

UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



Evaluación de 4 cepas de hongos endófitos rizosféricos de solanáceas en la germinación y desarrollo de plántulas de tomate de árbol

(Solanum betaceum Cav).

Tesis previa a la obtención del
título de Ingeniero Agrónomo

AUTORES:

Gutiérrez Yansaguano Christian Andrés.

CI: 0106377997

Pomaquiza Balvoa Luis Freddy.

CI: 0302450283

DIRECTORA:

Blga. Peña Tapia Denisse Fabiola MSc.

CI: 0102501889

CUENCA - ECUADOR

2018



RESUMEN

Solanum betaceum Cav. es un frutal nativo de gran interés económico en el Ecuador cuya producción se concentra en la zona interandina, por lo tanto, el fomentar nuevas tecnologías es de gran importancia para mejorar sus prácticas culturales. Se menciona que la aplicación de hongos endófitos en diversos cultivos ha permitido mejorar su desarrollo, resistencia a enfermedades y producción. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la inoculación de 4 cepas de hongos endófitos rizosféricos como promotores de la germinación y desarrollo fisiológico de tomate de árbol en condiciones *in vitro* y en vivero. Además, mediante la técnica de la tinción y secuenciación, se midió las estructuras y se reconoció las cepas evaluadas: cepa A (*Fusarium* sp), cepa B (*Chaetomium* sp), cepa C (*Cephalosporium* sp), cepa D (*Cochliobolus* sp). Además, los resultados obtenidos de la inoculación con hongos endófitos en vivero mostraron que la cepa B (*Chaetomium* sp) disminuyó el tiempo de germinación de 40 a 25 días y aumento el número de semillas germinadas, en comparación con el control estéril sin inoculo y el control sin esterilizar. Mientras tanto la inoculación de hongos endófitos durante el trasplante mostró que las 4 cepas evaluadas tuvieron un efecto favorable en cuanto a la altura de la planta, biomasa radicular, conductancia estomática y sobrevivencia hasta los 60 días.

Palabras claves: semillas, hongos endófitos, germinación, *in vitro*, vivero, secuenciación, inoculación.



ABSTRACT

Solanum Betaceum Cav. It is a native fruit of great economic interest in Ecuador whose production is concentrated in the inter-Andean zone, therefore the promotion of new technologies is of great importance to improve their cultural practices. It is mentioned that the application of endophytes fungi in different crops has allowed to improve their development, resistance to disease and production. The objective of this research was to evaluate the effect of inoculation of 4 strains of fungi endophytes rhizosphere as promoters of germination and physiological development of tomato tree in both conditions *in vitro* and nursery. In addition, through the technique of staining and sequencing, the structures were measured and the evaluated strains were recognized: strain A (*Fusarium sp*), strain B (*Chaetomium sp*), strain C (*Cephalosporium sp*), strain D (*Cochliobolus sp*). As far as the results of germination are concerned, it was obtained that the inoculation with endophytes fungi in the nursery showed that the B strain (*Chaetomium sp*) decreased the germination time from 40 to 25 days and increased the number of germinated seeds, in compared with the sterile control without innocuousness and unsterilized control. Meanwhile the inoculation of endophytes fungi during transplantation showed that the 4 strains evaluated had a favorable effect on plant height, radicular biomass, stomatal conductance and survival up to 60 days.

Key words: seeds, endophytes fungi, germination, *in vitro*, nursery, sequencing, inoculation.



ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	3
ÍNDICE DE TABLAS.....	7
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
ÍNDICE DE IMÁGENES.....	13
ÍNDICE DE ANEXOS.....	14
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA.....	15
AGRADECIMIENTOS.....	20
DEDICATORIA.....	21
1. INTRODUCCIÓN	23
2. JUSTIFICACIÓN	24
3. OBJETIVO.....	25
3.1. OBJETIVO GENERAL	25
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
3.3. HIPÓTESIS	25
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	26
4.1. Importancia de la fruticultura en el Ecuador	26



4.2.	El tomate de árbol <i>Solanum Betaceum</i> Cav	26
4.2.1.	Clasificación botánica y ecología	27
4.2.2.	Problemas en el manejo cultural.....	28
4.3.	Alternativas de manejo cultural	29
4.4.	Importancia relación suelo-hongo-planta	29
4.4.1.	Hongos endófitos	30
4.4.1.1.	Clasificación de los hongos endófitos	31
4.4.2.	Hongos micorrízicos	32
4.4.2.1.	Clasificación hongos micorrízicos.....	32
4.4.2.2.	Hongos Micorrízicos arbusculares.....	33
4.4.3.	Métodos de aislamiento	34
4.4.4.	Métodos de cultivo y propagación	34
4.4.5.	Técnicas de inoculación.....	35
5.	MATERIALES Y MÉTODOS	35
5.1.	Área de estudio.....	35
5.2.	Área de ejecución del proyecto	37
5.3.	Recolección de muestras de raíces	38
5.4.	Aislamiento y cultivo de hongos endófitos	38
5.5.	Selección de hongos endófitos	39
5.6.	Evaluación de hongos endófitos en la germinación	40



5.7.	Inoculación de hongos al trasplante	42
5.8.	Medición de la conductividad estomática e índice de concentración de clorofila	44
5.9.	Reconocimiento morfológico de hongos endófitos.....	45
5.10.	Análisis de biomasa fresca y seca	45
5.11.	Análisis químico sustrato	46
5.12.	Diseño experimental y análisis estadístico.....	48
6.	RESULTADOS	49
6.1.	Germinación	50
6.1.1.	Germinación <i>in vitro</i>	50
6.1.2.	Germinación en vivero.	51
6.2.	Trasplante	53
6.2.1.	Trasplante en condiciones de <i>in vitro</i>	53
6.2.1.1.	Periodo de sobrevivencia de plántulas inoculadas.....	54
6.2.1.2.	Periodo de crecimiento	55
6.2.1.3.	Diámetro	56
6.2.1.4.	Hojas	57
6.2.1.5.	Altura.	58
6.2.1.6.	Biomasa	59
6.2.2.	Trasplante en vivero	63
6.2.2.1.	Periodo de sobrevivencia.....	63



6.2.2.2. Periodo de crecimiento en condiciones de vivero	54
6.2.2.3. Diámetro	66
6.2.2.4. Altura	67
6.2.2.5. Hojas	68
6.2.2.6. Biomasa	69
6.2.2.8. Conductividad estomática.....	72
6.2.2.9. Índice de Concentración de Clorofila (CCI).....	75
6.2.2.10. Reconocimiento morfológico.....	76
7. DISCUSIÓN	81
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	85
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	86
10. ANEXOS.....	94



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Reducción en rendimiento t/ha de tomate de árbol en el Ecuador.....	28
Tabla 2. Principales grupos formadores de micorrizas	32
Tabla 3. Zonas de muestreo de raíces para el aislamiento de hongos endófitos rizosféricos.	36
Tabla 4. Análisis químico de N, P, K, Ca y Mg en turba y sustrato de vivero.	46
Tabla 5. Análisis químico de materia orgánica de turba y sustrato de vivero.	47
Tabla 6. Diseño experimental para la evaluación de los hongos endófitos <i>in vitro</i> , en la germinación de semilla de tomate de árbol, diseño completo al azar (DCA).....	48
Tabla 7. Diseño experimental para la evaluación de los hongos endófitos en vivero, en la germinación de semilla de tomate de árbol, diseño completo al azar (DCA).....	49
Tabla 8. Análisis de varianza diámetro de plántulas 45 días en condiciones de laboratorio.	57
Tabla 9. Análisis de varianza altura de plántulas a los 45 días inoculadas en condiciones de laboratorio.	59
Tabla 10. Análisis de varianza biomasa aérea fresca plántulas inoculadas en condiciones de <i>in vitro</i>	61
Tabla 11. Prueba de Fisher biomasa aérea fresca plántulas inoculadas en condiciones de <i>in vitro</i>	61
Tabla 12. Análisis de varianza biomasa radicular fresca plántulas inoculadas en condiciones de <i>in vitro</i>	62
Tabla 13. Prueba de Fisher 95% intervalo de confianza biomasa radicular fresca plántulas inoculadas en condiciones de <i>in vitro</i>	62
Tabla 14. Análisis de varianza del diámetro de las plántulas condiciones de vivero, luego de 60 días de inoculadas con los diferentes tratamientos.	67



Tabla 15. Análisis de varianza altura plántulas a los 60 días inoculadas en condiciones de vivero. 68

Tabla 16. Análisis de varianza número de hojas a los 60 días plántulas inoculadas en vivero. .. 69

Tabla 17. Análisis de varianza biomasa radicular (Figuras 30 y 31), de plántulas de tomate de árbol a los 45 días inoculadas en condiciones de vivero. 71

Tabla 18. Análisis de varianza biomasa aérea (Figuras 32 y 33), de plántulas de tomate de árbol a los 45 días inoculadas en condiciones de vivero..... 71

Tabla 19. Análisis de varianza área foliar plántulas a los 60 días inoculadas en condiciones de vivero. 72

Tabla 20. Análisis de varianza (CCI) plántulas a los 60 días inoculadas en condiciones de vivero. 76

Tabla 21. Características físicas de los hongos endófitos aislados de las raíces de Solanácea. .. 76



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Número de semillas germinadas bajo condiciones <i>in vitro</i>	50
Figura 2. Curvas de germinación <i>in vitro</i> obtenidas a partir de semillas de tomate de árbol inoculadas con hongos endófitos.	51
Figura 3. Número de semillas de tomate de árbol germinadas bajo condiciones de vivero, sometidas a la inoculación de hongos endófitos pre siembra.	52
Figura 4. Días de germinación en vivero obtenido a partir de semillas de tomate de árbol inoculadas con hongos endófitos.	52
Figura 5. Curvas de sobrevivencia de plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongos endófitos al momento del trasplante en condiciones <i>in vitro</i>	54
Figura 6. Desarrollo de plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongo endófito-cepa A. ..	55
Figura 7. Desarrollo de plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongo endófito-cepa B....	55
Figura 8. Desarrollo de plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongo endófito-cepa C....	55
Figura 9. Desarrollo de plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongo endófito-cepa D. ..	55
Figura 10. Desarrollo plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongo endófito-cepa E.....	56
Figura 11. Desarrollo de plántulas de tomate de árbol sin inoculo con hongo endófito-Testigo.	56
Figura 12. Diámetro de tallo obtenido en plantas de tomate de árbol luego de 45 días de inoculación con hongos endófitos en condiciones de laboratorio. (Puntos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios).....	57
Figura 13. Número de hojas en plantas de tomate de árbol luego de 45 días de inoculación con hongos endófitos (cepas A, B, C, D, E). (Puntos verdes=muestra, diamantes rojos=promedio). 58	
Figura 14. Altura de plántulas de tomate de árbol luego de 45 días de la inoculación con hongos endófitos (A, B, C, D, E). (Puntos verdes = muestras, diamantes rojos =promedios).....	58



Figura 15. Peso seco de biomasa radicular de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (punto redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios).....	59
Figura 16. Peso fresco de biomasa radicular de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (puntos redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios).....	60
Figura 17. Peso seco de biomasa aérea de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (Puntos redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios).....	60
Figura 18. Peso fresco de biomasa aérea de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (Puntos redondos verde=muestras, diamantes rojos=promedios).	60
Figura 19. Curvas de sobrevivencia de plántulas de tomate de árbol inoculadas con diferentes cepas de hongos endófitos (A, B, C, D, E, Control y Testigo) al momento del trasplante en vivero.	63
Figura 20. Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol con inoculo de hongo endófito, cepa A.....	64
Figura 21. Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol con inoculo de hongo endófito, cepa B.	64
Figura 22. Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol con inoculo de hongo endófito, cepa C.	65
Figura 23. Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol con inoculo de hongo endófito, cepa D.....	65
Figura 24. Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol con inoculo de hongo endófito, cepa E.	65



- Figura 25.** Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol sin inóculo con hongo endófito, Tratamiento Testigo..... 65
- Figura 26.** Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol sin inóculo, condiciones normales (sin esterilización), Tratamiento Control. 66
- Figura 27.** Diámetro de tallo obtenido de plántulas de tomate de árbol a los 60 días, inoculadas con hongos endófitos al momento del trasplante en vivero (Cuadrados negros indican los promedios obtenidos)..... 66
- Figura 28.** Alturas obtenidas de plántulas de tomate de árbol a los 60 días, inoculadas con hongos endófitos al momento del trasplante en vivero (Cuadros negros indican promedios). 67
- Figura 29.** Números de hojas obtenidas de plántulas de tomate de árbol a los 60 días, inoculadas con hongos endófitos al momento del trasplante en vivero (Cuadros negro indican promedios). 68
- Figura 30.** Peso seco de biomasa radicular de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (punto redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios)..... 69
- Figura 31.** Peso fresco de biomasa radicular de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (punto redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios). 70
- Figura 32.** Peso seco de biomasa aérea de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (punto redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios)..... 70
- Figura 33.** Peso fresco de biomasa aérea de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (punto redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios)..... 70
- Figura 34.** Área foliar de plántulas de tomate de árbol luego de 60 días de inoculación con hongos endófitos, en condiciones de vivero. 72
- Figura 35.** Conductividad estomática de las plántulas inoculadas - Tratamiento A..... 73



Figura 36. Conductividad estomática de las plántulas inoculadas - Tratamiento B.....	73
Figura 37. Conductividad estomática de las plántulas inoculadas - Tratamiento C.....	73
Figura 38. Conductividad estomática de las plántulas inoculadas - Tratamiento D.....	74
Figura 39. Conductividad estomática de las plántulas inoculadas - Tratamiento E.	74
Figura 40. Conductividad estomática de las plántulas inoculadas - Tratamiento Testigo.....	74
Figura 41. Conductividad estomática de las plántulas inoculadas - Tratamiento Control.	75
Figura 42. Índice de concentración de clorofila (CCI) obtenida de plántulas de tomate de árbol a los 60 días, inoculadas con hongos endófitos al momento del trasplante en vivero.....	75



ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1. Hongo endófito evaluada y aislada de la Cepa A (<i>Fusarium</i> sp).....	77
Imagen 2. Hongo endófito evaluada y aislada de la cepa B (<i>Chaetomium</i> sp).....	78
Imagen 3. Hongo endófito evaluada y aislada de la cepa C (<i>Cephalosporium</i> sp).....	78
Imagen 4. Hongo endófito evaluado y aislada de la cepa D (<i>Cochliobolus</i> sp).	79
Imagen 5. Crecimiento y forma miceliar cepa A (<i>Fusarium</i> sp).	80
Imagen 6. Crecimiento y forma miceliar cepa B (<i>Chaetomium</i> sp).....	80
Imagen 7. Crecimiento y forma miceliar cepa C (<i>Cephalosporium</i> sp).	80
Imagen 8. Crecimiento y forma miceliar cepa D (<i>Cochliobolus</i> sp).	80



ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Selección de raíces para aislamiento.....	94
Anexo 2. Selección de cepas para aislamiento.	94
Anexo 3. Repique de hongos endófitos en cámara estéril.	94
Anexo 4. Cepas aisladas de hongos endófitos en PDA.	94
Anexo 5. Proceso germinación <i>in vitro</i> Tratamiento cepa B.....	95
Anexo 6. Proceso germinación <i>in vitro</i> Testigo.	95
Anexo 7. Germinación semillas tomate de árbol Tratamiento cepa B en vivero.	95
Anexo 8. Germinación semillas de tomate de árbol Control en vivero.....	95
Anexo 9. Inoculación Germinación en <i>in vitro</i>	96
Anexo 10. Inoculación Germinación en vivero.....	96
Anexo 11. Solución miceliar para inoculación.....	97
Anexo 12. Inoculación de hongos en condiciones estériles.	97
Anexo 13. Trasplante en condiciones estériles.....	97
Anexo 14. Crecimiento plántula de tomate de árbol tratamiento G.	97
Anexo 15. Crecimiento de plántulas tomate de árboles inoculados en vivero.	98
Anexo 16. Plántulas de tomate de árbol a los 60 días luego de la inoculación	98
Anexo 17. Plántula de tomate de árbol Tratamiento cepa B en vivero.	98
Anexo 18. Plántula de tomate de árbol Tratamiento cepa B en condiciones estériles.	98
Anexo 19. Análisis químico de sustrato (turba) usado durante el ensayo para trasplante en condiciones estériles.	99
Anexo 20. Análisis químico de sustrato (1tierra agrícola: 1 limo: 1 abono orgánico) usado durante el ensayo para trasplante en vivero.	100



ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA

FIM.- Fungi Isolation Medium

PDA.- Papa Dextrosa Agar

MS.- Murashige y Skoog

SMS.-Selva mediana sub perennifolia

SAP.-Selva alta perennifolia

HM.- Humedad relativa



Cláusula de Propiedad Intelectual

Christian Andrés Gutiérrez Yansaguano, autor del trabajo de titulación “Evaluación de 4 cepas de hongos endófitos rizosféricos de solanáceas en la germinación y desarrollo de plántulas de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav)”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, Marzo de 2018

Christian Andrés Gutiérrez Yansaguano

C.I: 0106377997



Cláusula de Propiedad Intelectual

Luis Freddy Pomaquiza Balvoa, autor del trabajo de titulación “Evaluación de 4 cepas de hongos endófitos rizosféricos de solanáceas en la germinación y desarrollo de plántulas de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav)”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, Marzo de 2018

A handwritten signature in blue ink, written over a horizontal line.

Luis Freddy Pomaquiza Balvoa

C.I: 0302450283



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Christian Andrés Gutiérrez Yansaguano en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “Evaluación de 4 cepas de hongos endófitos rizosféricos de solanáceas en la germinación y desarrollo de plántulas de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav)”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, Marzo de 2018

Christian Andrés Gutiérrez Yansaguano

C.I: 0106377997



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Luis Freddy Pomaquiza Balvoa en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “Evaluación de 4 cepas de hongos endófitos rizosféricos de solanáceas en la germinación y desarrollo de plántulas de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav)”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, Marzo de 2018

Luis Freddy Pomaquiza Balvoa

C.I: 0302450283



AGRADECIMIENTOS

A nuestros padres por su apoyo incondicional y brindarnos sabios consejos durante nuestra etapa universitaria y diario vivir.

Nuestros gratos agradecimientos a la Universidad de Cuenca por abrirnos las puertas para avanzar en nuestra formación profesional y personal.

A nuestra directora de tesis Blga Denisse Peña Msc. por dedicar su tiempo, ser pionera en el desarrollo de este trabajo.

A PhD Eduardo Chica por dedicar su tiempo, consejos y conocimientos en la elaboración de este trabajo.

A la Ing. Paulina Villena Ochoa Msc. quien dedico su tiempo y sus valiosos conocimientos durante el desarrollo de este trabajo.

A Blga. Gabriela Maldonado Msc. por brindarnos su apoyo incondicional durante el trabajo en laboratorio.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Agropecuarias por brindar las herramientas necesarias y consejos oportunos para formar profesionales capacitados en lo técnico y personal.

A nuestros amigos, compañeros quienes estuvieron presentes durante todo este tiempo de vida universitaria.

Gutiérrez Yansaguano Christian Andrés

Pomaquiza Balvoa Luis Freddy



DEDICATORIA

A Dios por ofrecerme la oportunidad de alcanzar esta meta, gracias a la sabiduría y salud brindada.

A mi madre por brindarme la vida, por dar lo mejor de ella con el fin de proporcionarme las herramientas necesarias para luchar profesionalmente.

A mi abuelito Elías quien cultivo en mí la semilla de la agronomía y me guío en mis primeros pasos por este sendero.

A mi esposa Herica, mi hija Noemí por su amor incondicional, ser parte de mi vida y decisiones, ser participe en esta etapa y avanzar conmigo a alcanzar un sueño en común.

A mis tíos por brindarme su apoyo incondicional y sabios consejos.

Gutierrez Yansaguano Christian Andrés



DEDICATORIA

Dedico este trabajo con profundo amor, respeto, humildad y cariño a mi padre Daniel Ernesto Pomaquiza Guasco y a mi madre Josefa Balvoa quienes me guiaron y apoyaron con sus sabios consejos durante mi carrera estudiantil.

A mis hermanos: Ernesto, Rubén, Francisco, Cecilia y Josefina gracias a su cariño, confianza y apoyo incondicional para culminar uno de los anhelos más grandes de mi vida.

A mi querido hermano en paz descansa en el cielo por haber sido mi mayor fuerza e inspiración para seguir adelante en mi carrera estudiantil.

A mis sobrinos por alentarme durante mi vida estudiantil.

Pomaquiza Balvoa Luis Freddy



1. INTRODUCCIÓN

La fruticultura en el Ecuador se ha incrementado desde la década de los 90s (Vásquez y Viteri, 2011), siendo parte importante del sector agropecuario, y continua siendo uno de los mayores aportes a la economía nacional (Romero, 2008). En los últimos años los hábitos alimenticios de la población han cambiado hacia un consumo elevado de frutas (Wang *et al*, 2011) en sus diversas presentaciones como: pastas, mermeladas, confitado de frutas, pulpas y frutas deshidratadas. (Vásquez y Viteri, 2011).

El tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) es una especie frutal nativa y propia de los bosques andinos de Colombia, Perú y Ecuador, con gran importancia a nivel nacional e internacional (Santillán, 2001). Su cultivo en la provincia del Azuay se ha visto afectado (Lucio *et al*, 1996; ESPAC 2015; INEC 2014). Sin embargo, por la falta de tecnificación y por el uso inadecuado de fertilizantes y pesticidas que han provocado el deterioro de la macro y micro fauna del suelo y por ende las especies vegetales no son capaces de asimilar nutrientes de un suelo muerto (Soria *et al*, 2008). La falta de generación o adaptación de herramientas biológicas que permitan un mejor manejo agronómico del cultivo desde su germinación hasta su etapa productiva han hecho persistente este problema, ya que los insumos agroquímicos modernos cada vez causan menor impacto ambiental y menor impacto en la salud (Fonseca de la Cruz *et al*, 2011).

El uso de ciertos hongos endófitos benéficos podría ser una alternativa biológica para obtener plántulas de tomate de árbol con vigor, adaptables con una asimilación de nutrientes favorables a la especie, tolerantes a condiciones abióticas, enfermedades y disminuya la pérdida de la macro y micro fauna del suelo. Además, que permita la disminución del uso de pesticidas y el aumento de la producción en la superficie cultivada.



2. JUSTIFICACIÓN

La agricultura es una de las actividades de mayor relevancia a nivel nacional tanto la producción hortícola como frutícola, siendo así en la provincia del Azuay el cultivo de tomate de árbol se considera un frutal de gran importancia a nivel familiar y comercial, sin embargo el INEC (2014) reportó una reducción del rendimiento en la producción de 5.77 a 3ton/ha entre los años 2002 y 2014, debido a las crecientes poblaciones de patógenos en el suelo y a las deficientes prácticas culturales durante su cultivo, provocando que los productores sean más dependientes del uso de los agroquímicos o pierdan el interés en la producción de este frutal, reduciendo así el área cultivable. Por lo cual, una de las alternativas para potenciar la producción y manejo del cultivo de tomate de árbol es la comprensión de las relaciones simbióticas entre hongos y plantas, lo cual brinda una serie de ventajas en el desarrollo e implementación de buenas prácticas agrícolas, siendo una de estas los sistemas de inoculación y manejo de hongos endófitos (micorrízicos o no micorrízicos), este trabajo pretende generar un primer aporte al conocimiento y búsqueda de hongos endófitos aislados para la aplicación en la germinación y trasplante de tomate de árbol, ya que en diversos estudios ajenos a este cultivo se ha identificado que la aplicación de hongos endófitos ha permitido mejorar la tasa de germinación, mayor desarrollo de biomasa, desarrollo de metabolitos de defensa potenciales contra patógenos, mejor absorción de nutrientes. Por lo tanto se brindará una herramienta a los productores que les permita optimizar sus técnicas de manejo, mejorar su producción, reducir su dependencia al uso de agroquímicos e incentivar el aumento del área cultivable dentro de la provincia del Azuay.



3. OBJETIVO

3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el comportamiento de 4 cepas de hongos endófitos rizosféricos cultivables de solanáceas y su posible efecto en la germinación y desarrollo de plántulas de *Solanum betaceum* Cav. como un aporte para mejorar este cultivo.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto de 4 cepas de hongos endófitos aislados de raíces de cultivos locales de tomate de árbol y sus parientes silvestres sobre la germinación de semillas de *Solanum betaceum* Cav.
- Evaluar el efecto de 4 cepas de hongos endófitos aislados de raíces de cultivos locales de tomate de árbol y sus parientes silvestres sobre el desarrollo de plántulas de *Solanum betaceum* Cav. en vivero.
- En caso de identificar cepas que exhiban efecto promotor de la germinación y/o del desarrollo de las plántulas de *Solanum betaceum* Cav. documentar la morfología de las cepas.

3.3. HIPÓTESIS

Entre los hongos endófitos aislados de raíces de solanáceas es posible identificar al menos una cepa que presente un efecto promotor de la germinación o del desarrollo de las plántulas de *Solanum betaceum* Cav.



4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. Importancia de la fruticultura en el Ecuador

El Ecuador incrementó la producción de frutales a inicios de la década de los noventa (Vásquez y Viteri, 2011), siendo uno de los mayores aportes para la economía del país (Romero, 2008), por lo cual la población ha cambiado su modo de alimentación a un mayor consumo de frutas (Wang *et al*, 2011) y sus derivados (Vásquez y Viteri, 2011).

El Ecuador tiene una gran variedad de frutas de la sierra que ofrece durante todo el año como el babaco, la chirimoya, la granadilla, la mora, la naranjilla, el taxo, el tomate de árbol y la uvilla. Por lo tanto, tienen un gran potencial económico, y a la vez representan una gran posibilidad para la exportación a mercados internacionales, siendo el tomate de árbol uno de los frutos más apetecidos (Vásquez y Viteri, 2011).

La posición geográfica y la diversidad de microclimas es una de las mayores ventajas para la producción en nuestro país. Entre los principales países productores de tomate de árbol destaca China con 12.832.440 t en producción, Estados Unidos con una producción de 11.719.000 t, Turquía con una producción de 750.000 toneladas anuales respectivamente. En el Ecuador en el 2002 se reportó que existió 4062 ha de cultivo de tomate de árbol con un registro de producción de 5,5 a 13,8 t/ha (INEC *et al*, 2002) desde el año 1992 al 2001.

4.2. El tomate de árbol *Solanum Betaceum Cav*

El tomate de árbol (*Solanum Betaceum Cav.*), conocido también como tamarillo, tomate de monte, tomate silvestre entre otros es originario de América del sur, pero recientes estudios



demuestran que el centro de origen se encuentra en los bosques de las reservas de Tucumana entre Bolivia y el norte de Argentina por su alta diversidad genética (NUCLEO AMBIENTAL, 2015).

4.2.1. Clasificación botánica y ecología

Solanum Betaceum Cav. Es una planta arbustiva de gran follaje, con tallos semileñosos, que llega alcanzar una altura de 2 a 3 metros (Pinto Tafur y Tiaguaro Herrera, 2012), y las flores varían de color rosa y lavanda agrupándose en racimos terminales, floreciendo de manera escalonada, los frutos son solitarios o agrupados con una variedad de colores como color rojo común, amarillo redondo, amarillo común y morado, de forma ovoidal con ápices puntiagudos (Pinto Tafur y Tiaguaro Herrera, 2012), y su peso varía entre 70 a 100gr conteniendo semillas en cantidades de alrededor de 240, de raíz pivotante con emisión de raíces laterales que facilitan un buen anclaje al suelo (Gobernación del Huila, 2010).

El tomate de árbol se cultiva en el Ecuador, en altitudes que van de 430 hasta los 3000 m.s.n.m. Sin embargo, la altitud óptima está entre 1500 a 2600 m.s.n.m. con un rango de temperatura que varía de los 13°C hasta los 19°C, con precipitaciones que oscilan entre 500 a 1000 mm anuales, humedad relativa de 60 al 80% (Gobernación del Huila, 2010), requiriéndose de riesgos complementarios para cubrir sus necesidades hídricas y radiación solar de 12 horas, dependiendo de la localización del lugar de cultivo (Revelo *et al*, 2004). Además, el tomate de árbol necesita un suelo profundo con buen drenaje, alto en materia orgánica y con un pH que varía entre 5,4 a 7 (Revelo *et al*, 2004).



4.2.2. Problemas en el manejo cultural

El problema en el manejo del cultivo de tomate de árbol en nuestro país, provienen de los sistemas productivos familiares sin tecnificación, falta de selección de genotipos superiores. Además, conduce a una vulnerabilidad frente al ataque de plagas y enfermedades que pueden ser difundidas a otros lugares de cultivo (Desarrollo 2001). El tomate de árbol es una especie que se adapta a condiciones edáficas y climáticas sin embargo en varias zonas climáticas el principal problema son las enfermedades como el tizón tardío, gota o lancha causado por *Phytophthora infestans*, y la Antracnosis u ojo de pollo causado por *Colletotrichum gloesporioides*, esta enfermedad afecta en precosecha y en poscosecha y su pérdida llega a un 90%. (Gómez 1993). Además, el Chancro conocido como pata de puerco causado por *Fusarium solani*, ha producido mucha preocupación entre los cultivadores de tomate de árbol al igual que la conocida agalla de raíz causada por el nemátodo *Meloidogyne incógnita* enfermedades presentes en la mayoría de las zonas tomateras del país. Principalmente en provincias de Tungurahua, Chimborazo, Azuay, Pichincha e Imbabura (INIAP 2004). En la (Tabla 1), se observa que desde la década de los 80 la superficie de plantación ha aumentado considerablemente hasta el 2009, pero el rendimiento a contrario a mostrado un gran descenso.

Tabla 1. Reducción en rendimiento t/ha de tomate de árbol en el Ecuador.

Año	Área de plantación (ha)	Producción (t)	Rendimiento (t/ha)
1980	820	12546	15.3
1995	2200	17820	8.1
2002	4062	21934	5.4
2004	6123	17602	2.9
2009	6670	14325	2.2

(INIAP, 2010)



Probablemente estas reducciones en el rendimiento obedecen a incrementos de patógenos en los cultivos. Siendo así, el rendimiento un indicativo de la capacidad técnica con la que se maneja a la plantación (Santillán, 2001).

4.3. Alternativas de manejo cultural

Entre las principales estrategias utilizadas en el cultivo de tomate de árbol tenemos la abundante incorporación de materia orgánica alejada del tronco con la aplicación de fertilizaciones altas en fósforo, según lo indique el análisis de suelo y la integración adecuada de una poda de formación (Gobernación del Huila, 2010). El óptimo riego garantiza un buen desarrollo del cultivo (Santillán, 2001). Además, la implementación de porta injertos tolerantes a nemátodos y *Fusarium*, reduce el uso de pesticidas, aumentando así la vida útil del tomate de árbol, obteniendo una alta producción y protegiendo la salud del consumidor (INIAP, 2004). Complementando estas técnicas, el manejo cultural adecuado de los hongos endófitos (micorrízicos o no micorrízicos), son tecnologías ecológicamente racionales y aparecen como una de las prácticas biológicas más promisorias e innovativas para los sectores agrícola y forestal (Ballesteros Possú *et al*, 2004).

La utilización de biofertilizantes basados en estos microorganismos se presenta como una biotecnología de gran interés, tanto desde el punto de vista económico como ecológico para la agricultura moderna (Hernández y Chailloux, 2004).

4.4. Importancia relación suelo-hongo-planta

La actividad microbiana de la rizósfera es en gran medida responsable del funcionamiento del ecosistema y de la fertilidad de los suelos agrícolas (Jaizme y Rodríguez, 2008).



Entre los hongos rizosféricos más destacados se encuentran los hongos endófitos por su capacidad biofertilizante y biodegradante. Las micorrizas arbusculares son consideradas como los hongos endófitos más eficaces debido a su efecto sobre el crecimiento vegetal, motivado por el establecimiento de simbiosis de tipo mutualista (CSIC, 2017).

4.4.1. Hongos endófitos

Se conoce como hongos endófitos a los microorganismos que viven en el interior de vegetales vivos y que mantienen una asociación con su hospedero para mutuo beneficio principalmente en una parte de su ciclo de vida sin causar daño o perjuicio alguno (Abello y Kelemu, 2006). Con lo cual la planta brinda al hongo alimento, hospedaje y protección; por su parte los hongos endófitos proveen gran potencial adaptativo a las especies vegetales hospederas a condiciones adversas como estrés, de tipo abiótico como la salinidad, acidez o biótico como ataque de plagas (Abello y Kelemu, 2006), estos microorganismos mantienen una simbiosis asintomática con su hospedero, brindando protección frente a ataques de patógenos, ya sea por la síntesis de metabolitos secundarios o por el mejoramiento a través de la disponibilidad de los nutrientes y su convivencia es balanceada y depende del equilibrio entre factores de virulencia del hongo y factores de defensa de la planta, que pueden ser afectados por el ambiente (Schulz y Boyle, 2005). Los hongos endófitos también, pueden producir fitoreguladores que pueden aumentar el desenvolvimiento vegetal. La gran mayoría de hongos no descritos se encuentran en asociaciones hongo-planta siendo muy pocas estudiadas, hasta el momento (Clay y Schardl, 2002). Los hongos endófitos son de suma importancia en la agricultura para el control de parásitos (Corrado y Rodrigues, 2004). Asimismo, los hongos endófitos son usados como antimicrobianos en humanos para evitar el uso excesivo de antibióticos que puede aumentar los costos médicos, hospitalizaciones prolongadas e incremento de mortalidad (Pinheiro *et al*, 2017).



4.4.1.1. Clasificación de los hongos endófitos

Los hongos endófitos se dividen de acuerdo a su filogenia en Clavicipitáceos colonizando a las plantas vasculares, helechos, coníferas, angiospermas que se dividen en 4 grupos:

1. El primer grupo de los clavicipitáceos se transmiten verticalmente incluyen especies simbioses, que se relacionan con las plantas que brindan a sus hospederos resistencia a herbívoros así como tolerancia al estrés biótico y abiótico (Malinowky y Belesky, 2000).
2. El segundo grupo de los no clavicipitáceos formado por el subreino Dikarya, su colonización da inicio al penetrar su hifa en los tejidos vegetales o mediante apresorios su transmisión horizontal mediante esporas y vertical es vía tegumentos de semillas o rizoma. Asimismo, se caracteriza por su rápida colonización asintomática y esporulación emergiendo durante la senescencia de la planta brindando un incremento de biomasa en tallos y raíces los cuales producen fitohormonas (Tudzynski y Sharon, 2002), que otorga tolerancia al estrés biótico y abiótico además, brindando adaptación al hábitat (Rodríguez *et al*, 2008).
3. El tercer grupo de los no clavicipitáceos perteneciente al subreino Dikarya esta tiene una amplia gama en tejidos aéreos, plantas y poblaciones de árboles tropicales, coníferas, angiospermas leñosa y herbácea, no vascular y también vascular sin semillas. Además, la transmisión horizontal forma infecciones localizadas en tejidos vegetativos y reproductivos especialmente en semillas (Murali *et al*, 2007). Además, se ha descubierto que no confiere necesariamente a sus hospederos a la adaptación al hábitat (Rodríguez *et al*, 2008).
4. El cuarto grupo de los no clavicipitáceos que comprenden a hongos Ascomycetes conidiales o estériles que forman estructuras melanizadas como hifas inter e



intracelulares y micro esclerocios colonizando las raíces (Rodríguez *et al*, 2008), teniendo poca especificidad de huésped y hábitad; su transmisión es horizontal y no confieren hábitad de adaptabilidad (Rodríguez *et al*, 2008).

4.4.2. Hongos micorrízicos

El término micorriza se origina por la fusión de los palabras: *mykes* = hongos y *rhiza* = raíz, lo cual implica la asociación simbiótica entre las raíces de las plantas y hongos del suelo perteneciente a los *Basidiomycetos*, *Ascomycetos* y *Glomales* (Castro, 2009).

La principal función de los hongos micorrízicos es hacer asequibles nuevas áreas en el suelo incrementando el área de exploración radical, a través de la extensión de sus hifas en el suelo, lo cual hace más eficiente el proceso de absorción de nutrientes (Castro, 2009), como N, P, K, Ca, Cu, Mg, Mn, Zn, entre otros (Martin, 2004), y distribuirlos a las plantas mejorando la nutrición y así como la tolerancia a patógenos del suelo (Martin, 2004).

4.4.2.1. Clasificación hongos micorrízicos

Tabla 2. Principales grupos formadores de micorrizas (Castro, 2009).

GRUPOS	HOSPEDERO	HONGO	ESTRUCTURA	FUNCION
Ectomicorriza	Gimnospermas. Algunas angiospermas	Basidiomicetes. Algunos Ascomycetes	Red de Hartig,manto, rizomorfos	Absorción de nutrientes



Arbuscular	Briofitas, Pteridofitas. Algunas Gimnospermas. Muchas angiospermas.	Glomales	Arbúsculos, vesículas células auxiliares.	Absorción de nutrientes. Formación de agregados.
Ericáceas	Ericales, monotropáceas	Ascomicetos, basidiomicetos.	Algunas con hifas en células y algunas con manto y red.	Mineralización transferencia entre plantas.
Orquidáceas	Orquideas	Basidiomicetos	Hifas	Carbono y vitaminas al embrión.
Ectendomicorrizas (Arbutroides y monotropoides)	Gimnospermas	Basidiomiceros	Red de Harting, algunas penetrar a nivel celular	Absorción de nutrientes y mineralización.

(Sylvia David, Hartel Peter, Fuhrmann Jeffry y Zuberer David, 1998)

4.4.2.2. Hongos Micorrízicos arbusculares

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares se encuentran dentro de un grupo monofilético de la clase de Glomeromycetes que colonizan las raíces de más del 80% de especies vegetales (Schüßler *et al*, 2001). Dentro de los sistemas agrícolas o forestales se encontraron seis tipos de hongos micorrízicos arbusculares, *Acaulospora delicata* perteneciente a la familia



Acaulosporaceae, *Scutellospora dipallosa*, *Scutellospora fulgida*, *Scutellospora gilmorei* a la familia Gigasporaceae, *Glomus clarum* y *Glomus etunicatum* a la familia Glomeraceae (Irrazabal et al, 2005).

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) cumplen varias funciones en la planta: proporcionan la capacidad de absorción de los nutrientes poco móviles hacia la planta, brindan protección frente al ataque de patógenos radicales, restauran la fertilidad del suelo en ecosistemas, mejoran la calidad nutricional de las especies vegetales y en la actualidad son considerados como biofertilizantes, bioprotectores y biorreguladores para la mayoría de cultivos (Guerrero, 1996). Tienen una importante ventaja con respecto a otros hongos y microorganismos del suelo, debido a que tienen un abastecimiento constante directo de carbono orgánico desde su hospedante, lo que le permite la formación de exudados como la glomalina que ayuda a la agregación del suelo (González *et al*, 2004).

4.4.3. Métodos de aislamiento

Zettler (2010), describe que para el aislamiento de hongos micorrízicos las raíces son cortadas en proporciones de 0.5 cm a 2 cm, lavadas con detergente y desinfectadas en una solución de 5 ml de hipoclorito de sodio más 5 ml de alcohol al 96% aforada a 100 ml con agua estéril, las muestras se sumergen durante 1 minuto en la solución desinfectante, posteriormente se enjuagan 3 veces en agua destilada estéril previo a la siembra en medio de cultivo Fungi Isolation Medium (FIM) al que se agregará estreptomomicina para evitar la contaminación bacteriana, este proceso debe desarrollarse en un ambiente estéril dentro de la cámara de flujo.

4.4.4. Métodos de cultivo y propagación



A partir del crecimiento miceliar obtenido de la raíz en medio FIM, se procede a seleccionar las colonias predominantes por su crecimiento, forma, coloración y se las aísla en cajas Petri que contienen 20 ml de medio PDA (Papa Dextrosa Agar), este proceso se repite sucesivamente hasta obtener cepas puras de los diferentes hongos encontrados.

4.4.5. Técnicas de inoculación

Según la metodología de Bayman y Otero (2006), las cepas madres de hongos endófitos se repican en cajas petri con 20 ml de medio PDA (papa, dextrosa y Agar) donde se deja que colonicen toda la superficie de la caja, posteriormente se licua todo el micelio obtenido en 50 ml de agua estéril por 60 segundos hasta formar una suspensión miceliar, la misma que se coloca sobre el sustrato estéril (autoclavado a 120 BAR por 15 minutos), y se aísla por 8 días en un ambiente estéril. En sustrato inoculado se procede a plantar.

Mientras tanto la metodología de Pérez *et al*, (2012) basa la inoculación en el conteo de las esporas de los hongos endófitos en un sistema autótrofo aislado estéril.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Área de estudio

La recolección de las muestras para el estudio, está ubicada en los cantones Cuenca, Paute y Guachapala de la provincia del Azuay, en donde se realizó las recolecciones de las muestras de las raíces para el aislamiento de los hongos endófitos que se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca, ubicada a 2590 m.s.n.m con una temperatura ambiental entre 20 -



28 °C y una precipitación de 878 mm. Las raíces fueron recolectadas dentro de la zona ecológica: huerta tradicional familiar, bosque ripario constituida por vegetación arbórea, sotobosque constituida por arbustos y matorrales que es el más cercano a la superficie y sistema agroforestal por tener cultivo de café en sistema forestal (Tabla 3), ubicados dentro del cantón Cuenca, Paute y Guachapala.

Tabla 3. Zonas de muestreo de raíces para el aislamiento de hongos endófitos rizosféricos.

Cantón	Parroquia	Latitud	Longitud	Ecología	Especie	Condiciones
Cuenca	Yanuncay	717452	9676080	Huerta tradicional	Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i> Cav.)	Planta sometida a déficit hídrico.
Cuenca	San Joaquín	717589	9679620	Bosque ripario.	Cujajo (<i>Solanum ispidum/Solanum chryso-trichum</i>).	Planta sometida a superávit hídrico.
Cuenca	San Joaquín	713971	9679780	Bosque ripario.	Turpag (<i>Solanum asperolanatum</i>).	Planta sometida a compactación



Cuenca	San Joaquín	713955	9679028	Sotobos- que	Sauco negro (<i>Sambu- cus nigra</i>)	Planta bajo árboles.
Paute	Paute	746875	9689565	Huerta tradicional	Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum Cav.</i>).	Planta con deficiencia de nutrientes y presencia de enfermeda- des
Guacha- pala	Guachapala	753906	9694318	Sistema agroforest al	Palo blanco (<i>Solanum auricula- tum</i>).	Planta utilizado como patrón

5.2. Área de ejecución del proyecto

El ensayo se llevó a cabo en el Laboratorio e invernadero de Propagación *in vitro* de Plantas de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca, ubicada a 2590 m.s.n.m. con una temperatura ambiental entre 20 a 28°C y una humedad relativa de 70 a 80%.



5.3. Recolección de muestras de raíces

Se recolectaron 5 muestras de raíces secundarias de un tamaño entre 5 a 10 cm de longitud por especie de solanácea a 20 cm de la superficie del suelo. Estas se colocaron en fundas sellables herméticamente con algodón húmedo para evitar su deshidratación, posteriormente fueron trasladadas al laboratorio.

5.4. Aislamiento y cultivo de hongos endófitos

El procedimiento de aislamiento y cultivo de hongos endófitos para cada especie muestreada, se lo realizó dentro de la cámara de flujo laminar para evitar la contaminación y se adaptó el protocolo descrito por Zettler (2010), a la investigación. Además, se complementan algunos pasos adicionales para el procedimiento como se describe a continuación:

- a. **Lavado y corte:** Las muestras se lavaron con abundante agua y se cortaron en segmentos de 2 cm.
- b. **Desinfección:** posteriormente se tomó al azar 3 segmentos y se sumergieron en una solución desinfectante (5 ml cloro al 10% + 5 ml alcohol al 85% + 90 ml de agua estéril) por 1 minuto y luego se enjuagaron con agua destilada estéril, este proceso se realizó por 3 veces consecutivas.
- c. **Picado y macerado:** los segmentos desinfectados se colocaron en una caja Petri, se adicionó 0.5 ml de agua destilada estéril y con un bisturí se procedió a picar y macerar, hasta obtener una solución lo más homogénea posible.
- d. **Siembra:** se añadió la solución obtenida del macerado aproximadamente de 20 ml de medio FIM (Fungi Isolation Medium) previamente elaborado y esterilizado, el cual se encontraba a una temperatura alrededor de 40 °C y al cual se adicionó 0.06 gr de



estreptomomicina para evitar la contaminación bacteriana. Cuando el medio gelifico se selló la caja con parafilm y se colocó en incubadora a 20 °C y 80%HR.

- e. **Repique:** a los 2 días de la siembra se procedió a visualizar las cepas de hongos desarrolladas, las mismas que en base a su coloración y crecimiento se repicaron en cajas Petri con medio PDA (Papa Dextrosa Agar) con pH 5,6.
- f. **Purificación:** se realizó varios repiques sucesivos con la finalidad de purificar las cepas de hongos aislados.

5.5. Selección de hongos endófitos

El procedimiento para la selección de cepas puras de hongos endófitos e inoculación en semillas de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) se lo realizó adaptando la metodología de Ordoñez Castillo (2012), a la investigación:

En condiciones estériles (cámara de flujo laminar) se realizó un ensayo con 2 repeticiones por cada cepa de hongo aislado y purificado como se describe a continuación.

- a. **Refrescamiento de cepas de hongos:** todas las cepas purificadas se procedieron a repicar en cajas Petri con 20 ml de PDA y se colocaron en la incubadora por varios días hasta que el hongo colonizó toda la superficie.
- b. **Preparación sustrato:** se colocó 100 cm³ (70 gr) de turba húmeda en frasco herméticos, los mismos que se esterilizaron en autoclave por 30 minutos a 120°C y 210 BAR; este proceso se realizó 3 veces.
- c. **Elaboración del inoculo:** de cada una de las cajas Petri que contenían los diferentes hongos se extrajo el agar (PDA) colonizado por el micelio del hongo y se colocó en



frascos con 50 ml de agua destilada estéril, con un bisturí se procedió a picar, mezclar y homogenizar con la finalidad de formar un “solución miceliar”.

- d. **Inoculación semillas:** las semillas de tomate de árbol, previamente extraídas secas y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1,5% por 2 minutos y alcohol al 70% durante 2 minutos, enjuagadas por 3 veces en agua estéril, se sumergieron en la solución miceliar por 24 horas,
- e. **Siembra de semillas en sustrato:** las semillas de tomate de árbol inoculadas con la solución miceliar, fueron sembradas en los frascos que contenían la turba previamente estéril y en ellos se procedió a colocar 1 ml de la solución miceliar antes de la siembra y 1 ml posterior a está.

Finalmente se sellaron los frascos con parafilm y se colocaron en la cámara de crecimiento a una temperatura ambiente entre 20 a 28°C y humedad relativa entre 60 a 80%.

- f. **Determinación de simbiosis:** a los 60 días posteriores a la siembra se tomó las raíces de plántulas germinadas y se procedió aislar los hongos endófitos de estas, con la finalidad de determinar si la inoculación fue efectiva, para seleccionar las cuatro cepas potenciales en base de la simbiosis radicular y sus características morfológicas (coloración y forma de crecimiento).

5.6. Evaluación de hongos endófitos en la germinación

El procedimiento para la evaluación de hongos endófitos en la germinación de semillas de tomate árbol, se lo realizó dentro de la cámara de flujo laminar para evitar la



contaminación y se adaptó las metodologías de Pérez *et al*, (2012) y Ordoñez Castillo (2012), a la investigación:

a. Cultivo del hongo: las cepas seleccionadas aisladas nuevamente se procedieron a repicar en cajas Petri con 20 ml de PDA y se colocaron en la incubadora por varios días hasta que el hongo colonice toda la superficie.

b. Preparación de medio: se colocaron 4 ml de medio MS (Murashige Skoog) sin azúcar en tubos de ensayo y 100 gr de turba húmeda en tarrinas de aluminio y ambos, medio de cultivo y sustrato, fueron esterilizados en la autoclave por 30 minutos a 120 °C y 210 BAR.

En el caso de los tubos de ensayo, previo a la esterilización, se colocó una tira de papel filtro doblada en forma de M al fondo y en su interior, que serviría de soporte para la semilla de tomate de árbol a sembrar en ellos; mientras que las tarrinas se taparon con aluminio para su esterilización.

c. Elaboración del inóculo: en condiciones estériles, el agar (PDA) de las cajas Petri con el micelio del hongo colonizado se colocó en frascos con 50 ml de agua destilada estéril, con un bisturí se procedió a picar, mezclar y homogenizar con la finalidad de formar un “solución miceliar”.

d. Siembra: se colocaron las semillas de tomate de árbol previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1,5% y alcohol al 70% durante 2 minutos sobre el soporte de papel filtro, luego con una micro pipeta se añadió 0.5 ml de la suspensión miceliar y se sellaron los tubos con parafilm, posteriormente se colocaron los tubos en la cámara de crecimiento a una temperatura ambiente entre 20 a 28 C° y humedad



relativa entre 60 a 80%. Mientras que en las tarrinas con turba estéril se colocaron las semillas de tomate de árbol previamente sumergidas en la suspensión miceliar, además sobre la turba se colocó 1 ml de la suspensión miceliar por cada semilla.

Los ensayos de germinación tanto en los tubos de ensayos (Germinación *in vitro*) y tarrinas con turba estéril (Germinación en vivero) se evaluaron el número de semillas germinadas con un registro periódico y final de 45 días, considerando las semillas germinadas desde el momento de la ruptura de la testa; donde las plántulas obtenidas fueron utilizadas para aislar nuevamente las cepas de hongos evaluadas, comprobando así la inoculación.

5.7. Inoculación de hongos al trasplante

El procedimiento para la inoculación de hongos endófitos en el trasplante de las plántulas de tomate árbol (*Solanum betaceum* Cav), se lo realizó en la cámara de flujo laminar para evitar la contaminación, adaptando la metodología de Ordoñez Castillo (2012), a la investigación como se describe a continuación:

- a. **Refrescamiento de cepas de hongos:** las cepas de hongos seleccionadas se repicaron cortando un segmento de aproximadamente 0.5 cm^2 del medio del cultivo en el que se encontraba la cepa madre y depositándolo en el centro de una caja Petri que contenía 20 ml de medio PDA. Este procedimiento se repitió en todas las cepas y posteriormente estas se colocaron en la incubadora por varios días hasta que el hongo colonice toda la superficie del medio.



- b. Preparación del sustrato:** se colocó 100 cm³ (70 gr) de turba húmeda y 400 cm³ (470 gr) de sustrato de vivero, en diferentes frascos herméticos y fundas, los mismos que se esterilizaron en el autoclave por 30 minutos a 120°C y 210 BAR; 3 veces.
- c. Obtención de plántulas:** en una bandeja plástica estéril de 40x25 cm que contenía turba estéril (autoclavada 3 veces por 30 minutos a 120 °C y 210 BAR) se sembró 150 semillas de tomate de árbol previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio 1,5% por 2 minutos y alcohol 70% durante 2 minutos, luego de la siembra en cámara de flujo laminar cada bandeja fue cerrada y sellada con la finalidad de mantener el interior estériles.
- d. Elaboración inóculo:** de las cajas Petri que contenían el hongo colonizado se extrajo todo el medio de cultivo que contenía el micelio y se colocó en frascos con 70 ml de agua destilada estéril, con un bisturí se procedió a picar, mezclar y homogenizar con la finalidad de formar un “solución miceliar”.
- e. Trasplante de plántulas germinadas en bandejas estériles:** las plántulas previamente germinadas en las bandejas en condiciones estériles con 3 cm de altura y 4 hojas (2 juveniles, 2 verdaderas) se usaron para establecer el ensayo de la siguiente manera, sus raíces se sumergieron en la “solución miceliar” por 30 segundos, una vez inoculadas, se colocaron en frascos y fundas que contenían la turba estéril y el sustrato, además con una micro pipeta, se agregó 1 ml de a solución miceliar antes del trasplante 1 ml posterior a este.

Finalmente se sellaron los frascos con parafilm y se colocaron en la cámara de crecimiento a una temperatura ambiente entre 20 a 28 °C y humedad relativa entre 60



a 80%, mientras tanto las fundas se llevaron al vivero a una temperatura ambiente entre 15 a 28 °C y humedad relativa de 50 a 70%.

- f. Determinación simbiosis:** a los 90 días del trasplante, de las plántulas inoculadas en los frascos se tomaron las raíces de 3 plántulas por tratamiento y se procedió a aislar nuevamente los hongos endófitos de estas, con la finalidad de determinar si la inoculación del hongo fue suficiente para permitir que este colonice las raíces, siendo la simbiosis positiva al momento de comparar las cepas aisladas con las cepas madres estas sean iguales.

Siendo así con los frascos herméticos con turba estéril se estableció el ensayo en condiciones de laboratorio, mientras tanto lo que se refiere a las fundas con sustrato estéril se estableció el ensayo en condiciones de vivero

5.8. Medición de la conductividad estomática e índice de concentración de clorofila

A los 60 días se tomaron los datos del índice concentración de clorofila (CCI) como una medida de desarrollo (vigor) que podrían conferir los hongos endófitos inoculados en vivero, ésta se midió en unidades $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ de superficie de hoja usando el medidor de clorofila, donde en el interior del equipo se colocó la tercera hoja joven completamente desarrollada de las plantas de tomate de árbol sin arrancarla.

Mientras tanto a los 90 días se tomaron los datos de conductividad estomática como una medida del nivel de tolerancia al estrés hídrico que podrían conferir los hongos endófitos inoculados en vivero, ésta se midió en $\text{mmol}/\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ usando el porómetro, donde en el interior equipo se colocó la tercer hoja más joven de las planta de tomate de árbol sin arrancarla.



Para la evaluación de la resistencia al estrés hídrico por cada tratamiento se regaron todas las plantas hasta el punto de capacidad de campo. Posteriormente se dividió a las plantas en 2 bloques en donde se tomaron los datos de conductividad estomática diariamente, en el primer bloque de plantas se continuó regando normalmente y en el segundo bloque de plantas se excluyó el suministro de riego hasta que las plantas bordeen el punto de marchites permanente.

5.9. Reconocimiento morfológico de hongos endófitos

Durante el proceso de evaluación de las cuatro cepas de hongos endófitos seleccionadas se realizó el reconocimiento morfológico a través de la técnica de la tinción de azul de metileno. El azul de metileno tiñe la pared del hongo permitiendo una fácil visualización y reconocimiento de sus estructuras morfológicas en el microscopio.

Procedimiento:

- a. Se selecciona las colonias purificadas de los hongos endófitos aisladas.
- b. Poner una gota de azul de metileno en el portaobjetos.
- c. Con el lado adhesivo de la cinta de 2 cm, tocar la parte superior de hongo.
- d. Colocar la cinta sobre la gota de azul de metileno.
- e. Observar al microscopio en aumento de 10x, 40x y 60x.

5.10. Análisis de biomasa fresca y seca

Este indicador nos permite analizar el crecimiento (acumulación de biomasa) de las plántulas de tomate de árbol, donde se tomó el peso fresco y seco de la parte aérea de la planta (hojas, tallo) y las raíces.



Este proceso se realizó a los 90 días del trasplante:

5.10.1. Biomasa fresca: para determinar la biomasa fresca se procedió a separar la parte aérea y el sistema radicular, posteriormente las muestras se pesaron en una balanza gramera.

5.10.2. Biomasa seca: para determinar la biomasa seca se usaron las muestras previamente pesadas en fresco y se colocaron en una estufa a 80°C durante 24 horas para luego ser pesadas en una balanza gramera.

5.11. Análisis químico sustrato

Se tomó un 1kg de turba y sustrato de vivero, utilizados en el ensayo, estas muestras se enviaron para el análisis químico de N, P, K y pH, al laboratorio de manejo de suelos y aguas del INIAP Estación Experimental del Austro con la finalidad de obtener el análisis químico del material utilizado (Tabla 4) y registrar si su composición índice en el comportamiento de la inoculación de los hongos endófitos. Además, se enviaron las muestras de turba y sustrato de vivero para el análisis de materia orgánica (%), al laboratorio de física de suelos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca (Tabla 5).

Tabla 4. Análisis químico de N, P, K, Ca y Mg en turba y sustrato de vivero.

Turba					
Determinación valor	N (ppm)	P (ppm)	K (ppm)	Ca (meq 100	Mg (meq
unidad				ml)	100 ml)



Alto	189	53		9	4.0
Medio			0.3		
Bajo					
pH	5.88				
Sustrato de vivero					
Determinación	valor				
unidad	N (ppm)	P (ppm)	K (ppm)	Ca (meq 100 ml)	Mg (meq 100 ml)
Alto	247	84	1.1	19	
Medio					3.0
Bajo					
pH	5.84				

Tabla 5. Análisis químico de materia orgánica de turba y sustrato de vivero.

Muestra	Materia orgánica %
Turba	59.05
Sustrato de vivero	11.15



5.12. Diseño experimental y análisis estadístico

En el experimento para la evaluación de los hongos endófitos durante la germinación y trasplante se utilizó un diseño completo al azar (DCA) bajo 2 condiciones la primera es *in vitro* (Tabla 6) y la segunda en vivero (Tabla 7), con 5 Tratamientos, 1 testigo y 1 control. Asimismo, las cepas de cada tratamiento se identifican con letras mayúsculas A, B, C, D y E (Mezcla A, B, C y D), testigo y control en vivero de los cuales se enviaron las cepas, para la secuenciación e identificación.

Tabla 6. Diseño experimental para la evaluación de los hongos endófitos *in vitro*, en la germinación de semilla de tomate de árbol, diseño completo al azar (DCA).

TRATAMIENTO CEPA	CONDICIÓN	N° REPETICIONES	DESCRIPCIÓN
A	<i>in vitro</i>	10	Cepa seleccionada A + MS liquido
B	<i>in vitro</i>	10	Cepa seleccionada B+ MS liquido
C	<i>in vitro</i>	10	Cepa seleccionada C+ MS liquido
D	<i>in vitro</i>	10	Cepa seleccionada D+ MS liquido
E	<i>in vitro</i>	10	Mezclas cepas seleccionadas A, B, C, D+ MS liquido
TESTIGO	<i>in vitro</i>	10	Sin inculo + Ms liquido



Tabla 7. Diseño experimental para la evaluación de los hongos endófitos en vivero, en la germinación de semilla de tomate de árbol, diseño completo al azar (DCA).

TRATAMIENTO CEPA	CONDICIÓN	N° REPETICIONES	DESCRIPCIÓN
A	Vivero	10	Cepa seleccionada A+ turba estéril
B	Vivero	10	Cepa seleccionada B+ turba estéril
C	Vivero	10	Cepa seleccionada C+ turba estéril
D	Vivero	10	Cepa seleccionada D+ turba estéril
E	Vivero	10	Mezclas cepas seleccionadas A, B, C, D + turba estéril
Testigo	Vivero	10	Sin inóculo + turba estéril
Control	Vivero	10	Sin inóculo + Turba sin esterilizar.

6. RESULTADOS

El tipo y las características de los datos fueron analizados mediante el análisis de medidas de tendencia central a través del programa InfoStat L. El nivel de significancia (alfa) seleccionado para identificar diferencias estadísticamente significativa fue de 0.05.



6.1. Germinación

Debido al tipo de datos obtenidos como resultados de la germinación de semillas de tomate de árbol inoculadas con hongos endófitos rizosféricos, tanto *in vitro* como en vivero se realizó un análisis de medidas de tendencia central y no un análisis estadístico.

6.1.1. Germinación *in vitro*

La germinación de semillas de tomate de árbol inoculadas con las cepas A, B, C, D E y testigo en medio MS líquido, muestra germinación única en la cepa B y en el testigo (Figura 1).

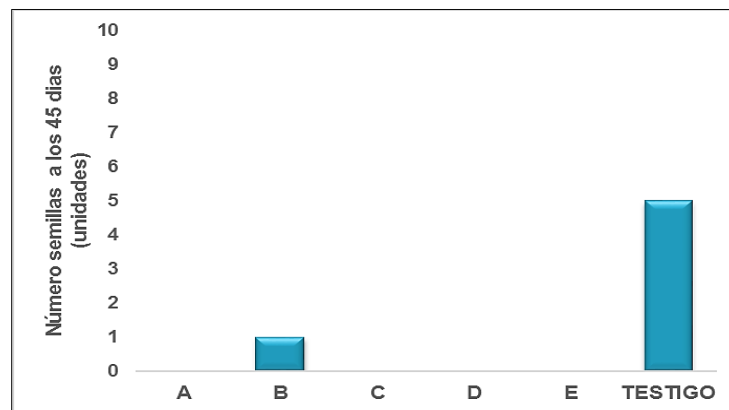


Figura 1. Número de semillas germinadas bajo condiciones *in vitro*.

En la Figura 1, se observa que la cepa B presenta la única semilla germinada, resultado similar al de las cepas A, C, D y E donde no se registró germinación alguna, por el contrario, el Testigo alcanzó una germinación del 50%, lo que indica un efecto negativo de las cepas de hongos inoculadas en condiciones *in vitro* sobre el proceso de germinación, probablemente debido a la interacción entre el hongo y la semilla, ya que el micelio del hongo colonizó aceleradamente la testa de la semilla impidiendo la respiración normal de ésta. Además se pudo destacar que, en vista de que las semillas del tratamiento testigo alcanzaron una germinación máxima del 50%, la

calidad de éstas probablemente no fue la óptima o pudo ser afectada durante el proceso de desinfección.

En cuanto al periodo de germinación que se muestra en la Figura 2, el Tratamiento B presenta la única germinación a los 14 días en comparación con el Testigo que muestra un periodo de germinación entre los 16 y 23 días. Ya que los datos no difieren significativamente entre ellos y no son concluyentes, se presentó como un resultado que muestra que para el tomate de árbol las pruebas de germinación con hongos podrían no ser apropiadas en condiciones *in vitro* por lo menos con las cepas que se evaluaron en el presente estudio.

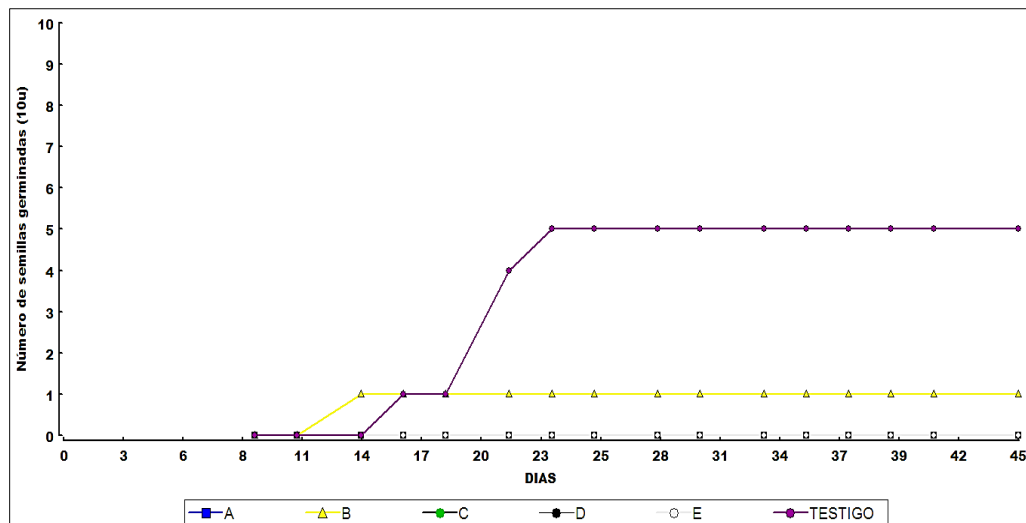


Figura 2. Curvas de germinación *in vitro* obtenidas a partir de semillas de tomate de árbol inoculadas con hongos endófitos.

6.1.2. Germinación en vivero.

El resultado de la germinación de *Solanum betaceum* Cav. bajo condiciones de vivero en turba estéril usando semillas previamente desinfectadas se puede apreciar en la siguiente Figura 3.

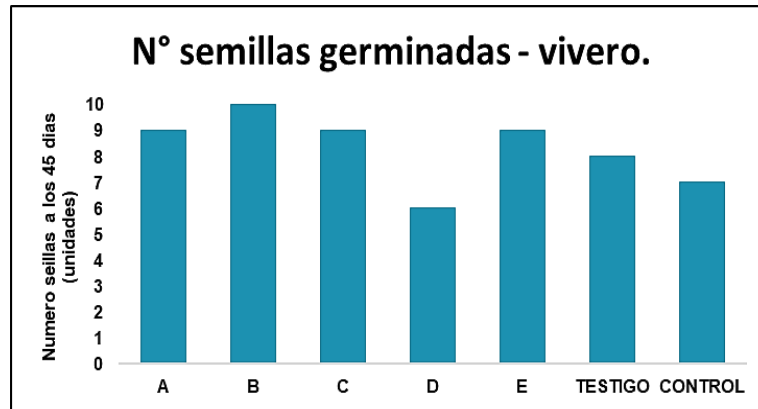


Figura 3. Número de semillas de tomate de árbol germinadas bajo condiciones de vivero, sometidas a la inoculación de hongos endófitos pre siembra.

A los 45 días de la siembra, las cepas A, B, C, E muestra un mayor número (1-2 semillas) de semillas germinadas en comparación con el Testigo y el control, siendo la cepa B el único en el que todas las semillas germinaron, por el contrario la cepa D fue el que registró el menor número de semillas germinadas.

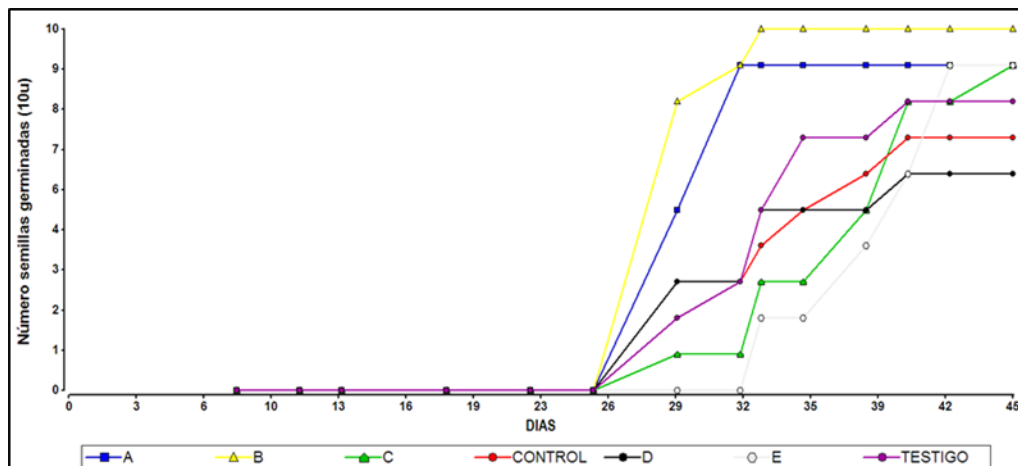


Figura 4. Días de germinación en vivero obtenido a partir de semillas de tomate de árbol inoculadas con hongos endófitos.



En la Figura 4, las curvas de germinación indican que las cepas A y B tienden a reducir periodo de germinación total entre 25 y 30 días, mientras que el Testigo y el Control muestran un periodo de germinación entre 29 a 40 días de manera similar a lo observado en las cepas C, D y E.

Estos resultados nos muestran por una parte que para la evaluación de la germinación de semillas de tomate de árbol inoculadas con hongos endófitos la siembra en sustrato es una metodología más apropiada ya que en este caso se obtuvo un mayor número de plantas en todos los tratamientos. Por otra parte, se puede destacar que el tiempo que tardaron en germinar las semillas inoculadas con las cepas A y B se redujo de forma considerable al compararlo con el control sin inóculo y los demás tratamientos, que alcanzaron su mayor germinación entre 8 y 10 días después.

6.2. Trasplante

6.2.1. Trasplante en condiciones de *in vitro*

En frascos plásticos que contenían turba estéril, se trasplantaron de forma individual 10 plántulas de tomate de árbol previamente germinadas en sustrato estéril e inoculadas con cada uno de los cuatro tipos de cepas (A, B, C, D) aisladas de raíces de solanáceas, una mezcla de las cuatro cepas (E), y el testigo (sin cepa de hongo), obteniéndose un total de 6 tratamientos y 10 repeticiones. La siembra se realizó bajo condiciones estériles y el ensayo se mantuvo en el cuarto de crecimiento del Laboratorio de Propagación *in vitro* de plantas.

6.2.1.1. Periodo de sobrevivencia de plántulas inoculadas

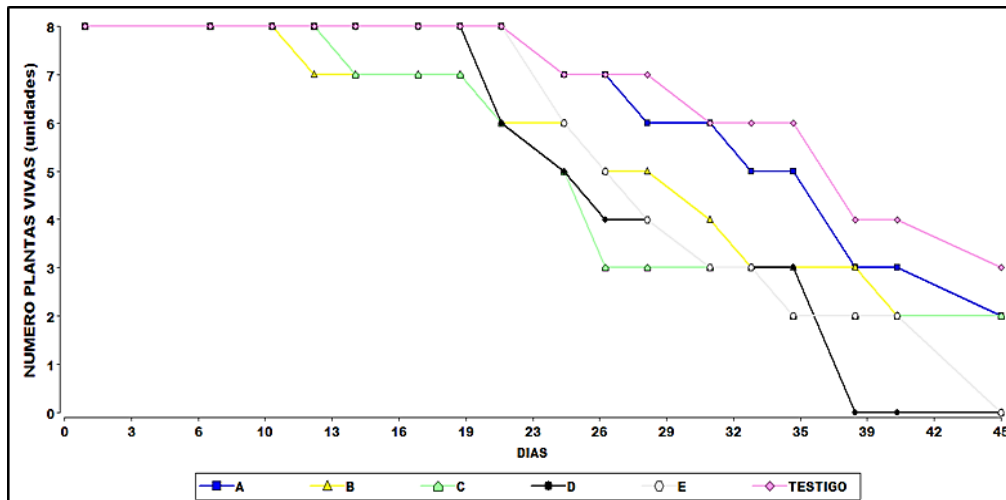


Figura 5. Curvas de sobrevivencia de plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongos endófitos al momento del trasplante en condiciones *in vitro*.

La Figura 5, muestra que la tasa de sobrevivencia post trasplante fue del 100% hasta los 12 días, pero a partir de este período, las plantas empezaron a morir progresivamente, reduciéndose en el mejor de los casos a tres plantas en el tratamiento Testigo que fue el que presentó mayor número de plantas vivas. En general todos los tratamientos presentaron una baja sobrevivencia de plántulas, registrándose incluso un 100% de mortalidad en los tratamientos D y E posiblemente debido a las condiciones *in vitro* establecidas para el ensayo, en donde los hongos aprovecharon rápidamente los nutrientes e invadieron la parte aérea de la planta. A los 45 días la mínima supervivencia de las plantas nos indicó que el sistema de inoculación de hongos en plántulas de tomate no es el adecuado en condiciones *in vitro* ya que incluso las plántulas del tratamiento testigo se vieron afectadas. El estrés propio del trasplante, sumado al cambio a un sistema *in vitro* son factores que podrían haber influido en los resultados obtenidos.

6.2.1.2. Periodo de crecimiento

Gráficos de dispersión obtenidos a partir de registro de alturas de plántulas de tomate de árbol inoculadas en condiciones estériles en sustrato con hongos endófitos.

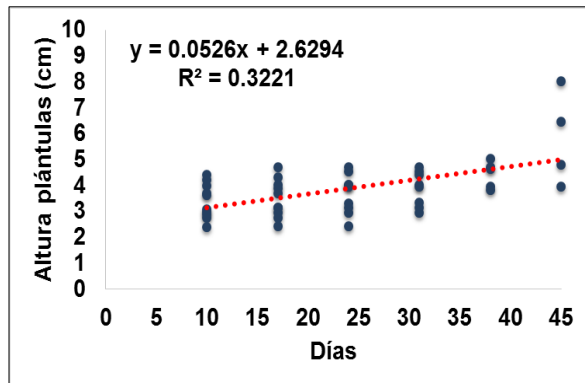


Figura 6. Desarrollo de plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongo endófito-cepa A.

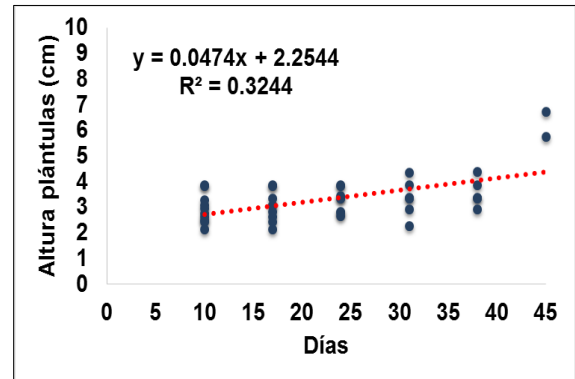


Figura 7. Desarrollo de plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongo endófito-cepa B.

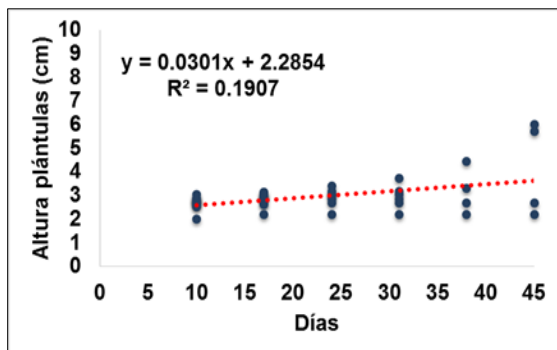


Figura 8. Desarrollo de plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongo endófito-cepa C.

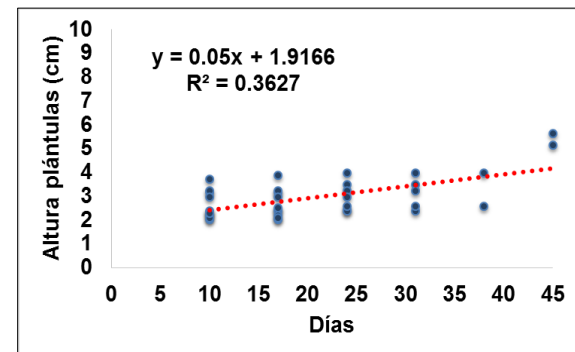


Figura 9. Desarrollo de plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongo endófito-cepa D.

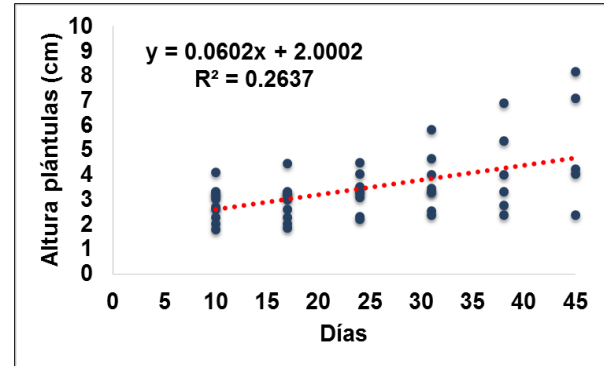
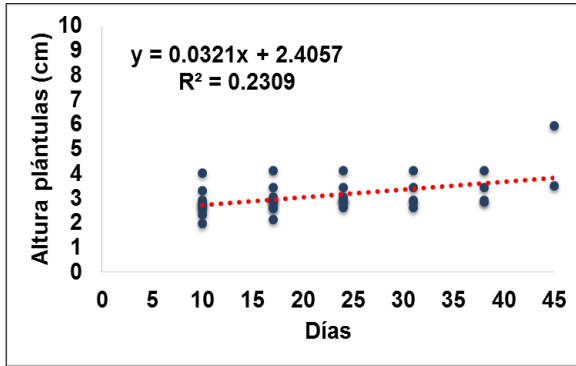


Figura 10. Desarrollo plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongo endófito- cepa E. **Figura 11.** Desarrollo de plántulas de tomate de árbol sin inoculo con hongo endófito-Testigo.

Los resultados a partir del muestreo de las alturas de plántulas de tomate de árbol en condiciones estériles en sustrato, indica que no existe una variación representativa entre los cepas A, B, C, D, E ni en el Testigo (Figura 11), pese a que éste último muestra un crecimiento algo mayor en ciertas plantas. Estos resultados indican que no existe un efecto evidente de los diferentes tratamientos sobre la altura y el período de desarrollo de las plantas en condiciones estériles dentro del laboratorio.

6.2.1.3. Diámetro

En la Figura 12, los promedios del diámetro del tallo de las plántulas de tomate de árbol de las cepas A, B y C obtenidos a los 45 días, muestran un leve efecto sobre el desarrollo del diámetro. De similar manera, la dispersión de puntos de las cepas A, B y C muestran una mejor agrupación en comparación con las cepas D, E y el Testigo que presentan promedios menores y una mayor dispersión de los datos, sin embargo, la prueba de Fisher con un 95% de intervalo de confianza, mostró que no existe una diferencia estadísticamente significativa como se indica en la (Tabla 8).

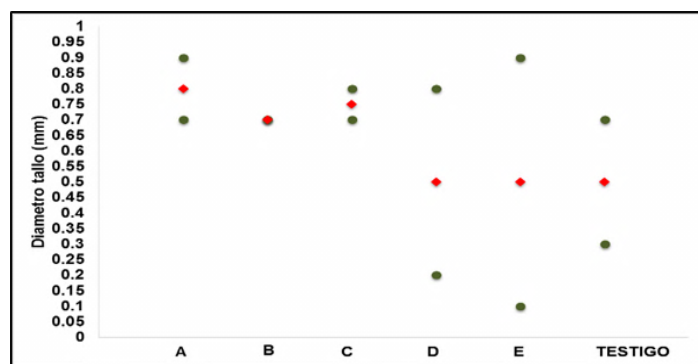


Figura 12. Diámetro de tallo obtenido en plantas de tomate de árbol luego de 45 días de inoculación con hongos endófitos en condiciones de laboratorio. (Puntos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios).

Tabla 8. Análisis de varianza diámetro de plántulas 45 días en condiciones de laboratorio.

	DF	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	5	0.2642	0.0528	0.5817	0.7157
Error	6	0.5450	0.0908		
Corrección					
Total	11	0.8092			

6.2.1.4. Hojas

En la Figura 13, se observa que el número promedio de hojas obtenido en los diferentes tratamientos muestra un leve incremento en el cepa B respecto a las otras cepas y el Testigo, mientras que las cepas A, C, D y E, no superan al testigo y en la mayoría de casos presentan un número de hojas menor a éste. Por otra parte, la dispersión de datos obtenida indican que las cepas B, D y E exhiben resultados más homogéneas y estables.

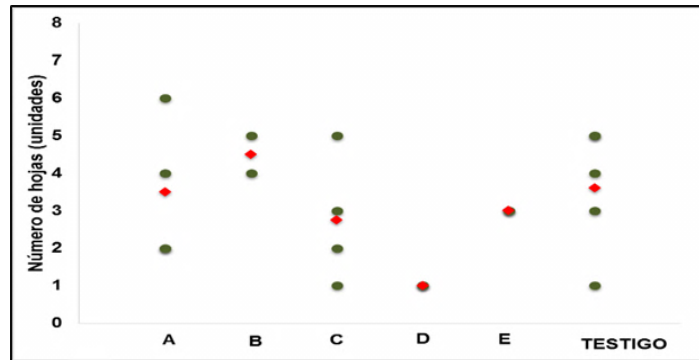


Figura 13. Número de hojas en plantas de tomate de árbol luego de 45 días de inoculación con hongos endófitos (cepas A, B, C, D, E). (Puntos verdes=muestra, diamantes rojos=promedio).

Podemos destacar también que el Tratamiento D fue el que menor número de hojas presentó, evidenciando un efecto negativo en cuanto a este parámetro evaluado. De igual manera se observa que en este tratamiento el número de plantas evaluadas fue menor, lo que evidencia un efecto no favorable de esta cepa.

6.2.1.5. Altura.

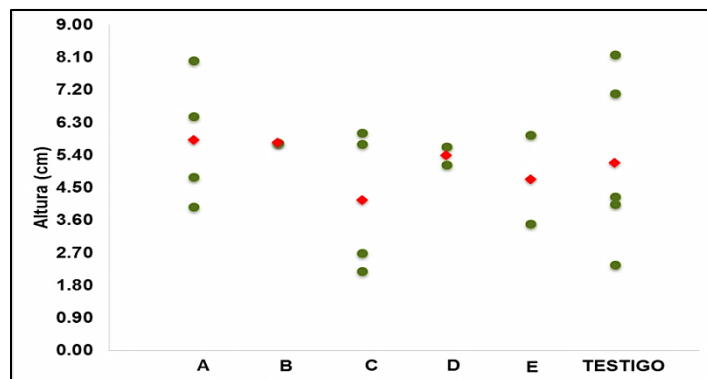


Figura 14. Altura de plántulas de tomate de árbol luego de 45 días de la inoculación con hongos endófitos (A, B, C, D, E). (Puntos verdes = muestras, diamantes rojos =promedios).

En la Figura 14, los promedios de altura de las plantas con las cepas A, B y D muestran un leve incremento en comparación con el Testigo, mientras que las cepas C y E registran una altura

menor a las otras cepas y al Testigo, siendo estas diferencias mínimas por lo que de acuerdo con estos resultados se puede mencionar que no existe un efecto significativo de las cepas sobre la altura de las plantas. De similar manera la dispersión indican que los datos con las cepas B y D muestran una agrupación más consistente.

Tabla 9. Análisis de varianza altura de plántulas a los 45 días inoculadas en condiciones de laboratorio.

	Suma de Cuadrados				
	DF	cuadrados	medios	F	Pr > F
Modelo	5	8.7586	1.7517	0.5616	0.7278
Error	12	37.4305	3.1192		
Corrección					
Total	17	46.1890			

6.2.1.6. Biomasa

Gráficos de dispersión creadas a partir del muestreo a los 45 días de la biomasa radicular y área de plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongos endófitos en condiciones de *in vitro*.

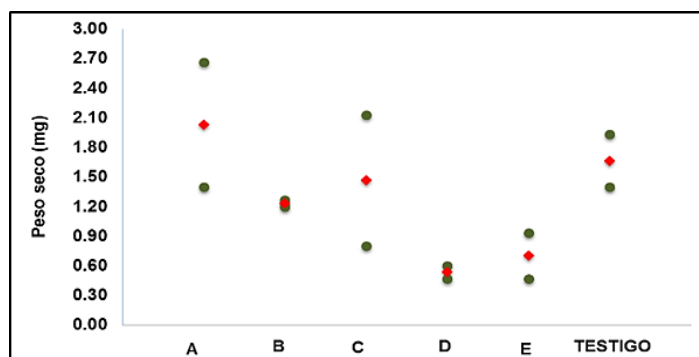


Figura 15. Peso seco de biomasa radicular de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (punto redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios).

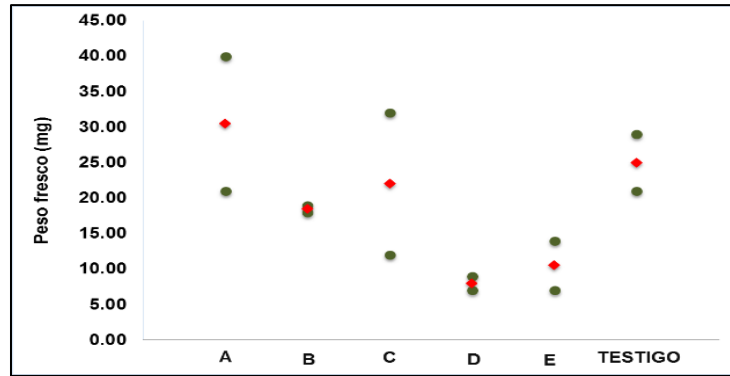


Figura 16. Peso fresco de biomasa radicular de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (puntos redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios).

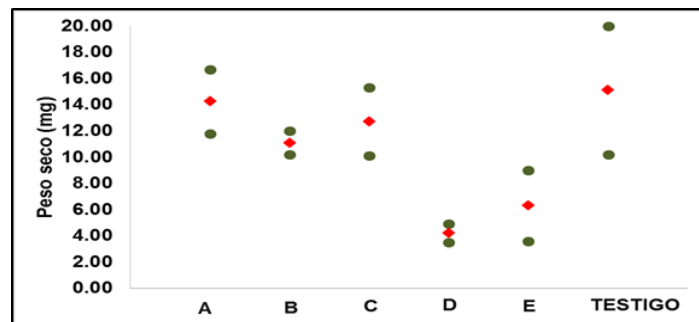


Figura 17. Peso seco de biomasa aérea de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (Puntos redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios).

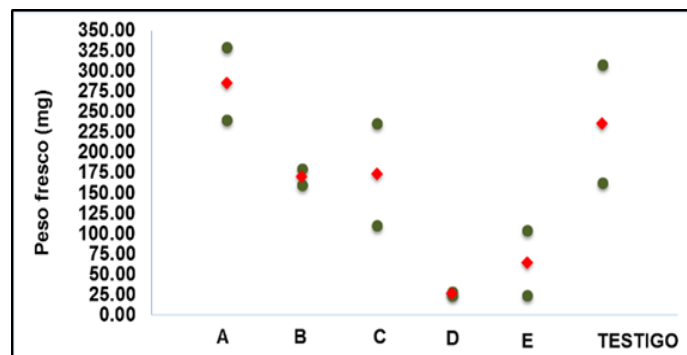


Figura 18. Peso fresco de biomasa aérea de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (Puntos redondos verde=muestras, diamantes rojos=promedios).



Respecto al peso fresco y seco de la biomasa aérea, los valores registrados de las cepas A, B, C y el testigo no exhiben diferencias importantes entre ellos, mientras que de las cepas D y E nuevamente muestran diferencias significativas respecto a los otros tratamientos y el testigo .

Tabla 10. Análisis de varianza biomasa aérea fresca plántulas inoculadas en condiciones de *in vitro*.

	DF	Suma de cuadrados	de Cuadrado medio	F	Pr > F
Modelo	5	146277.63	29255.53	13.5502	0.0001
Error	12	25908.50	2159.04		
Corrección					
Total	17	172186.13			

Tabla 11. Prueba de Fisher biomasa aérea fresca plántulas inoculadas en condiciones de *in vitro*.

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Diff	Significancia
TESTIGO vs A	49.5000	1.3047	2.1788	0.2165	NS
TESTIGO vs D	209.5000	5.5220	2.1788	0.0001	Yes
TESTIGO vs E	171.5000	4.5204	2.1788	0.0007	Yes
TESTIGO vs B	65.5000	1.7265	2.1788	0.1099	NS
TESTIGO vs C	62.5000	1.6474	2.1788	0.1254	NS
LSD-valor:			82.6618		



Tabla 12. Análisis de varianza biomasa radicular fresca plántulas inoculadas en condiciones de *in vitro*.

	Suma de Cuadrados				
	DF	cuadrados	medio	F	Pr > F
Modelo	5	1112.13	222.43	6.0730	0.0050
Error	12	439.50	36.63		
Corrección					
Total	17	1551.63			

Tabla 13. Prueba de Fisher 95% intervalo de confianza biomasa radicular fresca plántulas inoculadas en condiciones de *in vitro*.

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Diff	Significancia
A vs TESTIGO	5.5000	1.1131	2.1788	0.2875	NS
TESTIGO vs D	17.0000	3.4404	2.1788	0.0049	**
TESTIGO vs E	14.5000	2.9344	2.1788	0.0125	**
TESTIGO vs B	6.5000	1.3154	2.1788	0.2129	NS
TESTIGO vs C	3.0000	0.6071	2.1788	0.5551	NS
LSD-value:			10.7662		

En las Tablas 10, 11, 12 y 13, tanto el peso fresco como el peso seco de raíces de plantas de tomate de árbol en condiciones *in vitro*, muestran un incremento en la cepa A, sin que este valor

llegue a ser significativamente mayor al testigo, sin embargo, se observa una diferencia significativa respecto a las cepas D y E en donde se registraron los valores más bajos, lo que nos indica un efecto negativo de esas cepas sobre el crecimiento radicular.

6.2.2. Trasplante en vivero

Se trasplantaron 10 plántulas de tomate de árbol previamente germinadas e inoculadas con cada uno de los tratamientos (cepas, A, B, C, D, una la mezcla de las cuatro cepas E, y un testigo, sin inoculación del hongo) en sustrato de vivero previamente esterilizado y adicionalmente se sembró un control absoluto en el mismo sustrato sin esterilizar; obteniéndose un total de 7 tratamientos con 10 repeticiones cada uno. En este caso el ensayo se mantuvo bajo condiciones de invernadero.

6.2.2.1. Periodo de sobrevivencia

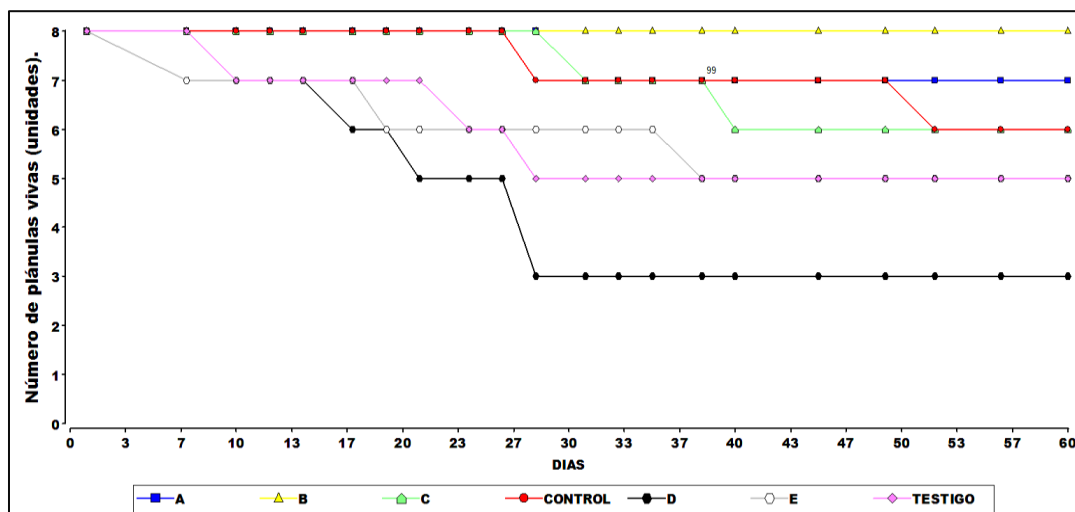


Figura 19. Curvas de sobrevivencia de plántulas de tomate de árbol inoculadas con diferentes cepas de hongos endófitos (A, B, C, D, E, Control y Testigo) al momento del trasplante en vivero.

En la Figura 19, se puede observar que las cepas A y B muestran el mayor número de plantas prendidas a los 60 días, mostrando las cepas A, B y C un prendimiento algo superior al Testigo. Además se puede observar que el tratamiento B fue el único que mantuvo la totalidad de las plantas vivas, lo que no se consiguió en ninguna de los otros tratamientos ni en el testigo. Por el contrario el tratamiento D evidenció un efecto negativo de la cepa de hongo, ya que fue en este tratamiento en donde se perdieron la mayor cantidad de plántulas.

6.2.2.2. Periodo de crecimiento en condiciones de vivero

Gráfico de dispersiones obtenidas a partir de las alturas de plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongos endófitos Cepa A, cepa B, Cepa C, cepa D, Cepa E, Tratamiento Testigo y tratamiento control en condiciones de vivero. En las Figuras 20, 21, 22, 23, 24, 25 y 26, obtenida a partir del muestreo de las alturas de plántulas de tomate de árbol en vivero, indica que a cepa B muestra una tendencia mayor sobre la tasa de crecimiento en comparación al Testigo y Control; mientras la tasa de crecimiento de las cepas A, C, D y E es menor al Testigo y Control.

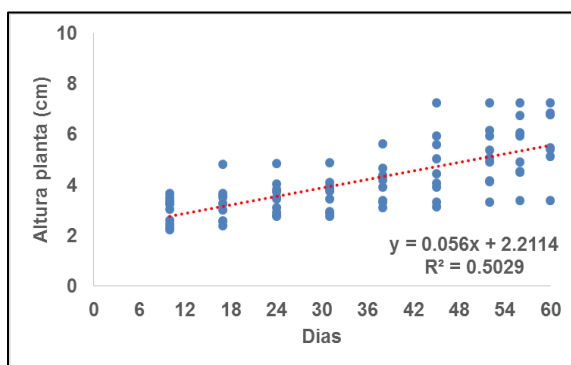


Figura 20. Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol con inoculo de hongo endófito, cepa A.

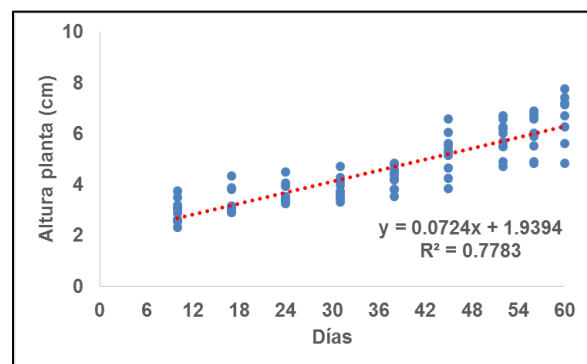


Figura 21. Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol con inoculo de hongo endófito, cepa B.

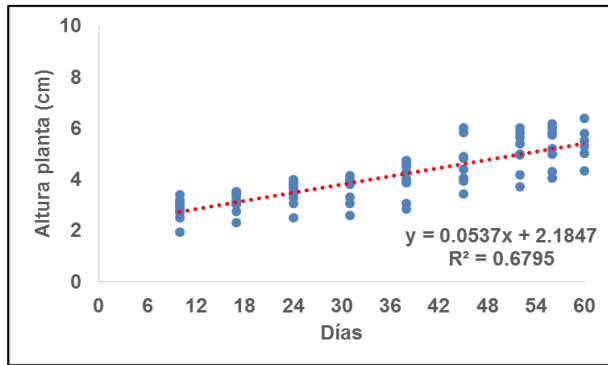


Figura 22. Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol con inoculo de hongo endófito, cepa C.

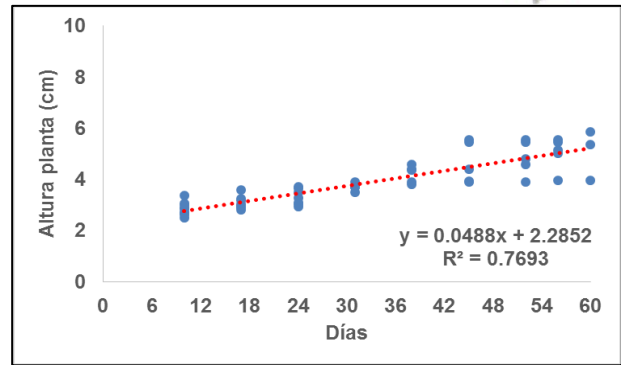


Figura 23. Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol con inoculo de hongo endófito, cepa D.

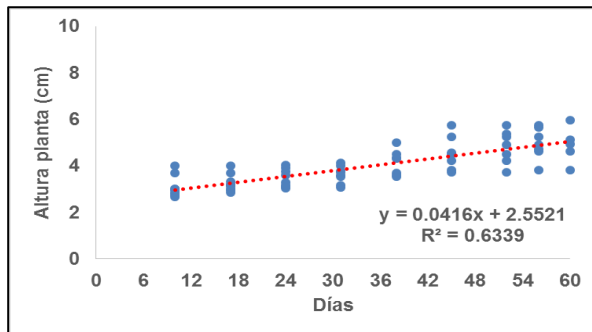


Figura 24. Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol con inoculo de hongo endófito, cepa E.

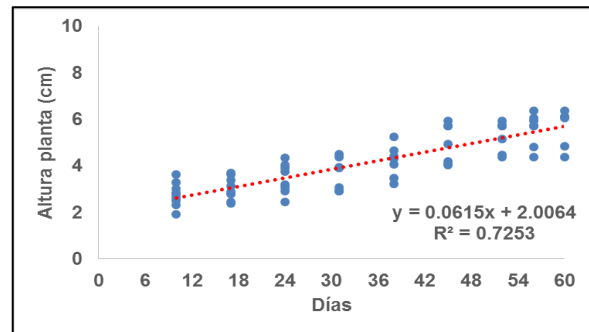


Figura 25. Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol sin inoculo con hongo endófito, Tratamiento Testigo.

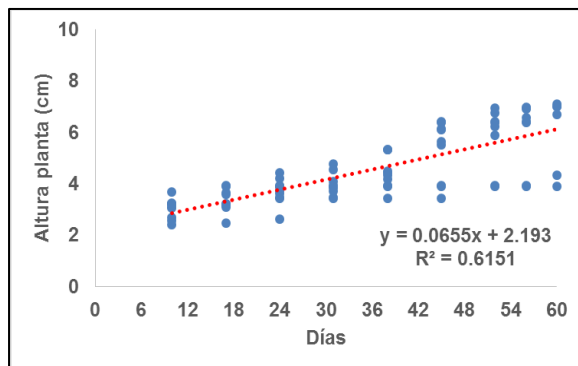


Figura 26. Periodo de crecimiento de plántulas de tomate de árbol sin inculo, condiciones normales (sin esterilización), Tratamiento Control.

6.2.2.3. Diámetro

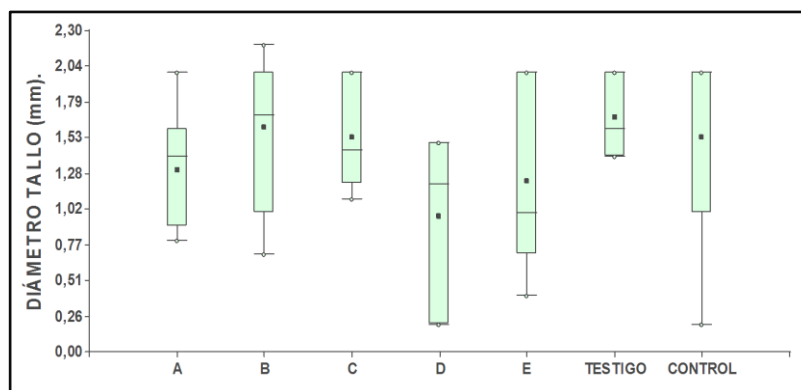


Figura 27. Diámetro de tallo obtenido de plántulas de tomate de árbol a los 60 días, inoculadas con hongos endófitos al momento del trasplante en vivero (Cuadrados negros indican los promedios obtenidos).

En la Tabla 14, se presenta el análisis estadístico, el cual no muestra una diferencia significativa entre las cepas evaluadas; mientras que los promedios obtenidos indican que la cepa B presenta valores más cercanos a los obtenidos en los tratamientos Control y el Testigo.

Tabla 14. Análisis de varianza del diámetro de las plántulas condiciones de vivero, luego de 60 días de inoculadas con los diferentes tratamientos.

Suma de Cuadrados					
	DF	cuadrados	medio	F	Pr > F
Modelo	6	1.6809	0.2802	0.8908	0.5129
Error	33	10.3781	0.3145		
Corrección					
Total	39	12.0590			

6.2.2.4. Altura

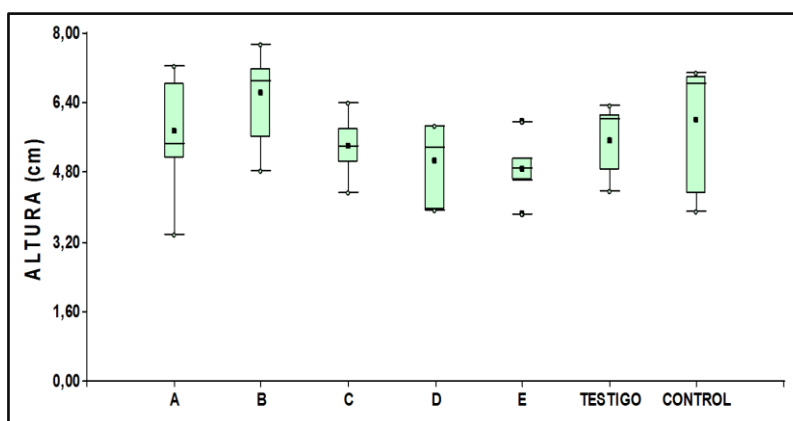


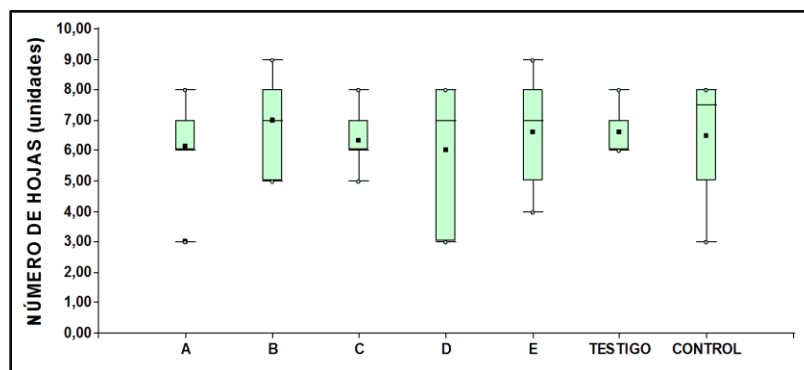
Figura 28. Alturas obtenidas de plántulas de tomate de árbol a los 60 días, inoculadas con hongos endófitos al momento del trasplante en vivero (Cuadros negros indican promedios).

El análisis de varianza (Tabla 15) indica que la altura de la plantas a los 65 días no muestran una diferencia significativa entre las cepas; en cuanto se refiere a los promedios registrado se observa una pequeña variación de la cepa B el cual presenta un valor superior al Control, mientras las cepas A y B presentan promedios superiores al Testigo.

Tabla 15. Análisis de varianza altura plántulas a los 60 días inoculadas en condiciones de vivero.

	Suma de Cuadrados			
	DF	cuadrados	medio	F
Modelo	6	12.3841	2.0640	1.7747
Error	33	38.3800	1.1630	
Corrección				
Total	39	50.7641		

6.2.2.5. Hojas

**Figura 29.** Números de hojas obtenidas de plántulas de tomate de árbol a los 60 días, inoculadas con hongos endófitos al momento del trasplante en vivero (Cuadros negro indican promedios).

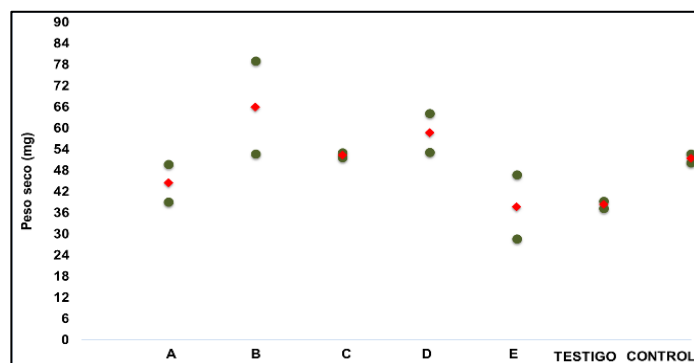
De acuerdo al análisis de varianza (Tabla 16), no existe una diferencia significativa entre las cepas, en cuanto al análisis de los promedios es de similar manera, no muestran un efecto visible entre ellos.

Tabla 16. Análisis de varianza número de hojas a los 60 días plántulas inoculadas en vivero.

	Suma de Cuadrados				
	DF	cuadrados	medio	F	Pr > F
Modelo	6	3.9095	0.6516	0.2387	0.9605
Error	33	90.0905	2.7300		
Corrección					
Total	39	94.0000			

6.2.2.6. Biomasa

La biomasa registrada a los 45 días de inoculación con los diferentes cepas, en las Figuras 30, 31,32 y 33 evidencian una variación en el peso seco y fresco de las raíces de plantas de tomate de árbol inoculadas con la cepa B en comparación con el testigo, siendo los testigos y la cepa E los que presentaron los pesos más bajos tanto en la biomasa aérea como en la radicular, por el contrario el tratamiento control presenta una mayor acumulación de biomasa área seca y fresca, en lo que respecta a los demás tratamientos.

**Figura 30.** Peso seco de biomasa radicular de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (punto redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios).

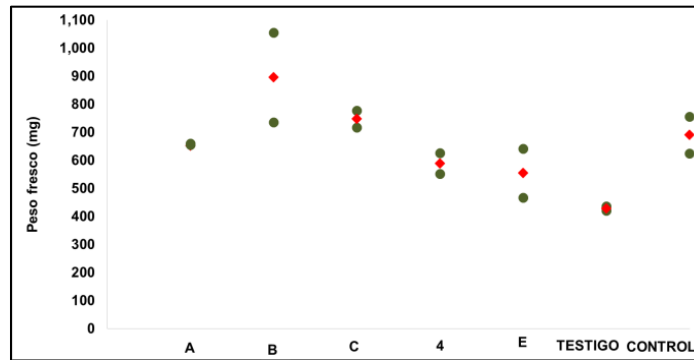


Figura 31. Peso fresco de biomasa radicular de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (punto redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios).

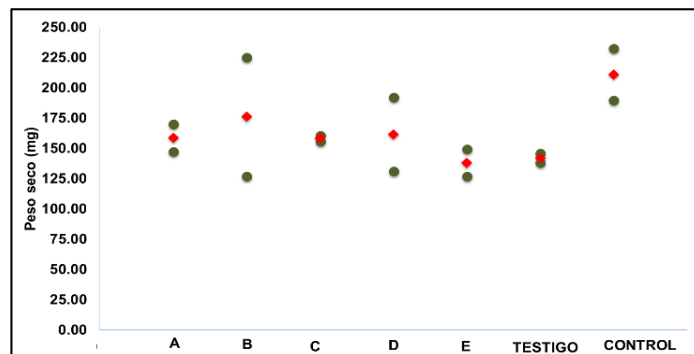


Figura 32. Peso seco de biomasa aérea de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (punto redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios).

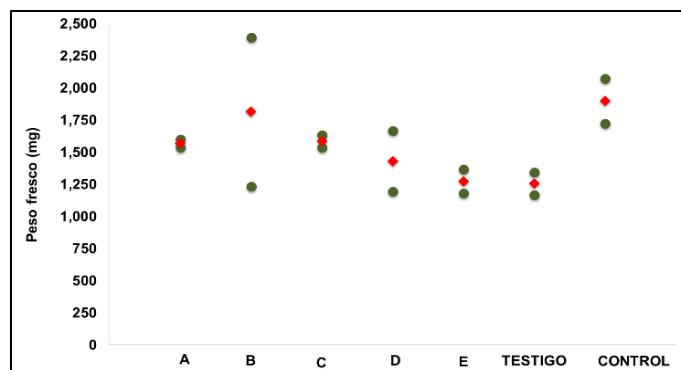


Figura 33. Peso fresco de biomasa aérea de plántulas de tomate de árbol de 45 días, inoculadas con hongos endófitos (punto redondos verdes=muestras, diamantes rojos=promedios).



Tabla 17. Análisis de varianza biomasa radicular (Figuras 30 y 31), de plántulas de tomate de árbol a los 45 días inoculadas en condiciones de vivero.

	Suma de Cuadrados				
	DF	cuadrados	medio.	F	Pr > F
Modelo	6	1306.4711	217.7452	2.3986	0.1387
Error	7	635.4713	90.7816		
Corrección					
Total	13	1941.9423			

Tabla 18. Análisis de varianza biomasa aérea (Figuras 32 y 33), de plántulas de tomate de árbol a los 45 días inoculadas en condiciones de vivero.

	Suma de Cuadrados				
	DF	cuadrados	medio	F	Pr > F
Modelo	6	5337.2661	889.5443	0.8360	0.5785
Error	7	7448.6963	1064.0995		
Corrección					
Total	13	12785.9623			

El análisis de varianza (Tablas 16,17 y 18) de las cepas evaluados no muestran una diferencia significativa entre ellos; en cuanto se refiere a los promedios obtenidos se puede observar que la cepa D tiende a ser mayor (Figura 34) en comparación con el Control y el testigo, mientras las cepas A y B muestran una leve superioridad al Testigo.

6.2.2.7. Área foliar

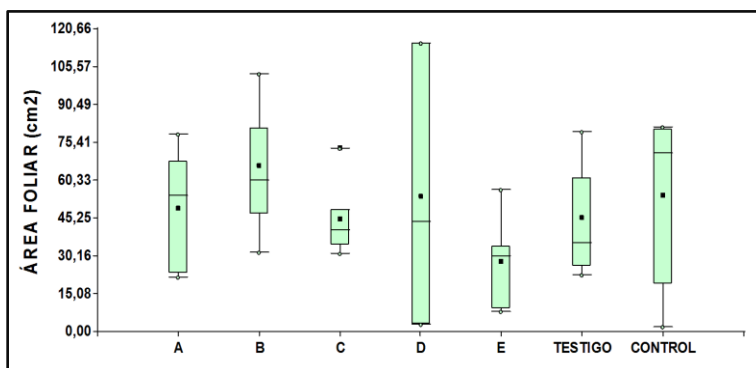


Figura 34. Área foliar de plántulas de tomate de árbol luego de 60 días de inoculación con hongos endófitos, en condiciones de vivero.

Tabla 19. Análisis de varianza área foliar plántulas a los 60 días inoculadas en condiciones de vivero.

	Suma de Cuadrados				
	DF	cuadrados	medio	F	Pr > F
Modelo	6	4998.3973	833.0662	1.0207	0.4303
Error	31	25302.1163	816.1973		
Corrección					
Total	37	30300.5136			

6.2.2.8. Conductividad estomática

La conductividad estomática permite identificar si los hongos evaluados crean un efecto frente al déficit hídrico en las plantas de tomate de árbol, las cepas A, C, D y E (Figuras 35, 36, 37 y 38) mostraron un leve efecto frente al Control (Figura 41), que no fue estadísticamente significativo, lo que sugiere que la capacidad de respiración de los estomas podría verse afectada



por el tipo de cepa de hongo endófito inoculado, los resultados obtenidos se generaron a partir de un ensayo de 9 días con riego y sin riego, donde se sometieron a todos los tratamientos a similares condiciones, cuyos resultados se indican mediante figuras de dispersión.

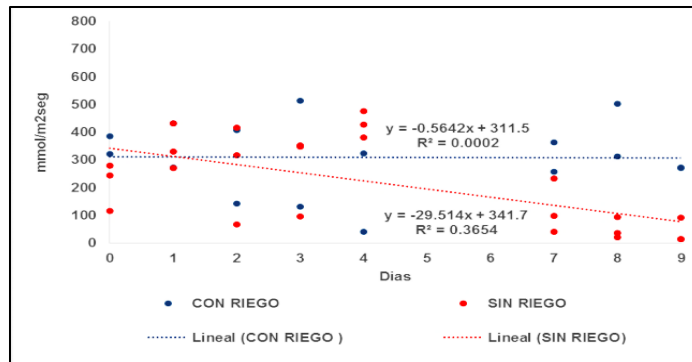


Figura 35. Conductividad estomática de las plántulas inoculadas - Tratamiento A.

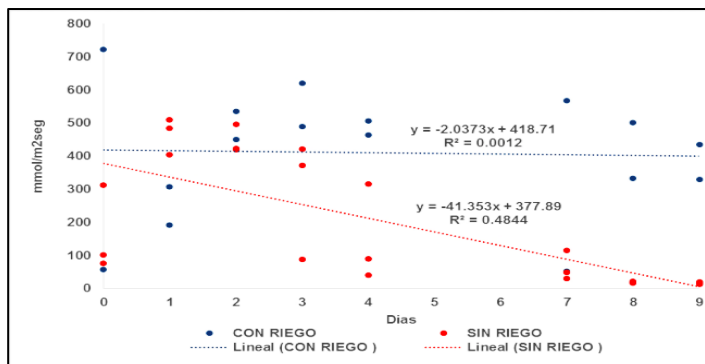


Figura 36. Conductividad estomática de las plántulas inoculadas - Tratamiento B.

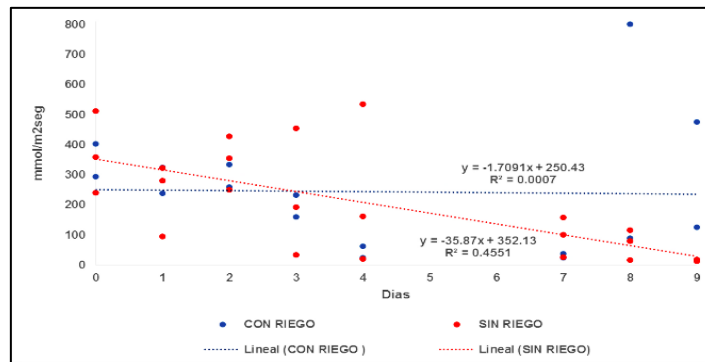


Figura 37. Conductividad estomática de las plántulas inoculadas - Tratamiento C.

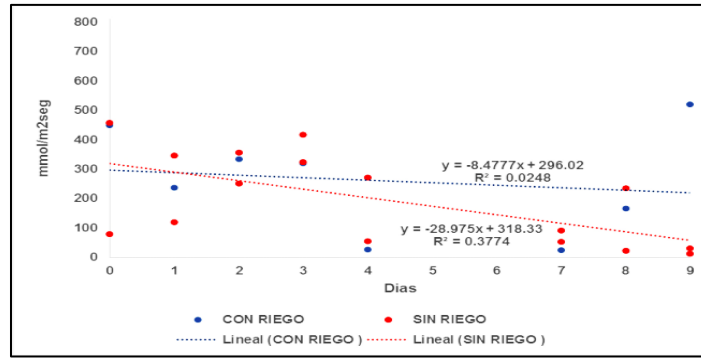


Figura 38. Conductividad estomáca de las plántulas inoculadas - Tratamiento D.

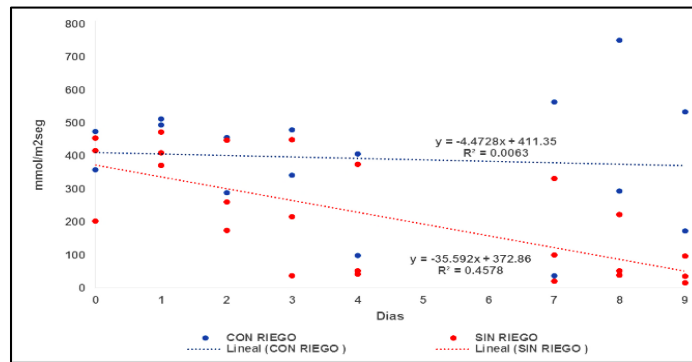


Figura 39. Conductividad estomáca de las plántulas inoculadas - Tratamiento E.

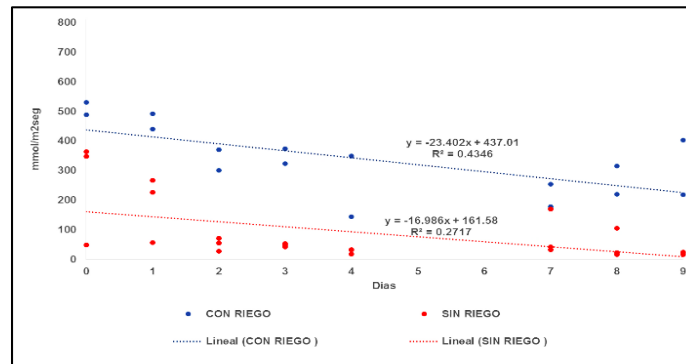


Figura 40. Conductividad estomáca de las plántulas inoculadas - Tratamiento Testigo.

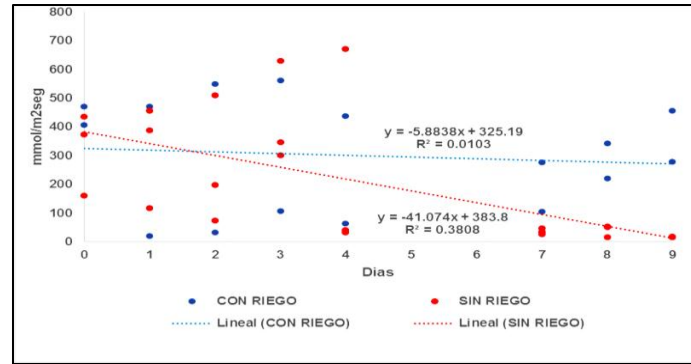


Figura 41. Conductividad estomática de las plántulas inoculadas - Tratamiento Control.

6.2.2.9. Índice de Concentración de Clorofila (CCI)

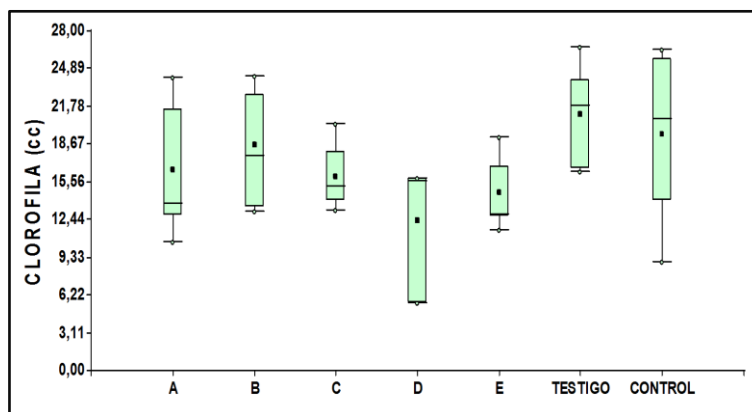


Figura 42. Índice de concentración de clorofila (CCI) obtenida de plántulas de tomate de árbol a los 60 días, inoculadas con hongos endófitos al momento del trasplante en vivero.

El análisis estadístico del índice de concentración de clorofila (CCI) no indica diferencias estadísticamente significativas, mostrando así que no existe una diferencia representativa entre las plántulas inoculadas con hongos endófitos, el testigo y el control.



Tabla 20. Análisis de varianza (CCI) plántulas a los 60 días inoculadas en condiciones de vivero.

	DF	Suma de cuadrados	Cuadrados medio	F	Pr > F
Modelo	6	236.4604	39.4101	1.6915	0.1542
Error	33	768.8693	23.2991		
Corrección					
Total	39	1005.3298			

6.2.2.10. Reconocimiento morfológico

La diversidad morfológica de los hongos endófitos aislados de las raíces de la familia Solanácea permitió separarlos en 4 morfo tipos. Además, mediante la secuenciación a cargo de la empresa Macrogen, se logró reconocer tres de los cuatro hongos aislados. Mientras tanto en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca se logró reconocer el hongo faltante (Tabla 21).

Tabla 21. Características físicas de los hongos endófitos aislados de las raíces de Solanácea.

Morfotipos	Origen	Color	Forma
Cepa A (<i>Fusarium</i> sp.)	Tomate de árbol (Yanuncay)	Blanco	Sub-globosa
Cepa B (<i>Chaetomium</i> sp.)	Tomate de árbol (Yanuncay)	Pardo	Globosa a Subglobosa
Cepa C (<i>Cephalosporium</i> sp.)	Palo blanco (Guachapala)	Blanco	Sub-globosa
Cepa D (<i>Cochliobolus</i> sp.)	Tomate de árbol (Paute)	Negro	Globosa

Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. y Larriva W. 2017.

Se realizó la tinción con azul de metileno a las cepas identificadas con la finalidad de reconocer su morfología, a su vez se realizó la medición sus estructuras (hifas, conidióforos y esporas) con el programa ScopeImage 9.0, para diferenciar las características de los hongos endófitos aislados de raíces de plantas de la familia Solanácea y evaluados en la germinación y trasplante de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav).

Cepa A (*Fusarium* sp). Presentó hifas septadas de una longitud 73.204 μm y con un diámetro de 5.215 μm ; además presento conidióforos de una longitud de 24.687 μm , hasta 83.729 μm ramificadas con esporas que miden una longitud de 12.424 μm septadas en el conidióforo con un diámetro de 4.286 μm . Además, las esporas desarrolladas presentan una forma de media luna con longitud 35.872 μm con un diámetro de 3.856 μm y el aleuriospora está implantado sobre el esporóforo (Imagen 1).



Imagen 1. Hongo endófito evaluada y aislada de la Cepa A (*Fusarium* sp).

Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Cepa B (*Chaetomium* sp). Constituidos por varios peritecios de manera paralela con longitud de 115.481 μm con un diámetro de 4.474 μm , hifas septadas y ascosporas que están dentro de ascas que emergen del peritecium que mide un diámetro de 86.051 μm y las ascosporas son de color pardo oscuro (Imagen 2).

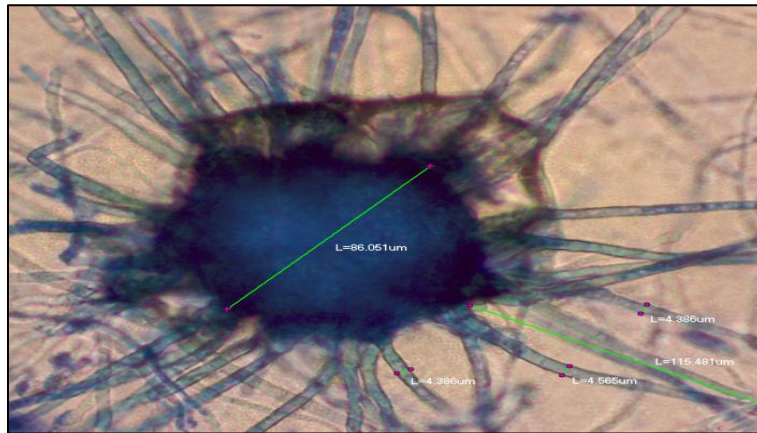


Imagen 2. Hongo endófito evaluada y aislada de la cepa B (*Chaetomium* sp).

Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Cepa C (*Cephalosporium* sp). Formados por hifas con micelio septadas, de conidióforos de una longitud de 143.238 μm , hasta 112.458 μm y de un diámetro de 4.800 μm y la longitud de las esporas de 16.373 μm con un diámetro de 5.175 μm además, el aleuriospora que están implantadas directamente sobre el esporóforo (Imagen 3).

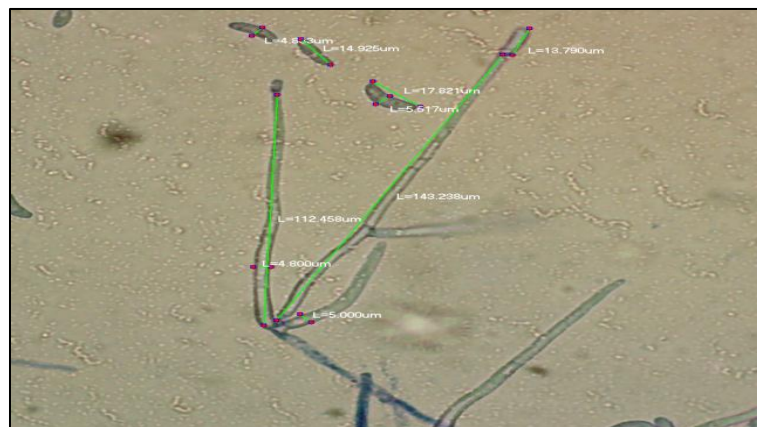


Imagen 3. Hongo endófito evaluada y aislada de la cepa C (*Cephalosporium* sp). Fuente:

Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. y Larriva W. 2017.

Cepa D (*Cochliobolus* sp). Constituidos por hifas longitudinales que presentan septos tabicadas con una longitud de 78.299 μm con diámetro 5.824 μm , con esporóforos de 31.318 μm de longitud y de un diámetro 4.327 μm . Además, el conidióforo está implantado en la hifa que mide 98.125 μm de longitud, ramificados y las esporas poseen una longitud de 13.321 μm con un diámetro de 10.480 μm , alantospora septadas que miden 9.440 μm (Imagen 4).

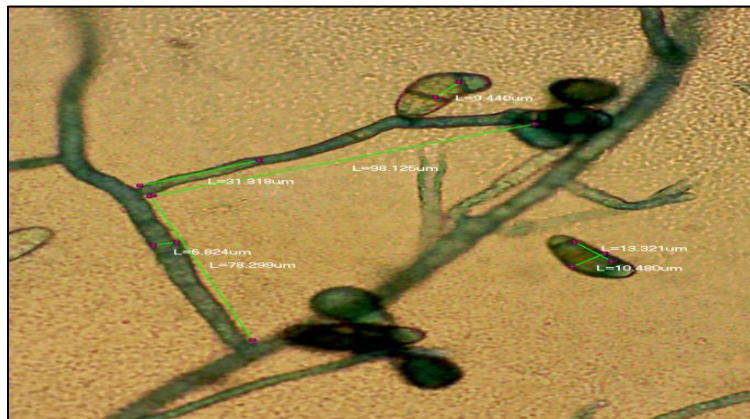


Imagen 4. Hongo endófito evaluado y aislada de la cepa D (*Cochliobolus* sp).

Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017

La morfología de las cepas evaluadas en los ensayos aisladas de plantas de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) y palo blanco (*Solanum auriculatum*), cepa A de forma subglobosa de color blanco (Imagen 5), cepa B de forma globosa a subglobosa de color pardo (Imagen 6), cepa C de forma Globosa de color blanco (Imagen 7) y la cepa D de forma globosa de color negro (Imagen 8).

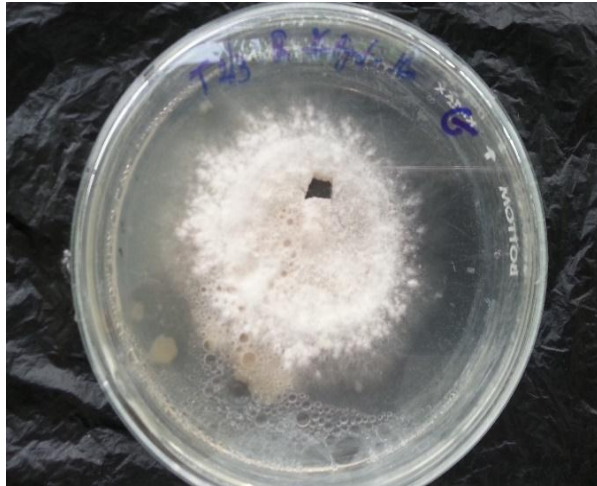


Imagen 5. Crecimiento y forma micelias cepa A (*Fusarium* sp).

Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017

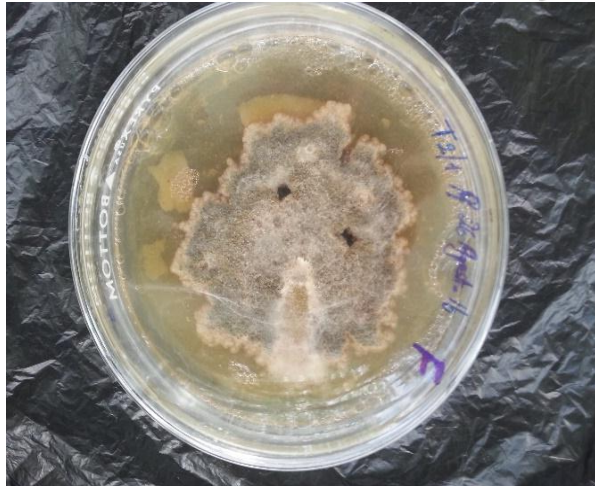


Imagen 6. Crecimiento y forma micelias cepa B (*Chaetomium* sp).

Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017

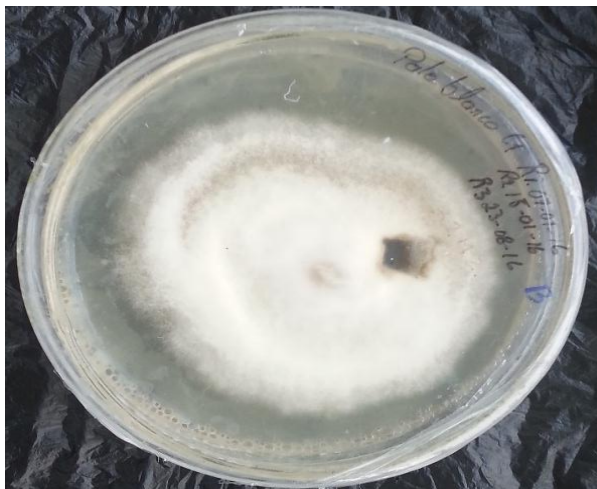


Imagen 7. Crecimiento y forma micelias cepa C (*Cephalosporium* sp).

Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. y Larriva W. 2017

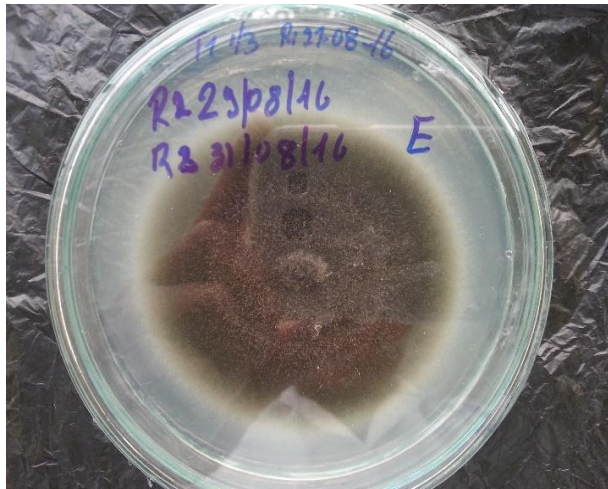


Imagen 8. Crecimiento y forma micelias cepa D (*Cochliobolus* sp).

Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017



7. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en los ensayos realizados en laboratorio, evidencian que las condiciones en las que se llevaron a cabo los ensayos no fueron apropiadas para la germinación de las semillas de tomate, ya que se pudo observar un crecimiento acelerado de los hongos aislados en condiciones *in vitro* impidiendo la germinación de las semillas en lugar de favorecerla. Esta situación podría ser mejorada usando la técnica descrita por Pérez *et al*, (2012), para la inoculación de micorrizas en plantas de mora la misma que se basa en el conteo de esporas y no en la inoculación de una solución miceliar, metodología descrita por Bayman y Otero, (2006), para la inoculación de micorrizas en *Vainilla planifolia*, la misma que fue usada en el presente trabajo. Sin embargo, al no presentar los hongos evaluados un efecto positivo evidente, los resultados no permiten descartar la metodología de trabajo ya que en el caso de encontrar hongos micorrízicos, los resultados en laboratorio podrían ser diferentes, e incluso más claros y rápidos como para discernir entre cepas con efecto positivo y negativo en el desarrollo de las plantas.

Por otra parte se debe mencionar que es importante tener bien definido el sistema de establecimiento *in vitro* de las semillas a usar y realizar pruebas previas de viabilidad de las mismas, ya que los resultados obtenidos muestran solo un 50% de germinación *in vitro* en el tratamiento testigo, lo que indica un efecto negativo en las semillas, efecto que no se observó en el ensayo en vivero, posiblemente por las condiciones ambientales como la temperatura y/o la humedad.

Finalmente de acuerdo a los resultados datos obtenidos en condiciones de laboratorio, se destacará que las cepas D y E presentaron resultados significativamente menores al testigo



respecto al peso fresco y seco de la raíz, siendo éstos mismos tratamientos los que presentaron los menores pesos de área foliar tanto fresca como seca. Estos resultados muestran que el sistema de evaluación del desarrollo simbiótico de plántulas de tomate *in vitro* podría ser útil para discernir rápidamente entre cepas con efectos positivos y negativos, como un sistema de selección previo a un ensayo en campo, en donde se podrá evaluar un efecto más cercano a la realidad del cultivo.

Respecto a los resultados obtenidos en los ensayos en vivero se puede mencionar que semillas y plantas tuvieron una mejor respuesta en éstas condiciones ya que se pudo obtener un mayor número de semillas germinadas y un mayor número de plantas vivas en los diferentes ensayos, con lo cual Klironomos (2003), menciona que un inoculo nativo se encuentra adaptado a las condiciones externas siendo estas unas de las causas de su mejor comportamiento; sin embargo no se pudo evidenciar un efecto positivo significativo consistente en ninguno de los tratamientos evaluados, no obstante se puede destacar que los resultados obtenidos en la cepa B (*Chaetomium* sp), presentaron el 100% de germinación y resultados similares e incluso ligeramente superiores al testigo y el control en algunos parámetros evaluados, sin que éstos lleguen a ser significativos como lo demuestran Esmeralda *et al*, (2012), en su estudio con hongos del género *Glomus* y plantas de *Carica papaya* en el que registró incrementos en el crecimiento del 400 al 1000% en condiciones de vivero

De similar manera Gonzalez Mendoza *et al*, (2015), en su estudio con los hongos *Glomus* sp y *Glomus intraradices* inoculados en plantas *Capsicum annum* registraron efectos significativos en la altura (2.11 - 5.63), números de hojas (5.86 – 10.66), y diámetro de tallo (0.14 – 0.22 mm) mientras que en nuestro estudio la inoculación del hongo aislado evaluado en la cepa B



(*Chaetomium* sp), proporcionó un leve efecto en el número de hojas (3 - 4), altura (3.65 – 5.45) en comparación el testigo (sin inóculo).

Por el contrario se menciona que los resultados de biomasa radicular seca obtenidos en la cepa B (*Chaetomium* sp), presentaron diferencias superiores significativas respecto al testigo sin inóculo, sin que éstas superen al tratamiento control (sustrato sin esterilizar) lo que evidencia la importancia que tienen los microorganismos en el desarrollo de las plantas (BS Saharan, 2011). Castro (2009), en su estudio con hongos micorrízicos en plantas de Chirimoya (*Annona cherimola*) observó que estas extendían la exploración radicular, mejorando la tolerancia al estrés hídrico, no obstante en el ensayo con tomate de árbol no se pudo evidenciar una mejora en la tolerancia al estrés hídrico pese a que el área radicular aumentó, estos resultados se oponen a los reportados por (Pérez et al. 2012) en plántulas de *Rubus glaucus* y en *Musa paradisiaca* en donde la simbiosis redujo el estrés hídrico y mejoró el funcionamiento fotosintético y estomático durante el proceso de micropropagación (Thacker & Jasrai 2002).

De forma general, a excepción de la biomasa radicular que fue superior en la cepa B (*Chaetomium* sp), respecto al testigo, no se encontraron otras diferencias importantes entre los tratamientos, sin embargo se puede resaltar un efecto ligeramente superior de la cepa B (*Chaetomium* sp), en la germinación, supervivencia y altura, y resultados similares al control en otros parámetros como diámetro del tallo, conductancia estomática, número de hojas e índice de concentración de clorofila. Esto es importante resaltar ya que se debe tener en cuenta que en el tratamiento control, en donde el suelo no fue esterilizado el suelo, existe una diversidad de microorganismos pueden influir positiva o negativamente el desarrollo de la planta, mientras que en los tratamientos y específicamente en el caso de la cepa B (*Chaetomium* sp), lo que observamos es el efecto del hongo como el único microorganismo asociado a la planta.



Zúñiga (2013), evaluó el efecto de *Pisolithus tinctorius* en dos variedades de *Solanum betaceum* Cav. observando una respuesta positiva en el desarrollo vegetativo (mayor altura de tallo, mayor número de hojas) en relación al testigo, sin presentar un reporte detallado de los datos obtenidos. La información respecto al efecto de los hongos en el desarrollo de plantas de *Solanum betaceum* Cav es prácticamente nula, siendo este un aporte inicial para continuar con este tipo de estudios.



8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la germinación *in vitro* y en vivero se logró identificar que la cepa de hongo endófito rizosférico evaluada en el tratamiento B (*Chaetomium* sp.) mostró una tendencia a mejorar el tiempo y número de semillas germinadas.

Mientras tanto la inoculación de hongos endófitos durante el trasplante presentó una tendencia positiva con el tratamiento B (*Chaetomium* sp), mejorando levemente la tasa de crecimiento, biomasa radicular, área foliar y procesos fisiológicos por lo que se sugiere su conservación y evaluación en conjunto con otras cepas.

Al identificarse un leve efecto promotor sobre la germinación y desarrollo de plántulas de *Solanum betaceum* Cav se reconoció los diversos hongos aislados: cepa A (*Fusarium* sp), cepa B (*Chaetomium* sp), cepa C (*Cephalosporium* sp), cepa D (*Cochliobolus* sp), destacándose entre estas las cepas B y C.

Por lo cual, se recomienda realizar nuevos estudios que permitan estudiar en diversas condiciones los hongos reconocidos e identificar los hongos endófitos rizosféricos con potencial para su aplicación como biofertilizantes.



9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abello, JF; Kelemu, S. 2006. *Hongos endófitos: ventajas adaptativas que habitan en el interior de las plantas*. Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria 7(0122-8706): 55-57.
- Auquilla, B. 2015. *Efectos colinesterasicos y contaminación del agua causados por el uso de plaguicidas en zonas agrícolas del cantón Santa Isabel*. s.l., Universidad de Cuenca. 16, 91-94 p.
- Aveiga Valdivieso, AA. 2012. *Aplicación de un protocolo de manejo de intoxicaciones aguda por plaguicidas*. Área de emergencia del Hospital del Niño «Francisco Icaza Bustamante, 2010». s.l., Universidad de Guayaquil. 12-14 p.
- Aviles Marin, M; Perez Luna, Y; Alvarez Gutierrez, P. 2015. *Arbuscular mycorrhizal fungi and their effects on growth of different cultivars of Capsicum annum L*. Phyton-International Journal of Experimental Botany 84(2): 345-350.
- Ballesteros Possú, W; Unigarro S, A; Cadena Ortega, CE; Cadena Ortega, JA. 2004. *Evaluación de hongos formadores de micorrizas vesiculo arbusculares (MVA) en la etapa de almacigo de Cacao (Theobroma cacao L.), en Tumaco, Nariño*. Revista de Ciencias Agrícolas 21(1-2): 19.
- Bayman, P. y Otero, J. T. 2006. *Microbial endophytes of orchid roots*. Springer, Berlin, Heidelberg. Microbial Root Endophytes 9.153 – 178.
- Boller T. 1993. *Antimicrobial functions of the plant hydrolases, chitinase and β -1,3 glucanase*. In: Fritig B, Legrand M (eds) Mechanisms of plant defense responses. Kluwer, Dordrecht, pp 391–400.



- BS Saharan, VN. 2011. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review*. Life Sciences and Medicine Research 21: 1-30.
- Castro, MS. 2009. *Evaluación de la eficiencia de uso de micorrizas en el crecimiento de plantas de chirimoya (Annona cherimola) variedad Cangahua, bajo condiciones semicontroladas*. s.l., Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 17-24 p.
- Clay, K.; Schardl, C. 2002. *Evolutionary Origins and Ecological Consequences of Endophyte Symbiosis with Grasses*. The American Naturalist. 160: 99-127.
- Corrado, M.; Rodrigues, K. F. 2004. *Antimicrobial evaluation of fungal extracts produced by endophytic strains of Phomopsis sp.* Journal of Basic Microbiology. 44(2): 157-60.
- Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Estación Experimental de Zaidín (CSIC). 2017. *Biofertilización y bioprotección mediante microorganismos rizosféricos*. En línea: http://www.eez.csic.es/es/biofertilizacion_y_bioproteccion_mediante_microorganismos_rizosfericos. Acceso: 05/Diciembre/2017
- Desarrollo, BI De. 2001. *Convocatoria 2001*. 2001.
- Esmeralda, E; Hernández, E; Rincón, G; Ferrera, R. 2012. *Interacción de hongos micorrízicos arbusculares y fertilización fosfatada en papaya*. Terra Latinoamericana 30(2395-8030): 165-176.
- ESPAC. 2015. *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria (en línea)*. (Instituto Nacional de Estadística y Censos).



Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE). 2007. *Capítulo I tomate de árbol - Repositorio Digital ESPE*. Recuperado el 18 de 08 de 2015, de - ESPE: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2311/2/T-ESPE-017207.pdf>

Fonseca de la Cruz, J; Salgado, Y; Sotto, Á. 2011. *Empleo de micorriza y humus de lombriz líquido (Liplant) para la producción de posturas en el cultivo del tomate bajo los principios de la agricultura sostenible*. Gramma Ciencia. 15: 3.

Gobernación del Huila. 2010. *Manual tecnico cultivo de tomate de arbol en el Huila.pdf*.

Gonzáles, MC.; Gutiérrez, M.; Wright, S. 2004. *Hongos micorrízicos arbusculares en la agregación del suelo y estabilidad*. Terra Latinoamericana 22(4): 507-514.

Gonzalez Mendoza, D; Garcia Lopez, A; Duran Cedeña, C; Grimaldo Juarez, O; Aviles Marin, M; Perez Luna, Y; Alvarez Gutierrez, P. 2015. *Arbuscular mycorrhizal fungi and their effects on growth of different cultivars of Capsicum annum L*. Phyton-International Journal of Experimental Botany 84(2): 345-350.

Gómez. J.E. 1993. *Evaluación de fungicidas y algunas prácticas culturales en el control de la antracnosis del tomate de árbol en Sotará (Cauca)*: ASCOLFI Informa 19(3):24-25.

Guerrero, F. 1996. *Recurso biológico del suelo*. Micorrizas. s.l., Fondo FEN, p.1-17.

Hernández, MI; Chailloux, M. 2004. *Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como alternativa a la nutrición mineral del tomate*. Cultivos Tropicales 25(2): 5-12.

Módulo Ambiental Uso de Plaguicidas en la Agricultura, 2013. Ed. INEC. s.l.,

INEC; MAGAP; SICA. 2002. *II Censo Nacional Agropecuario*. Volumen 1. 2002: 57.



INEC. 2014. *Encuesta de Superficie y Producción - Agropecuaria -Continua*. (en línea).
(Instituto Nacional de Estadística y Censos).

INIAP, 2004. *Manual del cultivo de tomate de árbol*. Leon, J. Viteri, P. Cevallos, G. Obtenido de
<https://books.google.com.ec/books?id=TXozAQAAMAAJ&printsec=frontcover&dq=INIAP+2010+TOMATE+DE+ARBOL&hl=es&sa=X&ved=0ahUK EwiDj9fYtb3YAhWJJiYKHXVaDIkQ6AEIJTAA#v=onepage&q=INIAP%202010%20TOMATE%20DE%20ARBOL&f=false>

INIAP, 1996. *Niveles residuales de plaguicidas en frutas andinas: tomate de árbol (Cyphomandra betacea S.) y Naranjilla (Solanum quitoense)*. Obtenido de
<http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=CATALO.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=000776>

Irrazabal, G; Schalamuk, S; Cabello, 2005. *Especies de hongos formadores de Micorrizas Arbusculares* : nuevas citas para la República Argentina Introducción Resultados Materiales y Métodos. 40: 1-7.

Jaizme, M; Rodriguez, A. 2008. *Integración de microorganismos benéficos (Hongos micorrícicos y bacterias rizosféricas) en agrosistemas de las Islas Canarias*. Agroecología 3: 33-39.

Krishna, K; Bagyaraj, D. 1984. *Phenols in mycorrhizal roots of Arachis hypogea*; Experientia 40. 85–86

Klironomos J. N. 2003. *Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi*. Ecology 84:9 2292-2301.



- Lucio, D; Espín, S; Soria, N. 1996. *Niveles residuales de plaguicidas en frutas andinas tomate de arbol y naranjilla.*
- Martin, CA. 2004. *Active effects of temperature and arbuscular mycorrhizal fungi on growth, P uptake and root respiration of Capsicum annuum L.* Mycorrhiza. 14: 241-244.
- Malinowky, D., & Belesky, D. 2000. “*Adaptation of Endophyte-Infected Cool Season Grasses to Enviromental Stresses: Mechanims of Drought and Mineral Stress Tolerance.*”. Crop Science, 40: 923-40.
- Mejía, I. 2015. *Estudio de Factibilidad para la implementación de una compañía de plagas y vectores en zonas urbanas «Lod clear service» ubicada en la ciudad de Santon Domingo de los Colorados. s.l., Pontificia Universidad Católica del Ecuador.* 11-23 p.
- Módulo Ambiental Uso de Plaguicidas en la Agricultura.* 2013. Ed. INEC.
- Murali, T., Suryanarayanan, G., & Venkatesan, T. 2007. “*Fungal Endophyte Communities in Two Tropical Forest of Southern India: Diversity and Host Affiliation.*”. *Mycological Progress* 6:, 191-99.
- Nucleo ambiental. 2015. *Tomate de árbol. Tomate De Arbol no.1:* 50.
- Ordoñez Castillo, N. 2012. *Efecto de hongos endófitos de orquideas del grupo Rhizoctonia y otros endófitos cultivables sobre el desarrollo de plantas de Vanilla planifolia Jacks.* s.l., Universidad Nacional de Colombia. 13-15 p.
- Otero Tupac, PB. 2006. *Microbial Endophytes of Orchid Roots.* Consultado 30 dic. 2015. Disponible en [https://www.researchgate.net/ profile/Joel_Otero/ publication](https://www.researchgate.net/profile/Joel_Otero/publication)



/225994710_Microbial_Endophytes_of_Orchid_Roots/links/0fcfd509535db6a46500
0000.pdf

Pérez, A; Ramírez, M; Núñez, V; Franco, M; Roveda, G. 2012. *Evaluación de un sistema para la micorrizació in vitro en plantas de mora de castilla (Rubus glaucus, Benth)*. Universitas Scientiarum 17(2): 140-151.

Pinheiro, EAA; Pina, JRS; Feitosa, AO; Carvalho, JM; Borges, FC; Marinho, PSB; Marinho, AMR. 2017. *Bioprospecting of antimicrobial activity of extracts of endophytic fungi from Bauhinia guianensis*. Revista Argentina de Microbiología 49(1): 3-6.

Pinto Tafur, LE; Tiaguaro Herrera, CA. 2012. *Caracterización patológica y molecular de la antracnosis del tomate de árbol (Solanum betacea) y chocho (Lupinus mutabilis)*. 2012: 86.

Revelo, J; Pérez, E; Maila, V; Agropecuario, PI; Vegetal, DP; Experimental, E. 2004. *Texto de consulta del estudiante*. 2004: 1-87.

Romero, D. 2008. *República del Ecuador*. 2008: 30.

Rodriguez, R., Henson, J., Van Volkenburgh, E., Hoy, M., Wright, L., Beckwith, F. Redman, R. (2008). "Stress Tolerance in Plants via Habitat-Adapted Symbiosis.". International Society of Microbial Ecology , 2: 404-16.

Santillán, F. 2001. *Manual del cultivo sustentable de tomate de árbol*. Cuenca, Universidad de Cuenca, 9.

Schulz, B; Boyle, C. 2006. *What are Endophytes?* Soil Biology 9: 1-14.



- Schüßler, A; Schwarzott, D; Walker, C. 2001. *A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution*. Mycological Research 105(12): 1413-1421.
- SICA. 2007. *Servicio de Información y Censo Agropecuario*. (en línea).
- Suresh, C.K. & Bagyaraj, D.J (1984). *Interaction between a vesicular arbuscular mycorrhiza and a root-knot nematode and its effect on growth and chemical composition of tomato*. Nematologica Mediterranea, 12: 31-39.
- Thacker, M., & Jasrai, Y. 2002. *Increased Growth of Micropropagated Banana (Musa paradisiaca) with VAM Symbiont*. Plant Tissue Cult, II, 147-154.
- Tudzynski, B., & Sharon, A. 2002. "Byosynthesis, Biological Role and Application of Fungal Phyto- hormones." In *The Mycota X*, edited by HD Osiewacz. Berlin, Germany: Springer-Verlag Berlín Heidelberg., 183-212.
- Vásquez, V., & Viteri, P. 2011. *Nuevo Boom Frutícola Nacional: Frutales de Hoja Caduca por Frutales Andino*. El Huerto, 17, 25-27.
- Wang, S., Melnyk, J., Tsao, R., & Marcone, M. 2011. *How natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health*. Food Research International., 44, 14-22.
- Wyss, P. Boller, T.H and Wiemken, A. 1992. *Testing the effect of biological agents on the formation of vesicular arbuscular mycorrhiza*. Plant and Soil, 147, 159.162.
- Yucra, S; Gasco, M; Gonzales, G. 2008. *Exposición ocupacional a plomo y pesticidas organofosforados: efecto sobre la salud y reproductiva masculina*. Medicina Salud Publica, s.l.:333.



Zettler, L. 2010. *Symbiotic seed germination and mycorrhizae of Federally Threatened Platanthera praeclara*. Departamento de Horticultura de la Universidad de Iowa State.

Zuñiga Altamirano, SF. 2013. *Evaluar la aplicación de micorrizas (Pisolithus tinctorius) en dos variedades del cultivar de tomate de árbol (Solanum betacea)*. s.l., Universidad Técnica de Ambato. 6, 7, 12, 19 p.

10. ANEXOS

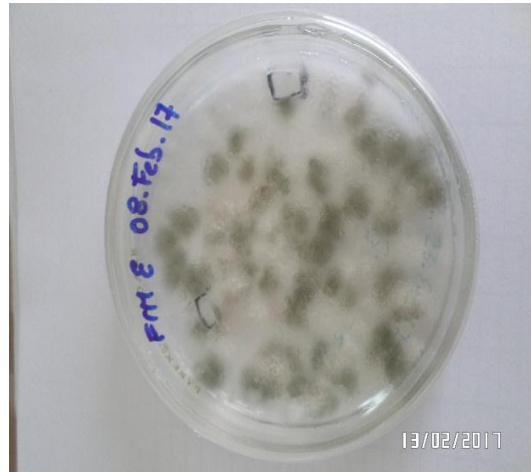
Proceso de aislamiento y selección de cepas de hongos endófitos rizosféricos cultivables.

Anexo 1. Selección de raíces para aislamiento.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Anexo 2. Selección de cepas para aislamiento.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Anexo 3. Repique de hongos endófitos en cámara estéril.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Anexo 4. Cepas aisladas de hongos endófitos en PDA.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Proceso de germinación de semillas de tomate de árbol inoculadas con hongos endófitos en *in vitro* y vivero.

Anexo 5. Proceso germinación *in vitro*
Tratamiento cepa B.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Anexo 6. Proceso germinación *in vitro*
Testigo.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Anexo 7. Germinación semillas tomate de árbol Tratamiento cepa B en vivero.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Anexo 8. Germinación semillas de tomate de árbol Control en vivero.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Anexo 9. Inoculación Germinación en *in vitro*.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

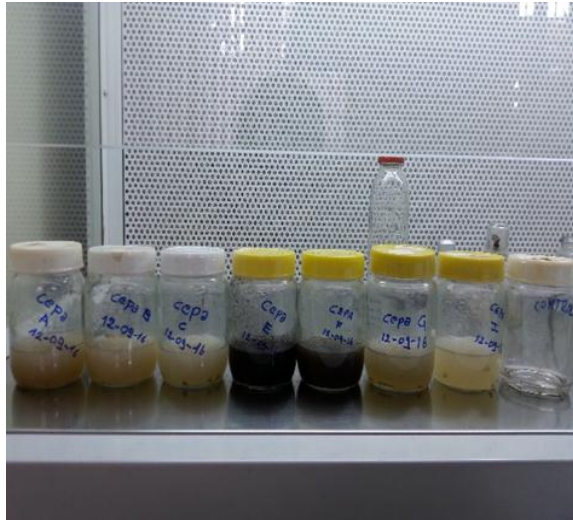
Anexo 10. Inoculación Germinación en vivo.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Proceso de trasplante de plántulas de tomate de árbol inoculadas con hongos endófitos en *in vitro* y vivero.

Anexo 11. Solución miceliar para inoculación



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Anexo 12. Inoculación de hongos en condiciones estériles.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Anexo 13. Trasplante en condiciones estériles.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Anexo 14. Crecimiento plántula de tomate de árbol tratamiento G.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Anexo 15. Crecimiento de plántulas tomate de árboles inoculados en vivero.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Anexo 16. Plántulas de tomate de árbol a los 60 días luego de la inoculación



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.

Anexo 17. Plántula de tomate de árbol Tratamiento cepa B en vivero.



Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.


Anexo 18. Plántula de tomate de árbol Tratamiento cepa B en condiciones estériles.




Fuente: Gutiérrez, C. Pomaquiza, L. 2017.



Anexo 19. Análisis químico de sustrato (turba) usado durante el ensayo para trasplante en condiciones estériles.



ESTACION EXPERIMENTAL DEL AUSTRO
LABORATORIO DE MANEJO DE SUELOS Y AGUAS
km 12 1/2 via El Descanso - BULLCAY - Guilacaco - www@iniap.gob.ec
Azuary - Ecuador TeleFax: (07) 2171161



Ministerio de
Agricultura, Ganadería,
Acuicultura y Pesca

REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

DATOS DEL PROPIETARIO

Nombre : CRISTIAN GUTIERREZ Teléfono : N/E
Dirección : e-mail : N/E
Ciudad : Paute

DATOS DE LA PROPIEDAD

Nombre : Parroquia : Paute
Provincia : Azuay Ubicación : TUTUCAN
Cantón : Paute Latitud : Longitud :

DATOS DE LA MUESTRA

No. Laboratorio : 4889 Responsable Muestreo : Cliente Factura No. : 0
Identificación : TURBA Fecha Muestreo : 24/02/2017 Fecha Análisis : 15/05/2017
Cultivo Actual : N/E Fecha Ingreso : 25/04/2017 Fecha Emisión : 19/05/2017

INTERPRETACION

Determinación	N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Cu	Fe	Mn	B	M.O.
Valor	189	53	0.3	9	4.0							
Unidad	(ppm)		(meq/100mL)		(ppm)							(%)

pH 5.88

Muy Acido Acido Medianam. Acido Ligeram. Acido Practicam. Neutro Ligeram. Alcalino Medianam. Alcalino Alcalino

C.E. dS/m

No Salino Ligeram. Salino Salino Muy Salino

Tóxico Ligeram. Tóxico Adecuado (meq/100ml)

Al+H Al Na

Relaciones Cationicas

Alto Medio Bajo

Ca/Mg Mg/K (Ca+Mg)/K

2,3 13,5 45,2

Bases


13,65 meq/100mL

% Materia Seca:


% Humedad:

Determinación	Metodología	Extractante	Determinación	Metodología	Extractante
N, P	Colorimetría	Olsen	pH	Potenciométrica	Suelo: Agua (1:2.5)
K, Ca, Mg	Absorción Atómica	Modificado pH 8.5	CE	Conductometría	Pasta Saturada
Zn, Cu, Fe, Mn	Turbidimetría	Fosfato de Ca	Textura	Isopycnosc	No Aplica
S	Colorimetría	Monobásico	Al - H	Volumetría	K, Cl, 1 N
B	Colorimetría	Pasta Saturada	Na	Absorción	Pasta Saturada
Cl	Oxidación	No aplica	I. Bases	Atómica	Olsen Modificado pH 8.5
M.O.	Via Humeda				

Niveles de Referencia Optimos															
N	20 - 40	S	10 - 20	B	0.5 - 1.0	Na	0.5 - 1.0	P	10 - 20	Zn	4 - 8	Cl	0 - 0	Ca/Mg	2 - 8
K	0.2 - 0.4	Ca	1 - 10	M.O.	3 - 5	Mg/K	2.5 - 10.0	Ca	4 - 8	Fe	20 - 40	Al+H	0.5 - 1.5	(Ca+Mg)/K	12.5 - 50.0
Mg	1 - 3	Mn	5 - 10	Al	0.3 - 1.0										



Responsable laboratorio



GRANJA EXPERIMENTAL CHUQUIPATA
Laboratorio de Suelos y Aguas

Laboratorista

N/E: No Entrega
Los resultados emitidos en este informe, corresponden únicamente a la(s) muestra(s) sometida(s) al ensayo.
Se prohíbe la reproducción parcial, si se va a fotocopiar que sea de todo el documento original.


Fecha Impresión : 29/05/2017

GUTIÉRREZ CHRISTIAN, POMAQUIZA LUIS – CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA


99



Anexo 20. Análisis químico de sustrato (1tierra agrícola: 1 limo: 1 abono orgánico) usado durante el ensayo para trasplante en vivero.



**ESTACION EXPERIMENTAL DEL AUSTRO
LABORATORIO DE MANEJO DE SUELOS Y AGUAS**
km 1.2 1/2 vía El Descanso - BULLCAY - Guualcayo www@iniap.gob.ec
Azúay - Ecuador TeleFax: (07) 2171161



REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

DATOS DEL PROPIETARIO			
Nombre :	CRISTIAN GUTIERREZ	Teléfono :	N/E
Dirección :		e-mail :	N/E
Ciudad :	Paute		

DATOS DE LA PROPIEDAD			
Nombre :		Parroquia :	Paute
Provincia :	Azuay	Ubicación :	TUTUCAN
Cantón :	Paute	Latitud :	
		Longitud :	

DATOS DE LA MUESTRA			
No. Laboratorio :	4890	Responsable Muestreo :	Cliente
Identificación :	SUSTRATO VIVERO	Factura No. :	0
Cultivo Actual :	N/E	Fecha Muestreo :	24/02/2017
		Fecha Ingreso :	25/04/2017
		Fecha Análisis :	15/05/2017
		Fecha Emisión :	19/05/2017

INTERPRETACION

Alto

Medio

Bajo

Determinación	N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Cu	Fe	Mn	B	M.O.
Valor	247	84	1.1	19	3.0							
Unidad	(ppm)		(meq/100mL)			(ppm)						(%)

pH 5.84

C.E. dS/m

Tóxico

Ligeramente Tóxico

Adecuado (meq/100ml)

Relaciones Cationicas

Alto

Medio

Bajo

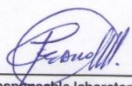
3 Bases

23,81 meq/100mL


% Materia Seca:

% Humedad:

Determinación	Metodología	Extractante	Determinación	Metodología	Extractante
N, P	Colorimetría	Olsen	pH	Potenciométrica	Suelo: Agua (1:2.5)
K, Ca, Mg	Aborcion Atómica	Modificado pH 8.5	CE	Conductométrica	Pasta Saturada
Zn, Cu, Fe, Mn	Aborcion Atómica	pH 8.5	Textura	Brújulas	No Aplica
S	Turbidimetría	Fosfato de Ca	Al - H	Volumetría	K, Cl, 1 N
B	Colorimetría	Monobásico	Na	Aborcion Atómica	Pasta Saturada
Cl	Volumetría	Pasta Saturada	F: Bases	Olsen Modificado pH 8.5	
M.O.	Oxidación Vía Humeda	No aplica			



Responsable laboratorio



ESTACION EXPERIMENTAL CHUCUPATA
Laboratorio de Suelos y Aguas

Laboratorista

N/E: No Entrega
Los resultados emitidos en este informe, corresponden únicamente a la(s) muestra(s) sometida(s) al ensayo.
Se prohíbe la reproducción parcial, si se va a fotocopiar que sea de todo el documento original.

Fecha Impresión : 29/05/2017