*), T4 (*Rhizoglopus dunense* + *Fusarium verticillioides*) y T5 (*Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) con promedios estadísticamente iguales de 6,13 mm; 6,01 mm; 6,34 mm; 6,16 mm y 6,15 mm respectivamente. Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron mayores promedios en diámetro en comparación con el control positivo T7 (*Fusarium verticillioides*) que tuvo un promedio de 5,91 mm.

Estos resultados obtenidos muestran mayores diámetros de tallo con la combinación de *Rhizoglopus dunense* y *Paraglopus laccatum* con un incremento de un 4,36% y 8,22 % tanto para el efecto biofertilizante y bioprotector, respectivamente. Para el efecto bioprotector todos los tratamientos inoculados con los HMA presentaron mayor diámetro

de tallo respecto al control positivo, observándose la influencia positiva que tienen las micorrizas sobre los parámetros morfológicos en las plantas de sachá inchi. Este aumento de diámetro podría atribuirse a la extensa red de hifas de los HMA, que cubren más volumen de suelo y aumenta el área de superficie para mayor absorción de nutrientes y agua, teniendo como respuesta mayor vigor y grosor del tallo en las plantas de sachá inchi. El incremento del diámetro se genera debido a que los hongos micorrícicos arbusculares pueden promover el crecimiento de las plantas directa e indirectamente. Puede promover directamente el crecimiento del sistema radicular a través de la modulación de las fitohormonas del huésped, lo que conduce a su promoción indirecta del crecimiento a través de una mayor disponibilidad de algunos nutrientes inmóviles a través del aumento de la zona radicular, esto se refleja en los parámetros morfológicos de la planta (ALHadidi et al., 2021; Felföldi et al., 2022). Asimismo, la asociación simbiótica de los HMA no se ve afectada solo por sus plantas hospedantes, sino también directa e indirectamente por las propiedades del suelo. Bajo este escenario cuando un suelo es rico en nutrientes es más probable que las plantas dependan menos de las especies de HMA (Phillips et al., 2019; Felföldi et al., 2022).

Estos resultados son semejantes a los siguientes autores. Romero-Cachique (2019), reporta que la inoculación con *Rhizoglyphus intraradices*, *Rhizoglyphus intraradices* más *Glomus* sp y *Glomus* sp. generaron mayores engrosamientos de tallo en *Coffea arabica*, de aproximadamente 91,8%; 89,3% y 58,2% respectivamente, más que el testigo. Orbe (2019), reporta que los HMA (*Rhizoglyphus intraradices* + *Glomus* sp.) infestados con nematodos en sachá inchi para el diámetro muestra que todos los tratamientos son estadísticamente iguales a diferencia de T10 inoculado solo con *M. incognita*. Entre tanto Klinsukon et al. (2021), manifiestan que el HMA (*Gigaspora margarita*) infestado con *Cylindrocladium quinqueseptatum* en plantas de eucalipto si hubo diferencia significativa para el diámetro respecto al control sin HMA, pero no tuvo efectos significativos en comparación con el control positivo (solo patógeno), pero si para la altura, contenido de clorofila, biomasa aérea y radicular.

g) Peso fresco de la raíz

La tabla 16 y la figura 40 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el peso fresco de la raíz en plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 16

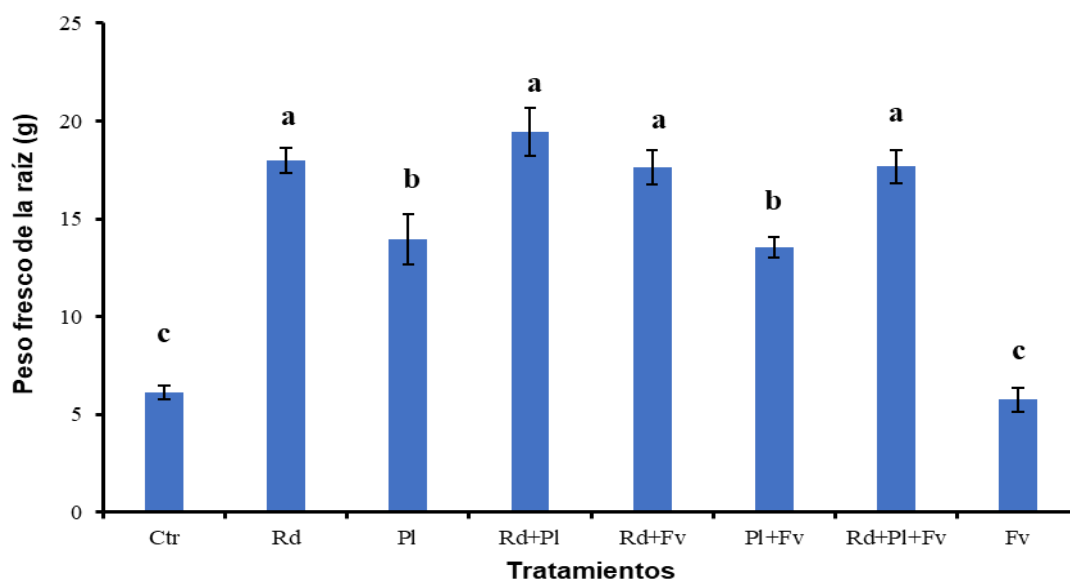
Análisis de varianza para el peso fresco de la raíz en *P. volubilis* L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	2005,90	668,60	92,62	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	10,20	10,20	1,40	0,24 NS
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	7,20	2,40	0,33	0,803 NS
Error	72	519,70	7,20		
Total	79	2 543			

NS = no significativo ** = altamente significativo *** = muy altamente significativo

C.V= 19,18% R²=80%

El ANOVA (Tabla 16) para el peso fresco de la raíz en plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, los resultados indican que para las especies de HMA existen diferencias muy altamente significativas, por el contrario, en el factor inoculación con *Fusarium* y la interacción de ambos no existen diferencias significativas. Se obtuvo un C.V de 19,18% y un R² de 80%.



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglyphus dunense*; **Pl:** *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 40.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para peso fresco de la raíz en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 40 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que los tratamientos con mayor peso fresco radicular estadísticamente iguales fue el T1 (*Rhizoglosum dunense*), T3 (*Rhizoglosum dunense* + *Paraglosum laccatum*), T4 (*Rhizoglosum dunense* + *Fusarium verticillioides*) y T6 (*Rhizoglosum dunense* y *Paraglosum laccatum* + *Fusarium verticillioides*) con promedios de 17,99 g; 19,43 g; 17,63 g y 17,68 g respectivamente, seguido del T2 (*Paraglosum laccatum*) y T5 (*Paraglosum laccatum* + *Fusarium verticillioides*) que son estadísticamente iguales con promedios de 13,93 g y 13,55 g respectivamente. Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron mayores promedios en peso fresco de la raíz en comparación con el control negativo T0 (Control) y el control positivo T7 (*Fusarium verticillioides*) que fueron estadísticamente iguales con promedios de 6,12 g; 5,76 g respectivamente.

Los resultados obtenidos tanto para el efecto biofertilizante y bioprotector muestran que la inoculación sola de *R. dunense* y en combinación con *P. laccatum* aumentan la biomasa radicular de las plantas de sachá inchi y con la aplicación de *P. laccatum* mostró menor peso fresco de la raíz. Sin embargo, se muestran que los HMA tienen un potencial benéfico para la biomasa fresca radicular, observándose incrementos entre un 68,5% para el efecto biofertilizante y 67,4% para el efecto bioprotector. Numerosos estudios han testificado el efecto positivo de las micorrizas como inoculantes, aparte de aportar mayor estado nutricional en la planta muestran un mayor crecimiento y ramificación de raíces (Kaur y Suseela, 2020, Abdel-Azeem et al., 2021; Weng et al., 2022). Este mayor peso fresco de la raíz se da en respuesta a una alta colonización por los HMA. Los HMA parecen actuar mejor o beneficiar más a las raíces pivotantes que a las raíces fibrosas en cuestión para una mayor obtención de biomasa y adquisición de nutrientes (Begum et al., 2019).

Estos hallazgos concuerdan con los siguientes autores. Wu et al. (2022), mencionan que la inoculación del HMA aumentó un 29,6 % la biomasa fresca de las raíces en condiciones de secano. Felföldi et al. (2022), indicaron que la inoculación con HMA en genotipos de tomate se tiene mejoras significativas en la longitud total de la raíz, el peso seco de la raíz y el peso seco del brote de la raíz. Aliyu et al. (2019) mencionan que la inoculación del HMA *R. irregularis* sobre los parámetros morfológicos en plantas de yuca aumentó el peso fresco de la raíz en comparación con el tratamiento control. Trinidad-Cruz et al. (2017), encontraron que la aplicación de micorrizas en plantas de agave contra el patógeno *F. oxysporum* tuvo un efecto en el incremento del peso fresco radicular con los consorcios nativos entre un 196% a 282% en comparación con el testigo sin HMA solo patógeno. Olowe et al. (2018), mencionan que con la aplicación de *G. clarum* frente al patógeno del maíz *F. Verticillioides* tuvieron un incremento para el peso fresco de la raíz en un 12,95%

respecto al control con la cepa patogénica (AKR 05). Al-Askar y Rashad (2010), informan que mediante la inoculación de los HMA contra *Fusarium* en frijol hubo un incremento de 28,57% para el peso fresco de la raíz respecto al control solo patógeno. Mientras Klinsukon et al. (2021), al usar *Gigaspora margarita* frente a *Cylindrocladium quinquesseptatum* en plantas de eucalipto aumentó un 17,39% para el peso fresco de la raíz en comparación con el control positivo (solo *C. quinquesseptatum*). Así mismo estos resultados coinciden con lo reportado por Pu et al. (2022), donde mencionan que la aplicación de *Glomus versiforme* mejora la resistencia contra *F. oxysporum* en *Salvia miltiorrhiza* Bunge para el peso fresco de la raíz incrementándose en un 45,7% en comparación con el control (solo *F. oxysporum*).

h) Peso seco de la raíz

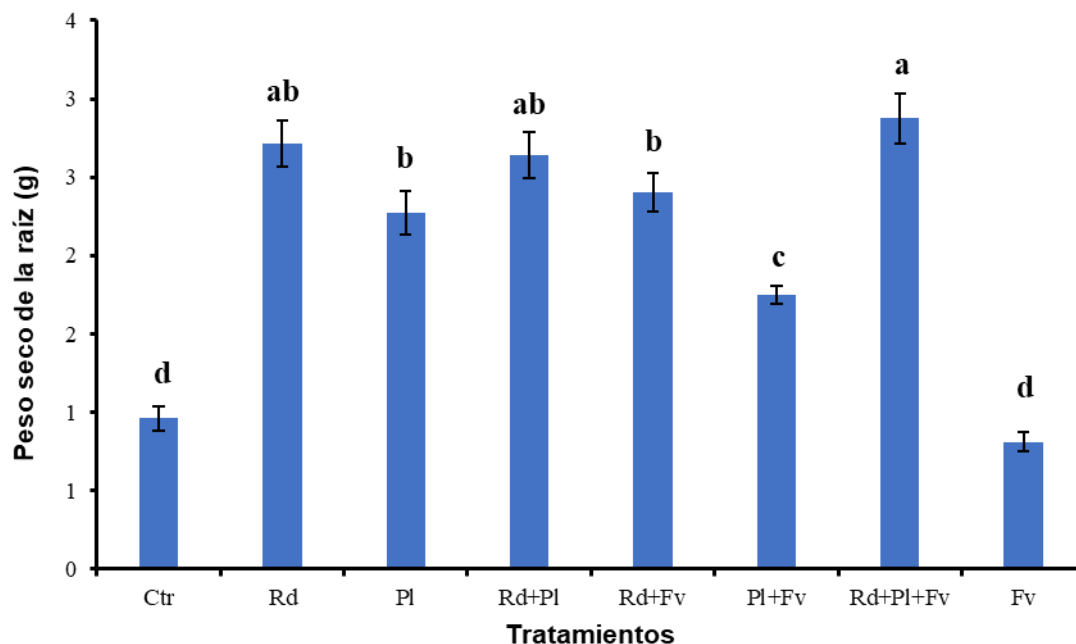
La tabla 17 y la figura 41 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el peso seco de la raíz en plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 17

Análisis de varianza para el peso seco de la raíz en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	42,34	14,11	93,10	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	0,71	0,71	4,70	0,0335 *
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	1,54	0,51	3,38	0,0227 *
Error	72	10,91	0,15		
Total	79	55,50			
NS = no significativo		* = significativo		*** = muy altamente significativo	
C.V= 18,97%			R ² =80%		

El ANOVA (Tabla 17) para el peso seco de la raíz en plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que existe diferencias muy altamente significativas para el factor HMA y significativo para el factor inoculación con *Fusarium* como para la interacción de ambos. Aceptándose que el peso seco de raíz en sachá inchi depende de las especies micorrízicas, de la inoculación con *Fusarium* y la interacción de HMA más *Fusarium*. Se obtuvo un C.V de 18,97% y un R² de 80%.



Ctrl: Control; **Rd:** *Rhizoglyphus dunense*; **Pl:** *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 41.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para peso seco de la raíz en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 41 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que el T6 (*Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) con promedio de 2,87 g presentó mayor peso seco de la raíz, seguido del T1 (*Rhizoglyphus dunense*) y T3 (*Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*), con 2,71 g y 2,64 g respectivamente. El T2 (*Paraglyphus laccatum*) y el T4 (*Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*) presentaron promedios inferiores que el T1, T3 y T6, pero mayores que el T5 (*Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*). De todos los tratamientos inoculados con HMA (T1-T6) el T5 presentó el menor peso seco de la raíz con 1,75 g y siendo estos mismos superiores con el control negativo T0 (Control) y el control positivo T7 (*Fusarium verticillioides*) que fueron estadísticamente iguales con promedios de 0,96 g y 0,81 g respectivamente.

Estos resultados mostraron la eficacia de la inoculación de los HMA para la biomasa seca radicular observándose incrementos entre un 64,5% para el efecto biofertilizante y un 71,7% para el efecto bioprotector. Así mismo los resultados muestran una similitud en el

efecto bioprotector con la variable peso fresco de la raíz. Notándose la deficiencia de *P. laccatum*.

Esto concuerda con lo que reporta Chandrasekaran (2022), en lo cual mediante un análisis general de los HMA sobre la biomasa de las plantas mostró un aumento del peso seco de la raíz en un 49 %. Del mismo modo Qin et al. (2021), a través de un estudio de un metanálisis sobre el efecto de los HMA con patógenos de plantas mencionan que los HMA tenían efectos más altos en la biomasa de la planta, siendo significativo para la biomasa seca de la raíz.

Estos resultados coinciden con los siguientes autores. Spagnoletti et al. (2021), reportan que la aplicación con *Rhizophagus intraradices* frente a *Fusarium pseudograminearum* en trigo tuvo un efecto en el incremento del peso seco radicular en un 38% con respecto a las plantas con control positivo (solo patógeno). Resultados semejantes informan Wang et al. (2022), donde al evaluar los efectos de *Rhizophagus irregularis* sobre el patógeno *Fusarium oxysporum* en tomate mutante de biosíntesis de jasmonato obtuvieron un incremento significativo para el peso de la raíz en el genotipo de tomate *spr8* en comparación con el control positivo. Gao et al. (2023) donde al evaluar los efectos moleculares y bioquímicos en la simbiosis de *R. irregularis* en la yuca, reportan que 3 semanas después de la aplicación de *R. irregularis* aumentó la biomasa seca de la raíz de la yuca en comparación con el control.

Mientras que Kapoor (2008), menciona que los HMA al producir el ácido jasmónico protegen a las plantas de tomate contra *F. oxysporum* para el peso seco de la raíz en un 8,33 % respecto al control positivo. Xian y Peng (2008), revelan que la aplicación de *Glomus etunicatum* sobre *Fusarium oxysporum* f. esp. *Cucumerinum* en pepino generó efectos positivos en el peso seco de la raíz lo cual aumentó un 9,3% para el efecto biofertilizante y un 34,18% para el efecto bioprotector.

Al-Askar y Rashad (2010), informan que mediante la inoculación de un consorcio de HMA contra *Fusarium* en frijol se incrementó en un 33,33% para el peso seco de la raíz en comparación al control solo patógeno. Los resultados obtenidos por Ren et al. (2015), en plantas de sandía inoculadas con HMA y *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, observaron que el peso seco de la raíz y el peso seco de los brotes aumentaron cuando se aplicó el inóculo de micorrizas. Klinsukon et al. (2021), informan que al usar *Gigaspora margarita* frente al tizón foliar en plántulas de eucalipto obtuvo un incremento del 10,52% para el peso seco de la raíz en comparación con el control positivo (solo *Cylindrocladium quinquesepatum*). Así mismo Hashem et al. (2021), muestran que la inoculación de un consorcio de HMA

frente a *F. oxysporum* en condiciones de estrés en tomate, obtuvieron un incremento del 32,60% para el peso seco de la raíz en comparación con el control solo patógeno.

i) Área foliar

La tabla 18 y la figura 42 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el área foliar en plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 18

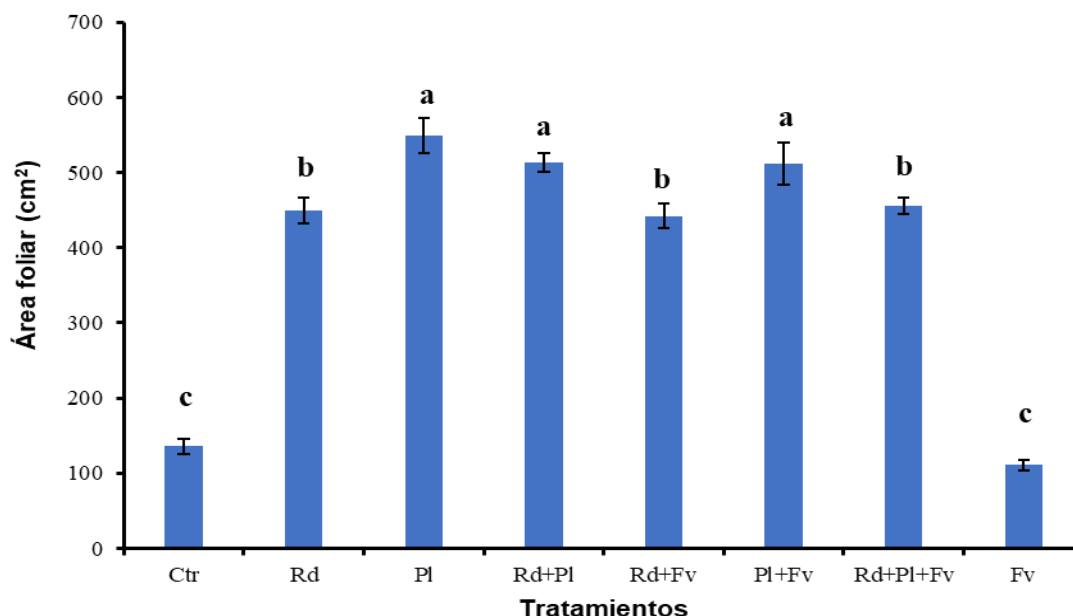
Análisis de varianza para el área foliar en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	2 055 779	685 260	239,59	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	20 146	20 146	7,04	0,0098 **
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	6 853	2 284	0,79	0,4986 NS
Error	72	205 924	2 860		
Total	79	2 288 702			

NS = no significativo ** = altamente significativo *** = muy altamente significativo

C.V= 13,50% R²=91%

El ANOVA (Tabla 18) para el área foliar en plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que existen diferencias muy altamente significativas para el factor especies de HMA y diferencias altamente significativas para el factor *Fusarium*, sin embargo, para la interacción de ambos no mostró diferencias significativas. Aceptándose que el área foliar depende de las especies de los HMA y del *F. verticillioides*. Se obtuvo un C.V de 13,50% y un R² de 91%.



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglyphus dunense*; **Pl:** *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 42.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el área foliar en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 42 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que el T2 (*Paraglyphus laccatum*), T3 (*Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*) y T5 (*Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) obtuvieron mayor área foliar con promedios de 549,69 cm²; 513,47 cm² y 512,24 cm² respectivamente. Seguido de los tratamientos T1, T4 y T6 los cuales no tuvieron diferencia significativa entre sí. De todos los tratamientos inoculados con HMA (T1-T6), fueron superiores en promedios del área foliar en comparación con el control negativo T0 (Control) y el control positivo T7 (*Fusarium verticillioides*) que fueron estadísticamente iguales con promedios de 136,03 cm² y 111,05 cm² respectivamente.

Estos resultados encontrados mostraron todo lo contrario a los resultados anteriores donde fue evidente que *P. laccatum* es el que menor comportamiento tenía frente a los parámetros morfológicos, pero para esta variable tuvo un mejor aumento de área foliar respecto a *R. dunense* para el efecto bioprotector. Para este efecto ocurrido habría influenciado la relación de hongo-propiedades físicas del suelo o la intensidad y calidad de luz solar y no del hongo-planta. Debido a que los factores abióticos como la luz, pero

también otros, como el ritmo circadiano y la temperatura, tienen funciones reguladoras en la inmunidad de las plantas y la resistencia inducida (Pozo de la Hoz et al., 2021).

Pero sin embargo los tratamientos inoculados con HMA se incrementó en un 73,50% de área foliar respecto al control negativo y un 79,79% en comparación con el control positivo. Esto indica que los HMA jugó un papel imperativo en la mejora del área foliar en las plantas de sachá inchi. Esto explica que bajo el hecho de una colonización microbiana exitosa aumentará el área radicular debajo de la rizosfera permitiendo mayor absorción de nutrientes y agua para la planta, lo que conducirá a aumentos en la altura de la planta, tasa fotosintética, el número de hojas, la biomasa y el área foliar.

Estos resultados obtenidos concuerdan con otros autores. Orbe (2019), informa que con la inoculación de *Rhizoglyphus intraradices* y *Glomus* sp. frente a *Meloidogyne incognita* en sachá inchi tuvo un incremento de 35,5% en área foliar respecto al control infestado solo nemátodo. Al-Askar y Rashad (2010), informan que la aplicación de un consorcio de HMA contra *Fusarium* en frijol se obtuvo diferencias significativas con incrementos del 25% respecto al control absoluto y un 19,69% en comparación al control solo *Fusarium*. Todo lo contrario, sucedió con Olowe et al. (2018), donde reportan que con la inoculación de *G. deserticola* y *G. clarum* frente a *Fusarium verticillioides* en maíz, mejoraron los parámetros morfológicos de la planta, excepto para el área foliar que fue menor en comparación al control solo *F. verticillioides*.

j) Número de hojas cloróticas

La tabla 19 y la figura 44 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el número de hojas cloróticas en plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 19

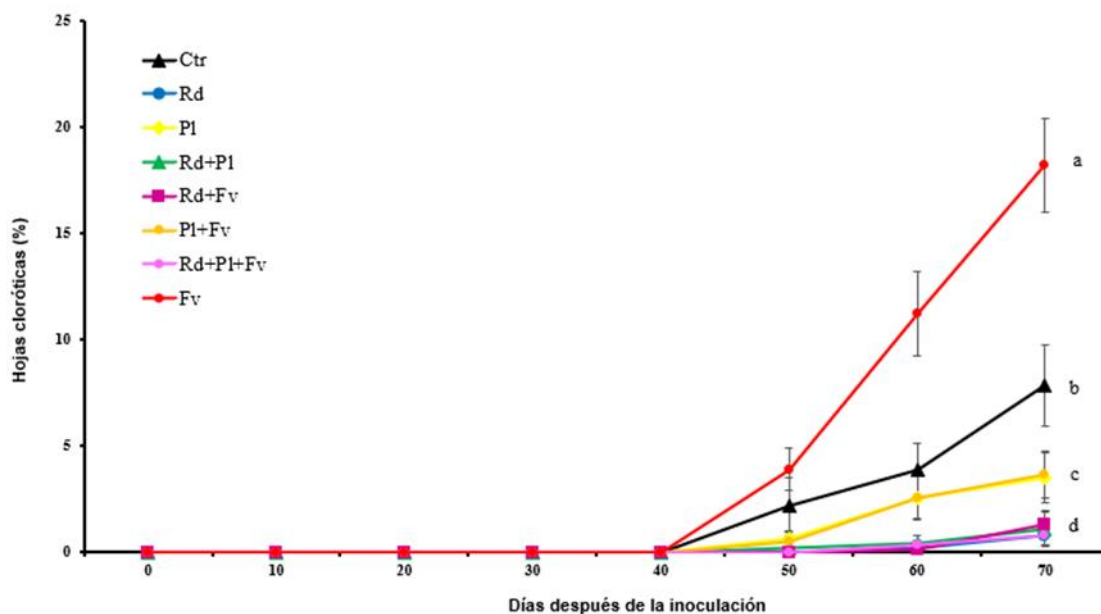
Análisis de varianza para el número de hojas cloróticas en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	3 031,70	1 010,60	44,94	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	299,30	299,30	13,31	0,0004 **
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	758,50	252,80	11,24	< 0,0001 ***
Error	112	2 518,80	22,50		
Total	119	6 608,30			

NS= no significativo *** = muy altamente significativo

C.V= 19,56% R²= 62%

El ANOVA (Tabla 19) para el número de hojas cloróticas en plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que existen diferencias muy altamente significativas para el factor especies de HMA y para la interacción HMA más *Fusarium*. Mientras que para el factor *Fusarium* existió una diferencia altamente significativa. Aceptándose que el número de hojas cloróticas depende de las especies de los HMA, de *F. verticillioides* y de la interacción de ambos, entre otras condiciones. Se obtuvo un C.V de 19,56% y un R^2 de 62%.



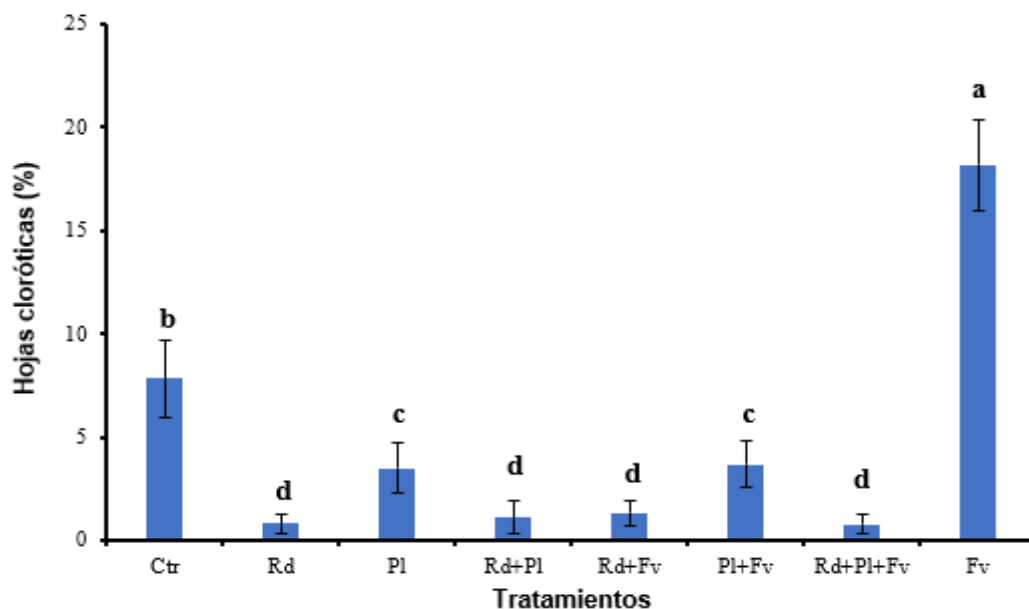
Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglozum dunense*; **Pl:** *Paraglozum laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglozum dunense* + *Paraglozum laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglozum dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglozum laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglozum dunense* + *Paraglozum laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 43.

Efecto biofertilizante y bioprotector de los HMA frente a *F. verticillioides* sobre el número de hojas cloróticas en plantas de sachá inchi bajo diferentes tratamientos durante 70 días de crecimiento vegetativo medido a intervalos de 10 días.

La figura 43, muestra la línea de aumento para el número de hojas cloróticas en los ocho tratamientos durante las siete fechas de evaluación (0;10;20;30;40;50;60;70 DDI) en vivero, en la que es notorio que en el control solo *F. verticillioides* se incrementó el número de hojas amarillas, seguido del control sin HMA, a partir de la quinta fecha de evaluación hasta la última evaluación, observándose que los resultados en esta línea de tiempo para esta variable está relacionada con el contenido de clorofila, en lo cual dónde existió menor tasa fotosintética hubo mayor aumento de hojas cloróticas. Los tratamientos inoculados con los HMA presentaron efectos beneficiosos en la parte fisiológica de la planta como

mayor verdor en sus hojas y todo lo contrario fue con la inoculación de *F. verticillioides* no micorrizado que disminuyó el aumento de fotosintatos en las hojas reflejándose en una coloración amarillenta.



Ctrl: Control; **Rd:** *Rhizoglopus dunense*; **Pl:** *Paraglopus laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglopus dunense* + *Paraglopus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglopus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglopus dunense* + *Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 44.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el número de hojas cloróticas en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

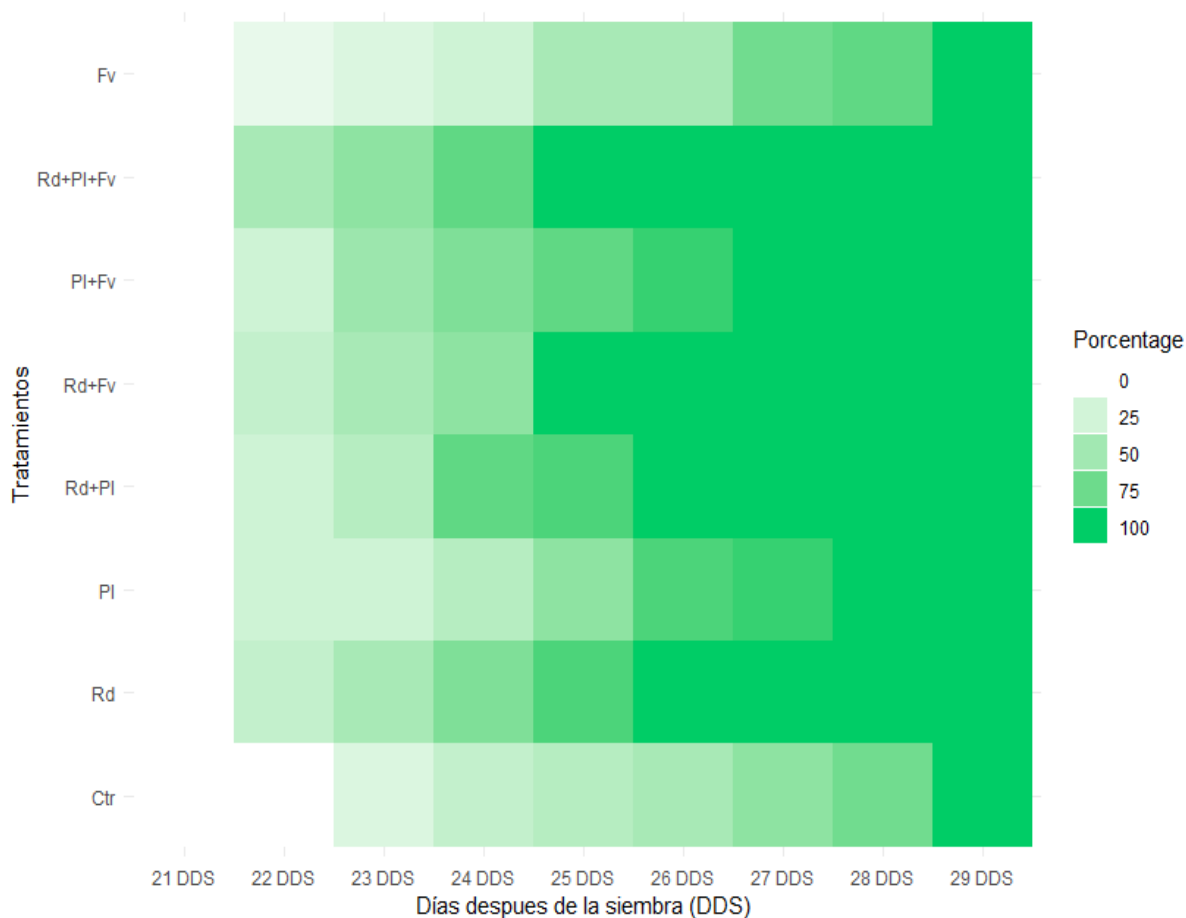
La figura 44 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que el control positivo T7 (*Fusarium verticillioides*) presentó mayor porcentaje de hojas cloróticas con un 18,20 %. Seguido del control negativo T0 (sin HMA) con un 7,82 %. Mientras tanto los tratamientos inoculados con HMA el T2 y T5 presentaron mayor porcentaje de hojas amarillas con un 3,50 % y 3,66 %, respectivamente, respecto a los demás tratamientos inoculados con HMA (T1, T3, T4 y T6).

Los resultados obtenidos muestran que con la inoculación de HMA se redujo el número de hojas cloróticas entre un 95,80% y 79,89% en comparación con el control (*F. verticillioides* no micorrizado). Entre tanto de los tratamientos inoculados con HMA, *P. laccatum* fue el que respondió con mayor porcentaje de hojas cloróticas tanto para el efecto biofertilizante

y bioprotector. Esto estaría relacionado directamente con la baja cantidad de luz solar y la relación sinérgica de la especie HMA con el hospedero y el suelo, debido a que no mostró mejores efectos para las otras variables principalmente para la tasa fotosintética, lo cual se refleja en esta variable. Los HMA proporcionan la mayor parte de la fotosíntesis a las plantas, debido al aporte de nutrientes que brindan hace que las plantas sean vigorosas y saludables, lo que refleja su amplio contenido fisiológico, bioquímico y morfológico (Phillips et al., 2019). Así mismo se sabe que las hojas cloróticas se ven reflejada por la falta de macro y micronutrientes en la planta, así como también por enfermedades patógenas, y lo que hacen las micorrizas es compensar estas deficiencias mediante una mayor absorción de nutrientes y agua. Este beneficio hace que mejore la estructura de su raíz y que la planta esté preparada frente a alguna infección patógena mejorando la resistencia a las enfermedades de las plantas hospedantes. Así mismo la clorosis de la hoja está relacionada directamente con la fotosíntesis que producto de esto se obtiene la clorofila y para esto implica mucho la luz solar. Se han reportado que los HMA no aportan sus grandes beneficios en condiciones de baja luz (Weng et al 2022).

Estos resultados concuerdan con otros autores. Guerrero-Abad et al. (2021), mencionan que las infestaciones solas y en combinaciones de *F. verticillioides*, *F. solani* y *M. incognita* para la clorosis de las hojas en plantas de sachá inchi. *F. verticillioides* tuvo el mayor número de hojas cloróticas con un 21% en comparación con el control sin patógeno. Aalipour et al., (2019), informan que para el efecto biofertilizante la mayor cantidad de clorosis (17,5 %) en las hojas de plátano se registró en control sin HMA, mientras que el daño de las hojas se redujo a un 2,9 % en el tratamiento con micorrizas.

k) Inicio de emisión de guías

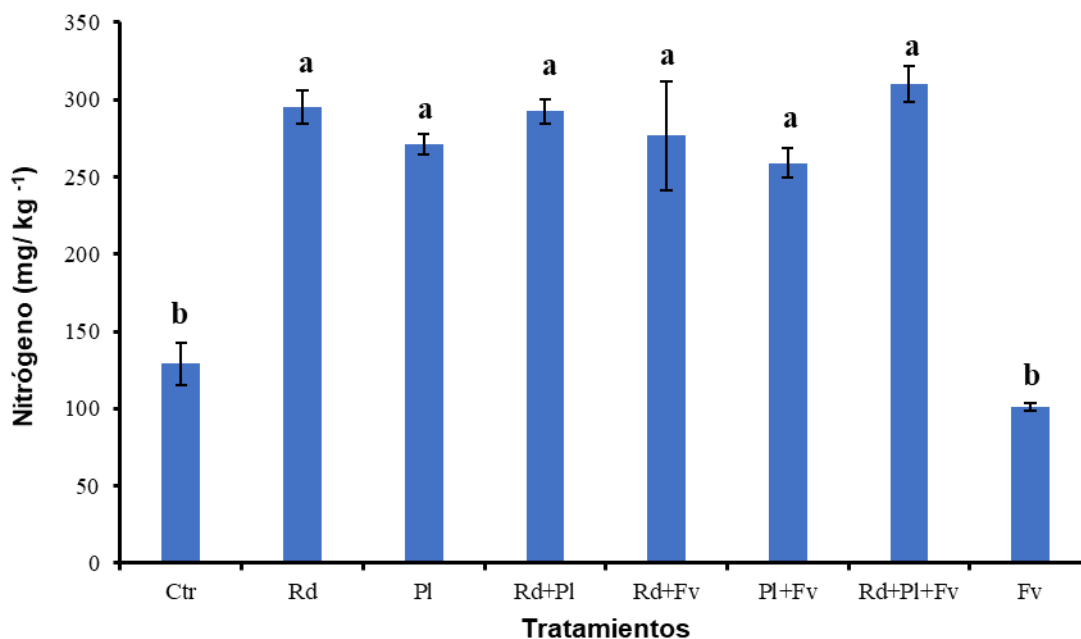


Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglyphus dunense*; **PI:** *Paraglyphus laccatum*; **Rd+PI:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **PI + Fv:** *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + PI + Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 45.

Mapa de calor que muestra el porcentaje de inicio de guías de los tratamientos en estudio.

La figura 45, muestra el mapa de calor para determinar cuánto fue el porcentaje en inicio de emisión de guías para cada tratamiento durante 29 días después de la inoculación de los HMA. Se observa que la especie *Paraglyphus laccatum* fue el que más tarde en llegar al 100% en inicio de emisión de guías, conociéndose que esta especie no tiene una buena colonización micorrícica con las plantas de sachá inchi en corto tiempo. Así mismo se mostró que las plantas de sachá inchi inoculadas con HMA bajo condiciones de vivero a partir de los 22 DDS ya empezaron a guiar, así mismo se obtuvo como resultado que el T6 (*Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) fue el que tuvo mayor porcentaje, presentó un 50% de guías a los 22 DSS y fue el que en menor corto tiempo (25 DDS) junto al T4 (*Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*) logró llegar



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglossum dunense*; **Pl:** *Paraglossum laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglossum dunense* + *Paraglossum laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglossum dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglossum laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglossum dunense* + *Paraglossum laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 46.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el contenido de nitrógeno en la biomasa aérea de *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 46 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que los tratamientos inoculados con HMA (T1-T6) obtuvieron un mayor contenido de nitrógeno siendo estadísticamente iguales, seguido de los tratamientos controles T0 y T7 que tuvieron un promedio de $129,09 \text{ mg/kg}^{-1}$ y $100,82 \text{ mg/kg}^{-1}$ en nitrógeno, respectivamente.

Fósforo (P)

La tabla 21 y la figura 47 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el análisis de fósforo en biomasa aérea de plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

La figura 47 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra mayor contenido de fósforo en el T2 (*Paraglomus laccatum*), T5 (*Paraglomus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) y T6 (*Rhizoglomus dunense* + *Paraglomus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) con promedios de 15,04 mg/kg⁻¹, 14,87 mg/kg⁻¹ y 16,56 mg/kg⁻¹ respectivamente. De todos los tratamientos inoculados con HMA la especie *Rhizoglomus dunense* mostró menor contenido de fósforo tanto para el efecto biofertilizante y bioprotector. Pero siendo superior a los tratamientos controles T0 y T7 que presentaron un promedio de 3,04 mg/kg⁻¹ y 1,74 mg/kg⁻¹ en fósforo respectivamente.

Potasio (K)

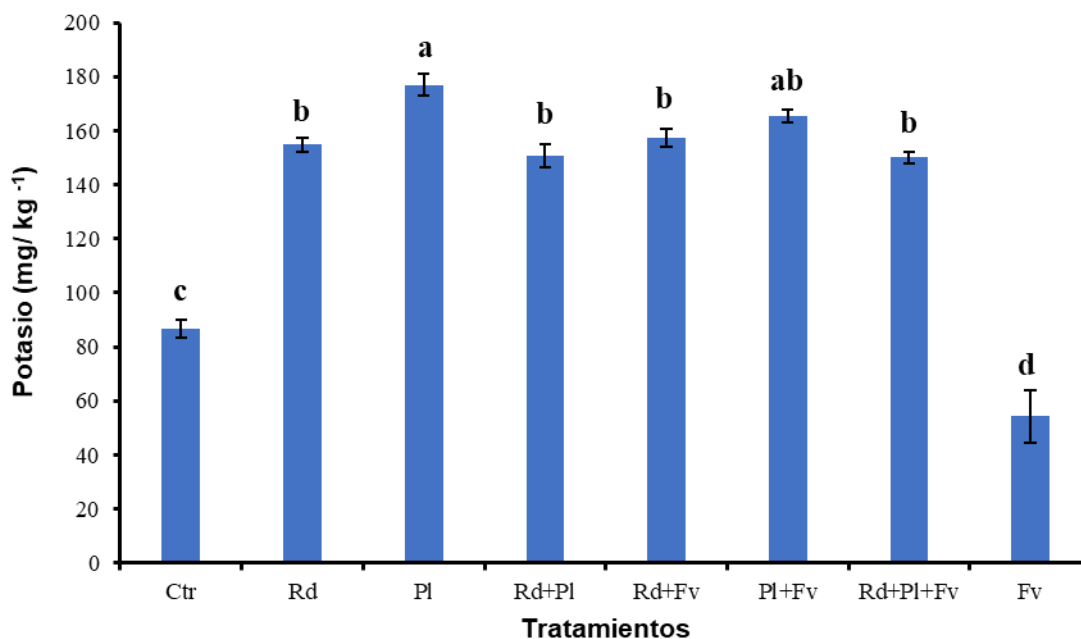
La tabla 22 y la figura 48 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el análisis de potasio en biomasa aérea de plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 22

Análisis de varianza para el contenido de potasio en la biomasa aérea de P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	36 879	12 293	197,49	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	663	663	10,65	0,0049 **
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	1 109	370	5,94	0,0064 **
Error	16	996	62		
Total	23	39 647			
** = altamente significativo				*** = muy altamente significativo	
C.V= 5,76%				R ² = 97%	

El ANOVA (Tabla 22) para el contenido de K en biomasa aérea de plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que existen diferencias muy altamente significativas solo para el factor especies de HMA y altamente significativas para el factor *Fusarium* y la interacción de ambos. Aceptándose que el contenido de K depende de las especies de los HMA, entre otras condiciones. Se obtuvo un C.V de 5,67% y un R² de 97%.



Ctrl: Control; **Rd:** *Rhizoglyphus dunense*; **Pl:** *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 48.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el contenido de fósforo en la biomasa aérea de *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 48 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra mayor contenido de potasio en el T2 (*Paraglyphus laccatum*) con un promedio de $176,79 \text{ mg/kg}^{-1}$, seguido del T5 (*Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) que mostró un $165,33 \text{ mg/kg}^{-1}$ de potasio. Todos los tratamientos aplicados con HMA presentaron mayor contenido de potasio respecto a los controles T0 y T7 que tuvieron promedios de $86,51 \text{ mg/kg}^{-1}$ y $54,21 \text{ mg/kg}^{-1}$ de potasio respectivamente.

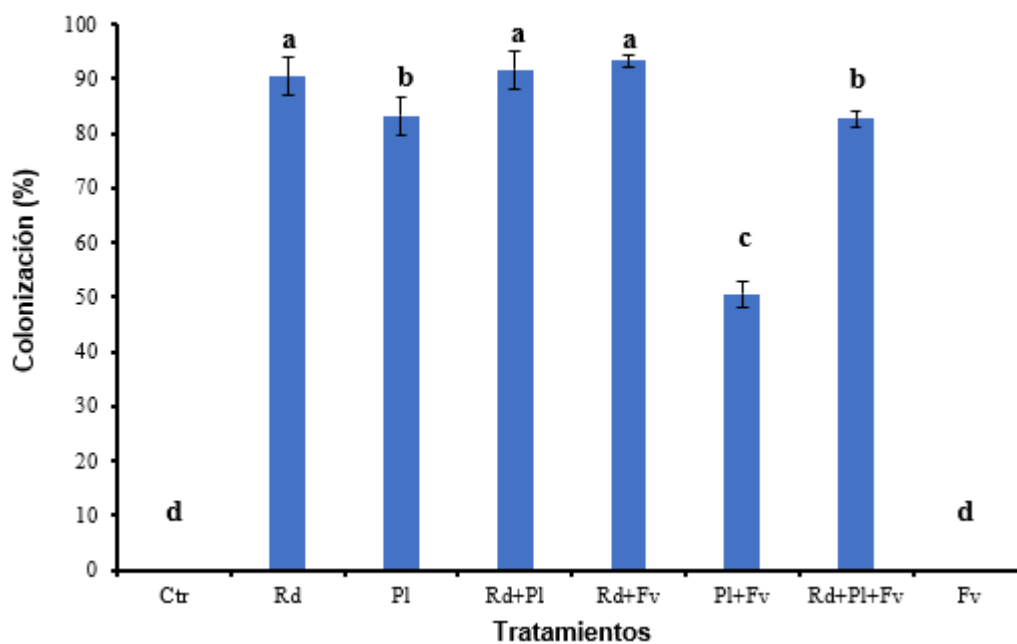
Discusión para los resultados de análisis de NPK en biomasa aérea de sachá inchi.

Los resultados muestran que para el contenido de Nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) todos los tratamientos micorrizados con HMA presentaron aumentos significativos de estos macronutrientes en la biomasa aérea de sachá inchi. Solo teniendo mayor predominancia los tratamientos inoculados con *P. laccatum* para el contenido de P y K. Así mismo de los tres análisis realizados se mostró que el N tuvo mayor cantidad en mg/kg^{-1} que el P y K. Para una mejor interpretación del mayor contenido de N en las plantas, se debe a que el

contenido de los macronutrientes que contenía el sustrato fue mayor en N, seguido del P y K. Entonces los HMA solo fueron aportadores de absorber las cantidades de nutrientes que existía en el sustrato de las macetas. Yuan y Chen (2015), encontraron que el P de la planta tiene una respuesta más débil en comparación con el N, debido a la limitación del P en el suelo. Además, los efectos de HMA en el contenido de NPK en la hoja de los cultivos varían según la identidad de HMA (Wu et al., 2023). Estudios realizados demostraron el efecto positivo de los HMA en la absorción de P, N, K, Mg, Cu, Zn, Ca, Fe, Cd y Ni (ALHadidi et al., 2021; Wu, et al., 2022; Chandrasekaran, 2022; Wu et al., 2023).

El contenido de los macronutrientes para el efecto bioprotector fue lo siguiente: Respecto al N aumentó en un 67,48%; para el P aumentó en un 89,60% y para el K aumentó 67,21%. El incremento de nutrientes en la planta huésped se debe a los beneficios del micelio del HMA. Estos micelios o hifas absorben nutrientes por osmotrofia y exploran más área de superficie en comparación con las raíces sin HMA (Panwar et al., 2008; Shukla et al., 2014).

Numerosos estudios han demostrado que los HMA son capaces de absorber grandes cantidades de N, P y K, como también otros micronutrientes del suelo y proporcionarlos a los diferentes órganos de las plantas (Wu et al. 2011; Wu et al. 2022; Wu et al., 2023; Chen et al., 2023). Wu et al. (2011), han demostrado que los HMA (*Funneliformis mosseae*, *Glomus versiforme* y *Paraglomus occultum*) aumentaron la acumulación de K, Mg, Fe y Zn en hojas y raíces, Ca en las hojas, Cu y Mn en las raíces, lo cual *F. mosseae* dio los mejores resultados y mostró la mejor eficiencia de micorrizas en el crecimiento de las plántulas de durazno y la absorción de nutrientes. Wu et al. (2022), informan que mediante un estudio de metanálisis el N y el P aumentaron significativamente por HMA sobre la nutrición de brotes y hojas en diferentes cultivos en condiciones de secano. La concentración de P en los brotes aumentó en un 46,0%, que es mayor que la concentración de N en los brotes 31,9%. El efecto neutro de HMA se observó en la concentración de P y N foliar con 12,7% y 15,4%. Wu et al (2023), mediante un estudio de estequiometría de la hoja en agroecosistemas mostraron que la inoculación de HMA aumenta el N, P y K de las hojas en 8,75%, 24,61% y 13,54%, respectivamente. El hongo MA *Glomus intraradices* aumentó el contenido de P en los brotes de maíz después 75 días después de la inoculación (Subramanian et al., 2009). En el arroz, los hongos MA mixtos aumentaron la absorción de N en las raíces y la concentración de P en los brotes, y dieron como resultado un mayor crecimiento y rendimiento (Chareesri *at al.*, 2020). Además, la inoculación de HMA mejoró los contenidos de P y N en tejidos vegetales de *Chrysanthemum morifolium* (Wang et al., 2018). Wu et al. (2019), demostraron que la aplicación de HMA aumentó positivamente el contenido de P y K en las hojas de los cítricos. Wang et al. (2019), mencionan que con la inoculación de HMA en plantas de *Gleditsia sinensis*



Ctrl: Control; **Rd:** *Rhizogloium dunense*; **Pl:** *Paragloium laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizogloium dunense* + *Paragloium laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizogloium dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paragloium laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizogloium dunense* + *Paragloium laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 49.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la colonización micorrícica en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 49 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra un mayor porcentaje de colonización en el T1 (*Rhizogloium dunense*), T3 (*Rhizogloium dunense* + *Paragloium laccatum*) y T4 (*Rhizogloium dunense* + *Fusarium verticillioides*) con promedios de 90,53%, 91,66% y 93,33% respectivamente. Seguido del T2 (*Paragloium laccatum*) y T6 (*Rhizogloium dunense* y *Paragloium laccatum* + *Fusarium verticillioides*) que no mostraron diferencias estadísticas. De los tratamientos inoculados con HMA solo el T5 (*Paragloium laccatum* + *Fusarium verticillioides*) mostró el menor porcentaje de colonización con un promedio de 50,55%.

Los datos obtenidos para el porcentaje de colonización micorrícica muestran que las plantas de sachu inchi inoculadas con *R. dunense* muestran una colonización que oscilan entre 90,53% a 93,33% para el efecto biofertilizante y bioprotector, respectivamente. Esto se debe a que las especies inoculadas ejercieron una buena relación con el huésped, la etapa de crecimiento de la planta, el tipo de suelo, tipo de inoculación y favorables condiciones abióticas (Wang et al., 2019; Saboor et al., 2021; Khan et al., 2022). Así

mismo la inoculación del patógeno no interfirió gravemente en las raíces de sachá inchi excepto para el tratamiento inoculado con *P. laccatum* que se redujo en un 39,32% después de inocular a *F. verticillioides*, siendo la especie que no muestra una buena relación simbiótica con las plantas de sachá inchi tanto para el efecto biofertilizante y bioprotector. Sin embargo, los tratamientos con HMA desempeñaron un papel beneficioso en la simbiosis micorrícica para el funcionamiento de una buena colonización radicular (>50,55%).

Los hallazgos encontrados son similares con otros autores. Orbe (2019), reveló un mayor porcentaje de colonización con *Rhizoglyphus intraradices* y la interacción de *Rhizoglyphus intraradices* + *Glomus* sp, con respecto a la inoculación solo con *Glomus* sp frente a *M. incognita* en plantas de sachá inchi fluctuando entre un 93,03% y 91,82%, respectivamente. Spagnoletti et al. (2021), muestran que la colonización de *Rhizophagus intraradices* aumentó en un 19,23% cuando se inóculo *F. pseudograminearum*. Klinsukon et al. (2021), observaron que la inoculación con HMA sobre *C. quinqueseptatum* en plantas de eucalipto hubo una colonización micorrícica de un 84% para el HMA solo y un 56% para el patógeno micorrizado, notándose una reducción de un 33,33% cuando se aplicó el patógeno. Ahammed et al. (2020), reportan que la tasa de colonización de HMA se redujo en un 29,9% después de la inoculación de *Fusarium* en plantas de pepino. Wang et al. (2022), mencionan que las tasas de colonización micorrícica de plantas de tomate fueron superiores al 30 %, con ambos genotipos. Xian y Peng (2008), mostraron una colonización micorrícica de 46,30% y 38,20% para el control micorrizado y *Fusarium oxysporum* micorrizado respectivamente en plantas de pepino, lo cual se redujo en un 17,49% cuando se aplicó el patógeno.

La mayoría de las plantas se colonizan a través de los HMA siguiendo dos vías de nutrientes. 1). Epidermis de las raíces, que es una vía directa de absorción. 2). La formación de una estructura fúngica que diseñó la vía de absorción de las micorrizas (Saboor et al., 2021). Así mismo la capacidad de colonización de HMA depende de las especies de HMA y especies de plantas. (Wang et al., 2019).

b) Succinato deshidrogenasa (SDH)

Sin actividad (sin tinción)

La tabla 24 y la figura 50 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el succinato deshidrogenasa en plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 24

Análisis de varianza para el succinato deshidrogenasa sin actividad en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	45 938	15 312	272,22	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	312	312	5,55	0,0269 *
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	938	313	5,55	0,0049 **
Error	24	1 350	56		
Total	31	48 538			
* = significativo		**= altamente significativo		***= muy altamente significativo	
C.V=24,29%			R ² =97%		

El ANOVA (Tabla 24) para el succinato deshidrogenasa en raíces de plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que existen diferencias muy altamente significativas para el factor especies de HMA, altamente significativas para la interacción de ambos y significativa para el factor inóculo *Fusarium*. Aceptándose que el succinato deshidrogenasa depende de las especies de los HMA, de *F. verticillioides* y de la interacción de ambos, entre otras condiciones. Se obtuvo un C.V de 24,29% y un R² de 97%.

Baja actividad (tinción normal)

La tabla 25 y la figura 50 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el succinato deshidrogenasa en plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 25

Análisis de varianza para el succinato deshidrogenasa baja actividad en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	16 538	5 513	43,87	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	404	404	3,21	0,0854 NS
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	5 689	1 896	15,09	< 0,0001 ***
Error	24	3 015	126		
Total	31	25 646			
NS= no significativo				***= muy altamente significativo	
C.V=24,09%			R ² =88%		

El ANOVA (Tabla 25) para el succinato deshidrogenasa en raíces de plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que existen diferencias muy altamente significativas para el factor especies de HMA y para la interacción HMA más *Fusarium*, todo lo contrario, sucedió con el factor inoculó *Fusarium* que no mostró diferencia significativa. Aceptándose que el porcentaje de colonización micorrícica depende de las especies de los HMA, de *F. verticillioides* y de la interacción de ambos, entre otras condiciones. Se obtuvo un C.V de 24,09% y un R² de 88%.

Alta actividad (tinción densa)

La tabla 26 y la figura 50 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el succinato deshidrogenasa en plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 26

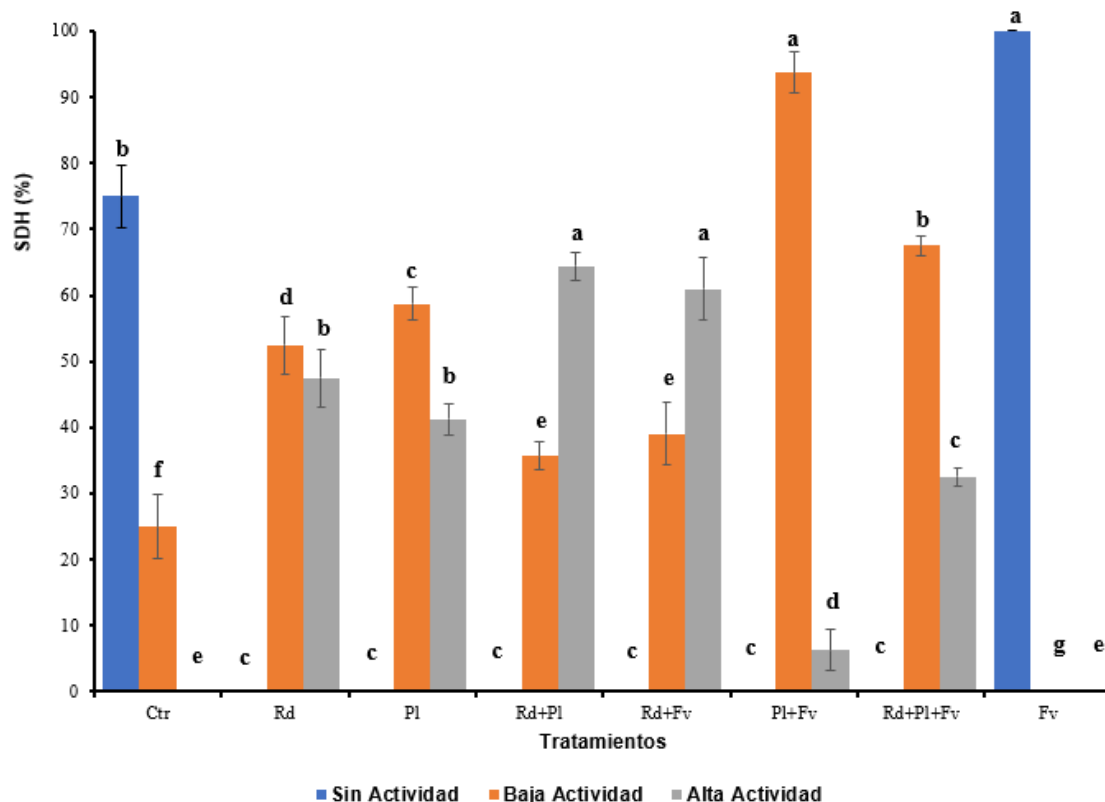
Análisis de varianza para el succinato deshidrogenasa alta actividad en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	14 842	4 947	71,30	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	1 428	1 428	20,58	0,00014 ***
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	3 415	1 138	16,41	< 0,0001 ***
Error	24	1 665	69		
Total	31	21 350			

NS= no significativo *** = muy altamente significativo

C.V= 26,36% R²= 92%

El ANOVA (Tabla 26) para el succinato deshidrogenasa en las raíces de plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que existen diferencias muy altamente significativas para el factor especies de HMA, factor *Fusarium* y para la interacción HMA más *Fusarium*. Aceptándose que el succinato deshidrogenasa depende de las especies de los HMA, de *F. verticillioides* y de la interacción de ambos, entre otras condiciones. Se obtuvo un C.V de 26,36% y un R² de 92%.



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizogloium dunense*; **PI:** *Paragloium laccatum*; **Rd+PI:** *Rhizogloium dunense* + *Paragloium laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizogloium dunense* + *Fusarium verticillioides*; **PI + Fv:** *Paragloium laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + PI + Fv:** *Rhizogloium dunense* + *Paragloium laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 50.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el succinato deshidrogenasa en raíces de *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 50 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra el efecto de la actividad de la enzima succinato deshidrogenasa en las raíces de sachu inchi en tres escalas: sin actividad, baja actividad y alta actividad. Para el T3 (*Rhizogloium dunense* + *Paragloium laccatum*) y T4 (*Rhizogloium dunense* + *Fusarium verticillioides*) sobresalió la alta actividad metabólica fúngica con un 64,38% y 60,94% respectivamente. Para el T5 (*Paragloium laccatum* + *Fusarium verticillioides*) predominó la baja actividad metabólica fúngica con un 93,75%. Mientras tanto el T7 (*Fusarium verticillioides*) presentó un 100% de sin actividad metabólica fúngica. Seguido del T0 (sin HMA) con un 75% de sin actividad.

Los resultados encontrados muestran una alta actividad del succinato deshidrogenasa con la inoculación sola de *R. dunense* y en combinación con *P. laccatum* para el efecto biofertilizante y bioprotector, lo cual también se mostró con un mayor porcentaje de

colonización. Reflejando que la infestación de *F. verticillioides* no perjudicó o no dañó sus estructuras de los HMA. Así mismo la aplicación sola de *P. laccatum* para el efecto bioprotector mostró baja actividad y viabilidad del SDH como en la colonización. Demostrándose que *F. verticillioides* si causó daño en la raíz al competir por espacio y nutrientes y notándose el porqué de su bajo potencial protector en las plantas de sachá inchi. En estos resultados los tratamientos con HMA mostró que las hifas de los HMA estuvieron activas.

Sin embargo, el control T0 que debería mostrar ninguna actividad mostró un 25% de baja actividad, lo cual no debió suceder, pero se puede decir que pudo haber sido influenciado alguna contaminación de esporas por medio del viento o algún material no desinfectado, sin embargo, esto no sucedió en el porcentaje de colonización debido a que las plantas que escogimos para esa variable no estaban contaminadas que presentaban 0 % de colonización.

El SDH (enzima ligada al ciclo de Krebs) de los HMA en el sistema radicular de las plantas sirven para observar estructuras de micorrizas arbusculares metabólicamente activas, pero no muestra la efectividad del micosimbionte sobre los hospederos (Djighaly et al., 2018; Saparrat et al., 2020).

Los resultados coinciden con otros autores. Djighaly et al. (2018), mencionan que la especie *Rhizophagus fasciculatus* mostró mayor actividad del SDH (57%) cuando se utilizó una concentración de 0 mM de NaCl. Spagnoletti et al. (2021), informan que la inoculación de *Rhizophagus intraradices* mostró una alta actividad metabólica fúngica de la enzima SDH, tanto para la inoculación solo HMA y para la combinación de HMA más *F. pseudograminearum*. Spagnoletti et al. (2017), revelan que los HMA presentaron una alta actividad de la enzima SDH cuando fueron inoculados solos y una baja actividad cuando fueron inoculados con *M. phaseolina* más 50 mgAs Kg⁻¹. Ma et al. (2015), informan que la actividad SDH se vieron reducidas por el estrés por frío en comparación con las plantas bajo temperatura ambiente en plantas de pepino.

c) Densidad poblacional de *F. verticillioides* en raíces de sachá inchi

La tabla 27 y la figura 51 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para la densidad poblacional de *F. verticillioides* en plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

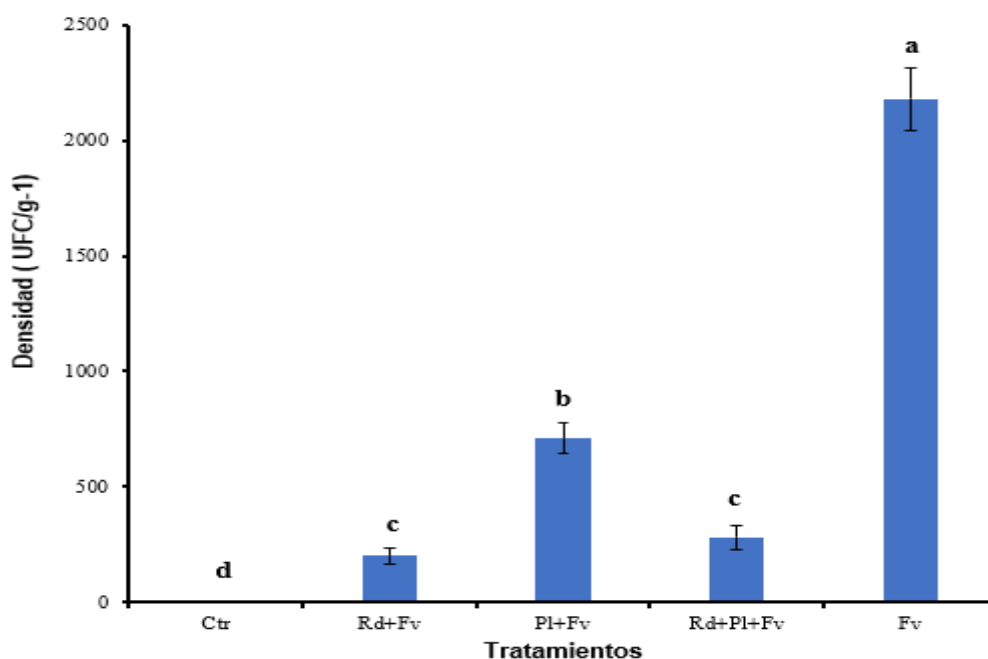
Tabla 27

Análisis de varianza para densidad poblacional de F. verticillioides en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	4	15 517 600	3 879 400	145,60	< 0,0001 ***
Error	20	533 000	26 650		
Total	24	16 050 600			

NS = no significativo	*** = muy altamente significativo
C.V= 24,22%	R ² = 97%

El ANOVA (Tabla 27) para la densidad poblacional de *F. verticillioides* en la raíz en plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que existen diferencias muy altamente significativas entre los tratamientos inoculados con el *F. verticillioides*. Se obtuvo un C.V de 24,22% y un R² de 97%.



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglyphus dunense*; **PI:** *Paraglyphus laccatum*; **Rd+PI:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **PI + Fv:** *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + PI + Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 51.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la densidad poblacional de *F. verticillioides* en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 51 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que el T7 (*Fusarium verticillioides*) obtuvo la mayor densidad poblacional de *F. verticillioides* en la raíz en plantas de sachu inchi con 2180 UFC/g¹ de raíz seco, mientras que el T5 (*Paraglomus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) mostró un promedio de 710 UFC/g¹ de raíz seco. Seguido del T4 (*Rhizoglo mus dunense* + *Fusarium verticillioides*) y T6 (*Rhizoglo mus dunense* y *Paraglomus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) que no mostraron diferencias estadísticas. Todos los tratamientos inoculados con *F. verticillioides* mostraron diferencias significativas con respecto al tratamiento testigo (sin HMA) que mostró el menor valor en esta variable (0) por no haber sido inoculado.

Los resultados para esta variable están directamente relacionados con el porcentaje colonización y la actividad de la enzima SDH. Los datos obtenidos indican que la aplicación de *Paraglomus laccatum*, *Rhizoglo mus dunense* y la combinación de ambos condujo a reducciones del 67,43 %; 90,82 % y 87,15 %, respectivamente, en la densidad de población de *F. verticillioides*, respecto al control positivo (solo *F. verticillioides*). Así mismo se mostró la baja respuesta protectora de *P. laccatum*. Sin embargo, los resultados muestran que los HMA ejercieron una excelente barrera bioprotectora creada por el manto de las hifas frente a *F. verticillioides*. Para una mejor comprensión, los HMA y los patógenos compiten por los productos fotosintéticos del sistema radicular de la planta huésped, y cuando los HMA utilizan por primera vez los productos fotosintéticos, se reduce la oportunidad de adquisición de patógenos, lo que reduce el daño causado por estos microorganismos y mejora la resistencia a las enfermedades de las plantas hospedantes (Abdel-Azeem et al., 2021; Weng et al 2022).

Los HMA comparten la misma ruta de infección que los patógenos transmitidos por el suelo es decir necesitan el mismo nicho ecológico y sitio de invasión. Por lo tanto, en condiciones de hábitat natural, los HMA y los patógenos compiten por el espacio en el sistema radical del huésped, debido a que el espacio ocupado por un microorganismo no puede ser ocupado por otro microorganismo a la vez, lo cual esto procede principalmente como un efecto de biocontrol para reducir la infección inicial y la reinfección de los patógenos epidérmicos de la raíz. Así mismo al generarse la simbiosis micorrícica de los HMA con las raíces de las plantas se producen exudados que pueden afectar directamente el crecimiento, desarrollo y reproducción de otros hongos del suelo, nematodos, y bacterias (Xavier y Boyetchko, 2004; Olowe et al., 2018; Villani et al., 2021; Abdel-Azeem et al., 2021; Weng et al 2022).

Para que los patógenos tengan una mayor densidad en las raíces de las plantas, deben ingresar a las células a través de la pared celular, sin embargo la simbiosis de los HMA puede hacer que el sistema de raíces de la planta huésped crezca, aumente la ramificación, mayor volumen, acelere la lignificación de la pared celular, engrose la epidermis de la punta de la raíz y aumente la número de capas de células; también puede cambiar la estructura morfológica de la raíz, generando efectivamente el retraso del proceso de infección de raíces por patógenos (Xavier y Boyetchko, 2004; Olowe et al., 2018; Villani et al., 2021; Abdel-Azeem et al., 2021; Weng et al 2022).

Estos hallazgos son semejantes a otros autores. Spagnoletti et al. (2021), manifiestan que la inoculación de *Rhizophagus intraradices* redujo un 75,7 % la densidad de población de *F. pseudograminearum* en la raíz de trigo respecto al control positivo. Ren et al. (2015), observaron que al aplicar *G. mosseae* sobre *F. oxysporum* f. sp. *niveum* hubo una disminución de 58,10% en densidad poblacional de *F. oxysporum* en la raíz de la sandía en comparación con control solo patógeno. Xian y Peng (2008), manifiestan que la inoculación con *Glomus etunicatum* contra *F. oxysporum* f. esp. *Cucumerinum* redujo un 60,27% la densidad poblacional de *F. oxysporum* en la rizosfera de las plantas de pepino respecto al control inoculado solo con patógeno. En tanto Spagnoletti et al. (2017), explican que la aplicación de *R. intraradices* en suelos contaminados con arsénico e infectadas por el hongo *Macrophomina phaseolina* en plantas de soya mostró reducciones significativas para todos los tratamientos en la densidad de población de la raíz.

4.3 Evaluar la incidencia y severidad causada por *Fusarium verticillioides* en plántulas de sachá inchi, inoculadas con *Rhizogloium dunense* y *Paragloium laccatum*.

a) Incidencia

La tabla 28 y la figura 52 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para la incidencia de la enfermedad en plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

La figura 52 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que el control positivo T7 (*Fusarium verticillioides*) tuvo el 100% de incidencia de la enfermedad debido a que fue inoculado solo *F. verticillioides*. Seguido del T5 (*Paraglomus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) que mostró un menor porcentaje de incidencia a *F. verticillioides*, con un 75%. Mientras que los T4 (*Rhizoglomus dunense* + *Fusarium verticillioides*) y T6 (*Rhizoglomus dunense* y *Paraglomus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) fueron no significativos mostrando un 0% de incidencia de la enfermedad. Los tratamientos inoculados con HMA mostraron diferencias significativas con respecto al tratamiento (solo *Fusarium*).

Los datos obtenidos muestran que con la aplicación solitaria de *P. laccatum* contra *F. verticillioides* mostró un 75% de incidencia en comparación con los tratamientos inoculados solo con *R. dunense* y en combinación de ambos que mostraron 0% de incidencia. Así mismo el T5 en comparación con el T7 mostró una disminución de 25% de incidencia de *F. verticillioides*. Entendiéndose que los HMA son un buen método como biocontroladores biológicos para inhibir o antagonizar patógenos transmitidos por el suelo (*F. verticillioides*). Más de 30 especies de HMA han demostrado su eficacia en el control de enfermedades transmitidas por el suelo de las plantas (Weng et al 2022).

Los efectos positivos que se han demostrado con la inoculación de los HMA sobre la reducción de la incidencia de los patógenos del suelo en plantas agrícolas se deben a que existen muchos mecanismos efectivos que establecen estos hongos con la colonización en las raíces.

Estos resultados tienen similitud con otros autores. Spagnoletti et al. (2021), manifiestan que la inoculación de *Rhizophagus intraradices* contra *F. pseudograminearum* la incidencia de la enfermedad en plantas trigo se redujo en un 22% en comparación con el control positivo (*F. pseudograminearum*). Xian y Peng (2008), revelan que las plantas de pepino infectadas con *F. oxysporum* 15 días después de la inoculación con *Glomus etunicatum* la incidencia de la enfermedad se redujo hasta un 66,60% comparado con el control (solo *F. oxysporum*). Pu et al. (2022), informan que aplicando *Glomus versiforme* en suelos con *F. oxysporum* en plantas de *Salvia miltiorrhiza* se redujo la incidencia de la enfermedad en un 61,11% respecto con el control solo patógeno. Hashem et al. (2021), revelan que se redujo la incidencia de la enfermedad (79,04% a 58,53%) aplicando un consorcio de HMA frente a *F. oxysporum* en condiciones de estrés en tomate comparado con el control solo patógeno. Klinsukon et al. (2021), observaron que la inoculación de *C. quinquesepatum* inoculada con *Gigaspora margarita* en eucaplito la incidencia de la enfermedad disminuyó

en un 33,42% comparado con el control positivo. Mientras tanto Aguk, et al. (2018), mencionan que en comparación con el control sin inoculación de HMA, la incidencia de *Ralstonia solanacearum* inoculada con *G. rhizogenes* y *G. mossie* se redujo en un 49,8 %.

b) Severidad

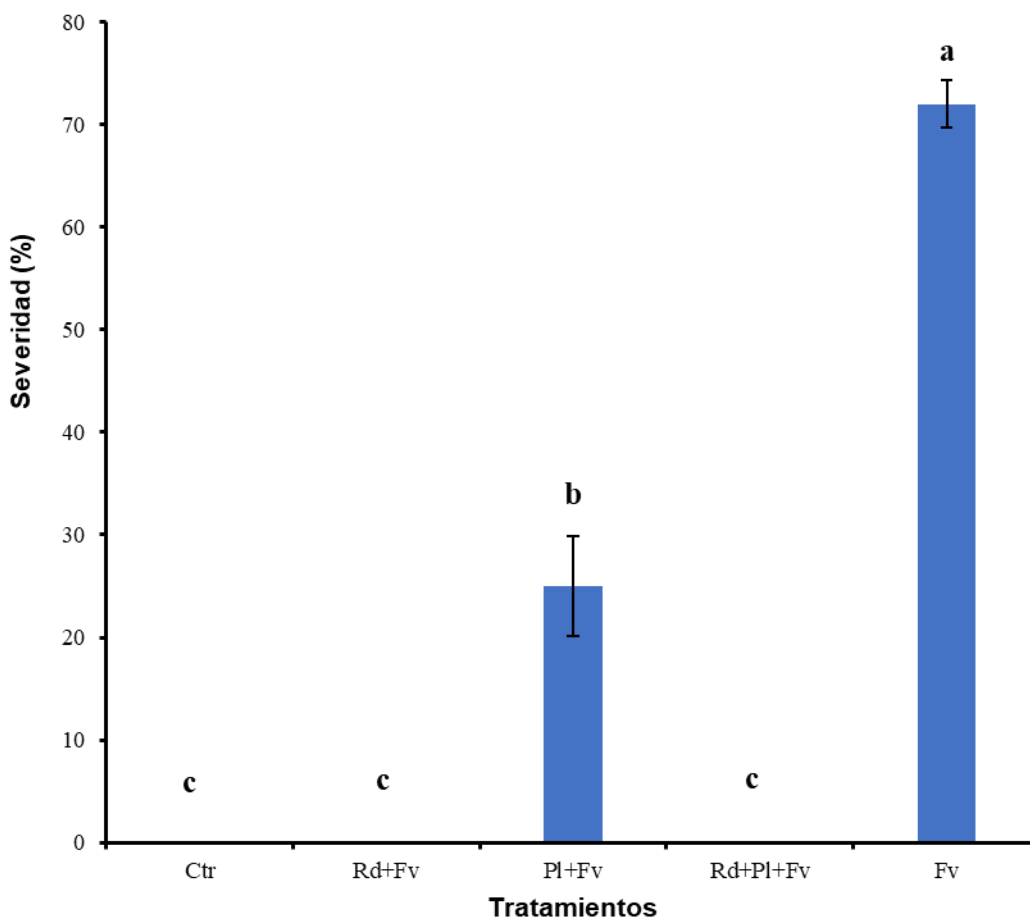
La tabla 29 y la figura 53 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para la severidad de la enfermedad en plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 29

Análisis de varianza para la severidad de la enfermedad en P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	4	58 383	14 596	168	< 0,0001 ***
Error	70	6 083	87		
Total	74	64 466			
NS = no significativo				*** = muy altamente significativo	
C.V= 21,13%				R ² = 93%	

El ANOVA (Tabla 28) para la severidad de la enfermedad en plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que existen diferencias muy altamente significativas entre los tratamientos. Mostrando un C.V de 21,13% y un R² de 93%.



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglopus dunense*; **PI:** *Paraglopus laccatum*; **Rd+PI:** *Rhizoglopus dunense* + *Paraglopus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglopus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **PI + Fv:** *Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + PI + Fv:** *Rhizoglopus dunense* + *Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 53.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la severidad de la enfermedad en *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 53 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra mayor porcentaje de severidad para el control positivo (72%). Seguido del T5 (*Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*) que presentó un 25% de severidad de *F. verticillioides*. Todas las plantas que fueron inoculadas con las especies de HMA presentaron diferencias altamente significativas respecto al *F. verticillioides* no micorrizado (T7).

Los resultados encontrados muestran que la inoculación solitaria de *P. laccatum* y combinada con la especie *P. laccatum* generó gran efecto bioprotector con *F. verticillioides* sin mostrar daños de incidencia y severidad. Así mismo se mostró que el T5 inoculado con

P. laccatum presento un 25% de severidad de la enfermedad en comparación con los demás tratamientos inoculados con HMA. Pero entre tanto el T5 respecto al T7 mostró una disminución de 65.28% en la severidad del *F. verticillioides*. Demostrándose que los HMA ayudaron a mitigar la severidad por *F. verticillioides* en plantas de saha inchi.

Los HMA pueden producir sustancias químicas como fitoquímicos, callosas, alcaloides y fenoles en la superficie de las hifas internas y externas de la raíz, y estos metabolitos secundarios son beneficiosos para las plantas, ayudándolas a mayor tolerancia de las plantas causadas por enfermedades (Abdel-Azeem et al.,2021; Weng et al 2022). Otro papel importante que ejecutan los HMA es formar un manto de micelio, calosa y estructura papilar apilada por pectina no esterificada en la epidermis y la endodermis de la raíz de las plantas hospedantes, lo que dificulta la penetración una mayor infección de patógenos en los tejidos de las células de la raíz (Weng et al 2022).

Estudios reportados han demostrado el gran papel que cumplen los HMA frente a patógenos del suelo en inoculaciones únicas y combinadas para reducir la incidencia y severidad de la enfermedad de las plantas. Así como también muestran en algunos estudios, que la inoculación única de plantas con HMA solo puede reducir la severidad, pero no la incidencia (Spagnoletti et al., 2021; Hallasgo et al., 2022).

Estos hallazgos son corroborados por los siguientes autores. Spagnoletti et al. (2021), destacan que las plantas de trigo inoculadas con *Rhizophagus intraradices* e infestadas con *F. pseudograminearum* la severidad se redujo en un 39% comparado con el control sin HMA. Wang et al. (2022), obtuvieron que la inoculación de *R. irregularis* en plantas de tomate redujo la gravedad de la enfermedad (26,67%) contra *F. oxysporum*. Xian y Peng (2008), revelan que *Glomus etunicatum* en asociación con *F. oxysporum* en pepino la severidad de la enfermedad se redujo en un 21,2% comparado con el control positivo. Villani et al., (2021), informan que el hongo *Glomus viscosum* infestado con *Verticillium dahliae* en plantas de alcachofa se redujo la severidad de la enfermedad en un 10% en comparación con el patógeno no micorrizado. Pu et al. (2022), mencionan que *Glomus versiforme* redujo la severidad de *F. oxysporum* (26%) en plantas de *Salvia miltiorrhiza* respecto al control solo patógeno.

Steinkellner et al. (2012), informan que las raíces de las plántulas de tomate que fueron infectadas con *F. oxysporum* durante 20 días después de la inoculación con *G. polyphylla* y *G. macrocarpum*, la gravedad de la enfermedad se redujo en un 78 % y un 75 %, respectivamente. Ren et al. (2015), informan que al aplicar *G. mosseae* sobre *F. oxysporum* f. sp. *niveum* en sandía se redujo la severidad en un 89,3 % al suprimir el

desarrollo de patógenos en las raíces y la rizosfera de la sandía. Mientras tanto Klinsukon et al. (2021), observaron que la infestación de *C. quinqueseptatum* inoculada con *Gigaspora margarita* en eucalipto hubo una disminución de 29,25% en la severidad respecto al patógeno no micorrizado.

4.4 Evaluar la actividad antioxidante enzimática, no enzimática y marcadores de daño oxidativo en plántulas de sachá inchi, inoculado con *Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum* e infestado por *Fusarium verticillioides*.

a) Glutación reducido (GSH) en hojas

La tabla 30 y la figura 54 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para GSH en hojas de plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 30

Análisis de varianza para glutación reducido en hojas de P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	2 874 940	958 313	5,01	0,0077 **
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	6 234 607	6 234 607	32,65	< 0,0001 ***
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	5 637 622	1 879 207	9,84	0,0002 ***
Error	24	4 582 310	190 930		
Total	31	19 329 479			

NS = no significativo ** = altamente significativo *** = muy altamente significativo

C.V= 8,56% R²= 76%

El ANOVA (Tabla 30) para el GSH en hojas de plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que existen diferencias muy altamente significativas para el factor inoculó *Fusarium* y para la interacción HMA más *Fusarium* y altamente significativas para el factor especies de HMA. Aceptándose que el GSH en hojas depende de las especies de los HMA, de *F. verticillioides* y de la interacción de ambos, entre otras condiciones. Se obtuvo un C.V de 8,56% y un R² de 76%.

b) Glutación reducido (GSH) en raíces

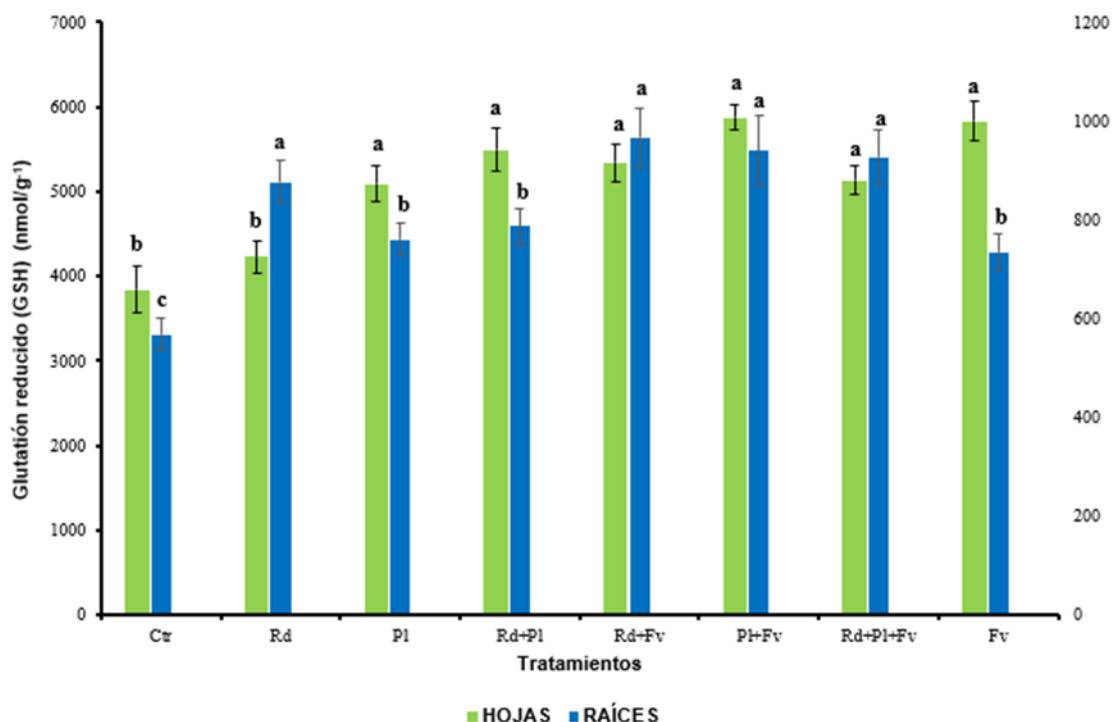
La tabla 31 y la figura 54 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para GSH en raíces de plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 31

Análisis de varianza para glutación reducido en raíces de P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	326 743	108 914	12,07	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	166 620	166 620	18,46	0,0002 ***
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	9 463	3 154	0,35	0,7898 NS
Error	24	216 567	9 024		
Total	31	719 393			
NS = no significativo				*** = muy altamente significativo	
C.V= 11,59%				R ² = 70%	

El ANOVA (Tabla 31) para el GSH en raíces de plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que existen diferencias muy altamente significativas para el factor inoculó *Fusarium* y para el factor especies de HMA, para la interacción de ambos no existió diferencias significativas. Aceptándose que el GSH en raíces depende de las especies de los HMA, de *F. verticillioides* y de la interacción de ambos, entre otras condiciones. Se obtuvo un C.V de 11,59% y un R² de 70%.



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglyphus dunense*; **Pl:** *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglyphus dunense* + *Paraglyphus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 54.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el GSH en hojas y raíces de *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 54 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra la actividad antioxidante de GSH en hojas y raíces para sachá inchi. En las hojas el contenido de GSH de las plantas inoculadas con HMA, fueron mayores que las plantas control sin HMA (T0) e estadísticamente iguales con *F. verticillioides* no micorrizado (T7). En las raíces el contenido de GSH de los tratamientos inoculados con HMA e infestados con *Fusarium* fueron superiores que el control negativo (sin HMA) pero igual que el control positivo. Así mismo el contenido de GSH de las plantas con *F. verticillioides* fueron iguales que en las plantas inoculadas solo con HMA.

Los resultados muestran que el contenido de GSH en las plantas inoculados con HMA e infestadas con *Fusarium* fueron superiores respecto al control sin HMA tanto para hojas y raíces. Esto indica que hubo un daño más extenso al tejido vegetal en las plantas con HMA solo, HMA más *Fusarium* y *F. verticillioides* solo, respecto a las plantas sin HMA.

El contenido de GSH tanto para las hojas y raíces muestran el efecto nocivo del exceso de ROS en el proceso aeróbico de las plantas, lo cual muestran que la inoculación de los microorganismos HMA y *Fusarium* alteraron el exceso de ROS en sus órganos de las plantas de sachá inchi. Esto es debido a la combinación de varios factores bióticos y abióticos, pero principalmente por los microorganismos que al momento de colonizar penetran por las raíces y estimulan mayor daño en la planta, asimismo se añade como estrés abiótico la alta temperatura en vivero, lo cual fueron requisitos para causar mayores aumentos de GSH. Así mismo las plantas desarrollan sus propias defensas para aliviar efectos dañinos de las ROS y así proteger la estabilidad del metabolismo celular y mejorar la productividad (Khan et al., 2022). Sin embargo, los HMA son grandes aportadores de las defensas antioxidantes en la planta por medio de sus efectos constructivos que generan en la morfología y fisiología de la misma (Begum et al., 2019; Khan et al., 2022).

Estos resultados son consistentes con lo que obtiene Spagnoletti et al. (2021), donde muestran que con la infestación solo de *F. pseudograminearum* en comparación con la inoculación de *R. intraradices* y el control sin HMA aumentó el contenido de GSH para hojas de plantas de trigo. Todo lo contrario, obtuvo con el superóxido dismutasa (SOD) y guayacol peroxidasa (GPOX) que mostró mayor actividad antioxidante para raíces. Spagnoletti et al. (2016), encontraron que en las plantas de soya infestadas con *M. phaseolina* aumentó el contenido de GSH en hojas. Mientras tanto Grümberg (2015), informa que con el tratamiento micorriza sequía (MS) se incrementó el contenido de GSH para hojas de plantas de soya. Ahammed et al. (2020), indican que las plantas de pepino infestadas con *F. oxysporum* la inoculación de solo *Fusarium* mostró menor cantidad de la actividad antioxidante GSH en hojas y en comparación con el control sin HMA se redujo significativamente las concentraciones de GSH por 31,9%. Villani et al. (2021), informan que hubo mayor incremento de GSH en hojas de alcachofa con los tratamientos micorrizados respecto al control sin HMA y al control infestado por *V. dahliae*.

La infestación de estos patógenos en las plantas estimula las especies reactivas de oxígeno (ROS) sobre los tejidos de las plantas que alteran las membranas celulares y dificultan el funcionamiento celular normal (Saboor et al., 2021). Está bien documentado que la exposición de las plantas frente a condiciones de metales pesados, salinidad, estrés hídrico, temperaturas bajas y hongos fitopatógenos aumenta la producción de ROS (Hasanuzzaman et al., 2017), así como a actividades mejoradas de superóxido dismutasa (SOD), Catalasa (CAT), peroxidación lipídica (TBARS), guayacol peroxidasa (GPOX) y glutatión peroxidasa (GPX), seguidas por una disminución en la concentración de clorofila

(Spagnoletti et al. 2016; Hashem et al.,2021; Spagnoletti et al., 2021; Saboor et al., 2021; Fujita y Hasanuzzaman, 2022).

c) Catalasa (CAT) en hojas

La tabla 32 y la figura 55 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para catalasa en hojas y raíces de plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

Tabla 32

Análisis de varianza para catalasa en hojas de P. volubilis L., evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

F. V	GL	SC	CM	F	p-valor
Especie HMA	3	104,21	34,74	11,54	< 0,0001 ***
Inóculo <i>Fusarium</i>	1	3,27	3,27	1,08	0,308 NS
Especie HMA: Inóculo <i>Fusarium</i>	3	1,01	0,34	0,11	0,953 NS
Error	24	72,21	3,01		
Total	31	180,70			

NS = no significativo *** = muy altamente significativo

C.V= 25,68% R²= 60%

El ANOVA (Tabla 32) para la CAT en hojas de plantas de sachá inchi evaluados en los ocho tratamientos, indica que existen diferencias muy altamente significativas solo para el factor especies de HMA, pero el factor especies de HMA y para la interacción de ambos no existió diferencias significativas. Aceptándose que la CAT en hojas depende de las especies de los HMA, entre otras condiciones. Se obtuvo un C.V de 25,68% y un R² de 60%.

d) Catalasa (CAT) en raíces

La tabla 33 y la figura 55 muestran el ANOVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para catalasa en raíces de plantas de sachá inchi evaluados a 70 días en condiciones de vivero.

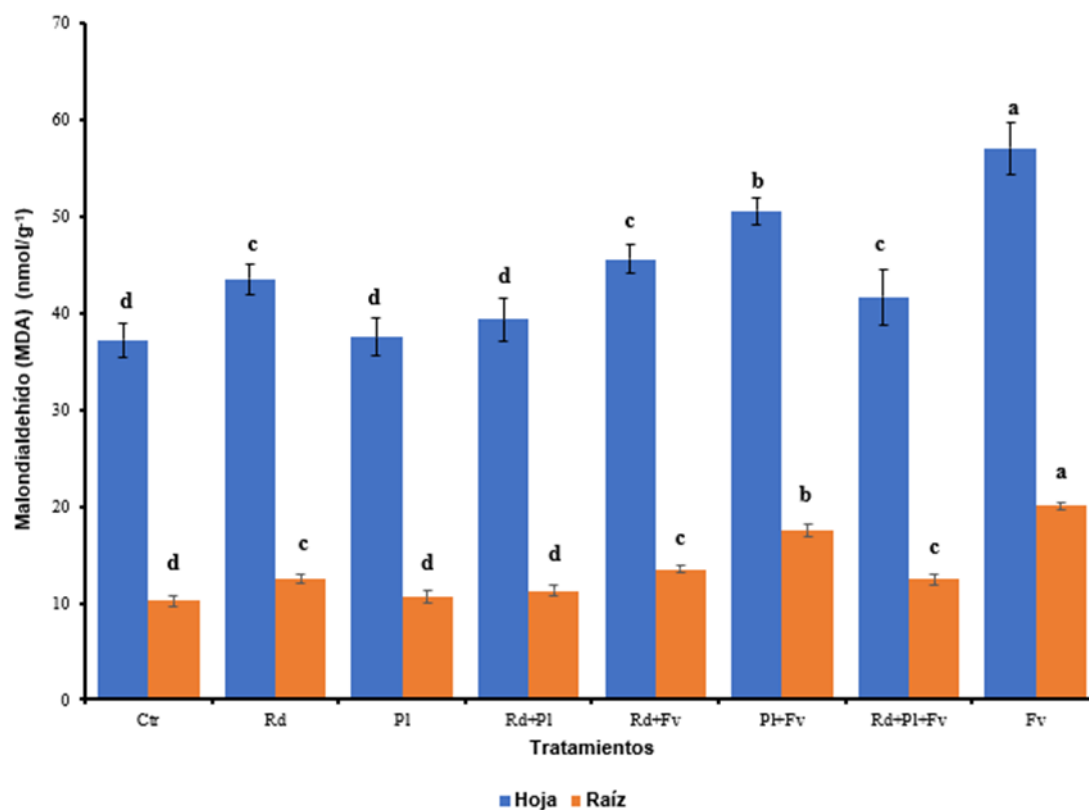
La figura 55 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra la actividad antioxidante enzimática de la CAT en hojas y raíces para sachá inchi. En las hojas de las plantas de todos los tratamientos con HMA, el contenido de CAT fue mayor que en el de los tratamientos controles T0 y T7 siendo estas estadísticamente iguales. Mientras que en las raíces de sachá inchi todos los tratamientos inoculados con HMA fueron iguales que el control positivo (solo *F. verticillioides*) pero presentaron mayor aumento de CAT que el control negativo (sin HMA). Esto indica que hubo más daño en la membrana celular en las plantas con HMA solo, HMA más *F. verticillioides* y *F. verticillioides* solo, que en las plantas sin HMA (T0).

En estos resultados encontramos que los tratamientos inoculados con *Rhizoglofus dunense* y *Paraglofus laccatum* aumentó la actividad enzimática (CAT) en las hojas respecto al control (*F. verticillioides* no micorrizado) y el control (sin HMA), todo lo contrario, sucedió con el contenido de CAT en raíces que fue en menor cantidad que las hojas, pero las plantas infestadas solo con *F. verticillioides* no presentó diferencias significativas con las plantas inoculadas con HMA, mostrando que la infestación de *F. verticillioides* aumenta la actividad de CAT. La inoculación de los dos microorganismos desencadenó un mayor contenido de la CAT, para este aumento ha influenciado los factores estresantes bióticos (principalmente patógeno) y abióticos (principalmente temperatura) en el proceso del experimento.

La CAT son enzimas fitosanitarias que limpian las sustancias tóxicas de las células (como fenoles, formaldehído, etc.), y podrían aliviar o evitar las intoxicaciones de las plantas (Villani et al., 2021; Khan et al., 2022).

Resultados similares presenta Spagnoletti et al. (2021), quienes revelan que las plantas de trigo inoculado con *Rhizophagus intraradices* en comparación con las plantas infestadas solo con *F. pseudograminearum* y el control sin HMA exhibió mayor contenido de CAT para hojas seguido por raíces. Liu et al. (2018), informan que los tratamientos con HMA alteraron significativamente la actividad de CAT en las hojas de *Astragalus adsurgens*, en comparación con el tratamiento no micorrizado (NM). Las plantas inoculadas con *G. versiforme* + *F. mosseae* tuvieron la actividad de CAT más alta, siendo de 0,2 a 3 veces mayor que otros tratamientos. Gao et al. (2018), descubren que la colonización de HMA aumenta la actividad de POD y CAT en hojas de alfafa en comparación con las plantas controles para aliviar el estrés causado por *M. tabacinum*.

Bagy et al. (2019), revelaron que las inoculaciones duales de agentes bioinoculadores *E. nigrum* y HMA infestado con *Pectobacterium carotovora* en hojas de plantas de papa



Ctr: Control; **Rd:** *Rhizoglopus dunense*; **Pl:** *Paraglopus laccatum*; **Rd+Pl:** *Rhizoglopus dunense* + *Paraglopus laccatum*; **Rd+Fv:** *Rhizoglopus dunense* + *Fusarium verticillioides*; **Pl + Fv:** *Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Rd + Pl + Fv:** *Rhizoglopus dunense* + *Paraglopus laccatum* + *Fusarium verticillioides*; **Fv:** *Fusarium verticillioides*.

Figura 56.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el MDA en hojas y raíces de *P. volubilis* L. evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

La figura 56 mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra el marcador de daño oxidativo (MDA) en hojas y raíces para sachá inchi. En las hojas de las plantas de todos los tratamientos con HMA, el contenido de MDA fue mayor e iguales que T0, pero menor que el tratamiento *F. verticillioides* no micorrizado (T7). Mientras que para las raíces de sachá inchi todos los tratamientos inoculados con HMA presentaron iguales resultados que para las hojas. Esto indica que hubo más daño en la membrana celular en las plantas con *F. verticillioides* solo, que en las plantas con HMA, HMA más *F. verticillioides* y sin HMA.

Los resultados encontrados para el MDA muestran que la micorrización disminuyó el daño oxidativo en presencia de *F. verticillioides*. Los niveles de disminución significativa en el contenido de MDA en la biomasa aérea y radicular en plantas co-inoculadas indica que *Rhizoglopus dunense* y *Paraglopus laccatum* establece una asociación eficiente con las plantas de sachá inchi, que logra disminuir el daño oxidativo producido por las ROS y

reducir el progreso de la peroxidación lipídica causado por la infección de *F. verticillioides*. Esto sugiere que las ROS se detoxifica más rápidamente en plantas inoculadas con HMA (Spagnoletti et al., 2021). Porque un mayor daño causado por los microbios patógenos en el crecimiento de las plantas puede estimular una mayor reacción de defensa de la planta colonizada por HMA a través de la producción de más compuestos defensivos (Qin et al. 2021). Sin embargo, no debe descartarse que el mayor nivel de tolerancia observado en las plantas co-inoculadas también podría deberse a un aumento en la absorción de nutrientes, una competencia por los fotosintatos y el espacio entre los HMA y el patógeno, y/o cambios anatómicos en el sistema de raíces (Spagnoletti et al., 2021). Los valores más bajos de contenido de MDA muestran menor daño en la membrana celular o mayor resistencia a enfermedades (Kaur et al., 2022)

En el proceso de interacción de la planta con los patógenos, se transmiten una serie de señales a través de las moléculas de señal de la planta, como las especies reactivas de oxígeno (ROS) que juegan un papel importante en la regulación de las redes de señalización de defensa y la estimulación de los sistemas de defensa de las plantas, lo que permite que las plantas desarrollen respuestas resistentes a las enfermedades (Guidi y Tattini, 2021; Qamer et al., 2021; Kaur et al., 2022; Fujita y Hasanuzzaman, 2022)

Ahammed et al. (2020), mencionan que la actividad de MDA en hojas de plantas de pepino se elevó significativamente con la infestación del patógeno respecto a las plantas con HMA. Para las plantas de trigo inoculadas con HMA el contenido de MDA tuvo mejores incrementos en hojas frente a la infección de *F. pseudograminearum* (Spagnoletti et al., 2021). Villani et al. (2021), establecen que las plantas micorrizadas en alcachofa inoculadas o no con el patógeno mostraron un nivel de peroxidación lipídica disminuido en comparación con las plantas inoculadas con *V. dahliae* y control sin HMA, respectivamente. Gao et al. (2018), muestran que la colonización de HMA en plantas alfalfa infestados con *Microdochium tabacinum* disminuye el contenido de MDA en hojas. Wu et al. (2021), muestran un incremento del contenido de MDA en raíces para el tratamiento infestado solo con *R. solani* en plantas de sandía. Elgharably y Nafady (2021), destacan que las plantas de trigo infestadas con *Penicillium funiculosum* y *Fusarium oxysporum* en suelos salinos aumento el contenido de MDH en hojas respecto a las plantas con HMA.

CONCLUSIONES

En las plantas de sachá inchi colonizadas con los HMA (*Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum*) en condiciones de vivero sobresalieron las plantas inoculadas con *R. dunense* y la combinación de *R. dunense* más *P. laccatum*, mostrando el mejor potencial para el efecto biofertilizante y bioprotector, sin embargo, para el efecto bioprotector la inoculación solitaria de *Paraglyphus laccatum* mostró el menor resultado respecto a los parámetros vegetativos de la planta (biomasa aérea, altura de planta, número de hojas, contenido de clorofila, peso seco y fresco de la raíz) con un mayor incremento de porcentaje de hojas cloróticas. Todos los tratamientos inoculados con HMA presentaron concentraciones de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) significativamente más altas en la biomasa aérea de las plantas respecto a los tratamientos no micorrizados.

La inoculación con *Rhizoglyphus dunense* y la combinación *R. dunense* con *Paraglyphus laccatum* presentaron el mayor porcentaje de colonización junto a una alta actividad metabólica de la enzima succinato deshidrogenasa (SDH) sin inoculación y con inoculación de *F. verticillioides* traduciéndose sobre una reducción de la densidad de la población de *F. verticillioides*. Todo lo contrario, sucedió con la inoculación sola de *Paraglyphus laccatum* que presentó el menor porcentaje de colonización y una baja actividad de SDH sin inoculación y con inoculación de *F. verticillioides* traduciéndose sobre una alta densidad poblacional de *F. verticillioides*.

El estudio demostró el efecto bioprotector de la inoculación sola de *Rhizoglyphus dunense* y en combinación con *Paraglyphus laccatum* debido a que redujo completamente la incidencia y la severidad de la enfermedad, sin mostrar efectos patogénicos. Caso contrario ocurrió con *Paraglyphus laccatum*, quien no redujo la incidencia y severidad de *F. verticillioides* completamente.

Las plantas inoculadas con HMA e infestados con *F. verticillioides* exhibieron aumentos significativos en las actividades de defensa antioxidante enzimática (CAT) y no enzimática (GHS) respecto a las plantas control, y una disminución en los niveles de marcadores de daño oxidativo (MDA) en comparación con el control (*F. verticillioides* no micorrizado).

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar la inoculación de *Rhizoglyphus dunense* y la combinación de esta misma más *Paraglyphus laccatum* en plantones de sachá inchi y llevarlos a campo definitivo para la evaluación hasta la fase reproductiva, teniendo en cuenta un debido manejo agronómico para su buena producción, ya que fueron los tratamientos que mejores resultados mostraron para el efecto biofertilizante y bioprotector durante la fase vegetativa en condiciones de vivero.

Realizar experimentos con la inoculación de *Paraglyphus laccatum* en asociación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal y otros hongos antagonistas frente *Fusarium* spp. en plantas de sachá inchi hasta la fase vegetativa en condiciones de vivero. Debido a que fue la especie que menor resultado mostró para el efecto bioprotector durante la fase vegetativa en vivero.

Realizar ensayos con otras especies de HMA o consorcios nativos frente a *Fusarium verticillioides* en otro ecotipo o especie de sachá inchi hasta la fase vegetativa en condiciones de vivero.

Realizar ensayos con la inoculación de *Rhizoglyphus dunense* y *Paraglyphus laccatum* con otros tipos de patógenos del cultivo de sachá inchi hasta la fase vegetativa en plantas de sachá inchi en condiciones de vivero.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aalipour, H., Nikbakht, A., Etemadi, N. (2019). Relationship between chlorosis, photosynthesis and the nutrient content of plane trees in the presence of chemical and organic fertilizers. *Advances in Horticultural Science*, 33(2), 171-178. <https://doi.org/10.13128/ahs-2332>
- Abdel-Azeem, A. M., Yadav, A. N., Yadav, N., Usmani, Z. (2021). *Industrially important fungi for sustainable development*. Springer International Publishing. ISBN 978-3-030-67561-5 <https://doi.org/10.1007/978-3-030-67561-5>
- Acosta-Córdova, RA (2021). *Estudio de la diversidad de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) en el cultivo de Sacha Inchi (Plukenetia volubilis L.), en la región San Martín*. Tesis para optar al grado de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto, Perú. <http://hdl.handle.net/11458/4124>
- Aguk, JA, Karanja, N., Schulte-Geldermann, E., Bruns, C., Kinyua, Z. y Parker, M. (2018). Aguk, J. A., Karanja, N., Schulte-Geldermann, E., Bruns, C., Kinyua, Z., & Parker, M. (2018). Control of bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) in potato (*Solanum tuberosum*) using rhizobacteria and arbuscular mycorrhiza fungi. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 18(2), 13371-13387. <https://doi.org/10.18697/ajfand.82.16905>
- Ahammed, G. J., Mao, Q., Yan, Y., Wu, M., Wang, Y., Ren, J., Guo, P., Liu, G., Chen, S. (2020). Role of melatonin in arbuscular mycorrhizal fungi-induced resistance to *Fusarium* wilt in cucumber. *Phytopathology*, 110(5), 999-1009. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-19-0435-R>
- Akköprü, A., & Demir, S. (2005). Biological control of *Fusarium* wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by AMF *Glomus intraradices* and some rhizobacteria. *Journal of Phytopathology*, 153(9), 544-550. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2005.01018.x>
- Al-Askar, A., Rashad, Y. (2010). Arbuscular mycorrhizal fungi: a biocontrol agent against common. *Plant Pathology Journal*, 9(1), 31-38. <http://dx.doi.org/10.3923/ppj.2010.31.38>
- Alché, J. D. D. (2019). A concise appraisal of lipid oxidation and lipoxidation in higher plants. *Redox Biol.* 23, 101–136. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101136>
- ALHadidi, N., Pap, Z., Ladányi, M., Szentpéteri, V., Kappel, N. (2021). Mycorrhizal Inoculation Effect on Sweet Potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) Seedlings. *Agronomy*, 11(10), 2019. <https://doi.org/10.3390/agronomy11102019>

- Al-Hmoud, G., Al-Momany, A. (2015). Effect of four mycorrhizal products on Fusarium root rot on different vegetable crops. *J Plant Pathol Microb*, 6(255), 2.
- Aliyu, I. A., Yusuf, A. A., Uyovbisere, E. O., Masso, C., Sanders, I. R. (2019). Effect of co-application of phosphorus fertilizer and *in vitro*-produced mycorrhizal fungal inoculants on yield and leaf nutrient concentration of cassava. *PLoS One*, 14(6), e0218969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218969>
- Amasifuen P, L. (2020). *Posición competitiva del aceite de sacha inchi (Plukenetia volubilis) para el mercado francés*. (Tesis para optar el título de Ingeniero Agroindustrial). Universidad Nacional de San Martín, Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial; Tarapoto, Perú. <http://hdl.handle.net/11458/3888>
- Antonioli, F. y Arfini, F. (2013). *Sacha inchi. Investigación sobre las condiciones para el reconocimiento de la indicación geográfica en el Perú*. Italia: Università degli Studi di Parma, Centro Universitario per la Cooperazione italiana - CUCI, Terre des Hommes. Recuperado de file:///C:/Users/Usuario/Downloads/SACHAINCHI_Publicacin20131.pdf
- Arévalo, G. (1999). *El Cultivo de "Sacha Inchi" (Plukenetia volubilis L.) en la Amazonía*. Programa Nacional de Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología – PRONARGE. Estación Experimental El Porvenir. Tarapoto.
- Arteaga, E. (2019). *Identificación de la diversidad y colonización de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) nativos, en el cultivo de café (Coffea arabica L.), en cuatro provincias (El Dorado, Lamas, San Martín y Moyobamba)*. (Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo) Universidad Nacional de San Martín, Facultad de ciencias Agrarias, San Martín, Perú. <http://hdl.handle.net/11458/3529>
- Bagy, H. M. K., Hassan, E. A., Nafady, N. A., Dawood, M. F. (2019). Efficacy of arbuscular mycorrhizal fungi and endophytic strain *Epicoccum nigrum* ASU11 as biocontrol agents against blackleg disease of potato caused by bacterial strain *Pectobacterium carotovora* subsp. *atrosepticum* PHY7. *Biological Control*, 134, 103-113. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.03.005>
- Balogun, O., Hirano, Y., Teraoka, T., Arie, T. 2008. PCR-based analysis of disease in tomato singly or mixed inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersid* races 1 and 2. *Phytopathologia Mediterranea*, 47(1), 50-60. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-2544
- Bánki, O., Roskov, Y., Döring, M., Ower, G., Vandepitte, L., Hobern, D., Remsen, D., Schalk, P., DeWalt, R. E., Keping, M., Miller, J., Orrell, T., Aalbu, R., Abbott, J., Adlard,

- R., Adriaenssens, E. M., Aedo, C., Aesch, E., Akkari, N., et al. (2023). Catalogue of Life Checklist (Version 2023-01-12). Catalogue of Life. <https://doi.org/10.48580/dfqz>
- Begum, N., Qin, C., Ahanger, M. A., Raza, S., Khan, M. I., Ashraf, M., Ahmed, N., Zhang, L. (2019). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. *Frontiers in plant science*, 10, 1068. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01068>
- Beltrán-García, M. J., Ogura-Fujii, T., Manzo-Sánchez, G., Arias-Castro, C. (2006). Catalasas de hongos fitopatógenos: ¿Factores de virulencia y resistencia a los fungicidas? *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1), 50-58.
- Brundrett, M.; Bougher, N.; Dell, B.; Grove, T. y Malajczuk, N. (1996). Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. *Australian Centre for International Agricultural Research*. Canberra, Australia. 347 pp.
- Caballo Linares, C; Millán Valenzuela, T; Gil Ligerero, J; Rubio Moreno, J (2020). Protocolo de inoculación con *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* en garbanzo. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Córdoba. C Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible.
- Cai, Z. Q., Jiao, D. Y., Tang, S. X., Dao, X. S., Lei, Y. B., Cai, C. T. (2012). Leaf photosynthesis, growth, and seed chemicals of Sacha Inchi plants cultivated along an altitude gradient. *Crop science*, 52(4), 1859-1867.
- Cai, ZQ; Zhang, T; Jian, HY. (2013). Chromosome number variation in a promising oilseed woody crop, *Plukenetia volubilis* L. (Euphorbiaceae). *Caryologia*, 66(1): 54–58. <https://doi.org/10.1080/00087114.2013.780442>
- Calero B, R. (2013). *La cadena de valor del sachá inchi en la región San Martín: Análisis y lineamientos estratégicos para su desarrollo*. Lima, Perú: Perú Biodiverso. Biblioteca Nacional del Perú N° 2013-09771.
- Camargo-Ricalde, SL; Montaña, NM; De la Rosa-Mera, CJ y Montaña Arias, SA. (2012). Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. *Revista Digital Universitaria*, 13(7): 1-19. Disponible en <http://www.revista.unam.mx/vol.13/num7/art72/index.html>
- Cárdenas, D. M., Gómez Rave, L. J., Soto, J. A. (2021). Biological activity of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* Linneo) and potential uses in human health: A review. *Food Technology and Biotechnology*, 59(3), 253-266.
- Cardinal-McTeague, W. M., Gillespie, L. J. (2020). A revised sectional classification of *Plukenetia* L. (Euphorbiaceae, Acalyphoideae) with four new species from South America. *Systematic Botany*, 45(3), 507-536.
- Castro, E. (2013). *Control de Fusarium verticillioides en genotipos de maíz con especies Trichoderma bajo condiciones de campo*. (Tesis para optar el Grado de Maestría en

- Ciencias en Parasitología). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; Coahuila, México. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/7086>
- Chai, X., Yang, Z., Fu, Q., Pan, B. Z., Tang, M., Li, C., Xu, Z. F. (2018). First report of root and basal stem rot in sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) caused by *Fusarium oxysporum* in China. *Plant Disease*, 102(1), 242-242. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-17-0784-PDN>
- Chandrasekaran, M. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi mediated enhanced biomass, root morphological traits and nutrient uptake under drought stress: A meta-analysis. *Journal of Fungi*, 8(7), 660. <https://doi.org/10.3390/jof8070660>
- Chareesri, A., De Deyn, G. B., Sergeeva, L., Polthanee, A., Kuyper, T. W. (2020). Increased arbuscular mycorrhizal fungal colonization reduces yield loss of rice (*Oryza sativa* L.) under drought. *Mycorrhiza*, 30, 315-328. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00953-z>
- Chen, W., Mou, X., Meng, P., Chen, J., Tang, X., Meng, G., Xin, K., Zhang, Y., Wang, C. (2023). Effects of arbuscular mycorrhizal fungus inoculation on the growth and nitrogen metabolism of *Catalpa bungei* CA Mey. under different nitrogen levels. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1138184>
- Chirinos, R., Zuloeta, G., Pedreschi, R., Mignolet, E., Larondelle, Y., Campos, D. (2013). Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidant capacity. *Food chemistry*, 141(3), 1732-1739. DOI: [10.1016/j.foodchem.2013.04.078](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.078)
- Cisneros, F. H., Paredes, D., Arana, A., Cisneros-Zevallos, L. (2014). Chemical composition, oxidative stability and antioxidant capacity of oil extracted from roasted seeds of Sacha-inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(22), 5191-5197. <https://doi.org/10.1021/jf500936>
- Corazon-Guivin MA., Cerna-Mendoza A., Guerrero-Abad JC., Vallejos-Tapullima A., Ríos-Ramírez O., Vallejos-Torres G., SotaRicaldi AM., Viviana Santos M., Silva GA., Oehl F (2020). *Paraglomus occidentale*, a new arbuscular mycorrhizal fungus from the sources of the Amazon river in Peru, with a key to the Paraglomeromycetes species. *Sydowia* 72:85-94. <https://doi.org/10.12905/0380.sydowia72-2020-0085>
- Corazon-Guivin MA., Cerna-Mendoza AC., Guerrero-Abad JC., Vallejos-Tapullima A., Silva GA., Oehl F (2019). *Rhizoglomus variable* sp. novum. In J. Song et al. (Eds.), *Fungal Systematics and Evolution: FUSE* 5. *Sydowia* 71:141-245. <https://doi.org/10.12905/0380.sydowia71-2019-0141>
- Crous, P.W., Lombard, L., Sandoval-Denis, M., Seifert, K.A., H.-J. Schroers., Chaverri, P., Gen, J., Guarro, J., Hirooka, Y., Bensch, K., Kema, G.H., Lamprecht, S.C., Cai, L.,

Rossmann, A.Y., Stadler, M., Summerbell, R.C., Taylor, J.W., Ploch, S., Visagie, C.M., Yilmaz, N., Frisvad, J.C., Abdel-Azeem, A.M., Abdollahzadeh, J., Abdolrasouli, A., Akulov, A., Alberts, J.F., Araújo, J.P.M., Ariyawansa, H.A., Bakhshi, M., Bendixby, M., Ben Hadj, A., Bezerra, J.D.P., Boekhout, T., Camara, M.P.S., Carbia, M., Cardinali, G., Casta, R.F., Celis, A., Chaturvedi, V., Collemare, J., Croll, D., Damm, U., Decock, C.A., de Vries R.P., Ezekiel, C.N., Fan, X.L., Fernandez, N.B., Gaya, E., González, C.D., Gramaje, D., Groenewald, J.Z., Grube, M., Guevara-Suarez, M., Gupta, V.K., Guarnaccia, V., Haddaji, A., Hagen, F., Haelewaters, D., Hansen, K., Hashimoto, A., Hernandez-Restrepo, M., Houbraken, J., Hubka, V., Hyde, K.D., Iturriaga, T., Jeewon, R., Johnston, P.R., Jurjevic, Z., Karalti, I., Korsten, L., Kuramae, E.E., Kusan, I., Labuda, R., Lawrence, D.P., Lee, H.B., Lechat, C., Li, H.Y., Litovka, Y.A., Maharachchikumbura, S.S.N., Marin-Felix, Y., Matio Kemkuignou, B., Matocec, N., McTaggart, A.R., Mlcoch, P., Mugnai, L., Nakashima, C., Nilsson, R.H., Noumeur, S.R., Pavlov, I.N., Peralta, M.P., Phillips, A.J.L., Pitt, J.I., Polizzi, G., Quaedvlieg, W., Rajeshkumar, K.C., Restrepo, S., Rhaïem, A., Robert, J., Robert, V., Rodrigues, A.M., Salgado-Salazar, C., Samson, R.A., Santos, A.C.S., Shivas, R.G., Souza-Motta, C.M., Sun, G.Y., Swart, W.J., Szoke, S., Tan, Y.P., Taylor, J.E., Taylor, P.W.J., Tiago, P.V., Vaczy, K.Z., van de Wiele, N., van der Merwe, N.A., Verkley, G.J.M., Vieira, W.A.S., Vizzini, A., Weir, B.S., Wijayawardene, N.N., Xia, J.W., Yañez-Morales, M.J., Yurkov, A., Zamora, J.C., Zare, R., Zhang, C.L. y Thines, M. (2021). *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. *Studies in mycology*, 98, 100116. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100116>

De la Torre-Hernández, M. A., Sánchez-Rangel, D., Galeana-Sánchez, E., Plasencia-de la Parra, J. (2014). Fumonisin-síntesis y función en la interacción *Fusarium verticillioides*-maíz. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 17(1), 77-91.

Deepa, N; Rakesh, S; Sreenivasa, MY. (2018). Morphological, pathological and mycotoxicological variations among *Fusarium verticillioides* isolated from cereals. *3 Biotech*, 8 (2): 105. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1136-z>

Diagne, N., Ngom, M., Djighaly, P. I., Fall, D., Hocher, V., Svistoonoff, S. (2020). Roles of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and performance: Importance in biotic and abiotic stressed regulation. *Diversity*, 12(10), 370. <https://doi.org/10.3390/d12100370>

Djighaly P. I., Diagne N., Ngom M., Ngom D., Hocher Valérie, Fall D., Diouf D., Laplaze L., Svistoonoff S., Champion A. (2018). Selection of arbuscular mycorrhizal fungal strains to improve *Casuarina equisetifolia* L. and *Casuarina glauca* Sieb. tolerance to

- salinity. *Annals of Forest Science*, 75 (3). ISSN 1286-4560.
<https://doi.org/10.1007/s13595-018-0747-1>
- Dorion, S., Ouellet, J. C., Rivoal, J. (2021). Glutathione metabolism in plants under stress: Beyond reactive oxygen species detoxification. *Metabolites*, 11(9), 641.
<https://doi.org/10.3390/metabo11090641>
- Dostert, N; Roque, J; Brokamp, G; María I. La Torre, AC; Weigend, M. (2009). *Factsheet: Botanical data of Sacha Inchi-Plukenetia volubilis L.v.2*. Lima, Perú. Proyecto Perúbiodiverso – PBD.
- Doyle, J. J y Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissues. *Phytochem. Bulletin*. 19 (1): 11-15.
- Elgharably, A y Nafady, N. A. (2021). Inoculation with Arbuscular mycorrhizae, *Penicillium funiculosum* and *Fusarium oxysporum* enhanced wheat growth and nutrient uptake in the saline soil. *Rhizosphere*, 18, 100345.
<https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100345>
- Farmer, E. E., Mueller, M. J. (2013). ROS-mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling. *Annual review of plant biology*, 64, 429-450.
<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120132>
- Felföldi, Z., Vidican, R., Stoian, V., Roman, I. A., Sestras, A. F., Rusu, T., Sestras, R. E. (2022). Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Fertilization Influence Yield, Growth and Root Colonization of Different Tomato Genotype. *Plants*, 11(13), 1743.
<https://doi.org/10.3390/plants11131743>
- Fujita, M., Hasanuzzaman, M. (2022). Approaches to enhancing antioxidant defense in plants. *Antioxidants*, 11(5), 925. <https://doi.org/10.3390/antiox11050925>
- Galvez-Patón, L., Paris de la Rosa, M., Cordes, G., Iglesias Gonzalez, C., & Palmero Llamas, D. (2012). La podredumbre del cuello del sorgo causada por *Fusarium verticilloides*. *Terralia*, 87, 30-34
- Gao, P., Guo, Y., Li, Y., Duan, T. (2018). Effects of dual inoculation of AMF and *rhizobium* on alfalfa (*Medicago sativa*) root rot caused by *Microdochium tabacinum*. *Australasian Plant Pathology*, 47(2), 195-203. <https://doi.org/10.1007/s13313-018-0543-2>
- Gao, Y., Huang, S., Wang, Y., Lin, H., Pan, Z., Zhang, S., Wang, W., Cheng S., Chen, Y. (2023). Analysis of the molecular and biochemical mechanisms involved in the symbiotic relationship between Arbuscular mycorrhiza fungi and *Manihot esculenta* Crantz. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1130924.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1130924>
- Garcés de Granada, E., Correa de Restrepo, M., Coba de Gutiérrez, B., Orozco de Amézquita, M., Zapata, A. C., Anaconda Chingana, A., Sabogal, S. P. (2003).

Morfología y clasificación de los hongos.

- García-Bastidas, F. A., Pachacama-Gualotuña, S. F., Jarrín-Escudero, D. A., Iza-Arteaga, M. L., Vásquez, M. A., Ortiz, H. E., Dix, O.J., Echegaray, J., Farfán, D., Bartolini, I., Beltrán, C., Céspedes, G. Z. (2020). *Guía andina para el diagnóstico de Fusarium Raza 4 Tropical (R4T)*. Comunidad andina, 70.
- Gardezi, A. K., Alcalá, V. M. C., Cerrato, R. F., Mendoza, J. V., Mercado, C. A. P., Saavedra, M. L. (2001). Hongos micorrízicos arbusculares como componente de control biológico de la pudrición causada por *Fusarium* sp. en gladiola. *Terra Latinoamericana*, 19(3), 259-264.
- Gerlach, W y Nirenberg, H (1982). *The genus Fusarium: a pictorial atlas* (Vol. 209, pp. 1-406). Berlin: Kommissionsverlag P. Parey.
- Giachero, M. L. *Rol de las Micorrizas Arbusculares en la protección de la soja [Glycine max (L.) Merr.] contra el Síndrome de la Muerte Súbita causada por Fusarium virguliforme*. (Tesis para optar el Grado de Doctor en Ciencias Biológicas). Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales; Córdoba, Argentina. <http://hdl.handle.net/11086/12845>
- Gill, S. S., Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48 (12), 909-930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Gillespie, L. (1993). A Synopsis of Neotropical *Plukenetia* (Euphorbiaceae) Including Two New Species. *American Society of Plant Taxonomists*, 18(4): 575-592. <https://doi.org/10.2307/2419535>
- Grümberg, B. C. (2015). *Utilización de cepas nativas de hongos micorrízicos arbusculares en la regulación del estrés por sequía en un genotipo de soja susceptible. Participación del estrés oxidativo y la defensa antioxidante*. (Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas). Universidad Nacional de Córdoba.; Córdoba, Argentina. <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/12765/Tesis%20Gr%C3%BCmberg%20B.C..pdf?sequence=1>
- Guerrero-Abad, J. C., Padilla Domínguez, A., Torres Flores, E., López Rodríguez, C., Guerrero Abad, R. A., Coyne, D., Oehl, F., Corazon - Guivin, M. A. (2021). A pathogen complex between the root knot nematode *Meloidogyne incognita* and *Fusarium verticillioides* results in extreme mortality of the inka nut (*Plukenetia volubilis*). *Journal of Applied Botany and Food Quality*. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2021.094.019>
- Guidi, L., Tattini, M. (2021). Antioxidant defenses in plants: a dated topic of current interest. *Antioxidants*, 10(6), 855. <https://doi.org/10.3390/antiox10060855>
- Hallasgo, A. M., Hauser, C., Steinkellner, S., Hage-Ahmed, K. (2022). Single and

- coinoculation of *Serendipita herbamans* with arbuscular mycorrhizal fungi reduces *Fusarium* wilt in tomato and slows disease progression in the long-term. *Biological Control*, 168, 104876. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05737>
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Anee, T. I., Fujita, M. (2017). Glutathione in plants: biosynthesis and physiological role in environmental stress tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23, 249-268 <https://doi.org/10.1007/s12298-017-0422-2>
- Hashem, A., Akhter, A., Alqarawi, A. A., Singh, G., Almutairi, K. F., Abd_Allah, E. F. (2021). Mycorrhizal fungi induced activation of tomato defense system mitigates *Fusarium* wilt stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(10), 5442-5450. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.025>
- Hassan, A., Hamed, M.R. (2015). Monograph On The Genus *Fusarium*. Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University, Giza, Egypt <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3104.2728>
- Inami, K., Kashiwa, T., Kawabe, M., Onokubo-Okabe, A., Ishikawa, N., Pérez, E. R., T Hozumi., Aragón-Caballero, L., Baldarrago, F., Jiménez-Roco, M., Madadi, K., Peever, T., Teraoka, T., Kodama, M., Arie, T. (2014). The tomato wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* shares common ancestors with nonpathogenic *F. oxysporum* isolated from wild tomatoes in the Peruvian Andes. *Microbes and environments*, 29(2), 200-210. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME13184>
- Ismail, M. A., Abdel-Hafez, S. I. I., Hussein, N. A., Abdel-Hameed, N. A. (2015). Contributions to the genus *Fusarium* in Egypt. 104-106
- Jaiti, F., Meddich, A., El Hadrami, I. (2007). Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in the protection of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against bayoud disease. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 71(4-6), 166-173. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2008.01.002>
- Javalera, M. (2013). *Crioconservación y su efecto sobre el genoma y el estrés oxidativo en vid (vitis vinifera L.) cv. flame*. (Tesis para optar el grado de maestro en ciencias). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora. <https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/344/1/LAZO-JAVALERA-MF13.pdf>
- Jitpinit, S., Siraworakun, C., Sookklay, Y., Nuithitikul, K. (2022). Enhancement of omega-3 content in sacha inchi seed oil extracted with supercritical carbon dioxide in semi-continuous process. *Heliyon*, 8(1), e08780. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08780>
- Jumrani, K., Bhatia, V. S., Kataria, S., Alamri, S. A., Siddiqui, M. H., Rastogi, A. (2022). Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi alleviates the adverse effects of high

- temperature in soybean. *Plants*, 11(17), 2210.
<https://doi.org/10.3390/plants11172210>
- Kapoor, R. (2008). Induced resistance in mycorrhizal tomato is correlated to concentration of jasmonic acid. *Online J. Biol. Sci*, 8(3), 49-56.
- Kaur, S., Campbell, B. J., & Suseela, V. (2022). Root metabolome of plant–arbuscular mycorrhizal symbiosis mirrors the mutualistic or parasitic mycorrhizal phenotype. *New Phytologist*, 234(2), 672-687. <https://doi.org/10.1111/nph.17994>
- Kaur, S., Samota, M. K., Choudhary, M., Choudhary, M., Pandey, A. K., Sharma, A., Thakur, J. (2022). How do plants defend themselves against pathogens-Biochemical mechanisms and genetic interventions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28(2), 485-504. <https://doi.org/10.1007/s12298-022-01146-y>
- Kaur, S., Suseela, V. (2020). Unraveling arbuscular mycorrhiza-induced changes in plant primary and secondary metabolome. *Metabolites*, 10(8), 335.
<https://doi.org/10.3390%2Fmetabo10080335>
- Khalid, M., Rehman, H. M., Ahmed, N., Nawaz, S., Saleem, F., Ahmad, S., Uzair, M., Ahmad, I., Muhammad, R., Zaman, Q., Lam, H. M. (2022). Using Exogenous Melatonin, Glutathione, Proline, and Glycine Betaine Treatments to Combat Abiotic Stresses in Crops. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 12913.
<https://doi.org/10.3390/ijms232112913>
- Khan, Y., Shah, S., Tian, H. (2022). The roles of arbuscular mycorrhizal fungi in influencing plant nutrients, photosynthesis, and metabolites of cereal crops—A review. *Agronomy*, 12(9), 2191. <https://doi.org/10.3390/agronomy12092191>
- Klinsukon, C., Ekprasert, J., Boonlue, S. (2021). Using arbuscular mycorrhizal fungi (*Gigaspora margarita*) as a growth promoter and biocontrol of leaf blight disease in eucalyptus seedlings caused by *Cylindrocladium quinqueseptatum*. *Rhizosphere*, 20, 100450. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100450>
- Kodahl, N., Sørensen, M. (2021). Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) is an underutilized crop with a great potential. *Agronomy*, 11(6), 1066.
<https://doi.org/10.3390/agronomy11061066>
- Kong, W., Liu, F., Zhang, C., Zhang, J., Feng, H. (2016). Non-destructive determination of Malondialdehyde (MDA) distribution in oilseed rape leaves by laboratory scale NIR hyperspectral imaging. *Scientific reports*, 6(1), 35393.
<https://doi.org/10.1038/srep35393>
- Leslie, J.F. y Summerell, B.A. (2006) *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing, Hoboken, 1-2. <https://doi.org/10.1002/9780470278376>
- Lin, P., Zhang, M., Wang, M., Li, Y., Liu, J., Chen, Y. (2021). Inoculation with arbuscular

- mycorrhizal fungus modulates defense-related genes expression in banana seedlings susceptible to wilt disease. *Plant signaling & behavior*, 16(5), 1884782. <https://doi.org/10.1080/15592324.2021.1884782>
- Liu, Y., Feng, X., Gao, P., Li, Y., Christensen, M. J., Duan, T. (2018). Arbuscular mycorrhiza fungi increased the susceptibility of *Astragalus adsurgens* to powdery mildew caused by *Erysiphe pisi*. *Mycology*, 9(3), 223-232. <https://doi.org/10.1080/21501203.2018.1477849>
- Luqueño, M. E. R. (2021). Evaluación de micorrizas arbusculares nativas del estado de Morelos en el desarrollo de plantas de caña de azúcar y en el biocontrol de *Fusarium andiyazi*. (Tesis para optar el grado de Maestro en Biotecnología). Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, México.
- Ma, J., Janoušková, M., Li, Y., Yu, X., Yan, Y., Zou, Z., He, C. (2015). Impact of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on cucumber growth and phosphorus uptake under cold stress. *Functional Plant Biology*, 42(12), 1158-1167. <https://doi.org/10.1071/FP15106>
- MacDonald, R.M y Lewis, M. (1978). The occurrences of some acid phosphatases and dehydrogenases in the vesicular– arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *New Phytol.* 80: 135–141. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1978.tb02273.x>
- Manco, C. (2006). *Cultivo de sachá inchi*. San Martín, Perú. Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria. Subdirección de Recursos Genéticos y Biotecnología de la Estación Experimental Agraria “El Porvenir” Tarapoto.
- Martínez-Fernández, E., Martínez-Jaimes, P., Guillén Sánchez, D., Peña-Chora, G., Hernández-Hernández, V. M. (2015). Diversidad de *Fusarium* en las raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos, México. *Revista mexicana de micología*, 42, 33-43.
- Melo, C. D., Pimentel, R., Walker, C., Rodríguez-Echeverría, S., Freitas, H., Borges, P. A. (2020). Diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi along a land use gradient in Terceira Island (Azores). *Mycological Progress*, 19(7), 643-656. <https://doi.org/10.1007/s11557-020-01582-8>
- Meyer, S., Saccardy-Adji, K., Rizza, F., Genty, B. (2001). Inhibition of photosynthesis by *Colletotrichum lindemuthianum* in bean leaves determined by chlorophyll fluorescence imaging. *Plant, Cell & Environment*, 24(9), 947-956. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00737.x>
- Montoliu-Nerin, M., Sánchez-García, M., Bergin, C., Kutschera, V. E., Johannesson, H., Bever, J. D., Rosling, A. (2021). In-depth phylogenomic analysis of arbuscular mycorrhizal fungi based on a comprehensive set of de novo genome assemblies. *Frontiers in Fungal Biology*, 53.

<https://doi.org/10.3389/ffunb.2021.716385>

- Morales, M., Munné-Bosch, S. (2019). Malondialdehyde: facts and artifacts. *Plant physiology*, 180(3), 1246-1250. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00405>
- Moura, R. D., de Castro, L. A. M., Culik, M. P., Fernandes, A. A. R., Fernandes, P. M. B., Ventura, J. A. (2020). Culture medium for improved production of conidia for identification and systematic studies of *Fusarium* pathogens. *Journal of microbiological methods*, 173, 105915. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105915>
- Mozombite, H. (2017). *Efecto de Consorcios de Hongos Micorrízicos Arbusculares Nativos, sobre la dinámica poblacional del Nemátodo del Nudo (Meloidogyne incognita) en plantones de sachá inchi (Plukenetia volubilis L.)*. (Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo) Universidad Nacional de San Martín, Facultad de ciencias Agrarias, San Martín, Perú. <http://hdl.handle.net/20.500.12390/1647>
- Munkvold, G. P. (2017). *Fusarium* species and their associated mycotoxins. *Mycotoxigenic fungi*, 51-106. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6707-0_4
- Noctor, G., Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual review of plant biology*, 49(1), 249-279. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.249>
- Noctor, G., Mhamdi, A., Chaouch, S., Han, Y. I., Neukermans, J., Marquez-Garcia., Queval, G., Foyer, C. H. (2012). Glutathione in plants: an integrated overview. *Plant, cell & environment*, 35(2), 454-484. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.110.167569>
- Olowe, O. M., Olawuyi, O. J., Sobowale, A. A., Odebode, A. C. (2018). Role of arbuscular mycorrhizal fungi as biocontrol agents against *Fusarium verticillioides* causing ear rot of *Zea mays* L.(Maize). *Current Plant Biology*, 15, 30-37. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2018.11.005>
- Olsson, S. (2001). Colonial growth of fungi. In *Biology of the fungal cell* (pp. 125-141). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-06101-5_6
- Orbe Pérez, G. M. (2019). *Efecto bioprotector de diferentes especies de hongos micorrízicos arbusculares sobre nemátodos del nódulo Meloidogyne incognita en plántulas de sachá inchi Plukenetia volubilis L.* (Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo) Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Facultad de ciencias Agrarias, Iquitos, Perú. <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/6132>
- Oren, L., Ezrati, S., Cohen, D., Sharon, A. (2003). Early events in the *Fusarium verticillioides*-maize interaction characterized by using a green fluorescent protein-expressing transgenic isolate. *Applied and environmental microbiology*, 69(3), 1695-

1701.

- Panwar, J., Yadav, R. S., Yadav, B. K., Tarafdar, J. C. (2008). Arbuscular mycorrhizae: a dynamic microsymbiont for sustainable agriculture. In *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry* (pp. 159-176). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8770-7_6
- Pellegrino, E., Öpik, M., Bonari, E., Ercoli, L. (2015). Responses of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi: a meta-analysis of field studies from 1975 to 2013. *Soil Biology and Biochemistry*, 84, 210-217. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.02.020>
- Penadillo, A. L. (2021). *Exportación peruana del Sacha Inchi hacia los Países Bajos durante los años 2014-2020*. (Tesis para obtener el título profesional de licenciado en negocios internacionales). Universidad Cesar Vallejo. Lima- Perú. https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/59871/Penadillo_MAL-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Persson, L., Bodker, L., Larsson-Wikstrom, M., (1997). Prevalence and pathogenicity of foot and root rot pathogen of pea in Southern Scandinavia. *Plant Dis.* 81, 171–174. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.3.223>
- Phillips, J.; y Hayman, D. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *British Mycological Society Transactions, Cambridge, Grã-Bretanha*, V.55, n.1, p.158-160.
- Phillips, M. L., Weber, S. E., Andrews, L. V., Aronson, E. L., Allen, M. F., & Allen, E. B. (2019). Fungal community assembly in soils and roots under plant invasion and nitrogen deposition. *Fungal Ecology*, 40, 107-117. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.01.002>
- Pozo de la Hoz, J., Rivero, J., Azcón-Aguilar, C., Urrestarazu, M., Pozo, M. J. (2021). Mycorrhiza-induced resistance against foliar pathogens is uncoupled of nutritional effects under different light intensities. *Journal of Fungi*, 7(6), 402. <https://doi.org/10.3390/jof7060402>
- Pu, C., Ge, Y., Yang, G., Zheng, H., Guan, W., Chao, Z., Shen, Y; Liu, S; Chen, M., Huang, L. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance disease resistance of *Salvia miltiorrhiza* to *Fusarium* wilt. *Frontiers in Plant Science*, 13. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2022.975558>
- Qamer, Z., Chaudhary, M. T., Du, X., Hinze, L., Azhar, M. T. (2021). Review of oxidative stress and antioxidative defense mechanisms in *Gossypium hirsutum* L. in response to extreme abiotic conditions. *Journal of Cotton Research*, 4(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s42397-021-00086-4>

- Qin, M., Li, L., Miranda, J. P., Tang, Y., Song, B., Oosthuizen, M. K., Wei, W. (2022). Experimental duration determines the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant biomass in pot experiments: A meta-analysis. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1024874>
- Qin, M., Miranda, J. P., Tang, Y., Wei, W., Liu, Y., Feng, H. (2021). Pathogenic microbes increase plant dependence on arbuscular mycorrhizal fungi: a meta-analysis. *Frontiers in Plant Science*, 2184. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.707118>
- Refai, M. K., Abou El-Yazeed, H., Hassan, A., El-Hariri, (2016). Monograph On Equine Mycoses & Mycotoxicoses A guide for postgraduate students.
- Ren, L., Zhang, N., Wu, P., Huo, H., Xu, G., Wu, G. (2015). Arbuscular mycorrhizal colonization alleviates *Fusarium* wilt in watermelon and modulates the composition of root exudates. *Plant Growth Regulation*, 77, 77-85. <http://dx.doi.org/10.1007/s10725-015-0038-x>
- Rodríguez-Morelos, V. H., Soto-Estrada, A., Pérez-Moreno, J., Negreros-Castillo, P. (2011). Los hongos micorrízicos arbusculares y su implicación en la producción y manejo de especies neotropicales forestales, con énfasis en meliáceas. *Interciencia*, 36(8), 564-569. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33921395002>
- Romero Cachique, G. (2019). *Efecto de especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares en plántulas de Coffea arabica L., variedad caturra en condiciones de vivero en la región San Martín*. (Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo) Universidad Nacional de San Martín, Facultad de ciencias Agrarias, San Martín, Perú. <http://hdl.handle.net/11458/3279>
- Saboor, A., Ali, M. A., Danish, S., Ahmed, N., Fahad, S., Datta, R., Javed-Ansari, M., Nasif, O., Habib, M., Glick, B. R. (2021). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the physiological functioning of maize under zinc-deficient soils. *Scientific reports*, 11(1), 18468. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97742-1>
- Saito, M., Stribley, D. P., Hepper, C. M. (1993). Succinate dehydrogenase activity of external and internal hyphae of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerdmann and Trappe, during mycorrhizal colonization of roots of leek (*Allium porrum* L.), as revealed by in situ histochemical staining. *Mycorrhiza*, 4, 59-62. <https://doi.org/10.1007/BF00204059>
- Saparrat, M. C. N., Ruscitti, M. F., Arango, M. C. (2020). Micorrizas arbusculares. *Libros de Cátedra*.
- Schouteden, N., De Waele, D., Panis, B., Vos, C. M. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungi for the biocontrol of plant-parasitic nematodes: a review of the mechanisms

- involved. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1280.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01280>
- Schüßler, A., Scharzwott, D. y Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105 (12):1413–1421. <https://doi.org/10.1017/S0953756201005196>
- Shao, Y. D., Zhang, D. J., Hu, X. C., Wu, Q. S., Jiang, C. J., Xia, T. J., Xiu-Bin, G., Kuča, K. (2018). Mycorrhiza-induced changes in root growth and nutrient absorption of tea plants. *Plant, Soil and Environment*, 64(6), 283-289.
<https://doi.org/10.17221/126/2018-PSE>
- Sharma, S. K., Singh, D., Pandey, H., Jatav, R. B., Singh, V., Pandey, D. (2022). An Overview of Roles of Enzymatic and Nonenzymatic Antioxidants in Plant. Antioxidant Defense in Plants: *Molecular Basis of Regulation*, 1-13. https://doi.org/10.1007/978-981-16-7981-0_1
- Shukla, A., Dehariya, K., Vyas, D., Jha, A. (2014). Interactions between arbuscular mycorrhizae and *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris: effects on fungal development, seedling growth and wilt disease suppression in *Cicer arietinum* L. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 48(3), 240-252.
<http://dx.doi.org/10.1080/03235408.2014.884831>
- Singh, S., Gupta, A. K., Kaur, N. (2011). Differential Responses of Antioxidative Defence System to Long-Term Field Drought in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes Differing in Drought Tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 198(3), 185–195. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037x.2011.00497.x>
- Smith, SE y Read, DJ (2010). *Simbiosis micorrízica*. Nueva York, NY: Prensa académica.
- Souza, T. (2015). *Handbook of arbuscular mycorrhizal fungi* (p. 153). Cham: Springer.
- Spagnoletti, F. N., Balestrasse, K., Lavado, R. S., Giacometti, R. (2016). Arbuscular mycorrhiza detoxifying response against arsenic and pathogenic fungus in soybean. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 133, 47-56.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.06.012>
- Spagnoletti, F. N., Carmona, M., Balestrasse, K., Chiochio, V., Giacometti, R., & Lavado, R. S. (2021). The arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus intraradices* reduces the root rot caused by *Fusarium pseudograminearum* in wheat. *Rhizosphere*, 19, 100369. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100369>
- Steinkellner, S., Hage-Ahmed, K., García-Garrido, J. M., Illana, A., Ocampo, J. A., Vierheilig, H. (2012). A comparison of wild-type, old and modern tomato cultivars in the interaction with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Mycorrhiza*, 22, 189-194.

<https://doi.org/10.1007/s00572-011-0393-z>

- Sterbova, L., Hlásná Čepková, P., Viehmannová, I., Huansi, D. C. (2017). Effect of thermal processing on phenolic content, tocopherols and antioxidant activity of sachá inchi kernels. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(2), e12848. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12848>
- Subramanian, K. S., Tenshia, V., Jayalakshmi, K., Ramachandran, V. (2009). Biochemical changes and zinc fractions in arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus intraradices*) inoculated and uninoculated soils under differential zinc fertilization. *Applied Soil Ecology*, 43(1), 32-39. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.05.009>
- Summerell, B. A. (2019). Resolving *Fusarium*: current status of the genus. *Annual Review of Phytopathology*, 57, 323-339.
- Summerell, B. A., Salleh, B., Leslie, J. F. (2003). A utilitarian approach to *Fusarium* identification. *Plant disease*, 87(2), 117-128.
- Tian, Y. H., Lei, Y. B., Zheng, Y. L., Cai, Z. Q. (2013). Synergistic effect of colonization with arbuscular mycorrhizal fungi improves growth and drought tolerance of *Plukenetia volubilis* seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(3), 687-696.
- Trinidad-Cruz, J. R., Quiñones-Aguilar, E. E., Rincón-Enríquez, G., López-Pérez, L., Hernández-Cuevas, L. V. (2017). Mycorrhization of *Agave cupreata*: Biocontrol of *Fusarium oxysporum* and plant growth promotion. *Revista mexicana de fitopatología*, 35(2), 151-169. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1607-5>
- Vásquez Chui, S. A. (2019). *Efecto de consorcios de hongos micorrízicos arbusculares sobre el rendimiento de (Plukenetia volubilis L.), bajo condiciones de campo en la provincia de San Martín.* (Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo) Universidad Nacional de San Martín, Facultad de ciencias Agrarias, San Martín, Perú. <http://hdl.handle.net/11458/4136>
- Vecco, C. (2015). *Manejo agroecológico de plagas del Sachá Inchik (Plukenetia volubilis L.) a partir del estudio de la diversidad asociada de organismos y sus relaciones en San Martín, Perú.* (Tesis para optar el grado de Doctor). Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical Alejandro De Humboldt, República de Cuba, La Habana.
- Vierheilig H, Knoblauch M, Juergensen K, van Bel AJ, Grundler FM, Piché Y (2001). Imaging arbuscular mycorrhizal structures in living roots of *Nicotiana tabacum* by light, epifluorescence, and confocal laser scanning microscopy. *Can J Bot* 79:231–237. <https://doi.org/10.1139/b00-156>
- Vierheilig H, Schweiger P, Brundrett M (2005) An overview of methods for the detection and observation of arbuscular mycorrhizal fungi in roots†. *Physiol Plant* 125:393–404.

<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00564.x>

- Villani, A., Tommasi, F., Paciolla, C. (2021). The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus viscosum* improves the tolerance to *verticillium* wilt in artichoke by modulating the antioxidant defense systems. *Cells*, 10(8), 1944. <https://doi.org/10.3390/cells10081944>
- Wang, H., Hao, Z., Zhang, X., Xie, W., Chen, B. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi induced plant resistance against fusarium wilt in jasmonate biosynthesis defective mutant and wild type of tomato. *Journal of Fungi*, 8(5), 422. <https://doi.org/10.3390/jof8050422>
- Wang, J., Fu, Z., Ren, Q., Zhu, L., Lin, J., Zhang, J., Cheng, X., Ma, J., Yue, J. (2019). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, photosynthesis, and nutrient uptake of *Zelkova serrata* (Thunb.) Makino seedlings under salt stress. *Forests*, 10(2), 186. <https://doi.org/10.3390/f10020186>
- Wang, J., Zhong, H., Zhu, L., Yuan, Y., Xu, L., Wang, G. G., Zhai, L., Yang, L., Zhang, J. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi effectively enhances the growth of *Gleditsia sinensis* Lam. seedlings under greenhouse conditions. *Forests*, 10(7), 567. <https://doi.org/10.3390/f10070567>
- Wang, Y., Wang, M., Li, Y., Wu, A., Huang, J. (2018). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nitrogen uptake of *Chrysanthemum morifolium* under salt stress. *PLoS One*, 13(4), e0196408. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196408>
- Wangsanut, T., Pongpom, M. (2022). The role of the glutathione system in stress adaptation, morphogenesis and virulence of pathogenic Fungi. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10645. <https://doi.org/10.3390/ijms231810645>
- Weng, W., Yan, J., Zhou, M., Yao, X., Gao, A., Ma, C., Cheng, J., Ruan, J. (2022). Roles of arbuscular mycorrhizal fungi as a biocontrol agent in the control of plant diseases. *Microorganisms*, 10(7), 1266. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071266>
- Wu, M., Yan, Y., Wang, Y., Mao, Q., Fu, Y., Peng, X., Yang, Z., Ren, J., Liu, A., Chen, S., Ahammed, G. J. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi for vegetable (VT) enhance resistance to *Rhizoctonia solani* in watermelon by alleviating oxidative stress. *Biological Control*, 152, 104433. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104433>
- Wu, Q. S., He, J. D., Srivastava, A. K., Zhang, F., Zou, Y. N. (2019). Development of propagation technique of indigenous AMF and their inoculation response in citrus. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 89(7), 1190-1194. <https://doi.org/10.56093/ijas.v89i7.91696>

- Wu, Q. S., Li, G. H., Zou, Y. N. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient acquisition of peach (*Prunus persica* L. Batsch) seedlings. *J Anim Plant Sci*, 21(4), 746-750.
- Wu, S., Shi, Z., Chen, X., Gao, J., Wang, X. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi increase crop yields by improving biomass under rainfed condition: a meta-analysis. *PeerJ*, 10, e12861. <https://doi.org/10.7717/peerj.12861>
- Wu, S., Shi, Z., Huang, M., Li, Y., Gao, J. (2023). Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Leaf N: P: K Stoichiometry in Agroecosystem. *Agronomy*, 13(2), 358. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020358>
- Xavier, L. J., Boyetchko, S. M. (2004). Arbuscular mycorrhizal fungi in plant disease control. *Fungal biotechnology in agricultural, food, and environmental applications*, 183-194.
- Xian, C. W., Peng, H. Z. (2008). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on fusarium wilt of cucumber seedlings. *Mycosystema*, 27, 395-404. <https://doi.org/10.1080/00103624.2012.728263>
- Yang, L. Y., Chen, P., Guo, L. J., Zhou, Y., Wang, G. F., Du, Q. J., Huang, J. S. (2017). First Report of Vine Wilt Disease Caused by *Fusarium solani* on Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) in China. *Plant Disease*, 101(9), 1675-1675. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-17-0473-PDN>
- Yuan, ZY y Chen, HY (2015). Efectos negativos de la fertilización en la reabsorción de nutrientes de las plantas. *Ecología*, 96 (2), 373-380. <https://doi.org/10.1890/14-0140.1>
- Zakaria, L. (2023). *Fusarium* Species Associated with Diseases of Major Tropical Fruit Crops. *Horticulturae*, 9(3), 322. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030322>
- Zhang, Y., Luan, Q., Jiang, J., Li, Y. (2021). Prediction and utilization of malondialdehyde in exotic pine under drought stress using near-infrared spectroscopy. *Frontiers in Plant Science*, 12, 735275. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.735275>

ANEXOS

Anexo 1. Ensayos antioxidantes no enzimáticos para MDA y GSH.

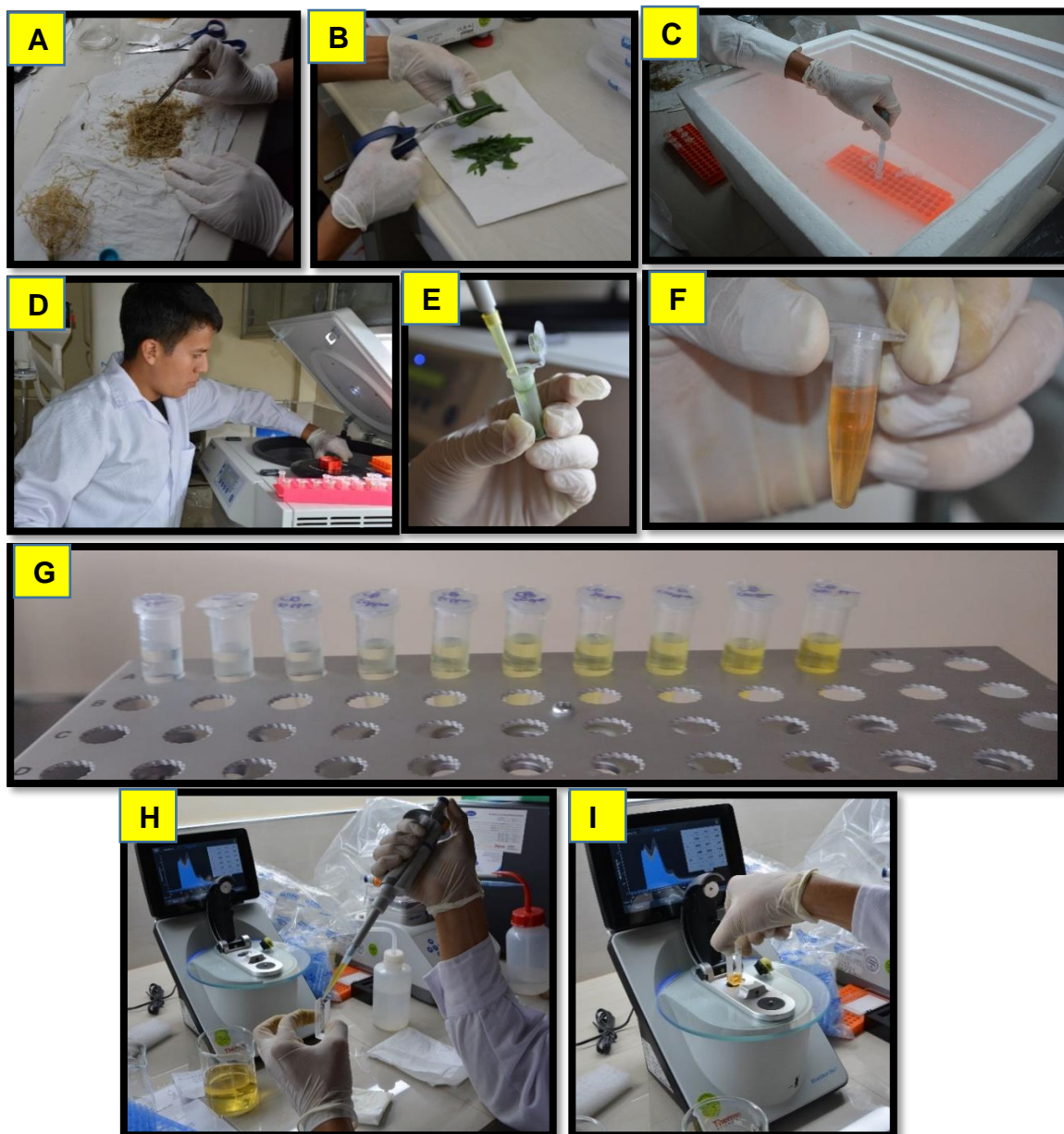


Figura 57.

Evaluación de la actividad antioxidante no enzimático (GSH) y marcador de daño oxidativo (MDA). **A-B:** Corte y pesado de raíz y hoja. **C.** Trituración de muestras con nitrógeno líquido. **D.** Centrifugación de las muestras con sus reactivos respectivos tanto para MDH y CAT. **E-F:** Extracción del sobrenadante para hoja y raíz. **G.** Curva de calibración solo para GSH. **H-I.** Toma de muestra y medición mediante espectrofotometría en un nanodrop.

Anexo 2. Ensayo del antioxidante enzimático CAT.

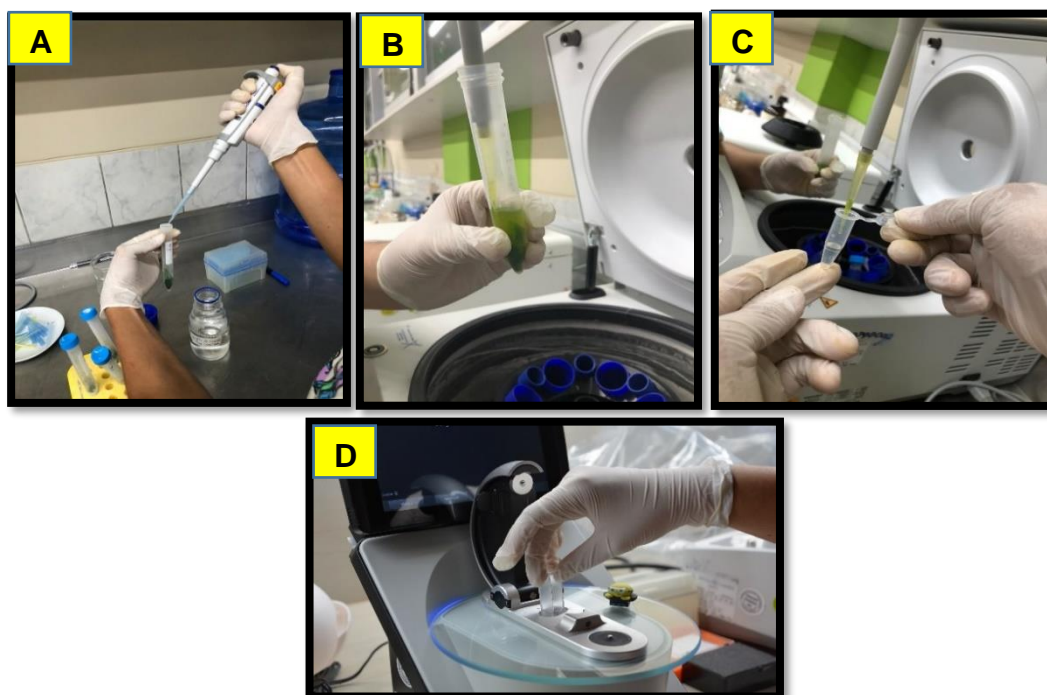


Figura 58.

Evaluación de la actividad antioxidante enzimático (CAT). **A.** Aplicación de buffer de extracción a las muestras trituradas. **B.** Tomar el sobrenadante **C.** Preparación de mezcla de reacción con buffer y sobrenadante. **D.** Medición de la enzima por espectrofotometría.

Anexo 3. Viabilidad o actividad de las estructuras fúngicas del HMA.

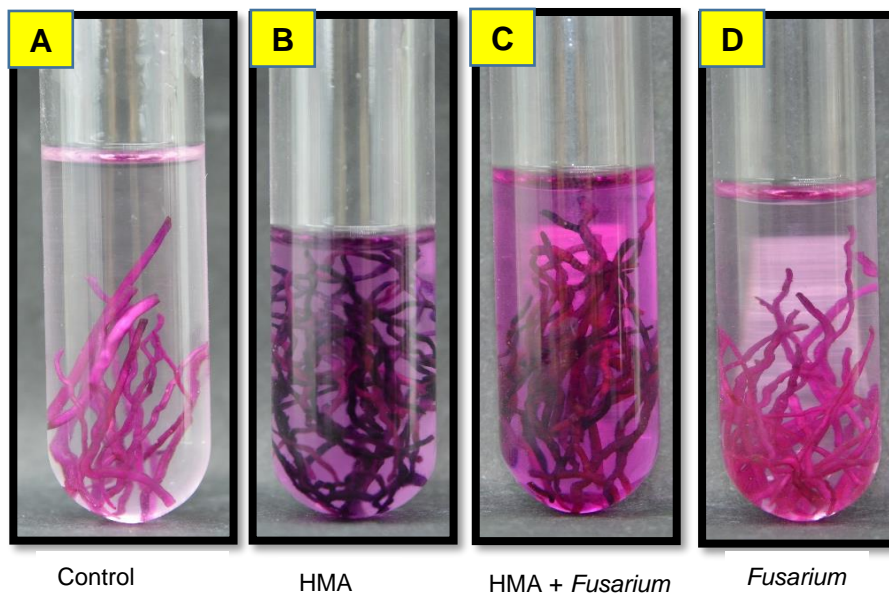


Figura 59.

Evaluación de la actividad SDH para HMA. **A.** Raíz sin actividad de SDH. **B.** Raíz con alta actividad de SDH. **C.** Raíz con baja y alta actividad de SDH. **D.** Raíz sin actividad de SDH.

Anexo 4. Comparación de los tratamientos infestados con *F. verticillioides* en medio de cultivo SFA para el evaluar la densidad poblacional de *F. verticillioides*.

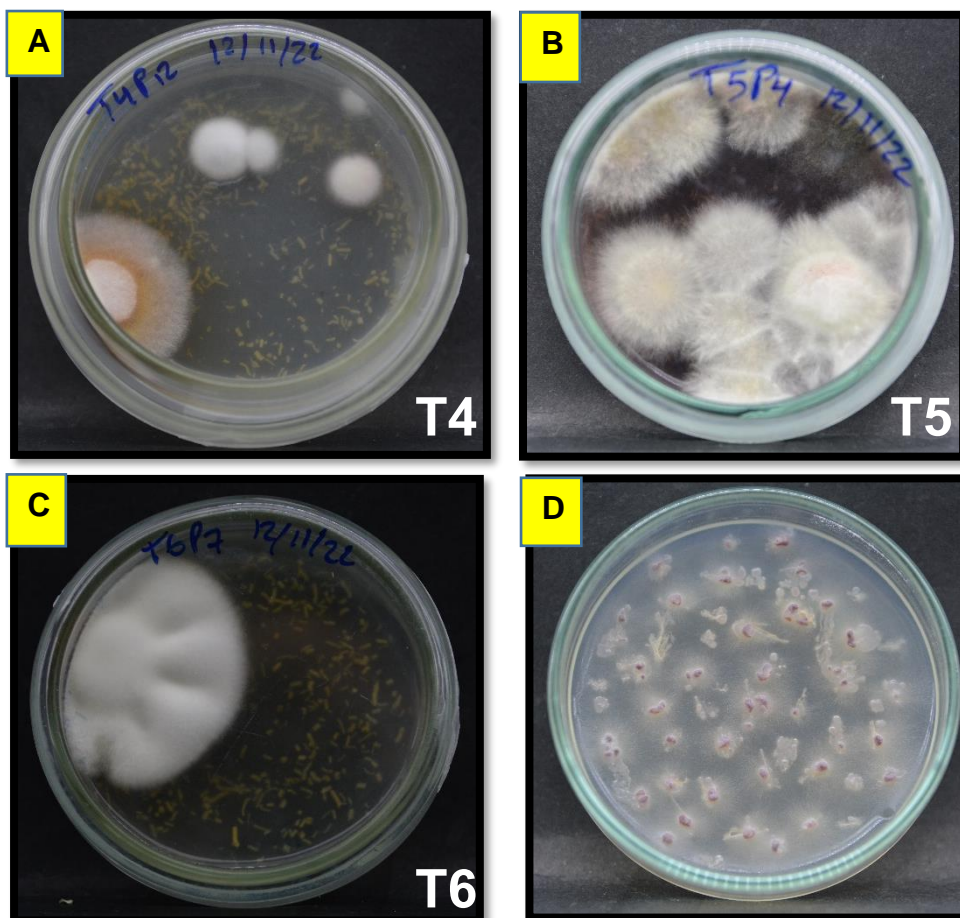


Figura 60.

UFC de *F. verticillioides* en tejidos de raíces de plantas infectadas en medio selectivo. **A.** Baja densidad de UFC de *F. verticillioides*. **B.** Moderadamente baja densidad de UFC de *F. verticillioides*. **C.** Baja densidad de UFC de *F. verticillioides*. **D.** Alta densidad de UFC de *F. verticillioides*.



Figura 61.

Comparación de altura de las plantas de sachá inchi evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

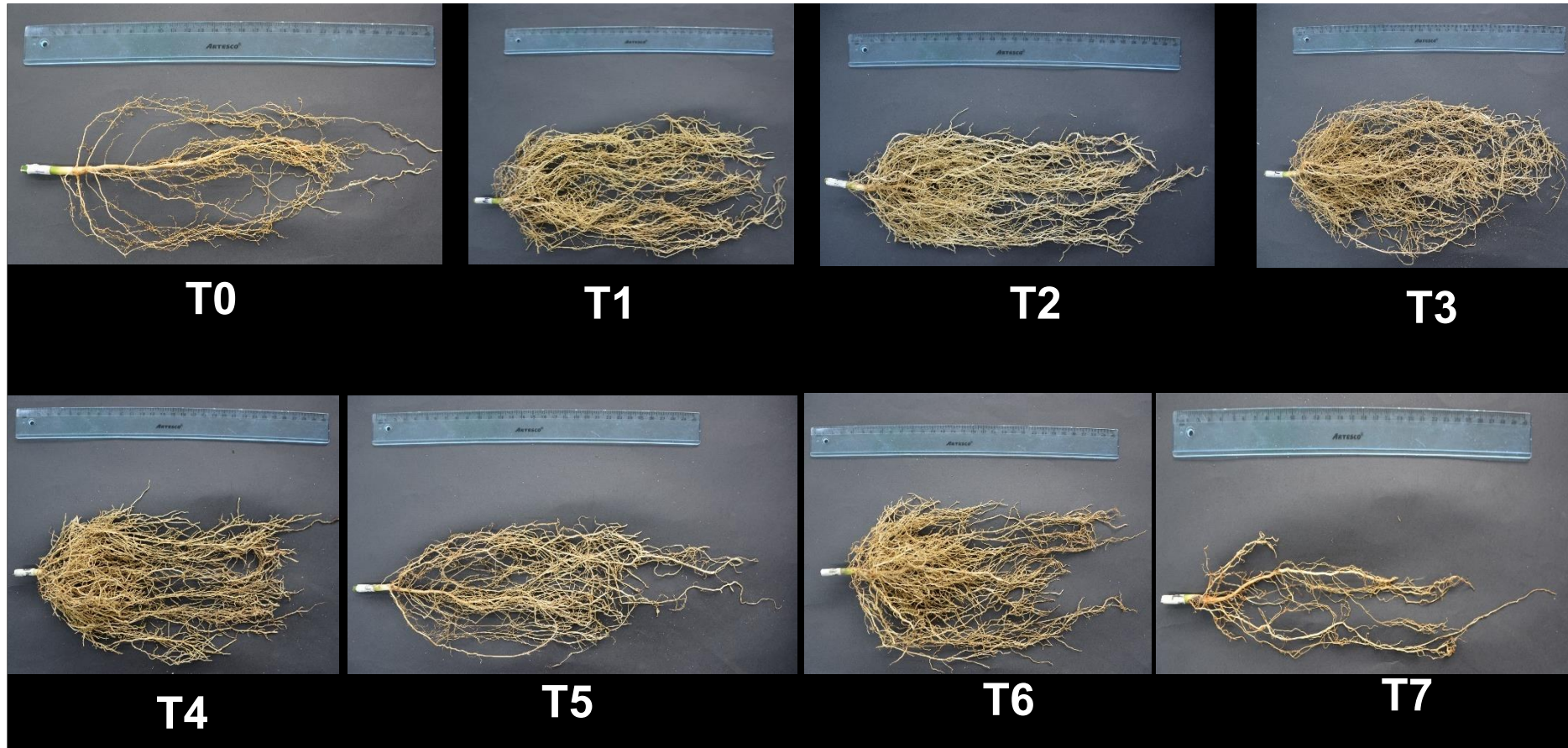


Figura 62.

Comparación de la biomasa fresca de la raíz de sachá inchi evaluados a los 70 días en condiciones de vivero.

Efecto protector de hongos micorrícicos arbusculares sobre la pudrición de la raíz causada por *Fusarium verticillioides* en *Plukenetia volubilis* L.

por Elvin Delgado Mera

Fecha de entrega: 28-sep-2023 02:29p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2179831707

Nombre del archivo: INFORME_FINAL_DE_TESIS-_ELVIN.docx (50.66M)

Total de palabras: 45126

Total de caracteres: 242757

Efecto protector de hongos micorrícicos arbusculares sobre la pudrición de la raíz causada por *Fusarium verticillioides* en *Plukenetia volubilis* L.

INFORME DE ORIGINALIDAD

21 %	21 %	3 %	3 %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	8 %
2	repositorio.unsm.edu.pe Fuente de Internet	4 %
3	repositorio.unapiquitos.edu.pe Fuente de Internet	1 %
4	tesis.unsm.edu.pe Fuente de Internet	1 %
5	helvia.uco.es Fuente de Internet	1 %
6	rdu.unc.edu.ar Fuente de Internet	1 %
7	doi.org Fuente de Internet	1 %
8	ri.agro.uba.ar Fuente de Internet	<1 %