



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución- NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).  
Vea una copia de esta licencia en <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>



Obra publicada con autorización del autor

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN – TARAPOTO**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**



**“EFECTO ANTAGÓNICO ENTRE HONGOS MICORRÍZICOS  
ARBUSCULARES (HMA) Y NEMATODOS DE NUDOS (*Meloidogyne* spp.)  
EN PLÁNTULAS DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.), EN LA  
REGIÓN SAN MARTÍN”.**

**Tesis para optar el título profesional de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**Autor:**

**Bach. Fredy Toribio Cabrera Del Aguila**

**Asesor:**

**Ing. M. Sc. Segundo Darío Maldonado Vásquez**

**Tarapoto – Perú**

**2017**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO**

**FACULTA DE CIENCIAS AGRARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**

**“EFECTO ANTAGÓNICO ENTRE HONGOS MICORRÍZICOS  
ARBUSCULARES (HMA) Y NEMATODOS DE NUDOS (*Meloidogyne spp.*)  
EN PLÁNTULAS DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis L.*), EN LA  
REGIÓN SAN MARTÍN”**

**Tesis para optar el título profesional de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**Autor:**

**Bach. Fredy Toribio Cabrera Del Aguila**

**Sustentado y aprobado ante el honorable jurado**

**el día 05 de julio del 2017**



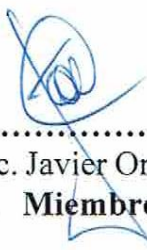
.....  
Dr. Winston Franz Ríos Ruíz

**Presidente**



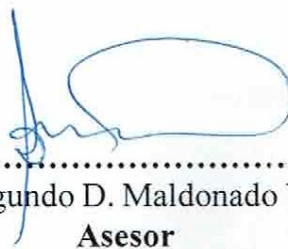
.....  
Ing. Eybis José Flores García

**Secretario**



.....  
Ing. M Sc. Javier Ormeño Luna

**Miembro**



.....  
Ing. M Sc. Segundo D. Maldonado Vásquez

**Asesor**

## Declaratoria de Autenticidad


Yo, **Fredy Toribio Cabrera Del Águila**, egresada de la Facultad de **Ciencias Agrarias de la Escuela profesional de Agronomía**, de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto con la tesis titulada **“EFECTO ANTAGÓNICO ENTRE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (HMA) Y NEMATODOS DE NUDOS (*Meloidogyne spp.*) EN PLÁNTULAS DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis L.*), EN LA REGIÓN SAN MARTÍN”**.

### Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por lo tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por lo tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

De considerar que el trabajo cuenta con una falta grave, como el hecho de contar con datos fraudulentos, demostrar indicios y plagio (al no citar la información con sus autores), plagio (al presentar información de otros trabajos como propios), falsificación (al presentar la información e ideas de otras personas de forma falsa), entre otros, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto.

Tarapoto, 04 de junio del 2017.

  
.....  
**Fredy Toribio Cabrera Del Águila**  
DNI N° 47849891



**Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis.**

**1. Datos del autor:**

<b>Apellidos y nombres:</b>	Cabrera Del Aguila Fredy Toribin	
<b>Código de alumno :</b>	101139	<b>Teléfono:</b> 942 672 912
<b>Correo electrónico :</b>	Fredy-939@hotmail.com	<b>DNI:</b> 47849891

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

**2. Datos Académicos**

<b>Facultad de:</b>	Ciencias Agrarias
<b>Escuela Profesional de:</b>	Agronomía

**3. Tipo de trabajo de investigación**

<b>Tesis</b>	<input checked="" type="checkbox"/>	<b>Trabajo de investigación</b>	<input type="checkbox"/>
<b>Trabajo de suficiencia profesional</b>	<input type="checkbox"/>		

**4. Datos de trabajo de investigación**

<b>Título:</b>	"Efecto antagonico entre hongos micorrizicos arbusculares (HMA) y nematodos de nudos (Heloidogyne spp.) en plantolas de Sacha Inchi (Plukenetia volubilis L.) en la Region San Martin"
<b>Año de publicación:</b>	2017

**5. Tipo de Acceso al documento**

<b>Acceso público*</b>	<input checked="" type="checkbox"/>	<b>Embargo</b>	<input type="checkbox"/>
<b>Acceso restringido</b>	<input type="checkbox"/>		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín -Tarapoto, una licencia **No Exclusiva**, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indiquen el sustento correspondiente:


**6. Originalidad del archivo digital**

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, como parte del proceso contundente a obtener el Título Profesional o Grado Académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el jurado.

**7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS***

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica

<https://creativecommons.org/licenses/by-cc-sa/2.5/pe/>

El autor por medio de este documento autoriza a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el Inciso 12.2, del Artículo 12° del Reglamento Nacional de Trabajos de Investigaciones para optar Grados Académicos y Títulos Profesionales – RENATI “ Las Universidades, institutos y escuelas de educación superior tiene como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA”.

.....  
  
Firma del Autor

**8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM-T**

Fecha de recepción del documento:

01/06/2018



.....  
Firma del Responsable de Repositorio  
Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso  
Abierto de la UNSM-T

**\*Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

**\*\* Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

## **DEDICATORIA**

A mi querida madre Elvira Del Aguila Ruiz por su esfuerzo, dedicación y apoyo incondicional, en mi formación profesional. A los docentes de la escuela profesional de Agronomía, en especial para el Ing. M Sc. Segundo Darío Maldonado Vásquez por los sabios consejos y la ayuda incondicional hacia mi persona, en la realización de esta investigación. A mis hermanas Vanessa, Jolli y Jovana que siempre estuvieron dándome el aliento necesario para seguir adelante.

## AGRADECIMIENTO

A Dios por darme la vida y poder formar parte de esta maravillosa familia que significa la Universidad Nacional de San Martín.

A la Universidad Nacional de San Martín por brindarme la oportunidad, gracias a los concursos de proyectos de investigación de docentes y alumnos, ya que sin este financiamiento no hubiera sido posible desarrollar la presente investigación.

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP), en especial para mi gran amigo Ing. Decny Omar Chinchay Rubio por su apoyo incondicional hacia mi persona para el desarrollo de las técnicas y procedimientos que hicieron posible este trabajo de investigación.

A mi Co-asesor el Ing. M. Sc. Mike Corazon Guivin por la ayuda hacia mi persona en la dirección y desarrollo de esta investigación.



## INDICE

	<b>Pág.</b>
<b>RESUMEN</b>	
<b>ABSTRAC</b>	
<b>INTRODUCCIÓN</b>	
<b>CAPÍTULO I: REVISIÓN DE LITERATURA</b>	
<b>1.1. Generalidades del sachá inchi</b>	<b>2</b>
1.1.1. Generalidades del sachá inchi	2
1.1.2. Morfología del cultivo	2
<b>1.2. Las micorrizas son asociaciones simbióticas entre hongos y raíces de las plantas</b>	<b>3</b>
<b>1.3. Clasificación de las micorrizas</b>	<b>4</b>
<b>1.4. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA)</b>	<b>5</b>
<b>1.5. Interacciones entre microorganismos edáficos</b>	<b>9</b>
<b>1.6. Nematodos fitopatógenos</b>	<b>9</b>
<b>1.7. Nematodos de nudos (<i>Meloidogyne spp.</i>)</b>	<b>10</b>
1.7.1. Características generales	10
1.7.2. Ubicación taxonómica	10
1.7.3. Ciclo de vida	11
<b>1.8. Interacción entre hongos micorrízicos arbusculares y nematodos</b>	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
<b>2.1. Metodología</b>	<b>16</b>
2.1.1. Ubicación del área de estudio	16
2.1.2. Diseño de investigación	16

2.1.3.	Flujograma de actividades	17
2.1.3.1.	Fase de campo	17
	• Fuente de inóculo de HMA	17
	• Análisis físico y químico del suelo rizósferico	18
	• Análisis Físico y químico del suelo de vivero	18
2.1.3.2.	Fase de vivero	18
	• Siembra e inoculación con HMA nativos a los plantones de sachá inchi	18
	• Colecta de raíces infestadas por <i>Meloidogyne spp</i>	19
	• Preparación de fuente de inóculo a base <i>Meloidogyne spp</i>	19
	• Infestación con <i>Meloidogyne spp</i>	20
2.1.3.3.	Fase de laboratorio	21
	• Cuantificación de esporas de HMA nativos	21
	• Tinción de raíces de plantas de sachá inchi	22
	• Técnica sistemática de portaobjeto	23
	• Tinción de micelio extraradical de HMA nativos	23
<b>2.2.</b>	<b>Variables estudiadas</b>	<b>25</b>
2.2.1.	Variables biológicas	25
2.2.1.1.	Porcentaje de colonización micorrízica	25
2.2.1.2.	Longitud de micelio extraradical (MER)	26
2.2.1.3.	Porcentaje de infección por <i>Meloidogyne spp</i>	27
2.2.2.	Variables morfológicas	28
2.2.2.1.	Longitud de raíz principal	28
2.2.2.2.	Peso seco del sistema radicular	27
<b>2.3.</b>	<b>Análisis estadístico</b>	<b>28</b>
<b>CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>		
<b>3.1.</b>	<b>Variables biológicas</b>	<b>30</b>
3.1.1.	Porcentaje de colonización micorrízica	30
3.1.2.	Longitud de micelio extraradical (MER)	33
3.1.3.	Porcentaje de infección por <i>Meloidogyne spp</i>	35

3.2.	Variables morfológicas	38
3.2.1.	Longitud de raíz principal	38
3.2.2.	Peso seco radicular (g)	40

## **CONCLUSIONES**

## **RECOMENDACIONES**

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1:</b> Laboratorio de fisiología UNSM-T	16
<b>Figura 2:</b> Vivero de Agronomía	16
<b>Figura 3:</b> Procedimientos para la colecta y selección de raíces con agallas	19
<b>Figura 4:</b> Procedimientos para la preparación del inóculo de <i>Meloidogyne spp</i>	20
<b>Figura 5:</b> Infestación de plántones con inóculo a base de <i>Meloidogyne spp</i>	21
<b>Figura 6:</b> Observación y conteo de esporas de HMA de fuentes de inóculo	22
<b>Figura 7:</b> Procedimiento para la tinción de raíces de sachá inchi	23
<b>Figura 8:</b> Raicillas teñidas y montadas	23
<b>Figura 9:</b> Procedimiento para la tinción del micelio extraradical	25
<b>Figura 10:</b> Escala gradual de intensidad de colonización, según Trouvelot <i>et al.</i> , (1986, citado en Gañan <i>et al.</i> , 2011)	26
<b>Figura 11:</b> Observación y conteo de micelio extraradical	26
<b>Figura 12:</b> Proceso para determinar el porcentaje de infección en raíces de sachá inchi causado por <i>Meloidogyne spp</i>	28
<b>Figura 13:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) para el porcentaje de colonización Micorrízica bajo la interacción directa de fuentes de inóculo HMA e inóculo de <i>Meloidogyne spp.</i> , evaluados a los 180 días después de la siembra	31
<b>Figura 14:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) para la longitud de micelio extraradical de la planta bajo la interacción directa entre: inóculos de HMA e inóculos de <i>Meloidogyne spp.</i> , evaluados a los 180 días después de la siembra	34
<b>Figura 15:</b> Figura 15 A. Tratamiento HMA Lamas + nematodo B. Tratamiento HMA Dorado + Nematodos C. Testigo + nematodos D. Testigo absoluto	35
<b>Figura 16:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) para el porcentaje de infección de raíces bajo la interacción directa entre: inóculos de HMA e inóculos de <i>Meloidogyne spp.</i> , evaluados a los 90 días después de la infestación	37
<b>Figura 17:</b> Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) para longitud de la raíz de la planta bajo la interacción directa entre: inóculos de HMA e inóculos de <i>Meloidogyne</i>	

*spp.*, evaluados a los 180 días después de la siembra 39

**Figura 18:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) para el peso seco radicular de las plantas bajo la interacción directa entre: inóculos de HMA e inóculos de *Meloidogyne spp.*, evaluados a los 180 días después de la siembra 41

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1:</b> Efectos de diversas especies de HMA sobre enfermedades causadas por <i>Meloidogyne spp.</i> (Flor M, 2013)	8
<b>Tabla 2:</b> Tratamientos en estudio	17
<b>Tabla 3:</b> Análisis físico-químico del sustrato utilizado en vivero	18
<b>Tabla 4:</b> Escala cuantitativa y de resistencia de infección radical causado por <i>Meloidogyne spp</i>	27
<b>Tabla 5:</b> Distribución de los tratamientos	29
<b>Tabla 6:</b> Análisis de varianza del porcentaje de colonización en <i>Plukenetia volubilis</i> L. evaluados a los 180 días. Datos transformados $\arcsen \sqrt{\%}$	30
<b>Tabla 7:</b> Análisis de varianza de la longitud de micelio extraradical de <i>Plukenetia volubilis</i> L. evaluados a los 180 días	33
<b>Tabla 8:</b> Análisis de varianza del porcentaje de infección de <i>Plukenetia volubilis</i> L. evaluados a los 180 días. Datos transformados $\arcsen \sqrt{\%}$	36
<b>Tabla 9:</b> Análisis de varianza de la longitud de la raíz principal de <i>Plukenetia volubilis</i> L. evaluados a los 180 días	38
<b>Tabla 10:</b> Análisis de varianza del peso seco radicular de <i>Plukenetia volubilis</i> L. evaluados a los 180 días	40

## RESUMEN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) aportan beneficios a las plantas, dándoles ventajas con respecto a las plantas no micorrizadas; en este trabajo de investigación se determinó el efecto antagónico entre Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) y nematodos del nudo (*Meloidogyne spp.*) en plántulas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en la región San Martín, empleando el diseño completo al azar (DCA) con 6 tratamientos y 20 repeticiones, con fuentes de inóculo de HMA recolectadas de las provincias de Lamas y el Dorado. La inoculación de los HMA se hizo a la siembra con 1500 esporas por plantón en sustrato estéril de mezcla de arena y tierra negra (2:1) y 90 (DDI) se infestó con 1500 J2+Huevos de *Meloidogyne spp.* por plantón. La variable porcentaje de infección fue evaluada a los 90 (DDI) y las demás fueron evaluadas a los 180 (DDS). Los Tratamientos (T2 con 2.22% y T1 con 2.11%) mostraron antagonismo al reducir en más de 5% el porcentaje de infección, a comparación del Testigo infestado (T5 con 7.96%). En esta investigación se realizó el análisis de varianza y la prueba de Tukey ( $\alpha=0,05$ ) para las variables estudiadas.

**Palabras claves:** Hongos, micorrízicos, arbusculares, inoculación, siembra

## ABSTRACT

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) provide benefits to plants, giving them advantages over non-mycorrhizal plants; In this research the antagonistic effect between Arbuscular Mycorrhizal Mushrooms (AMM) and knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) In sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seedlings in the San Martín region, was determined using the randomized complete design (RCD) with 6 treatments and 20 replicates, with AMF inoculum sources collected from the provinces of Lamas and El Dorado. The inoculation of the AMF was done at 1500 spores per plant in sterile substrate of mixture of sand and black soil (2: 1) and 90 (DDI) was infested with 1500 J2 + Eggs of *Meloidogyne* spp. Per seedling. The variable percentage of infection was evaluated at 90 (IDD) and the others were evaluated at 180 (DDS). Treatments (T2 with 2.22% and T1 with 2.11%) showed an antagonistic effect by reducing the percentage of infection by more than 5%, compared to the infested Witness (T5 with 7.96%). In this research, we performed the analysis of variance and the Tukey test ( $\alpha = 0.05$ ) for the studied variables.

**Keywords:** Arbuscular, mycorrhizal, fungi; inoculation, sowing.





## INTRODUCCIÓN

El cultivo de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) últimamente tiene importancia económica e industrial en el mercado local, nacional e internacional debido a la demanda de ácidos grasos esenciales (ácido linolénico, linoleico y oleico, conocidos como omega 3,6 y 9 respectivamente) y vitamina E.

Los trabajos de investigación sobre el cultivo se iniciaron en la Estación Experimental «El Porvenir» (Tarapoto) en 1988, determinándose para las condiciones de la zona de Juan Guerra (a una altitud de 232 m.s.n.m.), resultando como de buenos rendimientos los ecotipos Pinto Recodo y Cumbaza (Arévalo, 1990 - 1995). A inicios del 2005, fue promovido el establecimiento de 2000 Has, el mismo que no fue sostenible a partir del segundo año de producción debido a una alta susceptibilidad a nematodo del nudo (*Meloidogyne spp.*), principal problema fitosanitario de esta especie (Manco, 2004).

Actualmente se intenta cambiar el tipo de manejo de los cultivos a formas orgánicas mediante el uso de microorganismos. Es así que la biotecnología ha desarrollado estudios de investigación dentro de los cuales se incluye el uso de micorrizas en varios cultivos, para lo cual se ha visto preferente estudiarlo en sacha inchi a razón de que es uno de los cultivos más susceptibles a esta plaga en nuestra región.

En este contexto, determinar el efecto antagónico entre Hongos Micorrízicos Arbusculares y nematodos del nudo de Sacha inchi permitirá: Proporcionar a los productores de sacha inchi una alternativa biológica para el control del nematodo del nudo (*Meloidogyne spp.*); una alternativa innovadora y ecológica que disminuirá el uso de productos químicos y además generar conocimientos y técnicas innovadoras en la bioprotección y biofertilización de sacha inchi, brindándole tolerancia al ataque del nematodo a través del potencial micorrízico.

En por esta razón se planteó como objetivo estudiar el antagonismo entre hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y nematodos de nudos (*Meloidogyne spp.*) en plántulas de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en condiciones de vivero.

# CAPITULO I:

## REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

### 1.1. Generalidades del Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.)

#### 1.1.1. Origen y distribución

El género *Plukenetia* comprende de 17 especies de distribución pantropical, 12 de América, tres de África, una de Madagascar y una de Asia. En México se encuentran *P. carabiasiae* J. Jiménez Ram.; *P. penninervia* Müell. Arg. y *P. stipellata* L: J. (Gillespie, citado por Galluser, 2004).

Galluser (2005) Indica que el sachá inchi se encuentra distribuida en las regiones de Loreto, San Martín, Amazonas, Junín, Ucayali, Madre de Dios y el Cusco, registrándose especies como: *Plukenetia volubilis* L., *P. lorentensis* Ulei, *P. brachybotrya* M., *P. polyadenia* M.

#### 1.1.2. Morfología del cultivo

El sachá inchi es una planta Trepadora, arbustiva, semileñosa, de altura indeterminada. Presenta hojas alternas, de color verde oscuro, oval - elípticas, aseruladas y pinnitinervias, de 09 – 16 cm de largo y 06 – 10 cm ancho. El ápice es puntiagudo y la base es plana o semiarriñonada. Presenta inflorescencias hermafroditas constituidas de flores masculinas y femeninas. Las flores masculinas estaminadas dispuestas en racimos, son pequeñas y blanquecinas de forma cónica; las flores femeninas están dispuestas en la base del racimo, pudiéndose observar de una a dos flores femeninas por inflorescencia. Los frutos son cápsulas de 3,5 a 4,5 cm de diámetro, constituidos generalmente por 04 lóbulos aristados (excepcionalmente con 5 a 7); cada lóbulo contiene una semilla ovalada de diámetro entre 1,3 y 2,1 cm, es de color marrón oscuro, ligeramente abultada en el centro y aplastada hacia el borde (Gillespie & Lynn, 1993; Valles, 1995).

Manco (2006), Indica que es una planta trepadora, voluble, semileñosa, de altura indeterminada. Sus hojas son alternas, de color verde oscuro, oval – elípticas, aseruladas y pinnitinervias, de 9 – 16 cm de largo y 6 – 10 cm de ancho. El ápice es puntiagudo y la base es plana o semi arriñonada.

*Plukenetia volubilis* L. es una planta monoica, que debido a su naturaleza florística es preferentemente de polinización cruzada. Presenta una asincronía entre la liberación del polen y la receptividad del estigma (Dicogamia, de la clase Protoginia); lo que evita que la progenie reúna las mismas características de la planta madre lo que ocasiona que la descendencia sea heterogénea y el genotipo parental resulta alterado, ocasionando pérdida gradual de los materiales promisorios. (Cachique, 2006).

## **1.2. Las micorrizas son asociaciones simbióticas entre hongos y raíces de las plantas.**

Las micorrizas ocurren aproximadamente en el 80% de las plantas (y más del 90% de todas las familias de plantas). Los hongos micorrízicos descomponen material orgánico en el suelo y aumentan el área superficial de las raíces de una planta, de modo que ésta puede absorber más agua y nutrientes minerales. A cambio, las raíces brindan a los hongos nutrientes orgánicos. Para establecer y mantener una relación simbiótica, las células de los hongos y las células de las raíces de la planta deben comunicarse. Por ejemplo, moléculas señaladoras de las células de la raíz de la planta estimulan las células fúngicas para cambiar a una fase de crecimiento presimbiótico en la que su metabolismo energético aumenta y sus hifas se ramifican. Entonces las células fúngicas señalan a las células radicales, y activan una ruta de señalización que activa la expresión génica en las células de la raíz.

La importancia de las micorrizas se volvió aparente por primera vez cuando los horticultores observaron que las orquídeas no crecen a menos que un hongo adecuado viva con ellas. De igual modo, muchos árboles del bosque, como los pinos, declinan y a la larga mueren por deficiencias de minerales cuando se trasplantan a suelos de pastizal ricos en minerales que carecen de los hongos micorrízicos adecuados. Cuando el suelo del bosque que contiene los hongos adecuados o sus esporas se agrega al suelo alrededor de estos árboles, rápidamente reanudan su crecimiento normal. Estudios realizados con varios tipos de plantas, incluido el cedro, confirman el papel de las micorrizas en el crecimiento de las plantas.

Como se estudió, los glomeromicetos forman conexiones endomicorrizas; infiltran las células de las raíces de las plantas. Al menos 5000 especies de ascomicetos y basidiomicetos también forman conexiones micorrizas, pero sus hifas recubren la raíz de la planta en lugar de penetrar sus células. A ellas se les conoce como ectomicorrizas. De manera interesante, investigadores han demostrado que algunos

hongos micorrízicos albergan bacterias en su citoplasma. Aunque el papel de la bacteria todavía no es claro, su presencia sugiere que pueden ser miembros de una asociación tripartita: hongo, planta y bacteria. Los hongos micorrízicos conectan plantas, lo que permite la transferencia de nutrientes entre ellas. Científicos han medido el movimiento de materiales orgánicos de una especie de árbol hacia otra a través de conexiones micorrizas compartidas. Los hongos micorrízicos también liberan químicos que protegen la planta contra herbívoros y patógenos.

Las micorrizas mejoran el suelo al reducir la pérdida de agua y la erosión. Los ecólogos estudian el papel de los hongos micorrízicos en la recuperación de suelos dañados por contaminación. Por ejemplo, las micorrizas pueden modificar metales pesados tóxicos, como el cadmio, de modo que las plantas no puedan absorberlos. (Salomon *et al.*, 2011)

### 1.3. Clasificación de las micorrizas

Existen varios tipos de micorrizas, pero los más importantes son: Endomicorrizas, Ectomicorrizas y Ectoendomicorrizas (Páez, 2006). La característica principal de las ectomicorrizas es su capacidad de penetrar entre los espacios intercelulares de la raíz formando una capa de hifas alrededor de la misma. Las endomicorrizas penetran en las células mismas de la raíz de la planta (Alexander, 1981), mientras que las ectoendomicorrizas son formadas por hongos que se desarrollan ya sea, en las células corticales de la raíz o en torno a esta en la superficie pudiendo o no formar el manto fungoso como en el caso de las ectomicorrizas (Agrios, 2005).

Las ectomicorrizas

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

Dentro de estas últimas también se encuentran las micorrizas vesículo arbusculares llamadas así, por su capacidad de formar estructuras similares a arbusculos o vesículas dentro de las células de la raíz. Este tipo de micorrizas es muy

abundante en la naturaleza además de caracterizarse por ser simbioses obligadas, requieren de una planta hospedera para su crecimiento.

#### 1.4. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

Siete géneros son reconocidos dentro de este, basado principalmente en las características de las esporas: *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Archaeospora*, *Glomus*, *Paraglomus*, *Gigaspora* y *Scutellospora*. Ninguno de estos hongos se puede cultivar lejos de sus plantas huésped, por lo que se considera que son totalmente dependientes de las plantas para sus fuentes de carbono y energía. Las raíces que contienen los hongos micorrízicos arbusculares no muestran signos externos de infección.

En su lugar, se ven como las raíces normales, y la extensión de la colonización de hifas fúngicas sólo pueden ser vistos por técnicas especiales. Un método para esto es utilizar microscopía de contraste diferencial de interferencia. Pero el método más común es tratar raíces con álcali fuerte, que destruye el protoplasma de la planta, y luego para teñir las raíces con un colorante de hongos como el azul de tripano. Hifas fúngicas son vistos a colonizar las raíces ampliamente por cada vez mayor entre las células corticales de la raíz, a menudo produciendo vesículas grandes, hinchados, y al penetrar las células corticales de la raíz individual de formarse en forma de árbol

Los hongos AM producen grandes esporas, de hasta 400  $\mu\text{m}$  de diámetro, que son fácilmente visibles a simple vista. Estas esporas pueden ser extraídos mediante el lavado del suelo a través de una serie de tamices con tamaños de malla cada vez más pequeños, y luego flotando las esporas para recuperarlos de los tamices. Esporas individuales se pueden entonces utilizar para iniciar "culturas pot" con las plantas de semillero en suelo esterilizado - la forma estándar de mantenimiento de diferentes cepas.

Las esporas germinan e infectan las raíces de una estructura de infección-appressorium como en la superficie de la raíz, similares a la infección estructuras de patógenos de las plantas analizadas.

A partir de estos puntos de entrada iniciales, los hongos crecen ampliamente entre las células de la corteza de la raíz, a menudo la producción de grandes vesículas, inflamación dentro de la raíz. Estas vesículas se cree que tienen una

función de carbono y fuentes de almacenamiento de energía. Otras hifas penetran las células individuales de raíz y rama repetidamente dentro de éstos para formar estructuras en forma de árbol dicotómicos, denominado arbusculos. Estos se cree que son los principales sitios de intercambio de nutrientes entre el hongo y las células de la raíz.

Consistente con esto, las células invadidas permanecen vivos porque se invagina la membrana de la célula vegetal para rodear todas las ramas individuales del arbusculo, la membrana en sí nunca es penetrado. Los arbusculos individuales viven por un tiempo relativamente corto (2-3 semanas) y luego degenerada, siendo reemplazados por nuevos arbusculos en otras partes de la raíz. (Deacon, 2006).

Los hongos formadores de micorrizas constituyen una parte esencial de los ecosistemas agrarios ya que, forman simbiosis mutualistas con más del 80% de las plantas vasculares terrestres, incluyendo cultivos herbáceos, arbustos y árboles. Estas simbiosis estimulan el crecimiento de la planta hospedadora, a través de la modificación física y/o química de la rizosfera, lo cual se traduce en una mayor disponibilidad de nutrientes, especialmente fósforo y zinc, y mayor tolerancia al estrés (Cantrell y Linderman, 2001).

Según su estructura y relaciones morfológicas con la planta hospedadora se distinguen endomicorrizas y ectomicorrizas, y dentro de las primeras las más importantes en agricultura son las que al colonizar la raíz vegetal, desarrollan unas estructuras características (vesículas y arbusculos) que les dan el nombre de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (Mitchell, 1993; Smith y Read, 2008).

Los HMA presentan alrededor de 150 especies conocidas (Brussaard et al., 2001), distribuidas en 7 géneros, de los cuales *Glomus* es el más extendido con alrededor de 90 especies. Los HMA participan también en numerosas interacciones con otros organismos del suelo (Barea et al., 1996; Facelli *et al.*, 2009) y se han citado efectos protectores de la micorrización frente a diversos fitopatógenos (Azcón-Aguilar y Barea, 1996; Linderman, 2000; Ryan *et al.*, 2003; Demir y Akkopru, 2005), entre ellos nemátodos del género *Meloidogyne* (Tabla 1) (Gera-Hol y Cook, 2005).

Aunque en la mayoría de estudios, en el caso de las enfermedades causadas por *Meloidogyne*, se ha descrito una reducción del agallamiento y de la reproducción

del nemátodo asociada a la micorrización, los niveles de colonización de la raíces por HMA no se correlacionan siempre con la capacidad de protección biológica por lo que, el grado de protección ofrecido por la simbiosis micorriza-planta hospedadora frente a nemátodos presenta una gran variabilidad que depende de la especie y cultivar de la planta cultivada, hongos micorrízicos y nemátodos, así como de las condiciones de cultivo y ambientales (Azcón-Aguilar *et al.*, 2002).

En particular, las especies *Glomus fasciculatum* (Thaxt.) Gerd. y Trappe, *Glomus intraradices* Schenck y Smith y *Glomus mosseae* (Nicol. y Gerd.) Gerd. y Trappe han sido los más frecuentemente citados y estudiados como antagonistas de nemátodos fitoparásitos. En cuanto a los mecanismos que participan en esta protección biológica, aún no están totalmente caracterizados. Azcón-Aguilar *et al.* 2002 argumentan que, la “protección biológica” efectiva contra los patógenos de la raíz, concedida por los HMA, es probablemente consecuencia de varios mecanismos indirectos ya que, los HMA no interactúan directamente con los patógenos a través de antagonismo, antibiosis o parasitismo. En la literatura, Azcón-Aguilar y Barea (1996) y Harrier y Watson (2004) proponen varios mecanismos:

- a) Compensación del daño por el mejor estado nutricional del hospedador.
- b) Cambios anatómicos y morfológicos del sistema radicular que dificultan la penetración del patógeno.
- c) Competición por los sitios de colonización e infestación.
- d) Competición por los fotosintatos.
- e) Deposición en la rizosfera de metabolitos nematicidas y nematostáticos.
- f) Cambios en las poblaciones microbianas del suelo.
- g) Activación de la respuesta de defensa de la planta. Resistencia inducida.

Tabla 1:

*Efectos de diversas especies de HMA sobre enfermedades causadas por Meloidogyne spp.*

HMA	Efecto	Referencias
<i>Acaulaspora laevis</i>	Reducción de agallamiento y reproducción	Nagesh <i>et al.</i> , 199b; Labeena <i>et al.</i> , 2002
<i>Gigaspora margarita</i>	Reducción de agallamiento y reproducción	Cofcewicz <i>et al.</i> , 2001; Labeena <i>et al.</i> , 2002
<i>Glomus aggregatum</i>	Menor severidad de los síntomas en planta Reducción de agallamiento y reproducción	Habte <i>et al.</i> , 1999
<i>Glomus caledonium</i>	Menor severidad de los síntomas en planta, Reducción de agallamiento y reproducción	Elsen <i>et al.</i> , 2002
<i>Glomus coronatum</i>	Reducción de agallamiento y reproducción	Diedhiou <i>et al.</i> , 2003
<i>Glomus deserticola</i>	Menor severidad de los síntomas en planta, Reducción de agallamiento y reproducción	Rao <i>et al.</i> , 1997a; Rao y Gowen, 1998;
<i>Glomus etunicatum</i>	Reducción de agallamiento y reproducción	Bhagawati <i>et al.</i> , 2000; Cofcewicz <i>et al.</i> , 2001; Waceke <i>et al.</i> , 2001
<i>Glomus intraradices</i>	Menor severidad de los síntomas en planta, Reducción de la penetración en raíces y Reducción de agallamiento y reproducción	Pinochet <i>et al.</i> , 1997; Habte <i>et al.</i> , 1999; Jothi y Sundarababu, 2000; Calvet <i>et al.</i> , 2001b; Zhang <i>et al.</i> , 2009
<i>Glomus fasciculatum</i>	Menor severidad de los síntomas en planta, Reducción de agallamiento y reproducción	Mishra y shukla, 1997; Nagesh <i>et al.</i> , 1999a; Labeena <i>et al.</i> , 2002; Rao <i>et al.</i> , 2003
<i>Glomus fulvum</i>	Menor severidad de los síntomas en planta	Jothi y Sundarababu, 2000
<i>Glomus macrocarpum</i>	Menor severidad de los síntomas en planta, Reducción de agallamiento y reproducción	Elsen <i>et al.</i> , 2002; Labeena <i>et al.</i> , 2002
<i>Glomus mosseae</i>	Menor severidad de los síntomas en planta, Reducción de agallamiento y <b>reproducción</b>	Jaizme-Vega <i>et al.</i> , 1997; Nagesh y Reddy, 1997; Reddy <i>et al.</i> , 1998; Habte <i>et al.</i> , 1999; Bhat y Mahmood, 2000; Jothi y sundarababu, 2000; Talavera <i>et al.</i> , 2001; Elsen <i>et al.</i> , 2002; Affokpon <i>et al.</i> , 2011b

Fuente: Flor M, 2013



### 1.5. Interacciones entre microorganismos edáficos

En el medio natural los microorganismos del suelo no se relacionan con la planta y los nemátodos de una forma aislada, sino que se presentan simultáneamente y en continua interacción entre ellos y con el medio ambiente. Desde el punto de vista de la protección del cultivo frente a las enfermedades puede no haber interacción entre diferentes microorganismos, o bien resultar en efectos positivos (interacciones aditivas y sinérgicas) o negativos (interacciones antagónicas) (Meyer y Roberts, 2002).

En principio sería razonable pensar que, organismos que utilicen diferentes mecanismos de control (e.g. parasitismo de huevos vs. resistencia inducida) pudiesen mostrar efectos aditivos o sinérgicos (Siddiqui y Akhtar, 2009c). No obstante, y debido a que diferentes mecanismos de protección y control pueden ser influenciados de forma diferente por las condiciones medioambientales, es posible que, bajo ciertas condiciones, un mecanismo pueda compensar otro de forma que se manifiesten como antagónicos (Guetsky *et al.*, 2002).

### 1.6. Nematodos fitopatógenos

Los nematodos fitopatógenos son microscópicos, redondos, más o menos transparentes, su cuerpo es liso y en algunas especies la hembra se hincha en la madurez adquiriendo la forma de una pera. La reproducción se realiza por medio de huevecillos, estos en el ciclo de vida del nematodo se incuban y desarrollan en larvas que aumentan de tamaño pasando los cuatro estadios larvarios que duran aproximadamente 4 semanas (Agrios, 2005).

De estas etapas la primera y segunda no son infectivas, en algunas especies, pero al llegar a las etapas infectivas, es decir al estadio de juveniles, el nematodo necesita de un hospedante fácil de infectar para que pueda sobrevivir, lo cual también va a depender de factores ambientales (Agrios, 2005).

Los nematodos fitopatógenos pueden atacar a las semillas formando agallas como el género *Anguina*, a las raíces como el nematodo lesionado *Pratylenchus*, el nematodo agallador *Meloidogyne* o el nematodo formador de la raíz achatada como *Trichodorus*. Estos nematodos no solo pueden ser caracterizados por

ser causantes de varios tipos de lesiones en la mayor parte de plantas, sino también por el tipo de cultivo al que afectan, así por ejemplo *Haplolaimus* ataca al maíz, caña de azúcar, algodón, alfalfa; *Tylenchulus* ataca a los cítricos, la vid, el olivo (Agrios, 2005).

## **1.7. Nemátodos de nudos (*Meloidogyne* spp.)**

### **1.7.1. Características generales**

Los nematodos endoparásitos sedentarios del género *Meloidogyne* constituyen fitopatógenos obligados altamente especializados. Esta característica, junto con su amplia distribución en el mundo, su extenso rango de hospedantes y su interacción con otros fitopatógenos en complejos de enfermedades, hacen que sea el fitonematodo de mayor impacto económico, objeto de diversas investigaciones, que incluyen estudios de taxonomía, biología, interacciones planta-nematodo y enfoques para su control.

La gravedad de los daños causados por *Meloidogyne* spp. varían con la especie de nematodo, la planta hospedante, las labores culturales, la época de siembra y el tipo de suelo. Del mismo modo, los umbrales económicos varían, dependiendo principalmente de estos mismos factores. Son mayormente prevalentes en regiones con temperaturas templadas y tropicales, las cuales favorecen también al cultivo hospedante.

Los estudios sobre *Meloidogyne* spp. se centran con frecuencia en las cuatro principales especies: *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne arenaria* y *Meloidogyne hapla*. El reconocimiento de estas cuatro especies como las principales comienza al ser consideradas dentro de las cinco primeras especies descritas por Chitwood en 1949. Luego, su extenso rango de hospedantes y distribución global contribuyeron en el reconocimiento de su importancia. El Proyecto Internacional de *Meloidogyne* reporta que constituyen el 95% de las especies identificadas de una colección de aislamientos estudiados a nivel mundial, lo que fortaleció aún más su estatus de principales especies (Sasser *et al.*, 1983).

### 1.7.2. Ubicación taxonómica

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

<b>Phylum</b>	: Nemata
<b>Clase</b>	: Secernentea, Von Linstow 1950, Dougherty 1958.
<b>Orden</b>	: Tylenchida, Thorne 1949.
<b>Familia</b>	: Heteroderidae, Filipjev, Sterkhoven 1941
<b>Género</b>	: <i>Meloidogyne</i> , Göldi 1892.

### 1.7.3. Ciclo de vida

Los huevos de *Meloidogyne* spp., se encuentran inmersos en una masa gelatinosa, la cual los mantiene juntos y los protege tanto de las condiciones ambientales extremas como de depredadores. Las masas gelatinosas están compuestas por glicoproteínas y también se les atribuye propiedades antimicrobianas.

Generalmente, están depositadas en la superficie de los nódulos, pero algunas veces se encuentran directamente sobre la superficie o dentro del tejido de la raíz de la planta hospedante. La masa de huevos es inicialmente suave, pegajosa y hialina, pero se hace más firme y de color marrón oscuro con el tiempo (Moens *et al.*, 2009). Se pueden encontrar más de 1 000 huevos en una masa, que puede ser más grande que el cuerpo de la hembra (Taylor y Sasser, 1983).

El desarrollo del huevo comienza breves horas después de la ovoposición, resultando en 2, 4, 8, 16 a más células, hasta que se ve el primer estado juvenil completamente formado, enrollado y con un estilete. Se puede mover dentro del huevo, pero no es muy activo. La primera muda tiene lugar en el huevo y no es difícil distinguir la cutícula del primer estado juvenil, sobresaliendo más allá de la cabeza del segundo estado juvenil (J2).

Poco después, este emerge rompiendo la membrana flexible del huevo, por medio de pinchazos repetidos con el estilete. La eclosión de los huevos es influenciada por la temperatura y ocurre sin requerir ningún estímulo por parte de la raíz de la

planta, sin embargo, los exudados radiculares algunas veces estimulan la eclosión (Taylor y Sasser, 1983; Karssen y Moens, 2006).

El juvenil de segundo estado que ha emergido, se mueve a través del suelo en busca de una raíz de la que pueda alimentarse. Su capacidad de sobrevivir se ve reforzada por varias adaptaciones fisiológicas y bioquímicas, incluyendo la quiescencia y la diapausa, y las reservas de lípidos que prolongan su viabilidad hasta que llega e invade la planta hospedante (Moens *et al.*, 2009). La búsqueda de la raíz es al azar hasta que se acerca a unos cuantos centímetros.

Luego, son atraídos por los exudados radiculares, acumulándose y penetrando la raíz por la zona de elongación debajo del punto de crecimiento. Se considera que el dióxido de carbono es el factor más importante para atraer a los juveniles de segundo estado (Taylor y Sasser, 1983; Hussey y Janssen, 2001; Karssen y Moens, 2006).

El juvenil de segundo estado penetra la raíz a través de algún punto de la zona subapical donde la endodermis presenta escaso desarrollo y no constituye una barrera física para el ingreso hacia el interior (Wyss *et al.*, 1992). El nematodo avanza hasta el tejido cortical y una vez allí la migración continúa intercelularmente hasta llegar al cilindro vascular en diferenciación.

El avance a través del espacio intercelular se realiza recurriendo a la separación de la laminilla media por medios mecánicos a través de golpes de estilete, sin haberse precisado hasta la fecha si también concurren mecanismos enzimáticos en el proceso. Cada juvenil establece su sitio permanente de alimentación una vez que alcanza el cilindro vascular (Hussey y Williamson, 1998).

Este sitio consiste en un conjunto de grandes células modificadas llamadas células gigantes, caracterizadas por la presencia de muchos núcleos de gran tamaño, altamente lobulados, con nucléolos prominentes, un alto número de orgánulos, citoplasma denso con altas tasas metabólicas y paredes engrosadas e invaginadas. Los nematodos absorben los nutrientes del citoplasma directamente o a través de tubos de alimentación sintetizados con tal propósito mediante las secreciones procedentes de las glándulas subesofágicas dorsales (Hussey y Mims, 1991).

Varios estudios han documentado los efectos de la infección por nematodos en la expresión génica. Algunos estudios en las células gigantes han revelado que el ARNm de algunos genes puede estar presente en niveles muchas veces mayor que en células de una raíz no infectada (He *et al.*, 2005; Ramsey *et al.*, 2004). También se ha reportado que los niveles de enzimas oxidoreductasas se incrementa, indicando un aumento en la actividad metabólica (Hussey y Janssen, 2001; Karssen y Moens, 2006).

Los nematodos del nódulo de la raíz secretan a través de su cutícula, enzimas antioxidantes que son producidas en la hipodermis y protegen al nematodo de la respuesta oxidativa del hospedante frente a la infección. Así también, las proteínas producidas y secretadas por las células de las glándulas esofágicas dentro de la planta hospedante por medio del estilete, son señales moleculares que desencadenan la activación de rutas de señalización, que conducen a la supresión de la defensa del hospedante y a la inducción de células gigantes (Abad *et al.*, 2009).

Mientras se están formando las células gigantes y los nódulos, aumenta el ancho del nematodo y hay una dilatación considerable de las glándulas esofágicas. Las células del primordio genital se dividen y éste se agranda haciéndose notorio, dos ramificaciones en la hembra o formando un cuerpo alargado en el macho (Taylor y Sasser, 1983). Cuando se completan la segunda y tercera muda en la hembra, evidenciadas por las dos cutículas desprendidas, el estilete y el bulbo esofágico medio desaparecen.

Poco después de la cuarta muda el estilete y el bulbo medio son regenerados, se forman el útero y la vagina y el patrón perineal se hace visible. La hembra de la cuarta etapa continúa aumentando de grosor y un poco más de longitud, sufriendo la última muda y desarrollándose como hembra adulta, de forma piriforme. Las hembras pueden producir huevos por dos a tres meses y viven algún tiempo más después de que cesa la producción de huevos. El ciclo termina cuando la hembra pone su primer huevo (Taylor y Sasser, 1983).

Después de la segunda y tercera muda en el macho, el estilete no es visible, el bulbo esofágico medio se ha degenerado y sólo la gónada se ha alargado. Luego ocurre una rápida metamorfosis: el cuerpo alargado se desarrolla dentro de la cutícula, completo con estilete, esófago con bulbo medio, espículas, y esperma en los testículos.

El macho de la cuarta etapa es vermiforme y sufre una última muda y emerge de la raíz ya como adulto.

No hay evidencia de alimentación por parte de machos adultos y pueden ser encontrados en especies partenogénicas cuando las condiciones son desfavorables para el desarrollo de la hembra, por ejemplo, cuando las densidades son muy altas y hay una limitación del suministro de alimentos. Los machos probablemente viven sólo semanas (Taylor y Sasser, 1983; Moens *et al.*, 2009).

### **1.8. Interacción entre Hongos micorrízicos arbusculares y nematodos**

Los Hongos Micorrízicos Arbusculares son un grupo de endófitos simbióticos que pueden estimular el crecimiento y desarrollo de las plantas al mejorar su estado nutricional (Azcón-Aguilar & Barea, 1996; Borowicz, *et al.*, 2001).

Aparte de mejorar el estado nutricional, los HMA tienen un efecto protector contra una amplia gama de bacterias y hongos del suelo (Borowicz, *et al.*, 2001), así como contra los nematodos que se alimentan de las raíces (Elsen, *et al.*, 2008; Hol, *et al.*, 2005; Pozo, *et al.*, 2007).

En algunos cultivos, se ha demostrado que las asociaciones de micorrizas tienen un efecto supresor sobre los nematodos endoparásitos (Smith, *et al.*, 1988; Vaast, *et al.*, 1998; De la Peña, *et al.*, 2006), de modo HMA podría considerarse agentes de control biológico (Pinochet, *et al.*, 1996).

Los mecanismos involucrados en la supresión de los nematodos podrían relacionarse con una competencia por el espacio o con cambios fisiológicos en la raíz que la hacen desfavorable como fuente de alimentación (Hussey, *et al.*, 1982).

Algunos autores señalan que los hongos micorrízicos reducen la invasión y reproducción de los nematodos (Gryndler, *et al.*, 2000; Rajeswari, *et al.*, 2001; Waceke, *et al.*, 2001).

Se mostró que las plantas pre inoculadas con HMA resisten a la infestación de *Meloidogyne* sp., debido a que desarrolla una cutícula radicular más gruesa; por tanto, la tasa de infección es baja; además, también se mostró que estos hongos pueden

ser utilizados en plantaciones infectadas con nematodos a fin de evitar pérdidas mayores en la productividad (Alban, *et al.*, 2013).

## CAPÍTULO II:

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1. Metodología

##### 2.1.1. Ubicación del área de estudio

El trabajo de investigación fue instalado en el laboratorio de fisiología vegetal y vivero de la Universidad Nacional de San Martín” la cual presenta las siguientes características:

- a) Ubicación Política
  - Distrito: Morales
  - Provincia: San Martín
  - Departamento: San Martín
- b) Ubicación Geográfica
  - Latitud Sur: 06°35'28"
  - Longitud Oeste: 76°18'47"
  - Altitud: 330 m.s.n.m.m.
- c) Condiciones Ecológicas

Según Holdridge (1975), nos dice que el lugar donde se realizará la presente investigación se encuentra en la zona de vida de Bosque seco tropical (bs – T).



*Figura 1:* Laboratorio de Fisiología



*Figura 2:* Vivero de Agronomía.

##### 2.1.2. Diseño de investigación

Se empleó el Diseño Completo al Azar (DCA), con 6 tratamientos (Tabla 2) y 20 repeticiones por cada tratamiento, cada planta fue una repetición. La unidad



experimental estuvo constituida por una planta de sachá inchi y el diseño experimental tuvo 120 plantas o unidades experimentales.

Tabla 2:

*Tratamientos en estudio.*

Ttos.	Descripción	Concentración del inóculo/plantón	
		HMA (Esporas)	Nematodos (Huevos + J2)
<b>T1</b>	Fuente de inóculo de HMA (Lamas) + Nematodos	1500	1500
<b>T2</b>	Fuente de inóculo de HMA (Dorado) + Nematodos	1500	1500
<b>T3</b>	Fuente de inóculo de HMA (Lamas) – Nematodos	1500	00
<b>T4</b>	Fuente de inóculo de HMA (Dorado) – Nematodos	1500	00
<b>T5</b>	Sin inoculación de HMA + Nematodos	00	1500
<b>T6</b>	Sin inoculación de HMA - Infestación con Nematodos ( <b>Testigo Absoluto</b> )	00	00

La inoculación con las diferentes fuentes de inóculo se realizó al momento de la siembra (0 DDS) de las plántulas de sachá inchi y la infestación con *Meloidogyne* spp. Se efectuó a los 90 días después de la inoculación.

### 2.1.3. Flujograma de Actividades

#### 2.1.3.1. Fase de Campo

- **Fuente de inóculo de HMA nativos**

La fuente de inóculo fue proporcionada por el Instituto de investigaciones de la Amazonia peruana (IIAP) en el marco del proyecto micorrizas, debido a que el proyecto al cual perteneció la tesis no contaba con mucho tiempo como para hacer la fase de campo y multiplicación de esporas de HMA. Las zonas de colecta se realizaron de las localidades de Aviación (Lamas) y Monte de los Olivos (El Dorado).

- **Análisis físico y químico del suelo de tratamientos en estudio**

Se realizó los análisis físicos-químicos de suelos de los 2 tratamientos estudiados, para determinar su pH, materia orgánica (M.O), niveles de fósforo y nitrógeno, así también su clase textural.

- **Análisis físico y químico del suelo de vivero**

Se realizó el análisis de suelo de vivero para determinar las concentraciones físico-químicos en el que se sembraron los plantones de Sacha inchi.

Tabla 3:

*Análisis físico-químico del sustrato utilizado en vivero.*

Muestra	pH	M.O %	P Ppm	K Ppm	Arena	Limo	Arcilla	Clase Textural
Vivero	5.60	3.1	4.2	108	75	11	14	Fr. A.

**Fuente:** UNSM, 2015.

### 2.1.3.2. Fase de vivero

- **Siembra e Inoculación con HMA nativos a los plantones de sachá inchi**

La siembra consistió en una semilla escogida, clasificada según el tamaño de almendra y perteneciente al ecotipo “Ahuashiyacu” por presentar susceptibilidad al nematodo agallador (del nudo) proporcionado por el banco de germoplasma del IIAP, obteniéndose un porcentaje de germinación del 93%.

La inoculación se realizó a los 0 días (momento de la siembra) siguiendo la metodología propuesta por Colozzi, (Siqueira, Saggin, Gumaraes & Oliveira 1994) con modificaciones, en la que se colocó las semillas de Sacha inchi traídas del Instituto de investigaciones de la amazonia peruana (IIAP) en bolsas de polietileno (bolsas almacigueras) de 3 kilogramos aproximadamente, el cual contenía sustrato estéril (tierra negra + arena de río), en una proporción 2:1 y se inóculo con una mezcla de fragmentos de raíces de maíz (70 % de colonización en promedio) y suelo, de cada fuente de inóculo obtenido de los cultivos trampa, a razón de 1500 esporas por cada plantón de vivero.

- **Colecta de raíces infestadas por *Meloidogyne* spp.**

Se colectó raíces infectadas de plantas de Sacha inchi (Figura 3, superior izquierdo) de una parcela de Lamas, en este caso Aviación que presentó un alto porcentaje de infección causado por *Meloidogyne* en plantas de Sacha inchi ya establecidas en campo.

Luego estas muestras fueron llevadas al laboratorio de Fisiología Vegetal de la UNSM-T, donde se seleccionaron las raicillas que mostraban ciertas nodulaciones y daños por nematodos (Figura 3, inferior izquierdo), luego se procedió a lavarlas quitándole las partículas de suelo (Figura 3, superior derecho), y por último se obtuvo las raicillas (Figura 3, inferior izquierdo).



**Figura 3:** Procedimiento para la colecta y selección de raíces con agallas.

- **Preparación de Fuente de Inóculo a base de *Meloidogyne* spp.**

La preparación del inóculo con el nematodo *Meloidogyne* se realizó siguiendo la metodología propuesta por Rojas & Salazar (2013), con modificaciones. Se tomaron raíces de Sacha inchi previamente lavadas que contenían gran cantidad de agallas y se cortaron en trozos de aproximadamente 3 cm de longitud, los que se maceraron en una licuadora por un periodo de 30 segundos en una solución de Hipoclorito de sodio (0.5%). Posteriormente el material macerado se pasó a través de un juego de tamices de 90  $\mu\text{m}$ , 45  $\mu\text{m}$  y 38  $\mu\text{m}$ , con la finalidad de retener en los dos últimos tamices (45  $\mu\text{m}$  y 38  $\mu\text{m}$ ), huevos y juveniles de *Meloidogyne* spp. Después

de realizar varias extracciones hasta obtener la cantidad de inóculo necesaria para todos los tratamientos, siguiendo el procedimiento anterior, se acumuló el contenido en un frasco de vidrio de 1 litro, para posteriormente homogenizarlo y por medio del conteo de 3 alícuotas de 2 mL, obtener un promedio del número de huevos y estadios juveniles por mL de la solución. Dicho conteo se realizó con la ayuda de un microscopio binocular a 4X de aumento.

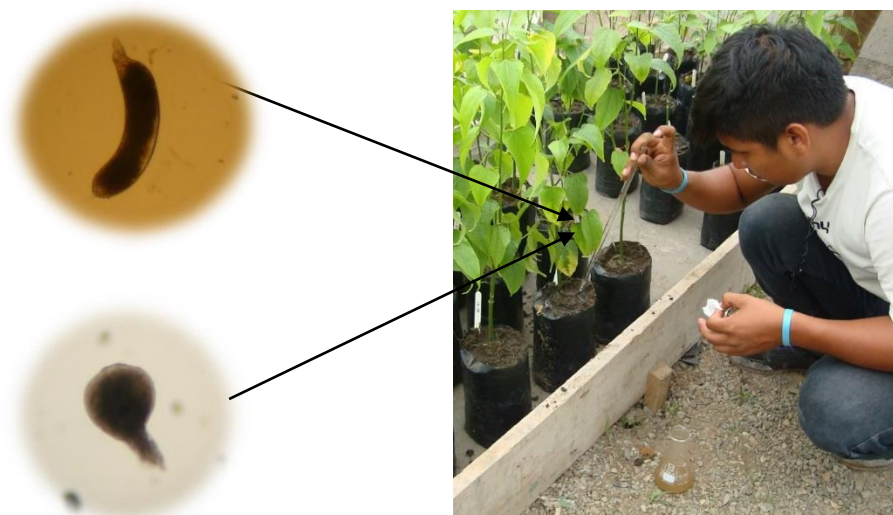


**Figura 4:** Procedimiento para la preparación del inóculo de *Meloidogyne* spp.

- **Infestación con *Meloidogyne* spp.**

La infestación con nematodos a los plántones de los diferentes tratamientos se realizó después de 90 días de haber inoculado las plantas de Sacha inchi con los HMA nativos, en una proporción de 1500 huevos+J2/plántula de sachá inchi, según metodología propuesta por Ferreira y Crozzoli (1995, citado en Rojas & Salazar, 2013) con modificaciones.

La aplicación se realizó utilizando una pipeta con el cual se extraían los 5 ml conteniendo el inóculo, luego se hizo un orificio de aproximadamente 1 cm de profundidad sobre la superficie y se procedió a la aplicación del inóculo alrededor de las plántulas de Sacha inchi.



**Figura 5:** Infestación de plántones con inóculo a base de *Meloidogyne* spp.

### 2.1.3.3. Fase de laboratorio

- **Cuantificación de esporas de HMA nativos**

La cuantificación de esporas de HMA nativos, se realizó mediante la técnica del tamizado húmedo y decantación, para las muestras proporcionadas por Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP), siguiendo la metodología propuesta por León (2006), con modificaciones. Se realizó 2 cuantificaciones, la primera para saber la densidad de esporas de las muestras, el cual fue de 200 esporas en promedio y la segunda fue para determinar la cantidad de esporas antes de su inoculación a los plántones de Sacha inchi, el cual tuvo en promedio 1069 esporas.

El procedimiento consistió en pesar 10 g de muestra de suelo y disolverlo en suficiente agua, para luego vaciarlo en un frasco de aproximadamente 5 L, el mismo que fue llenado con agua hasta el 80% de su capacidad y agitado por 10 segundos, luego se dejó reposar la mezcla por 30 segundos y seguidamente se vació el sobrenadante sobre los tamices de 250 y 38 micras, repitiendo el mismo procedimiento 5 veces y descartando el sobrante al frasco.

Luego se lavó cada tamiz y el sobrenadante del primero (250  $\mu\text{m}$ ) fue colocado en una placa Petri, a su vez el sobrenadante del segundo (38  $\mu\text{m}$ ) se colocó en un tubo de falcon en el que previamente fue colocado 20 ml de azúcar al 20 %, seguido de 20 ml de azúcar al 60% y guardado en refrigeración hasta llegar a terminar

el ensayo con todas las muestras. Estos tubos fueron centrifugados a 2400 rpm/ 4 minutos para precipitar partículas de suelo y suspender las esporas hasta la interface entre los dos azúcares.

Por último, el tubo falcon fue retirado cuidadosamente de la centrifuga, colocando el sobrenadante sobre el tamiz de 38 micras, para proceder a lavar con agua corriente y eliminar la sacarosa, dejando solamente las esporas, el cual fue vaciado en una placa Petri, para luego ser observado en un microscopio estereoscópico a 3X de aumento.



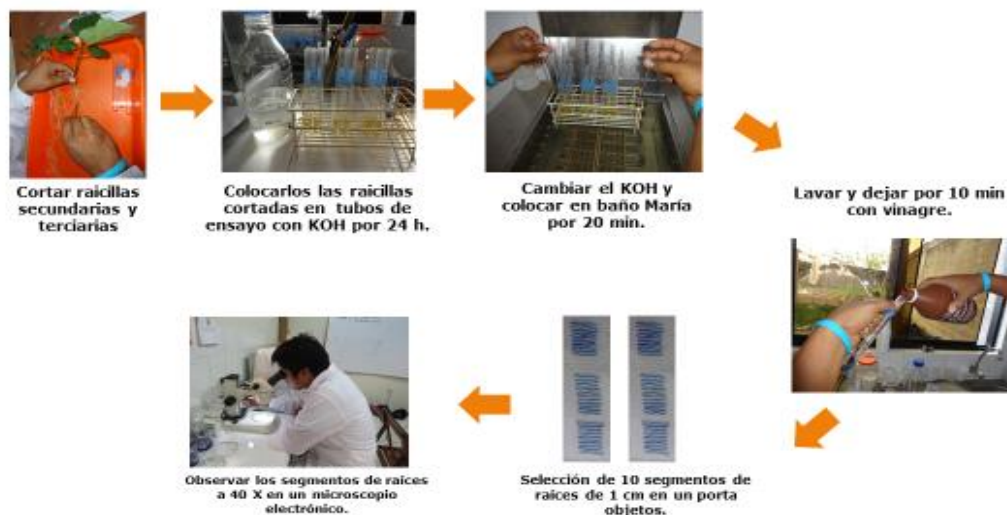
*Figura 6:* Observación y conteo de esporas de HMA de fuentes de inóculo.

- **Tinción de raíces de plantas de Sacha Inchi**

La tinción se realizó de acuerdo con la técnica de Phillips y Hayman (1970) con modificaciones. Para esto las raíces fueron puestas en tubos de ensayo de 16x150 mm conteniendo una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% hasta cubrir la muestra, las cuales se dejaron en KOH por 24 horas.

Después fueron colocadas en baño maría a 90°C durante 20 minutos con la finalidad de remover el contenido citoplasmático y clarificar el tejido cortical, luego se lavó tres veces con agua corriente hasta eliminar todo el KOH. Posteriormente las raíces fueron sumergidas en agua oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) durante 30 minutos a temperatura ambiente, para aclarar los pigmentos de la raíz, luego se lavaron con vinagre blanco de 2-3 veces para acidificar las muestras y se dejó en vinagre por 10 minutos.

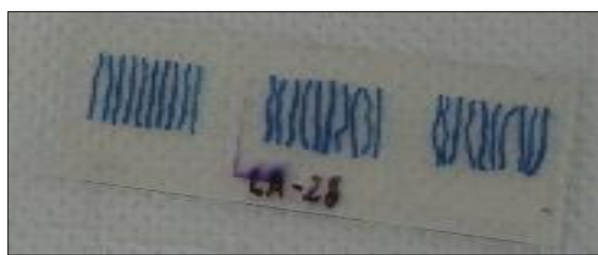
Finalmente, las raíces fueron sumergidas en tinte azul de trypano (0.25%), y colocadas en baño maría a 90°C durante 30 minutos, después del tiempo transcurrido estas fueron lavadas entre 2-3 veces con vinagre para eliminar el exceso de tinta. Por último, las raíces teñidas fueron conservadas en vinagre blanco, hasta su evaluación.



**Figura 7:** Procedimiento para la tinción de raíces de sachá inchi.

- **Técnica sistemática de portaobjeto**

Sobre una lámina porta objetos se colocó 30 segmentos de raíces teñidas de aproximadamente de 1 cm. en forma vertical, cuidadosamente amasados, con la finalidad de facilitar la observación del tejido interno, sobre estas raíces se adicionó gotas de lactoglicerol. Las observaciones se realizaron a 40X de aumento en un microscopio binocular, donde se registró el porcentaje de colonización. Metodología propuesta por León (2006) con modificaciones.



**Figura 8:** Raicillas teñidas y montadas.

- **Tinción de micelio extraradical de HMA nativos**

El MER constituye la interface activa entre el suelo y la planta, y se considera la estructura más importante para el cumplimiento de la función de la micorriza en cuanto a captación de nutrientes y agua (Whittingham & Read, 1982, citado en Robles, 2009). La determinación de su longitud por unidad de masa de suelo es un indicador del posible beneficio que reciben las plantas de esta estructura y de su

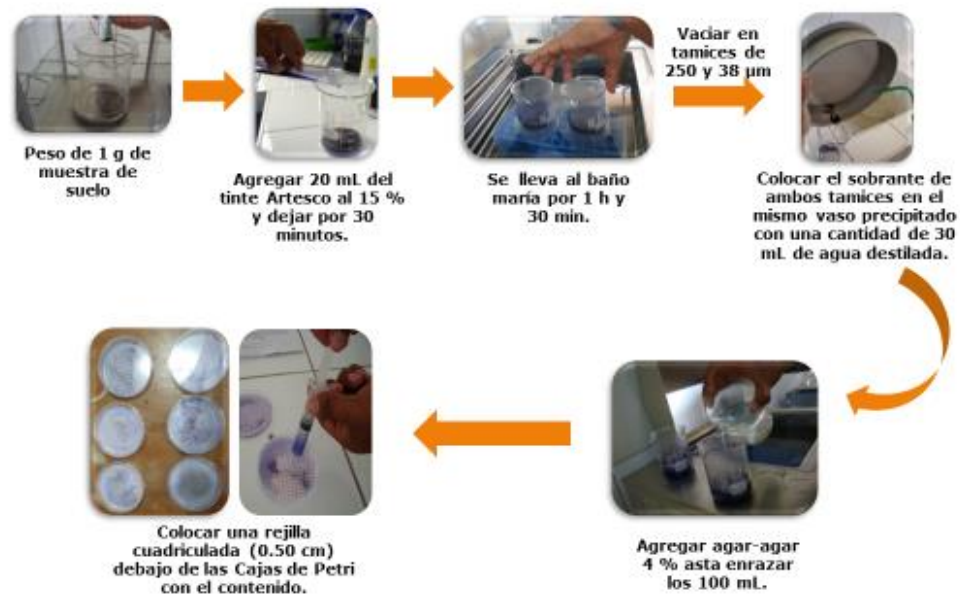
contribución al mejoramiento de las propiedades físicas del suelo (Tisdall, 1991, citado en Robles, 2009).

El procedimiento consistió en pesar 1 g de suelo previamente secado al aire y colocarlo en un vaso precipitado de 200 mL, al cual se le agregó una pequeña cantidad de vinagre y se dejó por de 10 minutos, esto fue para dispersar los agregados del suelo y acidificar los segmentos de micelios. Así mismo se agregó 20 mL de solución de PELIKAN al 10% disuelto en ácido acético y se dejó a T° ambiente por 30 minutos. Seguidamente se enrazó hasta los 100 mL con agua destilada y se colocó en baño maría (90 °C) por un periodo de 90 minutos, siendo ésta agitada constantemente.

Para eliminar las fracciones más finas del suelo la mezcla resultante se pasó por tamices con diferente luz de malla (38  $\mu\text{m}$ ), el material retenido en ambos tamices fue depositado nuevamente en el mismo vaso precipitado con una cantidad de 30 mL de agua destilada. Posteriormente se volvió a llevar las muestras a baño maría (90°C) por 1 minuto y se enrazó hasta los 100 mL (agregando 70 ml con agar-agar al 0.64%), esta solución se dejó por aproximadamente 5 minutos más en baño maría (90°C), obteniendo al final una concentración de solución de agar-agar al 0.45 %.

En el baño maría se agitó la mezcla para homogeneizar la suspensión y con la ayuda de una jeringa se tomó 10 mL, el cual se depositó homogéneamente, en una placa Petri y se dejó enfriar hasta la formación de un gel semisólido, el cual posteriormente se llevó a observar en un microscopio estereoscópico a 5X de aumento, colocando en la base de la placa una rejilla cuadrículada de exactamente 0.5  $\text{cm}^2$ .





**Figura 9:** Procedimiento para la tinción del Micelio extraradical.

## 2.2. Variables estudiadas

### 2.2.1. Variables biológicas

#### 2.2.1.1. Porcentaje de colonización micorrízica

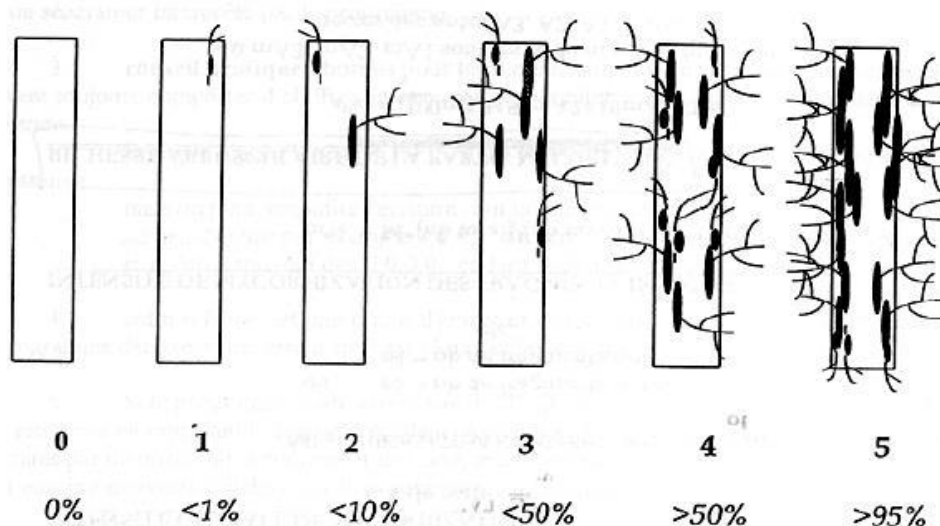
Se realizó utilizando raíces tiernas (secundarias y terciarias) de Sacha inchi, siguiendo la metodología de tinción de raíces propuesta por Phillips y Hayman (1970) y el protocolo de la técnica sistemática de porta objetos propuesta por León (2006) con modificaciones.

Para determinar el porcentaje de micorrización a nivel del sistema radicular se calculó siguiendo la metodología propuesta por Trouvelot *et al.*, (1986, citado en Gañán, Bolaños y Asakawa, 2011).

$$\%M = (n_1 + 5(n_2) + 30(n_3) + 70(n_4) + 95(n_5))/N$$

N= Número total de segmentos observados

n=Números de segmentos asignados con el índice 0, 1, 2, 3, 4 y 5



**Figura 10:** Escala gradual de intensidad de colonización, según (Trouvelot *et al.*, 1986, citado en Gañán *et al.*, 2011).

### 2.2.1.2. Longitud de micelio extraradical (MER)

Se realizó utilizando la técnica del gel semisólido y cuantificación por el método de intersección de cuadrantes. En la cual las muestra que previamente fueron preparadas siguiendo la metodología de tinción de micelio extraradical, fueron llevados a un microscopio estereoscópico de 5X, en la cual se contaron las intersecciones hifa-línea y se trasformaron a longitud de micelio por unidad de peso de suelo utilizando la fórmula de Newman, (1966, citado en Robles, 2009).

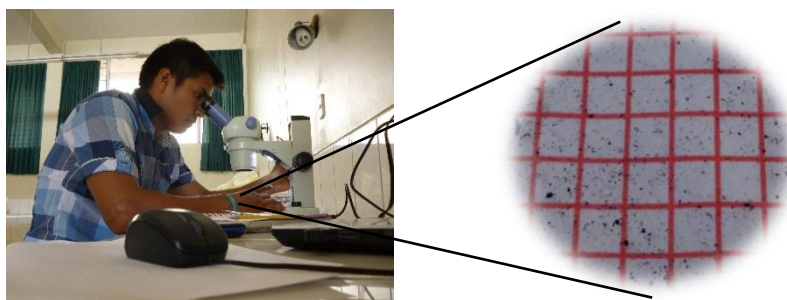
$$R = \frac{AN}{2H}$$

R= Longitud de micelio por unidad de peso de suelo

A= Área de la placa

N= Número de intersecciones

H= Longitud total de las líneas de la placa (en cm)



**Figura 11:** Observación y conteo de micelio extraradical.

### 2.2.1.3. Porcentaje de infección por *Meloidogyne spp.*

La determinación del porcentaje de infección causado por *Meloidogyne spp.*, en el sistema radicular de las plantas de Sacha inchi, se realizó mediante una escala cuantitativa de infección radical propuesta por Taylor y Sasser (1983, citado en Gelpud *et al.*, 2011) y a la vez tomando los grados de reacción de estos, se pudo obtener una escala de resistencia (Sañudo *et al.*, 2003; Sharma *et al.*, 2006, citado en Gelpud, *et al.*, 2011), siendo estas probadas para el nematodo *Meloidogyne spp* en el cultivo de tomate (Tabla 5).

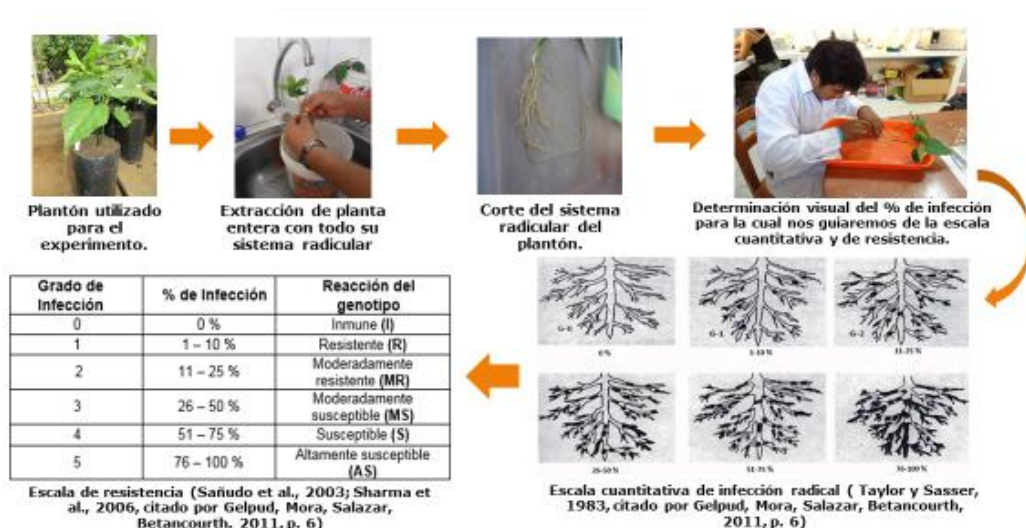
El cálculo del porcentaje de infección consintió en pesar 3 repeticiones de 100 agallas para así obtener un promedio (0.1648 g), luego se contó la cantidad de agallas presentes en cada plantón de Sacha inchi y se comparó con el promedio de las 100 agallas, finalmente para obtener el porcentaje de infección se tuvo que comparar el peso fresco total del sistema radicular con el peso total de las agallas presentes en cada plantón de Sacha inchi.

Tabla 4:

*Escala cuantitativa y de resistencia de infección radical causado por Meloidogyne spp.*

<b>Grado de Infección</b>	<b>% de Infección</b>	<b>Clasificación</b>
0	0 %	Inmune ( <b>I</b> )
1	1 – 10 %	Resistente ( <b>R</b> )
2	11 – 25 %	Moderadamente resistente ( <b>MR</b> )
3	26 – 50 %	Moderadamente susceptible ( <b>MS</b> )
4	51 – 75 %	Susceptible ( <b>S</b> )
5	76 – 100 %	Altamente susceptible ( <b>AS</b> )

El grado y porcentaje de infección descrito por (Taylor y Sasser, 1983) en cambio la clasificación estudiada por (Sañudo *et al.*, 2003; Sharma *et al.*, 2006).



**Figura 12:** Proceso para determinar el porcentaje de infección en raíces de sachu inchi causado por *Meloidogyne spp.*

## 2.2.2. Variables morfológicas

### 2.2.2.1. Longitud de raíz principal

Para la evaluación de longitud de raíz, se tomaron 4 plantas por tratamiento previamente lavadas y se cortaron en la base del tallo y se procedió a medir desde la base hasta la cofia de la raíz principal.

### 2.2.2.2. Peso seco del sistema radicular

Para la evaluación de la variable peso seco del sistema radicular, se tomaron 4 plantas previamente lavadas y se cortaron en dos partes separando la parte aérea de la parte radicular; tomando únicamente la parte radicular, del cual se llegó a obtener un peso fresco, siendo luego llevada a una estufa con una temperatura de 60 °C, por un periodo de 3 días, luego se procedió a realizar los pesos respectivos con la ayuda de una balanza analítica (OHAUS), siguiendo la metodología propuesta por Leiva (2009) con modificaciones.

## 2.3. Análisis estadístico

La investigación fue de tipo experimental, para la cual se utilizó el diseño completo al azar (DCA); unifactorial, siendo un total de 6 tratamientos (Tabla 6), con cuatro observaciones por tratamiento; con un nivel de significancia de  $p < 0,05$  probabilidad de error para determinar la naturaleza de las diferencias entre tratamientos (PADRON, 1996) ; previo al análisis de la varianza, para las variables

porcentaje de infección y colonización se transformaron en la transformación de Bliss o transformación angular  $\sqrt{\%}$  (BOX et al., 1989).

Los datos fueron sometidos a la prueba Tukey con un nivel de significancia de  $p < 0,05$ . Se almacenaron y analizaron los datos de la última evaluación en el software SPSS v. 20, posteriormente para su interpretación, los valores promedios se convirtieron a las unidades originales.

Tabla 5:

*Distribución de los tratamientos de estudio*

<b>Tratamientos</b>	<b>Descripción</b>	<b>Observaciones</b>
<b>T1</b>	HMA Lamas + Nematodos	4
<b>T2</b>	HMA Dorado + Nematodos	4
<b>T3</b>	HMA Lamas	4
<b>T4</b>	HMA Dorado	4
<b>T5</b>	Testigo + Nematodos	4
<b>T6</b>	Testigo Absoluto	4

## CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSION

### 3.1. Variables biológicas

#### 3.1.1. Porcentaje de colonización micorrízica (%)

Tabla 6:

*Análisis de varianza del porcentaje de colonización en *Plukenetia volubilis* L. evaluados a los 180 días. Datos transformados  $\arcsen \sqrt{\%}$*

<b>FV</b>	<b>SCT</b>	<b>GL</b>	<b>SCM</b>	<b>Fc</b>	<b>Sig.</b>
<b>Tratamiento</b>	103,933	3	34,644	26,217	0,0001**
<b>Error</b>	15,858	12	1,321		
<b>Total</b>	119,791	15			

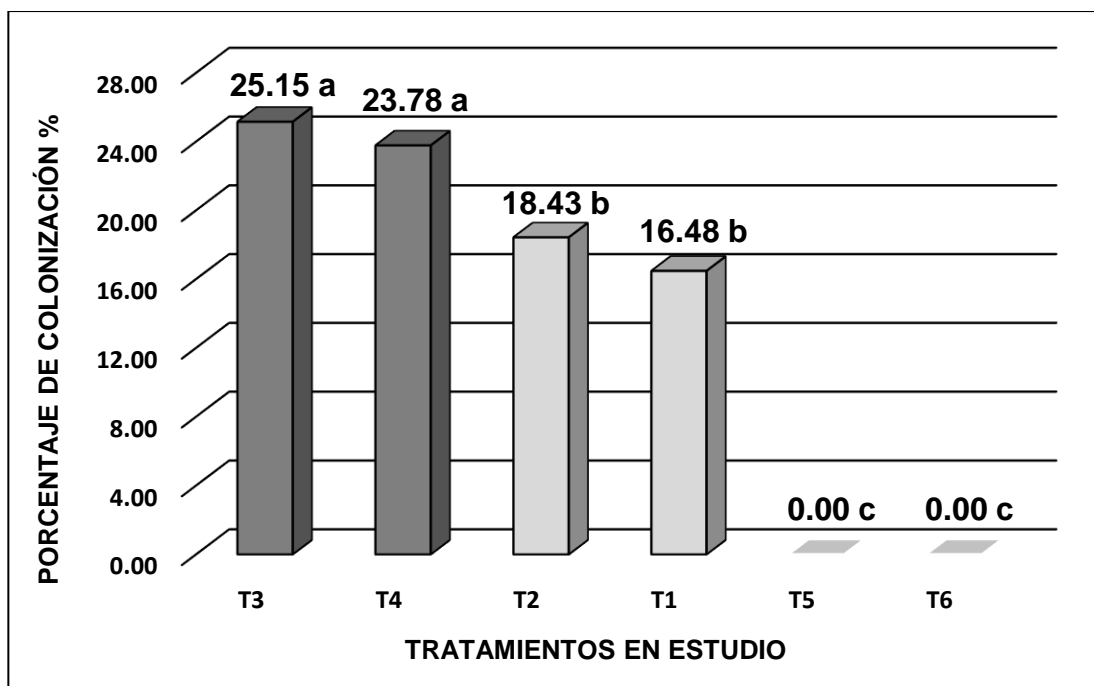
**$R^2$  (%) = 86,8**

**CV (%) = 4,23**

**$\bar{x}$  = 27,15**

El análisis de varianza para el porcentaje de colonización obtenidos en los 4 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, ya que Ft es menor que Fc para los niveles de probabilidad requeridas, mostrando la media de 27,15%, con coeficiente de variabilidad de 4.23% y coeficiente de determinación de 86.8%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias Tukey (Figura 14) muestra que los tratamientos más sobresalientes estadísticamente a diferencia del resto fueron el T3 con 25.15% y T4 con 23.78% estadísticamente similares, seguido de los tratamientos T2 con 18.43% y T1 con 16.48% estadísticamente similares, a comparación de los testigos que presentaron 0% de colonización por no haber sido inoculados.



**Figura 13:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) para el porcentaje de colonización micorrízica bajo la interacción directa de fuentes de inóculo HMA e inóculo de *Meloidogyne spp.*, evaluados a los 180 días después de la siembra.

Que el porcentaje de colonización se haya mostrado más en los tratamientos (T3 y T4) puede deberse a que los HMA no han tenido interacción con otros microorganismos por la competencia del espacio radicular para desarrollarse, ya que dichos tratamientos solo fueron inoculados con HMA, en cambio los tratamientos T1 y T2 fueron infestados con el nemátodo reduciéndose el porcentaje de colonización significativamente en ambos tratamientos.

En la literatura existen tanto citas donde la colonización micorrízica no fue afectada por el establecimiento del nemátodo (Gómez et al., 2008), como de reducciones e incrementos en la colonización por HMA en presencia de distintas especies de *Meloidogyne* (Gera-Hol y Cook, 2005). Estas reducciones en el porcentaje de micorrización (T1 y T2) en presencia de *Meloidogyne spp.*, se debe muchas veces, a que el establecimiento de la micorriza es afectado cuando los nemátodos son inoculados simultáneamente junto con los HMA, pero cuando el HMA ha colonizado las raíces antes de la infestación por el nemátodo las variables de micorrización se afectan levemente (Talavera et al., 2002), como el caso de esta investigación; siempre que el inóculo de nemátodos no sea demasiado elevado.

Uno de los mecanismos propuestos para la reducción de la micorrización debida a la infestación por el nemátodo fue documentado por Jenkins y Taylor en 1967. Estudiaron cómo *M. javanica* invadió el cilindro vascular de la planta y los tejidos de alrededor se vieron afectados por la formación de las agallas. El transporte de agua y metabolitos a través de las raíces alteradas se interrumpió, y este hecho interfiere con el movimiento de metabolitos necesarios para el HMA.

Sin embargo, aunque en este estudio *Meloidogyne* spp. fue inoculado varias semanas después que los HMA, permitió a la micorriza colonizar una elevada proporción de raíces antes de la infestación del nemátodo, el establecimiento de los HMA, en general, disminuyó debido a la infestación por *Meloidogyne* spp., probablemente debido a las altas densidades de inóculo utilizadas en este ensayo 1500 J2+huevos. Este hecho se encuentra apoyado por el reducido porcentaje de colonización y número de vesículas documentado en algunas interacciones micorriza-nemátodo (Smith y Kaplan, 1988; Camprubi *et al.*, 1993; Jaizme-Vega *et al.*, 1997).

Otros mecanismos implicados en la interacción HMA-*Meloidogyne*, podrían ser la destrucción de células que contribuyan al establecimiento de la simbiosis HMA-planta por parte del nemátodo o la respuesta de defensa en las plantas hospedantes, consecuencia de la infestación de las raíces por el nemátodo, que puedan interferir en el proceso de micorrización (Gera-Hol y Cook, 2005).

Diedhiou *et al.*, (2003) realizaron un examen microscópico de secciones radicales revelando que, *Glomus coronatum* coloniza preferiblemente el parénquima cortical de la raíz mientras que, *M. incognita* se localiza generalmente en el cilindro central, por lo que sugirieron que ambos microorganismos podrían coexistir sin afectarse mutuamente en cuanto a su distribución espacial en las raíces, por lo que la disminución del porcentaje de micorrización en presencia de nemátodos parece ser debida más a mecanismos bioquímicos y moleculares en el proceso de colonización radicular, por parte de ambos microorganismos, que a un efecto de competición física por el espacio dentro de la raíz.



### 3.1.2. Longitud de micelio extraradical (cm)

Tabla 7:

*Análisis de varianza de la longitud de micelio extraradical de Plukenetia volubilis L. evaluados a los 180 días.*

<b>FV</b>	<b>SCT</b>	<b>GL</b>	<b>SCM</b>	<b>Fc</b>	<b>Sig.</b>
<b>Tratamiento</b>	3572,619	3	1190,873	10,195	0,0001**
<b>Error</b>	1401,687	12	116,807		
<b>Total</b>	4974,307	15			

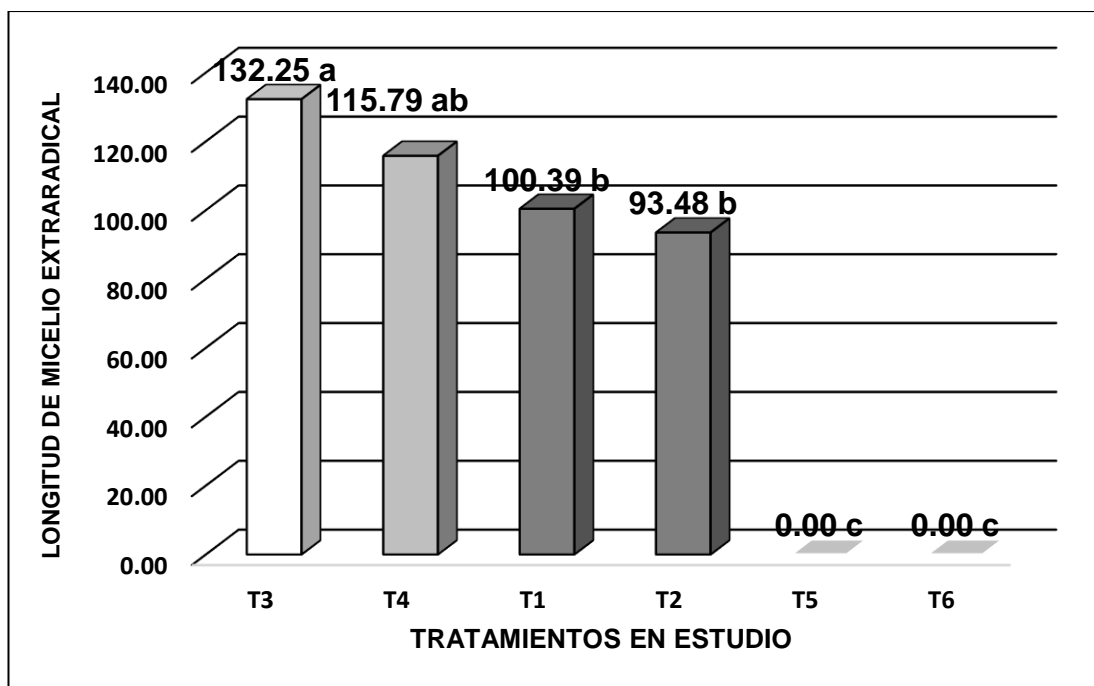
$R^2$  (%) = 71,8

CV (%)=9,78

$\bar{x}$  = 110,47

El análisis de varianza para Longitud de Micelio Extraradical obtenido en los tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, ya que Ft es menor que Fc para los niveles de probabilidad requeridas, mostrando la media de 110,47 cm, con coeficiente de variabilidad de 9,78% y coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de 71,8%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey (Figura 15) muestra que el tratamiento más sobresaliente estadísticamente fue el T3 con 132,25 cm., diferente estadísticamente de T4 con 115.79 cm y este a su vez diferente de T1 y T2 con valores estadísticamente iguales de 100.39 cm y 93,48 cm respectivamente y por último estuvieron los testigos con valores de 0 cm al no haber sido inoculados con HMA nativos.



**Figura 14:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) para la longitud de micelio extraradical de la planta bajo la interacción directa entre: inóculos de HMA e inóculos de *Meloidogyne spp.*, evaluados a los 180 días después de la siembra.

Los resultados obtenidos, nos demuestran que existe una estrecha relación con el porcentaje de colonización en los tratamientos T3 y T4 que obtuvieron los valores más altos y fueron los mismos en longitud de micelio extraradical, pudiendo deberse a que estos tratamientos solo fueron inoculados con HMA, en cambio los T2 y T1 fueron infestados con nematodos lo que podría haber causado la variabilidad debido al antagonismo entre los mismos.

Siendo estos resultados totalmente diferentes a los encontrados por (Chinchay, 2016), que en su trabajo de estudiar el efecto de HMA sobre *Meloidogyne spp.* en plántones de café Variedad caturra encontró que la longitud de micelio extraradical no está directamente relacionada con el porcentaje de colonización ya que sus tratamientos que obtuvieron los mayores valores en MER (T9 con 168,5 cm y T5 con 38,8 cm) no fueron los mismos para la colonización (T2 con 29,3% y T9 con 24,2%), así mismo, Hart y Reader (2002, citado en Robles, 2009) demostraron que los miembros de la familia Gigasporaceae suelen presentar una gran cantidad de MER, pero no colonizan intensivamente la raíz de la planta hospedera.

### 3.1.3. Porcentaje de infección de raíces (%)



**Figura 15:** A. Tratamiento HMA Lamas + nematodo B. Tratamiento HMA Dorado + Nematodos C. Testigo infestado D. Testigo absoluto.

Tabla 8:

*Análisis de varianza del porcentaje de infección de *Plukenetia volubilis* L. evaluados a los 180 días. Datos transformados arcsen  $\sqrt{\%}$*

<b>FV</b>	<b>SCT</b>	<b>GL</b>	<b>SCM</b>	<b>Fc</b>	<b>Sig.</b>
<b>Tratamiento</b>	169,214	2	84,607	26,339	0,000**
<b>Error</b>	28,910	9	3,212		
<b>Total</b>	198,124	11			

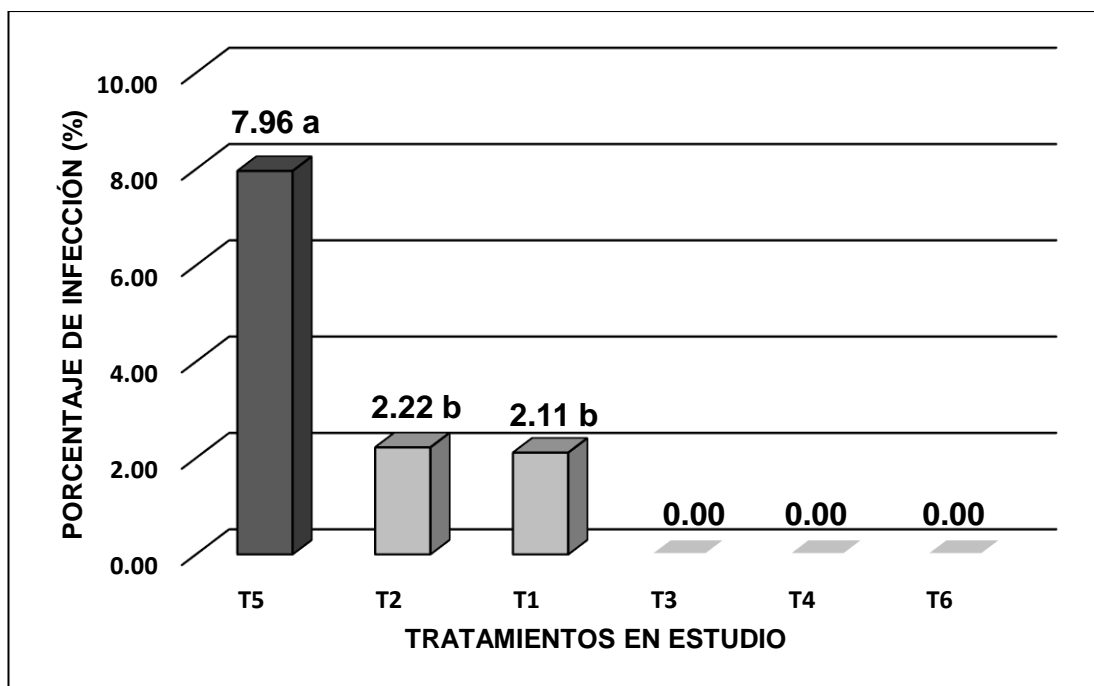
**$R^2$  (%) = 85,4**

**CV (%) = 16,31**

**$\bar{x}$  = 10,99**

El análisis de varianza para porcentaje de infección por *Meloidogyne spp.*, obtenido en los tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, ya que  $F_t$  es menor que  $F_c$  para los niveles de probabilidad requeridas, mostrando la media de 10,99%, con coeficiente de variabilidad de 16,31% y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 85,4%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey (Figura 16) muestra que el tratamiento con mayor infección radical fue el T5 con un 7,9% estadísticamente diferente de T2 y T1, los cuales presentaron valores favorables de 2,22 y 2,11 estadísticamente iguales.



**Figura 16:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) para el porcentaje de infección de raíces bajo la interacción directa entre: inóculos de HMA e inóculos de *Meloidogyne spp.*, evaluados a los 90 días después de la infestación.

Los resultados nos demuestran que existe antagonismo, es decir que los plántones inoculados con HMA presentaron menor porcentaje de infección a comparación con el testigo infestado. La severidad de la enfermedad o índice de agallas fue reducida en plantas micorrizadas por los HMA en los tratamientos T1(2.11%) y T2(2.22%), en comparación con las plantas sin micorrizar T5(7,9%). En la literatura se recogen estudios que indican la reducción del daño que provocan los patógenos sobre las plantas, gracias al establecimiento de la simbiosis con el HMA (Azcón-Aguilar y Barea, 1996; Bi *et al.*, 2007).

Además de los cambios en la capacidad de captación de nutrientes en el sistema radical, existen otros mecanismos del HMA responsables del control del patógeno radicular como son la compensación de los daños de la raíz, cambios morfológicos y anatómicos en el sistema radical, efecto micorrizosférico sobre las poblaciones microbianas, competición por los fotosintatos o por los sitios de colonización/infestación y activación de los mecanismos de defensa de la planta (Demir y Akkopru, 2005; Liu *et al.*, 2007).

Adicionalmente, los tratamientos con *Glomus* spp. han sido documentados por incrementar los contenidos en fenilalanina y serina en las raíces de tomate (Suresh, 1980); estos aminoácidos presentan efectos inhibitorios sobre los nemátodos (Reddy, 1974). Varios estudios demostraron una inhibición de la actividad nematológica en plantas micorrizadas (Al-Raddad, 1995; Diedhiou *et al.* 2003). Sin embargo, Talavera *et al.* (2001) no revelaron diferencias entre las plantas micorrizadas y no micorrizadas cuando *G. mosseae* y *M. incognita* fueron inoculados simultáneamente.

Esto sugiere que, no hay una única respuesta en las poblaciones de nemátodos a la inoculación mediante HMA y que, esta respuesta podría depender de las interacciones entre la planta hospedadora y el hongo. Se propone una cierta extensión de la micorrización para alcanzar un biocontrol suficiente. Saleh y Sikora (1984) demostraron que, se necesitó una micorrización del 38% por *G. fasciculatum* para el control de *M. incognita* en algodón. También se plantea la necesidad de una micorrización previa a la infestación (Talavera *et al.*, 2001), tal como se realizó en esta investigación.

### 3.2. Variables morfológicas

#### 3.2.1. Longitud raíz principal (cm)

Tabla 9:

*Análisis de varianza de la longitud de la raíz principal de Plukenetia volubilis L. evaluados a los 180 días.*

<b>FV</b>	<b>SCT</b>	<b>GL</b>	<b>SCM</b>	<b>Fc</b>	<b>Sig.</b>
<b>Tratamiento</b>	83,100	5	16,620	9,192	0,000**
<b>Error</b>	32,545	18	1,808		
<b>Total</b>	115,645	23			

$R^2$  (%) = 71,9

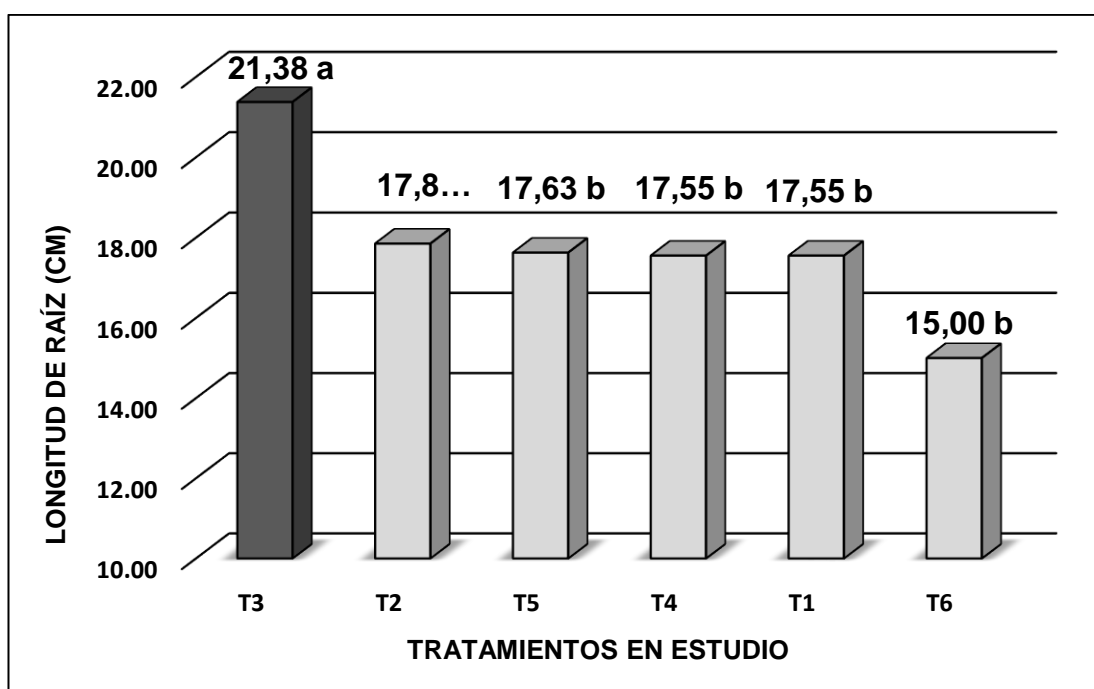
CV (%)=7,54

$\bar{x}$  = 17,83

De lo expuesto en el análisis de varianza longitud de raíz principal de planta obtenido en los 06 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, ya que  $F_t$  es menor que  $F_c$  para los niveles de probabilidad requeridas, mostrando la media de 17,83 cm, con coeficiente de variabilidad de 7,54% y

coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 71,9%, estos resultados nos indica que están dentro del rango de variación de los tratamientos aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey (Figura 17) muestra que el tratamiento T3 con 21,38 cm es estadísticamente diferente, respecto a los demás tratamientos estadísticamente similares de T2 (17,85 cm); T5 (17,63cm); T4 (17,55 cm); T1 (17,55 cm) y el tratamiento que obtuvo el menor valor T6 con 15,00 cm que fue el testigo absoluto de esta investigación.



**Figura 17:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) para longitud de la raíz de la planta bajo la interacción directa entre: inóculos de HMA e inóculos de *Meloidogyne spp.*, evaluados a los 180 días después de la siembra.

La habilidad de las plantas para sacar ventaja de los nutrientes disponibles en el suelo, está sujeta a las propiedades morfológicas y fisiológicas de su sistema radicular, donde, las variables longitud de raíz por planta son parámetros que caracterizan la capacidad de absorción de una especie vegetal (Jungk y Claassen, 1997). De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación, parece existir una relación positiva entre la presencia del HMA y el incremento en la densidad de su sistema radicular.

En este sentido, la simbiosis raíz-hongo micorrízico, estimuló el incremento de la variable longitud de raíz, debido posiblemente a la ventaja que las raíces micorrizadas poseen para explorar mayor volumen de suelo y compensar sus necesidades nutricionales captando especialmente aquellos nutrientes de poca movilidad como el fósforo (Kovar y Claassen, 2005). Investigaciones realizadas por Moreno (1988) en *Solanum tuberosum* (papa) empleando consorcios micorrízicos de *G. fasciculatum*, confirman este hecho, donde demostró que plantas micorrizadas presentaban una mayor densidad radicular que plantas no micorrizadas.

### 3.2.2. Peso seco radicular (g)

Tabla 10:

*Análisis de varianza del peso seco radicular de Plukenetia volubilis L. evaluados a los 180 días.*

<b>FV</b>	<b>SCT</b>	<b>GL</b>	<b>SCM</b>	<b>Fc</b>	<b>Sig.</b>
<b>Tratamiento</b>	13,983	5	2,797	7,601	0,001**
<b>Error</b>	6,623	18	0,368		
<b>Total</b>	20,606	23			

**R<sup>2</sup> (%) = 67,9**

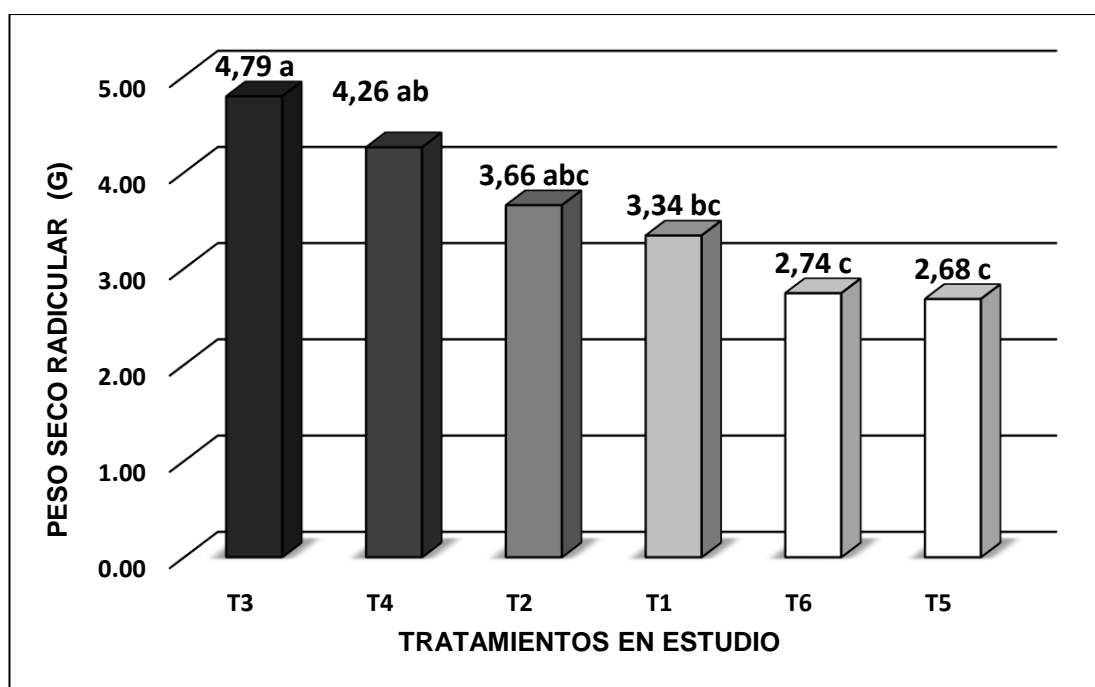
**CV (%) = 16,94**

**$\bar{x}$  = 3,58**

El análisis de varianza para el peso seco del sistema radicular obtenido en los 06 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, ya que Ft es menor que Fc para los niveles de probabilidad requeridas, mostrando la media de 3,58 g, con coeficiente de variabilidad de 16,94% y coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de 67,9%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey (Figura 18) muestra que el tratamiento T3 con 4,79 g obtuvo el mayor valor, por lo tanto, estadísticamente diferente de T4 con 4,26 g y este a su vez con T2 (3,66 g) y T1(3,34 g) estadísticamente diferentes de los testigos que obtuvieron los valores más bajos y estadísticamente similares de T6 (2,74 g) y T5 (2,68 g).





**Figura 18:** Prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) para el peso seco radicular de las plantas bajo la interacción directa entre: inóculos de HMA e inóculos de *Meloidogyne spp.*, evaluados a los 180 días después de la siembra.

Esta variable tiene una estrecha relación con el porcentaje de colonización, ya que el T3 con 4,79 g fue el mismo que obtuvo el mayor porcentaje de colonización con 25,15% esto se debe a que las plantas al ser colonizadas por los HMA inician una serie de cambios fisiológicos y bioquímicos, por lo cual se estimula el desarrollo radicular al fomentar la absorción de fósforo para la planta, traduciéndose en un mayor volumen radical, es así que la fuente de inóculo de Lamas sin nematodos obtuvo una mejor respuesta a esta variable, a comparación de los demás tratamientos y más aun con los testigos, los cuales obtuvieron el menor valor entre todos los tratamientos.

Estos resultados son similares a los encontrados por Estaún *et al.*, 2001; en su trabajo de inoculación de HMA en plántones de olivo y porta injertos micro propagados donde el tratamiento con *G. mosseae* obtuvo un peso seco radicular de 10,9 g y un 80% de colonización a los 24 meses en Variedad de Olivo “Arbequina”.

## CONCLUSIONES

- El tratamiento que mostró mejor respuesta a la variable porcentaje de colonización fue el T3 con 24,38%, que estuvo compuesta por la inoculación con HMA de la provincia de Lamas.
- El tratamiento que presento mejor respuesta a la variable Longitud de Micelio Extraradical fue el T3 con 168,5 cm, que consistió en la inoculación con HMA de la provincia de Lamas.
- El tratamiento que efectuó mayor antagonismo fue al tratamiento T1 con 2.11% que consistió en la inoculación de HMA de la provincia de Lamas en interacción directa con nematodos.
- El tratamiento T3 inoculado solo con HMA de la provincia de Lamas obtuvo los mejores resultados en variables morfológicas como longitud de raíz (21,38 cm) y peso seco (4,79g).

## RECOMENDACIONES

- El consorcio micorrízico de Lamas ha demostrado sobresalir entre todos los tratamientos en las variables Porcentaje de colonización y MER, por lo tanto, se recomienda estudiarlas más a profundidad, para lograr identificar los géneros y especies de HMA causantes de estas respuestas en sachá inchi.
- Las fuentes de inóculos de Lamas y el Dorado fueron eficaces al momento de efectuar antagonismo a nematodos en plantas de sachá inchi, por lo que se recomienda realizar estudios con fuentes de inóculos de distintas provincias de la región, con la cual obtener un mejor estudio sobre posibles controladores de nematodos a mayor tiempo y durante todo el periodo fenológico de la planta.
- Quedo demostrado que los tratamientos inoculados con HMA obtuvieron resultados superiores en variables morfológicas, por lo que se recomienda investigar temas de adaptabilidad de plantones de diferentes especies de plantas como plátano, cacao, forestales, etc. A suelos degradados contribuyendo al medio ambiente.
- Realizar estudios a nivel de especies de HMA con el fin de encontrar las más eficientes para los cultivos más importantes de nuestra región con el fin de incrementar el vigor y así la resistencia a enfermedades radiculares.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, P.; Castagnone-Sereno, P.; Rosso, MN; De Almeida, J.; Favery, B. (2009). *Invasion, feeding and development*. In Perry, RN; Moens, M; Starr, JL. eds. Root-knot nematodes. London, UK. CAB International. p. 163-176.
- Agrios, G., (2005). *Plant Patology*. Fifth Edition. Elsevier Academic Press. USA. 826-872 pp.
- Alban, R.; Guerrero, R. y Toro, M. (2013). *Interactions between a Root Knot Nematode (Meloidogyne exigua) and Arbuscular Mycorrhizae in Coffee Plant Development (Coffea arabica L.)*. American Journal of Plant Sciences, 4, 19-23.
- Alexander, M., (AGT, México, 1981). *Introducción a la microbiología del suelo*. pp. 79-446.
- Al-Raddad, A. M., (1995). Interaction of *Glomus mosseae* and *Paecilomyces lilacinus* on *Meloidogyne javanica* of tomato. Mycorrhiza 5 (3): 233-236.
- Arévalo, G. (1995). *Informes de Resultados de Investigación. Programa Nacional de Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología*. Periodo 1990-1995. E.E. «El Porvenir». Perú. Tarapoto, 20 P.
- Azcón-Aguilar, C., Barea, J. M., (1996). *Arbuscular mycorrhiza and biological control of soil-borne plant pathogens – an overview of the mechanisms involved*. Mycorrhiza 6: 457-464.
- Azcón-Aguilar, C., Jaizme-Vega, M. C., Calvet, C., (2002). *The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil-borne plant pathogens*. In: Mycorrhizal Technology in Agriculture. Gianinazzi, S., Schüepp, H., Barea, J. M., Haselwander, K. (Eds.) Birkhäuser Verlag, Switzerland. Pp. 187-197.

- Barea, J. M., Azcón-Aguilar, C., Azcón, R., (1996). *Interactions between mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms within the context of sustainable soil-plant systems*. In: Multitrophic interactions in terrestrial systems. Gange, A. C., Brown, V. K. (Eds.) Blackwell, Oxford, US. Pp. 195-212.
- Bi, H. H., Song, Y. Y., Zeng, R. S., (2007). *Biochemical and molecular responses of host plants to mycorrhizal infection and their roles in plant defence*. *Allelopathy Journal* 20: 15-27.
- Borowicz, V. A. (2001). *Arbuscular mycorrhizal fungi alter plant-pathogen relations*. *Ecology*, 82, 3057–3068.
- Box, G; hunter, W. (1989). *Estadística para investigadores*. Introducción al diseño de experimentos, análisis de los datos y construcción de modelos. Ed. Reverté S.A. 675 p. Estados Unidos.
- Bruce R. (2006). *Defoliation and its effect on tree vitality*. Bartlett Tree Research Laboratory Technical Report; 2006.
- Brussaard, L., Kuyper, T. W., de Goede, R. G. M., (2001). *On the relationship between nematodes, mycorrhizal fungi and plants: functional composition of species and plant performance*. *Plant and Soil* 232: 155-165.
- Cachique, H, D. (2006). *Estudio de la Biología Floral y Reproductiva en el Cultivo De Sacha Inchi Plukenetia Volubilis L*. Tesis Ing. Agrónomo, Tarapoto, Perú. Universidad Nacional de San Martín. 85p.
- Camprubi, A., Pinochet, J., Calvet, C., Estaún, V., (1993). *Effects of the root-lesion nematode Pratylenchus vulnus and the vesicular arbuscular mycorrhizal fungus*

- Glomus mosseae* on the growth of three plum rootstocks. *Plant and Soil* 153: 223–229.
- Canto-Sáenz, M. (2010). *Separatas del Curso de Nematología*. Lima, Perú. Escuela de Posgrado. Especialidad de Fitopatología. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Cantrell, I. C., Linderman, R. G., (2001). *Preinoculation of lettuce and onion with mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity*. *Plant and Soil* 233: 269–281.
- Chinchay, R., Decny O. (2016). *Efecto de Hongos Micorrizas Arbusculares Nativos sobre el Nematodo Agallador de Raíces (Meloidogyne spp.) en Plantones de Café (Coffea arabica) Variedad Caturra en la Región de San Martín*. Tesis In. Agrónomo, Tarapoto, Perú. Universidad Nacional de San Martín. 60p
- Chitwood, DJ; Perry, RN. (2009). *Reproduction, Physiology and Biochemistry*. In Perry, R; Moens, M; Starr, J. eds. *Root-knot nematodes*. London, UK. CAB International. p. 182-194.
- Colozzi, A., Siqueira J., Saggin J., Gumaraes T. & Oliveira E. (1994). *Efectividad de diferentes hongos micorrízicos arbusculares na formacao de mudas, crecimiento pós – transplante e producao do cafeeiro*. Brasilia. 10 pp.
- De la peña, E. S.; Rodriguez-Echeverria, W. H.; Van Der Putten, H. & Moens. M. (2006). *Mechanism of control of root-feeding nematodes by mycorrhizal fungi in the dune grass *Ammophila arenaria**. *New Phytol*, 169, 829–840
- Demir, S., Akkopru, A., (2005). *Using of arbuscular mycorrhizal fungi for biocontrol of soil-borne fungal pathogens*. In: *Biological Control of Plant Diseases: Current Concepts*. Chincholkar, S. B., Mukerji, K. G. (Eds.). Howarth Press, New York, USA.

- Diedhiou, P. M., Hallmann, J., Oerke, E.-C., Dehne, H. W., (2003). *Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and a non-pathogenic Fusarium oxysporum on Meloidogyne incognita infestation on tomato*. Mycorrhiza 13: 199–204.
- Diz, R. (2008). *Métodos para evaluar normalidad y homogeneidad de varianza*. Relación con el tamaño de muestra. Universidad de Granma. Bayamo. Cuba. 44p.
- Elsen, A.; Gervacio, R.; Swennen. & Waele. (2008). *AMF-induced biocontrol against plant parasitic nematodes in Musa sp.: a systemic effect*. Mycorrhiza, 18, 251–256.
- Estaún, V., Calvet, C., Camprubí A., (2001). “*Inoculación con hongos formadores de micorrizas arbusculares de plantones de olivo y portainjertos de frutales micropropagados*. Valoración de su comportamiento después de su trasplante a campo”. Informe final del proyecto Petri 95-0141-OP: 4-5
- Facelli, E., Smith, S. E., Smith, F. A., (2009). *Mycorrhizal symbiosis – overview and new insights into roles of arbuscular mycorrhizas in agro and natural ecosystems*. Australasian Plant Pathology 38: 338-344.
- Flor, M. (2013). *Uso de agentes de control y protección biológica frente a nemátodos del género Meloidogyne en cultivos protegidos bajo plástico*. Granada-España. 34–36 pp.
- Font, H. 2007. *Estudio de precisión en la variable producción de huevos en gallinas White Leghorn*. Tesis al título de Máster en Producción Animal. 84 p.
- Galluser, E. (2004). *Caracterización e Identificación de Ecotipos del género Plukenetia*. Informe Preliminar. Tarapoto-Perú. 4 p
- Galluser, S. (2005). *Identificación de Muestras Botánicas del Género Plukenetia (Euphorbiaceae)*. Informe de Consultaría. AMC N° 012- 2004/ INIA- E.E. POV/ CEP. Tarapoto

- Gañán, L., Bolaños, M. & Asakawa, N. (2011). *Efecto de la micorrización sobre el crecimiento de plántulas de plátano en sustrato con y sin la presencia de nematodos*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), Palmira, Colombia. 9 pp.
- Gelpud, C., Mora, E., Salazar, C. & Betancourth, C. (2011). *Susceptibilidad de genotipos de Solanum spp. al nematodo causante del nudo radical Meloidogyne spp.* Universidad Nacional de Colombia (UNAL). Bogotá, Colombia. 19 pp.
- Gera-Hol, W. H., Cook, R., (2005). *An overview of arbuscular mycorrhizal fungi nematode interactions*. Basic and Applied Ecology 6: 489-503.
- Gillespie, L. J. (1993). *A synopsis of Neotropical Plukenetia (Euphorbiaceae) including two new species*. Systematic Botany 18 (4).
- Gómez, L., Rodríguez, M. G., De la Noval, B., Miranda, I., Hernández, M. A., (2008). *Interacción entre el Ecomic® y una población cubana de Meloidogyne incognita en tomate*. Revista de Protección Vegetal 23(2): 90-98.
- Gryndler, M. (2000). *Interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with other soil organisms*, The Netherlands, 11, 239-262.
- Guetsky, R., Shtienberg, D., Elad, Y., Fischer, E., Dinooor, A., (2002). *Improving biological control by combining biocontrol agents each with several mechanisms of disease suppression*. Phytopathology 92: 976–985.
- Harrier, L. A., Watson, C. A., (2004). *The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems*. Pest Management Science 60: 149-157.



- He, B; Magill, C; Starr, JL. (2005). *Laser capture microdissection and real-time PCR for measuring mRNA in giant cells induced by Meloidogyne javanica*. Journal of Nematology 37, 308–312.
- Hol. W. H. G. & R. Cook. (2005). *An overview of arbuscular mycorrhizal fungi-nematode interactions*. Basic Appl. Ecol., 6, 489–503.
- Hussey, R. S. & Roncadori, R. W. (1982). *Vesicular arbuscular mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth*. Plant Disease, 66, 9-14.
- Hussey, RS; Janssen, G. (2001). *Root-knot nematodes: Meloidogyne species*. In Starr, J; Cook, R; Bridge, J. eds. Plant Resistance to Parasitic Nematodes. London, UK. CAB International. p. 43-70.
- Hussey, RS; Mims, CW. (1991). *Ultrastructure of esophageal glands and their secretory granules in the root-knot nematode Meloidogyne incognita*. Protoplasma 156:9-18.
- Hussey, RS; Williamson, VM. (1998). *Physiological and Molecular Aspects of Nematode Parasitism*. In Barker, KR; Pederson, GA; Windham, GL. eds. Plant and Nematode Interactions. Madison, Wisconsin, USA. American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc. p. 87-108.
- Jaizme-Vega, M. C., Tenoury, P., Pinochet, J., Jaumot, M., (1997). *Interactions between the root-knot nematode Meloidogyne incognita and Glomus mosseae in banana*. Plant and Soil 196 (1): 27-35.
- Jenkins, W., Taylor, D., (1967). *Plant nematology*. Reinhold, New York.
- Jim, W. Deacon. (2006). *Fungal Biology*. 4th Edition. Blackwell publishing. Reino Unido. 257-260 pp.
- Jungk, A. and N. Claassen. (1997). *Ion diffusion in the soil-root system*. Advances in Agronomy 61:53-110.

- Karssen, G; Moens, M. (2006). *Root-knot nematodes*. In Perry, RN; Moens, M. eds. Plant Nematology. London, UK. CAB International. p. 59-88.
- Leiva, J. (2009). *Evaluación del hongo nematófago Pochonia Chlamydosporia, en el control del nematodo del nudo Meloidogyne sp., en el cultivo de sacha inchi Plukenetia Volubilis bajo condiciones de vivero*. Universidad Nacional de San Martín (UNSM). Tarapoto, Perú. 136 pp.
- León, D. (2006). *Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (Manihot esculenta sp.) en dos regiones de la Amazonía Colombiana*. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 125 pp.
- Linderman, R. G., (2000). *Effects of mycorrhizas on plant tolerance to disease*. In: *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Kapulnik, Y. (Ed.) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands. Pp. 345-367.
- Liu, J., Maldonado-Mendoza, I., Lopez-Meyer, M., Cheung, F., Town, C. D., Harrison, M. J., (2007). *Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots*. The Plant Journal 50: 529-544.
- Kovar, J. and N. Claassen. (2005). *Soil-root interactions and phosphorus nutrition of plants*. In: *Sims, J. and Sharpley, A. (eds) Phosphorus: Agriculture and the environment*. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. Agronomy Monographs 46:379-414.
- Manco, E. (2004). *Informes de Resultados de Investigación*. Programa Nacional de Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología. E. E. “El Porvenir”. Años 1996 – 2004. Perú: Tarapoto, 50 P.
- Manco, E. (2006). *Cultivo de Sacha Inchi*. Estación Experimental Agraria “El Porvenir”, INIEA. Tarapoto. 11 p.

- Meyer, S., Roberts, P. D., (2002). *Combinations of biocontrol agents for management of plant-parasitic nematodes and soilborne plant-pathogenic fungi*. Journal of Nematology 34: 1–8.
- Mitchell, D. T., (1993). *Mycorrhizal associations*. In: Exploitation of Microorganisms. Jones, D. G. (Ed.) Chapman y Hall. Norwell, Massachusetts, U.S.A. Pp. 169-196.
- Moens, M; Perry, RN; Starr, JL. (2009). *Meloidogyne species - a diverse group of novel and important plant parasites*. In Perry, RN; Moens, M; Starr, JL. eds. Root-knot nematodes. London, UK. CAB International, p. 1-13.
- Moreno, P. (1988). *Inoculación de micorrizas MVA en papa (Solanum tuberosum) respuesta en el crecimiento y nutrición de plantas inoculadas en invernadero y en campo*. Revista Latinoamericana de la Papa 1:84-103.
- Padron, E. (1996). *Diseños experimentales con aplicación a la agricultura y la ganadería*. Ed. Trillas. México. 215 p.
- Páez, O. (2006). *Las micorrizas*. Extraído el 17 de noviembre, 2007, de <http://www.soil-fertility.com/micorhize/espagnol/index.shtml>.
- Phillips, J. & Hayman, D. (1970). *Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular – arbuscular fungi for rapid assessment of infection*. Trans. Br. Mycol. Soc. 55: 158 – 161.
- Pinochet, J. C.; Camprubi, A. & Fernández, C. (1996). *Interactions between migratory endoparasitic nematodes and arbuscular mycorrhizal fungi in perennial crops: a review*. Plant Soil, 185, 183–190.
- Pozo, M. J. & Azcon-Aguilar. (2007). *Unraveling mycorrhiza-induced resistance*. Curr. Opin. Plant Biol, 10, 393–398.

- Rajeswari, S.; Mani, M. P. & Arulraj, P. (2001). *Management of Meloidogyne incognita in chilli nursery with Glomus mosseae*. *Annals of Plant Protection Sciences*, 9(1), 161-162.
- Ramsey, K; Wang, Z; Jones, MGK. (2004). *Using laser capture microdissection to study gene expression in early stages of giant cells induced by root-knot nematodes*. *Molecular Plant Pathology* 5,587–592.
- Reddy, P. P., (1974). *Studies on the action of amino acids on the root-knot nematode, Meloidogyne incognita*. Ph. D. Thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India. 276 pp.
- Reyes, J. M & Martínez, M. D (2001). *La plasticidad de las plantas*. *Elementos* 2001; 41: 39-43.
- Robles, C. (2009). *Variación temporal de la diversidad de hongos de micorriza arbuscular y el potencial micorrízico en especies silvestres de Agave en Oaxaca*. Instituto Politecnico Nacional (IPN). Oaxaca, México. 80 pp.
- Rojas, M. & Salazar, L. (2013). *Densidad crítica de Meloidogyne exigua en plantas de almácigo de café variedad caturra*. 10 pp.
- Ryan, N. A., Deliopoulos, T., Jones, P., Haydock, P. P., (2003). *Effects of a mixed-isolate mycorrhizal inoculum on the potato-potato cyst nematode interaction*. *Annals of Applied Biology* 143: 111-119.
- Saleh, H., Sikora, R. A., (1984). *The relationship between Glomus fasciculatum root colonization of cotton and its effect on Meloidogyne incognita*. *Nematologica* 30: 230–237.

- Salomon, E.; Berg, L. y Martin, D. (2011). “*Biologia*” *novena edición*. Ediciones OVA. EE.UU. 617-618 pp.
- Sasser, JN; Eisenback, JD; Carter, CC; Triantaphyllou AC. (1983). *The International Meloidogyne Project-Its Goals and Accomplishments*. Annual Review of Phytopathology 21: 271-288.
- Siddiqui, Z. A., Akhtar, M.S., (2009c). *Effects of antagonistic fungi and plant growth-promoting rhizobacteria on growth of tomato and reproduction of the root-knot nematode, Meloidogyne incognita*. Australasian Plant Pathology 38: 22-28.
- Smith, G. S., Kaplan, D. T., (1988). *Influence of mycorrhizal fungus, phosphorus, and burrowing nematode interactions on growth of rough lemon citrus seedlings*. Journal of Nematology 20: 539-544.
- Smith, S. E., Read, D. J., (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press. Cambridge, UK. 605 pp.
- Suresh, C. K., (1980). *Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhiza and root-knot nematode in tomato*. M.Sc. (Agric.). Thesis, University of Agriculture Sciences, Bangalore, India, 104 pp.
- Talavera, M., Ito, K., Mizukubo, T., (2001). *Reduction of nematode damage by root colonization with arbuscular mycorrhiza (Glomus spp.) in tomato-Meloidogyne incognita (Tylenchida: Meloidogynidae) and carrot-Pratylenchus penetrans (Tylenchida: Pratylenchidae) pathosystems*. Applied Entomology and Zoology 36: 387-392.
- Talavera, M., Ito, K., Mizukubo, T., (2002). *Combined application of Glomus sp. and Pasteuria penetrans for reducing Meloidogyne incognita (Tylenchida: Meloidogynidae) populations and improving tomato growth*. Applied Entomology and Zoology 37 (1): 61-67.

- Taylor, A; Sasser, J. (1983). *Biología, identificación y control de los nemátodos del nódulo de la raíz*. North Carolina. EE.UU. Proyecto Internacional de *Meloidogyne*. Publicación Cooperativa entre el Departamento de Fitopatología de la Universidad del Estado de Carolina del Norte y la Agencia de EEUU para el desarrollo Internacional. 111 p.
- Vaast. P.; Cashwell-Chen, E. P. & Zasoski, R. J. (1998). *Influences of a root-lesion nematode, Pratylenchus coffeae, and two arbuscular mycorrhizal fungi, Acaulospora mellea and Glomus clarum on coffee (Coffea arabica L.)*. Biol. Fertil. Soils, 26, 130–135.
- Valles, C. (1995). *El Sacha Inchi, Planta Nativa de Importancia Proteica y Aceitera Promisoria para la Selva Alta*. Separatas 8p.
- Waceke. J. W.; Waudu. S. W. Y Sikora R. (2001). *Suppression of Meloidogyne hapla by arbuscular mycorrhiza fungi (AMF) on Pyrethrum in Kenya*. International Journal of Pest Management, 47(2): 135-140.
- Wyss, U; Grundler, FMW; Münch, A. (1992). *The Parasitic Behaviour of Second- Stage Juveniles of Meloidogyne incognita in roots of Arabidopsis thaliana*. Nematologica 38:98-111.

