

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Efectividad e infectividad de especies de hongos
micorrícicos arbusculares en “papa”
(*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de
invernadero Ayacucho – 2015.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGA EN LA ESPECIALIDAD DE ECOLOGÍA Y
RECURSOS NATURALES

Presentado por la:
Bach. MÉNDEZ GÁLVEZ, Silvia

AYACUCHO – PERÚ
2017

*A mis padres Pedro,
Honorata, hermanos
y sobrinos.*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga en la cual tuve la oportunidad de formarme integral y profesionalmente.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Biología y a toda la plana de docentes, que forjaron mi perfil profesional con sus conocimientos y experiencias.

Al proyecto FOCAM “Recuperación, conservación y aplicación de hongos micorrícicos y entomopatógenos nativos en Vinchos y Chiara. Ayacucho-2012”, por permitirme participar como asistente de investigación y uso de los materiales y equipos que se utilizaron en el presente trabajo.

A la M.Cs. Blga. Roberta Esquivel Quispe, asesora del presente trabajo de investigación quien compartió sus conocimientos, experiencias, por su confianza, su paciencia y sus consejos en todo momento.

A la M.Sc. Laura V. Hernández Cuevas del Laboratorio de Micorrizas del Centro de Investigaciones en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala – México, por su apoyo en la identificación de esporas de HMA.

A mis amigos Liz, Juan y Jonathan, por su colaboración en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A todas aquellas personas que en algún momento me apoyaron durante el desarrollo de este trabajo.

INDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2 Endomicorizas	5
2.2.1 Hongos micorrícicos arbusculares	5
2.2.2 Morfología de los hongos micorrícicos arbusculares	6
2.2.3 Proceso de colonización de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA)	7
2.2.4 Etapas en el establecimiento de las micorizas arbusculares	8
2.2.5 Efectividad e infectividad en la formación de los HMA	9
2.2.6 Factores que afectan la formación y funcionamiento de las micorizas arbusculares	10
2.2.7 Preparación de inóculos	11
2.2.8 Clasificación de los hongos micorrícicos arbusculares	12
2.3 La papa	13
2.3.1 Descripción	13
2.3.2 Taxonomía	14
2.3.3 Requerimiento nutricional	14
2.3.4 importancia	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1 Ubicación de la zona de trabajo	17
3.2 Extracción y esterilización del sustrato	17
3.3 Muestreo, colección de muestras de suelo, extracción y aislamiento e identificación de esporas de HMA	18
3.4 Tratamientos, preparación de macetas e inoculación con esporas de HMA	20
3.5 Evaluación de la planta de papa <i>Solanum tuberosum</i> L. variedad Unica	21

3.6	Diseño experimental	23
3.7	Análisis estadístico de datos	23
IV.	RESULTADOS	25
V.	DISCUSIÓN	37
VI.	CONCLUSIONES	43
VII.	RECOMENDACIONES	45
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
	ANEXOS	51

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación de hongos del Phylum Glomeromycota	12
Tabla 2. Análisis de sustrato	18
Tabla 3. Codificación de tratamientos	20
Tabla 4. Etiquetado de macetas	20
Tabla 5. Análisis de varianza de las características generales de <i>Solanum tuberosum</i> L. “papa” inoculadas con cuatro especies de esporas de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo. Ayacucho 2016.	32
Tabla 6. Análisis de varianza para el número de esporas en <i>Solanum tuberosum</i> L. “papa” inoculado con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo. Ayacucho 2016.	33
Tabla 7. Análisis de varianza del porcentaje de infección en <i>Solanum tuberosum</i> L. “papa” inoculado con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo. Ayacucho 2016.	35

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Principales estructuras de una asociación micorriza arbuscular.	7
Figura 2. Papa y sus características.	13
Figura 3. Efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el número de hojas en <i>S. tuberosum</i> L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.	26
Figura 4. Efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el peso fresco aéreo en <i>S. tuberosum</i> L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.	27
Figura 5. Efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el peso seco aéreo en <i>S. tuberosum</i> L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.	28
Figura 6. Efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre la longitud de la raíz en <i>S. tuberosum</i> L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.	29
Figura 7. Efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el peso fresco de raíz en <i>S. tuberosum</i> L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.	30
Figura 8. Efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el peso seco de raíz en <i>S. tuberosum</i> L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.	31
Figura 9. Número de esporas de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares en <i>S. tuberosum</i> L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.	34
Figura 10. Porcentaje de infectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares en <i>S. tuberosum</i> L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.	36

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Datos de evaluación de las características generales de <i>Solanum. tuberosum</i> L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.	52
Anexo 2. Promedio de datos de la evaluación de las características generales de <i>Solanum. tuberosum</i> L. “papa” inoculados con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.	53
Anexo 3. Número de esporas en 10 g de suelo y porcentaje de infección en <i>S. tuberosum</i> L. “papa” inoculadas con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo. Ayacucho 2016.	54
Anexo 4. Comparación múltiple Duncan ($p=0,05$), para las características generales de <i>Solanum. tuberosum</i> L. “papa” inoculadas con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo. Ayacucho 2016.	55
Anexo 5. Comparación múltiple Duncan ($p= 0,05$), para el número de esporas y porcentaje de infección de <i>Solanum. tuberosum</i> L. “papa” inoculadas con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo. Ayacucho 2016.	56
Anexo 6. Flujograma de la metodología de extracción de esporas.	57
Anexo 7. Flujograma de la tinción de raíces.	58
Anexo 8. Selección de esporas por morfotipos.	59
Anexo 9. Espora de <i>Glomus fasciculatum</i> .	60
Anexo 10. Espora de <i>Entrophospora infrequens</i> .	61
Anexo 11. Espora de <i>Funneliformis geosporum</i> .	62
Anexo 12. Espora de <i>Claroideoglomus etunicatum</i> .	63
Anexo 13. Desinfección de tubérculos de papa.	64
Anexo 14. Inoculación de esporas en macetas.	65
Anexo 15. Comparación de los tratamientos inoculados con diferentes especies de HMA frente al testigo.	66
Anexo 16. Evaluación de la parte aérea de papa.	67
Anexo 17. Separación de raíces de papa del sustrato.	68
Anexo 18. Comparación de la raíces de los tratamientos inoculados con diferentes especies de HMA frente al testigo.	69

Anexo 19.	Comparación de tubérculos y estolones de los tratamientos inoculados con diferentes especies de HMA frente al testigo.	70
Anexo 20.	Arbúsculos en raíz de <i>Solanum tuberosum</i> L. “papa”.	71
Anexo 21.	Hifas en raíz de <i>Solanum tuberosum</i> L. “papa”.	72
Anexo 22.	Matriz de consistencia	73

RESUMEN

Debido a la importancia en la interacción simbiótica de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) con especies vegetales, así como los beneficios que ofrecen estos hongos en especies de importancia económica y su uso como biofertilizante; se realizó el presente trabajo con el objetivo de evaluar la efectividad e infectividad de especies de hongos micorrícicos arbusculares en *Solanum tuberosum* L. “papa” variedad Unica. El experimento se realizó en condiciones de invernadero, se consideró cinco tratamientos: testigo, *Glomus fasciculatum*, *Entrophospora infrequens*, *Funneliformis geosporum*, *Claroideoglomus etunicatum*. Se inoculó 75 esporas por maceta (por especie y tratamiento). Posteriormente se llevaron las macetas al invernadero donde se mantuvo por 110 días. Al cabo de dicho periodo, se evaluó los siguientes indicadores: longitud (cm), número de hojas, peso fresco y seco de la parte aérea (g), longitud de la raíz (cm), peso fresco y seco de la raíz (g), número de tubérculos y estolones, vigor de la planta y la colonización en las raíces (número de esporas y porcentaje de infección). Respecto a las evaluaciones de las características generales de la planta el tratamiento inoculado con *Glomus fasciculatum*, *Entrophospora infrequens* y *Funneliformis geosporum* tuvieron mayor efectividad en cuanto al número de hojas, peso fresco aéreo, peso seco aéreo, longitud de raíz, peso fresco y peso seco de raíz y en cuanto a la infectividad el tratamiento inoculado con *Claroideoglomus etunicatum* tuvo 1830 esporas en 10 g de suelo y 36.88%, *Glomus fasciculatum* tuvo 1695 esporas en 10 g de suelo y 46.25 % de infección y *Funneliformis geosporum* tuvo 1633.75 esporas en 10 g de suelo y 36.25% de infección respectivamente, se obtuvo una diferencia estadística altamente significativa respecto al número de esporas y porcentaje de colonización en los tratamientos inoculados; en muchos de los indicadores los tratamientos inoculados son numéricamente mayor en comparación con el testigo.

Palabras clave: Hongos micorrícicos arbusculares, efectividad, infectividad.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años el estudio de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) ha marcado un gran avance en el campo agrícola y biológico, la relación simbiótica que se produce entre estos hongos y el sistema radicular de las plantas influye de manera determinante en el desarrollo de las mismas.¹

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) son constituyentes esenciales de la microbiota natural del suelo y probablemente colonicen más tejidos vegetales que cualquier otro tipo de organismo.² Se caracterizan por la formación de arbúsculos, vesículas (en algunas especies) e hifas. El micelio de los HMA permite incrementar el área de absorción de la raíz de la planta facilitando la toma de nutrientes, mejorando así su tolerancia al estrés abiótico y biótico.³

Debemos considerar que la colonización por hongos micorrícicos arbusculares (HMA) de las raíces no conllevan daño alguno para las plantas, los desarrollos de las hifas externas se ramifican y distribuyen en el suelo, el micelio externo tiene la función de ser participe en la adquisición de nutrientes y agua para las plantas.⁴

La efectividad de una especie de HMA se manifiesta por su capacidad para colonizar a la planta huésped, influir de forma positiva en su crecimiento, desarrollo, contenido de nutrientes y rendimiento y que la planta hospedante favorezca la multiplicación de los propágulos de dicha especie en el suelo. A medida que una especie tenga mayor magnitud en estos tres aspectos, mayor será su efectividad.⁵

Una de las alternativas para incrementar la producción agrícola es la aplicación de biofertilizantes producidos a partir de hongos micorrícicos arbusculares (HMA). La utilización de especies nativas de microorganismos en la elaboración de biofertilizantes, presentan mayores posibilidades de efectividad en el campo, por estar adaptados a las condiciones del suelo de cada región.⁶

El presente trabajo de investigación se realizó porque actualmente no existen investigaciones que se hayan realizado a nivel de efectividad e infectividad con hongos micorrícicos arbusculares en Ayacucho; mediante el cual se conocerá la efectividad e infectividad de especies de hongos micorrícicos arbusculares en papa y se usará para otros trabajos de investigación, que contribuyan en un futuro al desarrollo de una agricultura ecológica, para ello se inocularon cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares: *Glomus fasciculatum*, *Entrophospora infrequens*, *Funneliformis geosporum*, *Claroideoglomus etunicatum*; se utilizó el método de extracción, aislamiento e inoculación de esporas descrita por Genderman y Nicolson, 1963⁷ y Daniels y Skipper, 1982⁸ y para la tinción de raíces la técnica de Phillips y Hayman⁹; con los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar la efectividad e infectividad de especies de hongos micorrícicos arbusculares en el crecimiento de “papa” (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de invernadero.

Objetivos específicos

- Evaluar la efectividad de especies de hongos micorrícicos arbusculares en el crecimiento de “papa” (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de invernadero.
- Evaluar la infectividad de especies de hongos micorrícicos arbusculares en el crecimiento de “papa” (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de invernadero.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

Moreno P,¹⁰ estudió la respuesta a la inoculación de micorrizas MVA en papa, utilizando plantas provenientes de tubérculos y de esquejes de tallo enraizados, en ensayos de invernadero y campo respectivamente. De tres especies de hongos micorrizógenos inoculados, sólo *Glomus fasciculatum* "E3" se asoció con el cultivo infectando las raíces en un 33% y dando lugar a incrementos significativos en el peso seco de tubérculos y peso seco total, bajo condiciones de invernadero. Los beneficios en el crecimiento de estas plantas estuvieron en relación directa con los niveles de infección determinados en raíces.

Rodríguez et al.¹¹ realizaron un estudio de influencia de tres cepas de hongos micorrícicos arbusculares (*Glomus claroideum*, *Glomus mosseae* y *Glomus* sp) sobre la aclimatización de vitroplantas de papa (*Solanum tuberosum*), clon 6-457. Donde se observó un efecto positivo de las cepas *Glomus* sp y *G. claroideum* sobre las vitroplantas de papa, destacándose *Glomus* sp por los valores superiores alcanzados en las variables fúngicas y del crecimiento evaluadas. Asimismo, esta cepa reprimió las actividades de las enzimas analizadas, sugiriendo una menor afectación de las plántulas de papa inoculadas y, por tanto, una mejor aclimatización en esta fase.

Rodríguez et al.¹² realizaron un estudio comparativo del comportamiento de seis cepas de HMA, en su interacción con plántulas de tomate, mediante indicadores fúngicos, agronómicos y bioquímicos. A los 18 y 32 días evaluaron: altura; masa fresca y seca (aérea, radical y total); así como las variables fúngicas colonización (%) y densidad visual (%) a los 32 días se encontró un efecto positivo de la inoculación sobre las plántulas de tomate con respecto a los controles. Los resultados mostraron además respuestas diferenciadas de las plántulas de tomate en función de las cepas de HMA inoculadas, con relación a las actividades

enzimáticas, destacándose la cepa *Glomus fasciculatum* como la más efectiva para esta interacción en las condiciones estudiadas.

Chacón y Cuencas.¹³ evaluaron la respuesta de crecimiento del cultivo de guayaba en condiciones de vivero con tres inóculos de micorrizas arbusculares (MA): *Scutellospora fulgida*, *Glomus etunicatum* y hongos nativos del suelo utilizado, en segundo lugar, evaluaron la respuesta del cultivo en presencia del hongo y/o de superfosfato triple (SPT) en dosis de 50 y 100n kg ha⁻¹. Los resultados que obtuvieron de altura, peso seco, nitrógeno y fósforo absorbido por las plantas, mostraron que el tratamiento micorrícico más eficiente en promover el crecimiento de la guayaba fue la inoculación con *S. fulgida* la cual aumentó el contenido de fósforo en las hojas 20 veces en relación con el control no micorrizado.

Martín et al.¹⁴ realizaron experimentos en macetas de 5 kg de capacidad, conteniendo suelo ferralítico rojo lixiviado. Los tratamientos consistieron en sembrar dos semillas de *Canavalia ensiformis* por maceta y añadir 10 g de inóculo certificado (25 esporas de HMA.g-1 de inóculo), empleando cepas de las especies *Glomus mosseae*, *Glomus claroideum* y *Glomus hoi-like*, como testigo se utilizaron plantas sin inoculación de HMA y suelo sin esterilizar. Se hicieron determinaciones de masa seca, análisis foliar y conteo de esporas de HMA, obteniéndose los mejores resultados con la cepa *Glomus hoi-like*.

Mora,¹⁵ evaluó el crecimiento del área foliar, masa seca del vástago y de la raíz, porcentaje de colonización micorrícica en raíces de limón (*Citrus tanaka*) y guayaba (*Psidium guajava* y *Psidium guajava*), y reportó que *Citrus tanaka* demostró una preferencia notable por *Scutellospora fulgida*, ya que en todos los parámetros evaluados se observaron diferencias estadísticamente significativas respecto a *Glomus manihotis*, *Entrophospora colombiana* y un control. Sin embargo, en *P. guajava*, los tratamientos micorrizados sólo mostraron diferencias estadísticamente significativas respecto al control.

Fernández,¹⁶ los resultados de los estudios en efectividad biológica en especies nativas de hongos endomicorrícicos arbusculares en “cedro rojo” *Cedrela odorata* L. muestran las bondades micorrícicas, que reducen eficientemente en 50% el uso excesivo de fertilizantes que contaminan el medio ambiente y que son utilizadas en la producción de *Cedrela odorata*.¹⁶

Hernández L. y Guerra V,¹⁷ en su investigación propagación y micorrización de plantas nativas con potencial para restauración de suelos. La propagación se hizo a partir de semillas, en vermiculita y turba. La mitad de las plantas de cada

especie se inoculó con una mezcla de tres cepas de hongos: 20 esporas *Glomus claroideum*, 20 *Acaulospora laevis* y 20 *Acaulospora morrowiae*. El tlaxistle y el palo dulce alcanzaron valores por arriba del 40% de germinación y del 80% de supervivencia al trasplante. Aunque, los porcentajes de colonización micorrícica fueron bajos en los dos casos, menores al 10% para palo dulce y al 20% para tlaxistle, los individuos micorrizados mostraron las mejores respuestas en diámetro, altura, biomasa aérea y contenido de fósforo.

2.2. ENDOMICORRIZAS

Es una asociación simbiótica interna, el 90% de las especies vegetales sobre la corteza terrestre forman este tipo de asociación. Se caracteriza por la penetración inter e intracelular en las células corticales y epidérmicas de la raíz, las endomicorrizas no se introducen a los sistemas vasculares y meristemos.¹⁸ Carecen de manto fúngico externo y de red interna de Hartig y acentuadas modificaciones anatómicas en las raíces no visibles a simple vista.¹⁹

Las endomicorrizas son poco específicas, lo que quiere decir que una especie de endomicorriza puede infectar a un gran número de especies vegetales. Son menos sensibles a las agresiones externas que las ectomicorrizas, sus esporas pueden sobrevivir durante dilatados períodos de tiempo. Como su nombre lo indica, viven en el interior de la raíz, en los espacios intercelulares y emiten hifas al interior de las células que se subdividen formando estructuras en forma de árbol (arbúsculo) dando origen al grupo de hongos micorrícicos.¹⁶

2.2.1. Hongos micorrícicos arbusculares

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA), son asociaciones mutualistas entre los hongos del Phylum Glomeromycota y la inmensa mayoría de la planta (cultivadas y silvestres). Se trata de una simbiosis prácticamente universal, no sólo porque casi todas las especies vegetales son susceptibles de ser micorrizadas sino también porque puede estar presente en la mayoría de los hábitats naturales.²⁰

Su nombre se debe a que el hongo forma un consorcio fisiológico caracterizado por la presencia de estructuras típicas en la epidermis de la misma, hifas, arbúsculos y vesículas. Las estructuras del hongo dentro de la raíz de la planta están en contacto con el micelio externo que rodea en una red difusa la raíz lugar en donde son formadas, libremente o en esporocarpos, las azigosporas o clamidosporas del hongo; órganos con base en cuya morfología únicamente es posible realizar la identificación del género y la especie.²¹

Los hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) colonizan las raíces de las plantas formando una extensa red de micelio en el suelo que les proporciona múltiples beneficios como: mayor transporte de agua y nutrimentos (especialmente P, Cu, Zn); protección cuando e encuentran bajo condiciones e estrés por problemas de salinidad, sequia, acidez, elementos tóxicos o patógenos que atacan la raíz.²²

2.2.2. Morfología de los hongos micorrícicos arbusculares

Las estructuras que forman los hongos micorrícicos arbusculares son: apresorios, esporas, arbúsculos, vesículas, hifas que pueden formar agrupaciones miceliales externas o internas y células auxiliares.

a. Apresorios

Son apéndices especializados del micelio externo de una hifa o tubo germinativo, imitando a u a bomba, ejerce presión sobre el tejido que va a colonizar y facilita la penetración del hongo.²³

b. Hifas

Los hongos micorrícicos arbusculares, poseen dos sistemas de hifas, uno interno y otro externo, las hifas internas (micelio interno) denominado el aparato de nutrición del hongo se desarrolla intracelularmente (crecen dentro de la pared de las células de la raíz) o intercelularmente (crecen entre la pared de las células de la raíz), las hifas externas (micelio externo) funciona como una prolongación del sistema radicular de la planta, permitiéndole explorar un área mayor de suelo que constituye el sistema de absorción de nutrientes.²⁴

c. Esporas

Son estructuras de reproducción, poseen resistencia para sobrevivir en el suelo durante muchos años y cuya germinación inicia un nuevo ciclo de simbiosis. Formadas en el extremo o no de una hifa, con características propias que constituyen la única estructura externa que puede permitir el reconocimiento morfológico de las especies de las Micorizas Vesícula Arbuscular, pudiendo funcionar también como “propágulos” y son órganos de conservación sexual o asexual.²⁵

d. Arbúsculos

Son estructuras del tipo de los haustorios que se originan a partir de la ramificación dicotómica repetida de una hifa al interior de una célula vegetal. Las finas ramificaciones de los arbúsculos realmente no entran en contacto con el protoplasma de las células, denominándose “invaginaciones de la membrana

celular”. Los arbuscúlos sirven como sitio de intercambio nutrimental entre el hongo y el hospedero.²⁵

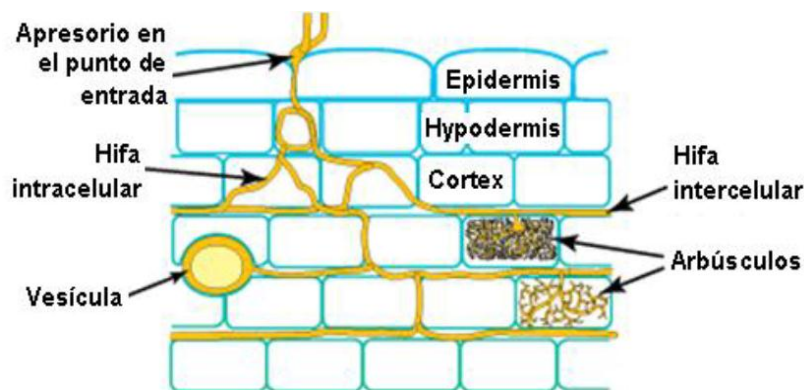
Tienen un tamaño comparable al de las mitocondrias y su vida aproximada es de 1 a 3 semanas, después de lo cual se colapsa y parte de él se reabsorbe hacia el citoplasma hifal y el resto de componentes permanecen en la célula hospedera, rodeados por el plasmalema.²⁶

e. Vesículas

Son estructuras de almacenamiento, cuya formación de sustancias como lípidos tiene lugar a partir del hinchamiento de un a hifa generalmente terminal, estos son órganos de reserva, se forman intra o intercelularmente en el sistema radical y fuera de el no están presentes en todos los géneros de HMA. Suelen aparecer más tarde que los arbuscúlos y son consideradas órganos de reserva, principalmente de lípidos.²⁴

f. Células auxiliares

Son estructuras cilíndricas y espinosas, las cuales se forman en hifas gruesas, alrededor de las raíces, son abundantes durante la colonización temprana luego estas disminuyen cuando la esporulación aumenta.²⁷



Fuente: modificado de Brundrett et al., (1996)

Figura 1: Principales estructuras de una asociación micorriza arbuscular.

2.2.3 Proceso de colonización de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA)

Las micorrizas arbusculares se originan a partir de hifas que proceden de los propágulos existentes en el suelo (esporas maduras, fragmentos de raíz micorrizadas, o plantas micorrizadas). El proceso de colonización de las micorrizas vesículo arbusculares comienza con la penetración de las hifas entre

dos células epidérmicas; entre hifas se ramifican intercelularmente en la corteza, sin llegar a penetrar los endodermos, tejidos vasculares, ni meristemos.²⁸

El plasmalema de la célula hospedadora no es perforado, sino que se invagina, de forma tal que la hifa de penetración y todas sus ramificaciones quedan rodeadas por él. A medida que el proceso de colonización avanza, se forman dos tipos de estructuras características: los arbuscúlos y las vesículas dependiendo de la especie de simbionte fúngico que colonice. Estos son órganos especializados, capaces de una gran actividad metabólica y bien adaptada para el intercambio de nutrientes entre el hongo y la planta.²⁸

Cuando una hifa contacta con la superficie de una célula epidérmica de la raíz, forma un apresorio que originará seguidamente la hifa colonizadora que penetrará en dicha célula o atravesará el espacio intercelular. En la zona externa del córtex de la raíz forma unas estructuras intracelulares típicas que son los “ovillos”; en la zona media las hifas crecen normalmente de forma longitudinal en los espacios intercelulares; mientras que en la zona interna las hifas penetran intracelularmente y forman los arbuscúlos por ramificación dicotómica repetida, a nivel de los cuales se produce el intercambio de nutrientes.²

También habría que destacar la formación de vesículas en el córtex cuya función es el almacenamiento de reservas lipídicas. Tras la colonización interna se produce la ramificación y desarrollo del micelio externo, que es clave en la captación de nutrientes y da lugar a nuevos puntos de colonización en la propia raíz o en otras próximas. Sobre la red tridimensional de hifas que constituye se forman esporas, estructuras de resistencia que, al madurar completan el ciclo del hongo.²⁸

2.2.4 Etapas en el establecimiento de las micorrizas arbusculares

El establecimiento de la simbiosis va depender de las interacciones entre los tres componentes del sistema: el hongo, las plantas y las condiciones ambientales. Su presencia puede implicar que ocurran procesos de reconocimiento entre los simbiontes, compatibilidad y especificidad, los cuales condicionan su expresión y conducen a la integración morfológica y funcional de las asociaciones.²⁹

En el proceso de la formación de la simbiosis se pueden distinguir diferentes fases: primera etapa o de fertilización, segunda etapa o de colonización y distribución, tercera etapa o de estabilización o efectividad y cuarta etapa o de reproducción. Aparentemente los modelos de la penetración y colonización del hongo son independientes no solo del hospedero sino también del tejido a colonizar.³⁰

a. Primera etapa o de fertilización

Las raíces de las plantas son infectadas con micorrizas versículo arbusculares, siempre y cuando esté presente una estructura infectada del hongo, que luego entra en contacto con los pelos absorbentes de las raíces. Se consideran órganos o unidades infectivas: las esporas y otras estructuras del hongo u otra raíz ya infectada; bajo condiciones favorables la infección puede ocurrir en un tiempo de 2 a 3 días.³¹

b. Segunda etapa o de colonización y distribución

Una vez que el hongo ha infectado a la raíz, se distribuye en ella, creciendo inter e intracelularmente infectando toda corteza de la raíz, entrando a conformar el micelio interno, arbusculos y vesículas. La duración del proceso de infección depende del ambiente, de la especie vegetal y por supuesto del hongo, tardando desde 10 días hasta varias semanas.³¹

c. Tercera etapa o de estabilización o efectividad

Simultáneamente a la formación de estructuras internas, el hongo forma el micelio externo, órgano a través del cual el hongo absorbe los nutrientes y los transporta a la raíz de la planta, en este momento es cuando la simbiosis empieza a funcionar en forma benéfica para la planta.³¹

d. Cuarta etapa o de reproducción

De 1 a 4 meses después de la tercera etapa, el hongo empieza a reproducirse formando esporas asexuales en el micelio externo. Las esporas son órganos de reproducción del hongo, que pueden estar largo tiempo en el suelo, especialmente en épocas que no hay hospedero a su alcance.³¹

2.2.5 Efectividad e infectividad en la formación de los HMA

La capacidad de las micorrizas para promover el desarrollo de los cultivos depende de dos factores: efectividad e infectividad.

a. La efectividad

Se refiere al potencial que tienen los HMA para desarrollar la simbiosis micorrícica e incrementar el crecimiento del hospedero.

La efectividad del hongo se demuestra cuando mejora el desarrollo del hospedante ya sea en forma directa o indirecta, el hongo debe ser eficaz en la captación, translocación y transferencia de nutrientes desde el suelo a la planta. Esto debe ser compatible igualmente con las condiciones físicas, químicas y microbiológicas del medio.³²

b. La infectividad

Se refiere a la capacidad del hongo para penetrar e invadir la raíz intensamente y explorar el suelo, así como su habilidad de persistir en el sistema productivo.³²

2.2.6 Factores que afectan la formación y funcionamiento de las micorrizas arbusculares

La efectividad de los hongos formadores de micorrizas arbusculares bajo condiciones de campo están determinados por: las condiciones físico-químicas del suelo (pH, contenido de fósforo, aireación, textura y contenido de materia orgánica), condiciones climáticas (intensidad y duración de luz, temperatura, humedad).³⁰

Entre los factores físico-químicos que más influyen en el desarrollo de las micorrizas arbusculares se han registrado el pH y el contenido de arcilla. Los hongos micorrizas arbusculares tienen amplia capacidad de adaptaciones de pH, estos se han registrado desde valores 2,7 a 9,2. Se encuentran diferencias entre especies y ecotipos en cuanto a su capacidad para colonizar en función del pH.³⁰ Los factores como la humedad, temperatura, luminosidad y aireación afectan directa o indirectamente los hongos micorrícicos arbusculares a través del hospedero. Dada la naturaleza aeróbica de los micosimbiontes en ecosistemas terrestres, la presencia de extrema humedad limita el establecimiento de la simbiosis y los efectos beneficiosos de esta asociación. La temperatura afecta a los hongos micorrícicos arbusculares dependiendo de la especie y de la combinación hospedero-micosimbionte. La combinación luz y temperatura, en la medida que afecta la fotosíntesis del hospedero y por lo tanto de la disponibilidad de carbohidratos, altera considerablemente el equilibrio de la micorriza arbuscular.³⁰

Con respecto a la textura del suelo, se han encontrado porcentajes de infección por hongos micorrícicos arbusculares más bajos en suelos arenosos, aunque algunas especies de *Gigaspora* se han visto favorecidos por esta condición.³³ Los suelos compactados reducen la fertilidad del suelo y la destrucción y distribución de las raíces de las plantas y de las hifas de las micorrizas arbusculares en la rizósfera.³⁴

La temperatura tiene una influencia significativa sobre la colonización y esporulación. La alta temperatura induce un incremento en la colonización de las raíces y en la esporulación. Se ha reportado que el máximo desarrollo de las micorrizas arbusculares se da cerca de los 30°C, mientras que la colonización micelial sobre la superficie de la raíz, ocurre entre los 28 y 34°C.³⁵

La luz es un factor fundamental en la infección de los hongos micorrícicos arbusculares. Los hongos micorrícicos vesícula arbusculares obtiene su recurso de carbono desde la planta hospedera y a partir de la fotosíntesis de ella y la translocación de fotosíntatos a la raíz, de esta manera, la luz puede afectar significativamente el desarrollo de las micorrizas. La luz afecta fuertemente el desarrollo de las micorrizas.²⁹ El sombreado no solo reduce la colonización y esporulación, sino también en la respuesta de la planta micorrizada. El efecto de la luz sobre las micorrizas al parecer influye en la fotosensibilidad de la planta; un fotoperiodo de 12 horas o más, es importante para producir altos niveles de colonización en comparación con la intensidad de la luz solar.³⁵

Respecto al factor agua, las micorrizas arbusculares se encuentran en un amplio rango de suelos con contenidos de agua. La colonización se ha llevado a cabo en regiones áridas, en pantanos y también en plantas acuáticas flotantes y sumergidas. Se ha establecido que, bajo condición de saturación, la concentración de oxígeno puede inhibir la germinación de la espora y la colonización de estas micorrizas.³⁶

Estudios realizados han considerado que niveles excesivos de agua en el suelo reducen el crecimiento y la infección de las micorrizas arbusculares. Los suelos mal drenados saturados por largos períodos decrecen la infección, de igual forma bajos niveles de agua en el suelo, disminuye la infección, la estimulación del crecimiento en la planta y la producción de esporas.³⁷

2.2.7 Preparación de inóculos

Se pueden utilizar diferentes fuentes de inóculos:

- a. Rizósfera**, de plantas que han sido previamente micorrizadas en condiciones controladas con propágulos de una sola especie de hongo.

Estos consisten en una mezcla de raíces micorrizadas y suelo adherido en el que existe micelio, esporas maduras, etc. Es lo que suele denominarse normalmente como “inoculante bruto”.³²

- b. “Micorriza limpia”**, es decir raíces infectadas exentas de suelo, obtenidas normalmente en cultivo hidropónico. Fragmentos de raíces infectadas con ciertos hongos VA, desprovistos de esporas de resistencia, mantienen el poder infectivo hasta al menos seis meses de haberse producido la muerte de las raíces.³²

- c. Estructuras del hongo**, fundamentalmente esporas.³²

2.2.8 Clasificación de los hongos micorrícicos arbusculares

La clasificación taxonómica de los hongos micorrícicos arbusculares se ha modificado en muchas ocasiones debido a las técnicas de identificación que han utilizado diversos autores.

La identificación taxonómica más utilizada está basada en características morfológicas de la espora³⁸:

- Tamaño: Diámetro.
- Color: Puede ser hialino, amarillo, rojo, negro, miel, rosa u otras tonalidades.
- Forma: Puede ser redonda, esférica, ovalada, irregular, elipsoide, subglobosa, u otras.
- Estructura citoplasmática: Puede ser vacuolada o reticulada.
- Estructura superficial: Lisa, áspera, ornamentada, ondulada, etc.
- Número de paredes y grosor de las mismas.
- Formación de la hifa terminal.
- Tipo de hifa de soporte.

Tabla 1: Clasificación de hongos del Phylum Glomeromycota ³⁹

Reino : Fungi		
División :Glomeromycota		
Clase : Glomeromycetes		
Orden:	Familia	Género
Archaeosporales	Archaeosporaceae	Archaeospora
	Geosiphonaceae	Geosphon
	Ambisporaceae	Ambispora
Diversisporales	Acaulosporaceae	Acaulospora
	Diversisporaceae	Diversispora
		Redeckera
		Otospora
		Entrophospora
	Gigasporaceae	Gigaspora
	Pacisporaceae	Scutellospora
		Racocetra
		Pacispora
Paraglomales	Paraglomaceae	Paraglomus
Glomerales	Glomeraceae	Glomus
		Funneliformis
		Rhizophagus
		Sclerocystis
	Claroideogomeraceae	Claroideoglomus

2.3 LA PAPA

2.3.1 Descripción

Variedad única, es herbácea con hábito de crecimiento erecto, los tallos son gruesos de color verde oscuro, alcanzando una longitud entre 0,90 a 1,20 metros. Las hojas son compuestas y se distribuyen en espiral sobre el tallo. La forma de la hoja es disectada, con cinco pares de folíolos laterales y un par de interhojuelas sobre los peciólulos.⁴⁰

Tiene floración moderada entrada la temporada de primavera en Costa, escasa floración en el invierno en Costa y ausencia de floración en condiciones de Sierra (mayor a 2.000 msnm); las flores son violetas y no forman bayas en épocas con bajas temperaturas. Los estolones son alargados en el invierno o bajo condiciones de Sierra; ligeramente cortos y pegados al tallo en la primavera.⁴⁰

Los tubérculos son oblongos y alargados, con ojos superficiales y en la parte del ojo apical es semi-profundo. Se forman ligeras protuberancias en los ojos hacia finales de la primavera, volviéndose más liso en el invierno o bajo condiciones de Sierra. Estas protuberancias se presentan también cuando los niveles de nitrógeno elevados, cuando hay períodos de estrés hídrico prolongados o cuando se retrasa el período de cosecha.⁴⁰

La piel del tubérculo es de color rosado, que toma una tonalidad más clara hacia finales de la primavera en la Costa y es roja en condiciones de Sierra. La pulpa es crema.⁴⁰

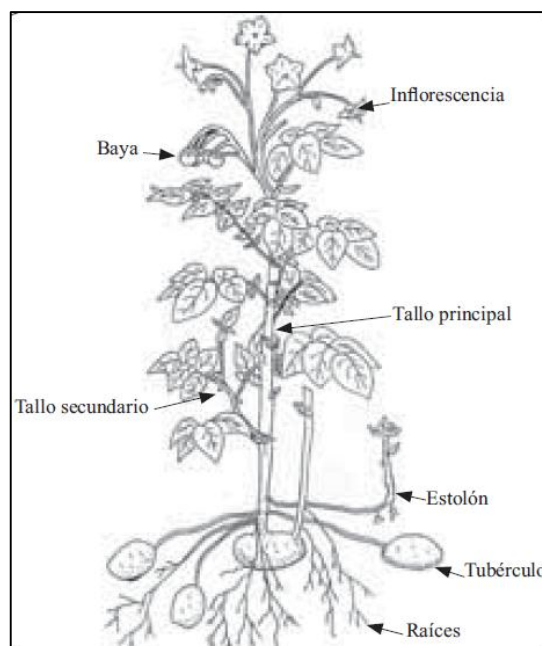


Figura 2: Papa y sus características

2.3.2 Taxonomía

Taxonomía de la papa ⁴¹:

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Asteridae
Orden	: Solanales
Familia	: Solanaceae
Género	: Solanum
Especie	: <i>Solanum tuberosum</i> L.
Nombre común	: papa
Variedad	: Única

2.3.3 Requerimiento nutricional

Los suelos pesados con arcilla y limo, son menos adecuados para este cultivo, las papas pueden crecer casi en todos los tipos de suelos, salvo donde son salinos o alcalinos. Los suelos naturalmente suelos, que ofrecen menos resistencia al crecimiento de los tubérculos, son los más convenientes, y los suelos arcillosos o de arena con arcilla y abundante materia orgánica, con buen drenaje y ventilación, son los mejores, con una profundidad entre 25 y 30 cm, con un pH de 5.2 a 6.4. ⁴²

2.3.4 Importancia

La papa es el cuarto principal producto alimenticio en el mundo, después del trigo, el arroz y el maíz. Una papa de tamaño mediano contiene alrededor de la mitad de los requerimientos diarios de vitamina C de una persona adulta. Otros cultivos de primera necesidad como el arroz o el trigo no poseen este elemento. La papa es muy baja en grasa, con sólo el 5% del contenido de grasa del trigo y una cuarta parte de las calorías del pan.

La papa se cultiva en 19 departamentos del Perú, desde el nivel del mar hasta los 4,100 metros de altura y constituye la base de la alimentación del poblador especialmente de la sierra. Su cultivo genera al productor andino mayores ingresos económicos que cualquier otro cultivo. ⁴³

Según un reporte del Ministerio de Agricultura y Riego, el Valor Bruto de la Producción (VBP) de Papa, en el año 2016 representó el 10,6% del Valor Bruto del Sub sector agrícola, convirtiendo a este tubérculo en el segundo producto más importante de la agricultura peruana, superado solo por el VBP correspondiente al arroz (13,4%). El boletín "Papa: Características de la Producción Nacional y

Comercialización en Lima Metropolitana” estima que en el 2016, la producción de papa generó aproximadamente 33,4 millones de jornales, que representaron alrededor del 4,0% del PBI Agrícola; la producción de este tubérculo creció a una tasa de 3,4% anual, llegándose a obtener en el año 2015, una producción histórica récord de 4 715,9 mil toneladas, como resultado de la expansión de la superficie cosechada y mejora sustantiva de los rendimientos por hectárea. En el 2016 fue de 4 527,6 mil toneladas, cantidad inferior en 4,0%, en comparación con el año anterior.⁴³

Atributos para el mercado

El principal uso que se le encuentra a la variedad Única es para el consumo en fresco, sin embargo, también presenta atributos para el procesado de papas peladas y cortadas en tiras, utilizada comúnmente en el Perú como guarnición para los pollos a la brasa, teniendo un 58% de rendimiento en procesamiento para tiras mayores de 8 cm sobre el rendimiento total.⁴⁰

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN DE LA ZONA DE TRABAJO

El proyecto de investigación se realizó en el laboratorio e invernadero de Agrobiología, de la Escuela Profesional de Agronomía, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

La zona de trabajo está ubicada en la ciudad universitaria a 2750 m.s.n.m. latitud 13° 08' 50.92" S y longitud 74° 13' 09.84" N

3.2 EXTRACCIÓN Y ESTERILIZACIÓN DEL SUSTRATO

El sustrato extraído fue suelo sin cultivar (tierra virgen); que fue colectado de áreas no cultivadas de la ciudad universitaria de "Pampa del Arco". El suelo recolectado fue debidamente tamizado y se hizo el análisis físico-químico, este suelo se llenó en bolsas de transparentes de 7 x 10, cada bolsa contenía un kilogramo y medio de suelo; la esterilización del suelo se realizó utilizando una autoclave automática, se esterilizó a 0.14 mega pascal (MPa), que equivale a 20,31 Lb/pul², a una temperatura de 100°C, la esterilización se realizó tres veces, cada esterilización se realizó durante 60 minutos.

3.2.1 Composición del sustrato

El análisis físico-químico del suelo fue realizado en el laboratorio de Análisis de Suelos y Análisis Foliar "Nicolás Roulet" del Programa de Investigación de Pastos y Ganadería, de la Facultad Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Este suelo presenta una textura franco arcillo arenoso (Fr-Ar-Ao), pH de 7,82 (ligeramente alcalino), salinidad de 0,560 dS/m (muy ligeramente salino), el porcentaje de materia orgánica 1,15 % (bajo) y un porcentaje de nitrógenos totales de 0,05 %. (Ver tabla 2).

Tabla 2: Análisis de sustrato

SUBSTRATO	CLASE TEXTURAL	pH (H ₂ O)	C.E. (dS/m)	CaCO ₃ (%)	M.O. (%)	Nt (%)	Elementos disp. (ppm)	
							P	K
Suelo sin cultivar	Fr-Ar-Ao	7,82	0,560	0,0	1,15	0,05	9,8	98,4

Fuente: Laboratorio de Análisis de Suelos y Análisis Foliar "Nicolás Roulet" del Programa de Investigación de Pastos y Ganadería de la UNSCH – 2015

3.3 MUESTREO, COLECCIÓN DE MUESTRAS DE SUELO, EXTRACCIÓN Y AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE ESPORAS DE HMA

3.3.1 Lugar de muestreo y colección de muestras de suelo

Las muestras de suelo fueron colectadas de cultivos de papa del distrito de Vinchos de la provincia de Huamanga, estas muestras se colectaron teniendo en cuenta los predios ya determinados, esto se realizó de acuerdo a la evaluación realizada en el 2013 y 2014 por el Proyecto de Investigación: "Recuperación, conservación de hongos micorrícicos y entomopatógenos nativos en Vinchos y Chiara. Ayacucho 2012"- FOCAM. El muestreo se realizó de forma aleatoria, para lo cual se utilizó una paleta de jardinería mediante la cual se obtuvo aproximadamente 200 a 300 gr. de suelo por submuestra; comprendiendo una muestra como mínimo de 10 a 15 plantas por parcela. Las muestras de suelo obtenidos se hicieron secar en el laboratorio para la posterior extracción de esporas.

3.3.2 Extracción y Aislamiento de esporas (método de Gendeman y Nicolson 1963 y Daniels y Skipper 1982)

- Se colocó 50 g de suelo en un vaso de precipitado con 1 L de agua de caño, se agitó con una varilla de vidrio por 15 segundos y se dejó reposar durante 35 segundos, después se decantó el sobrenadante por los tamices de 250, 106 y 45 μ m, seguidamente se lavó con abundante agua de caño.
- Se repitió el procedimiento cuatro veces más, pero en la segunda repetición dejar reposar 25 segundos, en la tercera y cuarta dejar reposar 15 segundos, y en la quinta dejar reposar 10 segundos.
- Con la ayuda de una pizeta conteniendo agua destilada se vertió el material que quedó en el tamiz de 250 μ m a una placa Petri y se observó con un estereoscopio para extraer las esporas de esa fracción de la muestra.
- Se preparó 2 tubos de centrifuga de 50 ml de capacidad, formando una gradiente de sacarosa colocando 10 ml de sacarosa al 20% y 9 ml de sacarosa

al 60% por tubo de centrifuga. Para formar el gradiente se puso primero la solución menos concentrada de sacarosa al 20%, la solución concentrada de sacarosa al 60% se colocó introduciendo una pipeta hasta el fondo del tubo donde se libera la sacarosa lentamente para que empuje hacia arriba a la sacarosa al 20%. El gradiente se forma si la sacarosa está fría. Se distribuyó el suelo que quedo en el tamiz 45 μ m y el tamiz 106 μ m de manera equitativa a los tubos de centrifuga y se centrifugó a 3500 rpm por tres minutos. El sobrenadante de los tubos de centrifuga se vertió al tamiz de 45 μ m y se enjuagó con abundantemente agua para eliminar la sacarosa y con la ayuda de una pizeta se transfirió el sobrenadante a placas Petri con papel filtro para su observación al estereoscopio.

- Se extrajo las esporas con la ayuda de un estereoscopio, pipeta Pasteur y un estilete.
- Las esporas aisladas fueron separadas en diferentes grupos en una luna de reloj, se observaron al estereoscopio y con ayuda de un estilete se reunieron los morfotipos teniendo en consideración la similitud en forma, color y tamaño de las esporas. Con la ayuda de una pipeta Pasteur se extrajeron las esporas, se depositaron en tubos Eppendorf con agua estéril, se rotularon y se anotaron las características de cada morfotipo encontrado para su identificación, finalmente se guardaron en la refrigeradora para su posterior utilización.

3.3.4 Identificación de especies

Las esporas extraídas se identificaron de la siguiente manera, se prepararon las láminas portaobjetos la cual se separó en dos partes, en una parte de la lámina portaobjeto se añadió una gota de polivinil - lactoglicerol (PVLG) y en la otra parte de la lámina se añadió una gota de PVLG+MELZER, sobre el cual se colocaron 5 esporas por muestra, las cuales fueron cubiertas con láminas cubreobjetos y se etiquetaron por tratamiento, se les aplicó presión con un estilete a las láminas que contenían esporas con PVLG+MELZER; luego se procedió a la observación de las esporas en el estereoscopio, primero de la parte de la lámina a la que se añadió PVLG para comparar con la carta de colores de INVAM y luego se procedió a observar en el microscopio la lámina a la cual se le añadió PVLG+MELZER y se hizo la identificación usando como referencia y comparando con las descripciones e ilustraciones de las especies en la INVAM³⁸ (Colección Internacional de Hongos Micorrícicos Arbusculares) y por Blaszkowski⁴⁴, donde se observó a 10x.40x para ver las paredes de las esporas, los estratos, la reacción con PVLG+MELZER y

forma de hifas de origen, mediante estas características se identificaron las siguientes especies: *Glomus fasciculatum*, *Entrophospora infrequens*, *Funneliformis geosporum*, *Claroideoglomus etunicatum* (ver Anexo 9, 10, 11y 12).

3.4 TRATAMIENTOS, PREPARACIÓN DE MACETAS E INOCULACIÓN CON ESPORAS DE HMA

3.4.1 Tratamientos de esporas de HMA

Los tratamientos se codificaron de la siguiente manera:

Tabla 3: Codificación de tratamientos

CODIGO	ESPECIE
T0	Testigo (T)
T1	<i>Glomus fasciculatum</i> (Gf)
T2	<i>Entrophospora infrequens</i> (Ei)
T3	<i>Funneliformis geosporum</i> (Fg)
T4	<i>Claroideoglomus etunicatum</i> (Cle)

3.4.2 PREPARACIÓN DE MACETAS

La siembra de tubérculos se realizó en un ambiente previamente desinfectado utilizando materiales estériles.

3.4.2.1 Etiquetado de macetas

Se etiquetaron 20 bolsas de polietileno de color negro de un tamaño de 25 x 18 cm, en la etiqueta se puso en número de tratamiento de la siguiente manera:

Tabla 4: Etiquetado de macetas

TRATAMIENTOS Fecha de inoculación (11/03/16)				
T0/I	T1/I	T2/I	T3/I	T4/I
T0/II	T1/II	T2/II	T3/II	T4/II
T0/III	T1/III	T2/III	T3/III	T4/III
T0/IV	T1/IV	T2/IV	T3/IV	T4/IV

3.4.2.2 Desinfección y siembra de tubérculos de *Solanum tuberosum* L. “papa” variedad Unica.

En cada bolsa de polietileno se puso 4 vasos de suelo estéril, y se regó con 100 ml de agua de caño reposada y esterilizada, luego se agregó un vaso de humus (proporción de 4:1) a todas las bolsas y se cubrió con papel aluminio hasta el día siguiente, con la finalidad de que el agua filtre. Al día siguiente se desinfectaron

los tubérculos de papa variedad única, con clorox al 2% durante un tiempo de un minuto y medio, se enjuagó cinco veces con agua destilada estéril, y se colocó un tubérculo por bolsa.

3.4.2.3 Inoculación de esporas de HMA

A cada bolsa se agregó el inóculo de 75 esporas de HMA, por especie y por tratamiento, seguidamente se agregó un vaso de suelo estéril y se regó con 50 ml de agua reposada y esterilizada, se cubrió con papel aluminio y se llevó al invernadero para su posterior evaluación.

3.5 EVALUACIÓN DE LA PLANTA DE PAPA *Solanum tuberosum* L. variedad Unica

Después de transcurrido 110 días se evaluó cada maceta (plantas inoculadas y no inoculadas) y se consideró como variables a evaluar: características generales de la planta, evidencia de colonización (número de esporas y porcentaje de colonización).

3.5.1 Evaluación de las características generales

- Longitud de la planta, la medida se realizó desde el cuello del tallo hasta el ápice usando una regla.
- Número de hojas.
- Peso fresco de la parte aérea, se reportó cortando el tallo y las hojas en trozos pequeños y pensando en una balanza analítica.
- Peso seco de la parte aérea de la planta, los tallos y hojas cortados en trozos pequeños fueron colocadas en bolsas de papel kraft y fueron puestos en una estufa a una temperatura de 65°C por 48 horas, y luego se pesó en una balanza analítica.
- Peso fresco de raíz, las raíces fueron separadas del sustrato con mucho cuidado y lavados en un tamiz (para evitar la pérdida de raíces) con agua de caño, para que quedaran libre del sustrato y así obtener un peso exacto de la raíz.
- Peso seco de la raíz, sobre un papel se dejó la raíz al ambiente durante 24 horas.
- Longitud de raíz, las raíces fueron extendidas con mucho cuidado y se usó una regla para tomar las medidas.
- Cantidad y peso en g de tubérculos y estolones, las cuales primero se contaron y luego se separaron los tubérculos y estolones de la raíz y se pesaron una balanza analítica.

3.5.2 Evaluación de la colonización

La determinación de la colonización se realizó por diferentes métodos, una que determina el número de esporas por gramo de sustrato y el porcentaje de colonización.

A. Extracción y conteo de esporas

Para la extracción de esporas se empleó la técnica de Extracción y Aislamiento de esporas (método de Genderman y Nicolson 1963 y Daniels y Skipper 1982).

Para el conteo de esporas se realizó el conteo de esporas en 10 g de suelo, de tres tamices 205, 106 y 45 μm por cada muestra, donde se utilizó un estereoscopio y contando directamente las esporas que se encuentran en cada cuadrante del papel filtro (16 cuadrantes de 1,5 x 1,5 cm) y rotulado. Para la muestra del tamiz 45 μm se utilizó un aumento de 40X y para el de 106 μm un aumento de 30X.

El resultado del conteo de esporas por gramo de suelo se reportó según la fórmula siguiente:

$$\text{Numero de esporas en } 10\text{g de suelo seco} = \frac{(\text{número de esporas contadas}) \times (\text{g de suelo seco})}{10\text{g de suelo humedo}} \times 100$$

B. Determinación del porcentaje de colonización por tinción de raíces de *Solanum tuberosum* L. “papa” variedad Unica

Se utilizó el procedimiento de Phillips y Hayman, 1970; ligeramente modificado, y mencionado por Ferrato, R. 1993.³⁹

- Las raíces fueron seleccionados y cortados de diferentes partes de la raíz en trozos de 2,5 cm y se introdujeron en tubos de ensayo rotulados.
- Luego se cubrió las raíces con una solución KOH al 10 por ciento y se calentó los tubos con las raíces en baño maría durante 20 min a 65°C, para que queden liberados de los taninos (clareo).
- Una vez sacada los tubos del baño maría, se desechó el KOH y se lavan las raíces con agua destilada, hasta eliminar totalmente los restos de KOH.
- Se vuelve a cubrir las raíces con una solución de HCl 0,1 N para neutralizar el KOH que haya podido quedar en la raíz (acidificación), dejando actuar el HCl durante 10 minutos y se vuelve a desechar y enjugar con agua destilada.
- Seguidamente se hizo la tinción utilizando un colorante específico para teñir las hifas del hongo denominado Azul de tripán al 0,05 por ciento en lactoglicerol a las raíces contenidas en los tubos y se calentaron los tubos en baño maría durante cinco minutos a 65°C.

- Se sacó los tubos del baño maría y se dejó enfriar.
- Se enjuagó con ácido láctico 3 veces para eliminar el exceso de colorante.
- Las raíces contenidas en los tubos de ensayo se colocaron en porta objetos y luego cubiertos con láminas cubre objetos, para el respectivo conteo de intersecciones de segmentos de raíz colonizadas.
- Se determinó el porcentaje de colonización mediante la evaluación de los segmentos de raíces de las plantas hospederas que reportan presencia de las estructuras de hongos micorrícicos como son vesículas, arbuscúlos e hifas.
- Para determinar el porcentaje de colonización, se utilizó un microscopio. Colocando 10 segmentos de raíces teñidas de aproximadamente 2,5 cm de longitud, sobre un porta objetos con cuatro líneas paralelas y equidistantes de 2 mm (40 intersecciones) y protegidas por un cubre objeto. Haciendo un recorrido horizontal, se reportó el número de intersecciones de raíces teñidas colonizadas, (con presencia de estructuras de hongos micorrícicos como son vesículas, arbuscúlos o hifas) y las no colonizadas.
- De modo que con los datos reportados se pudo realizar el cálculo del porcentaje de colonización utilizando la siguiente ecuación.

$$\% \text{ colonización total} = \frac{N^{\circ} \text{ de segmentos colonizados}}{N^{\circ} \text{ de segmentos totales}} \times 100$$

3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

La evaluación de la efectividad e infectividad en invernadero consistió de un diseño experimental completamente al azar, con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo, con un diseño conformado por cinco tratamientos, con cuatro repeticiones cada uno, presentándose un total de 20 unidades experimentales y ordenadas de la siguiente manera: cuatro macetas sin inocular (testigo) y dieciséis macetas inoculadas con esporas de HMA, cada tratamiento con una especie diferente.

3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS

Los datos obtenidos fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA), utilizando el programa de Infostat con el nivel de confianza del 95% y la prueba de comparación de promedios DUNCAN al 5%, para determinar la efectividad e infectividad en los diferentes tratamientos.

IV. RESULTADOS

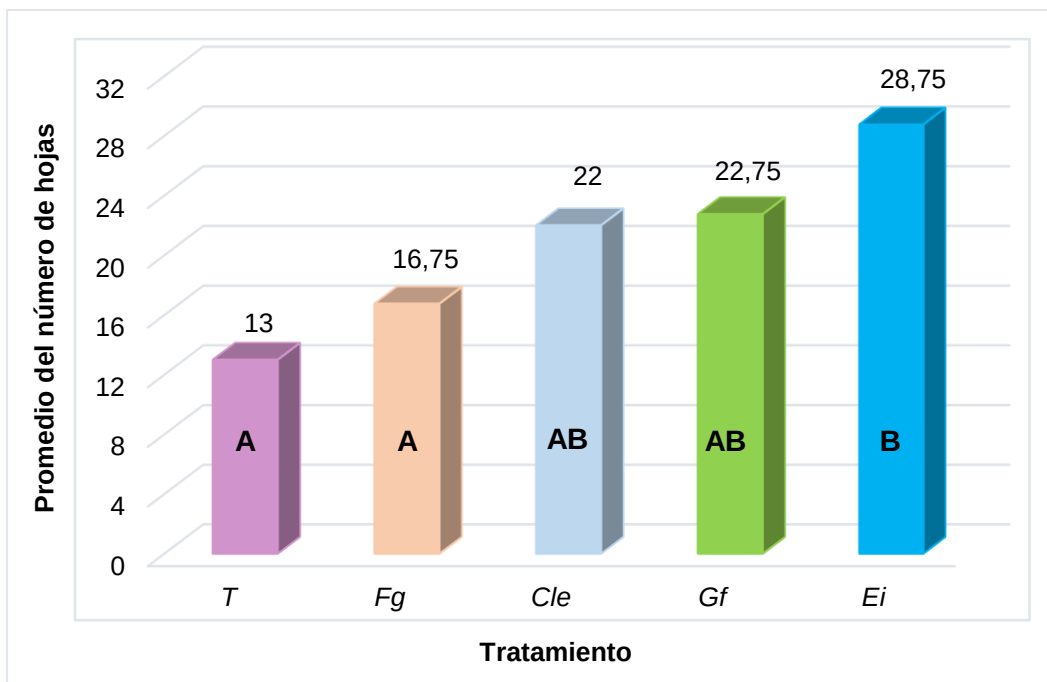


Figura 3: Efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el número de hojas en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.

Leyenda:

T: Testigo

Gf: *Glomus fasciculatum*

Ei: *Entrophospora infrequens*

Fg: *Funneliformis geosporum*

Cle: *Claroideoglomus etunicatum*

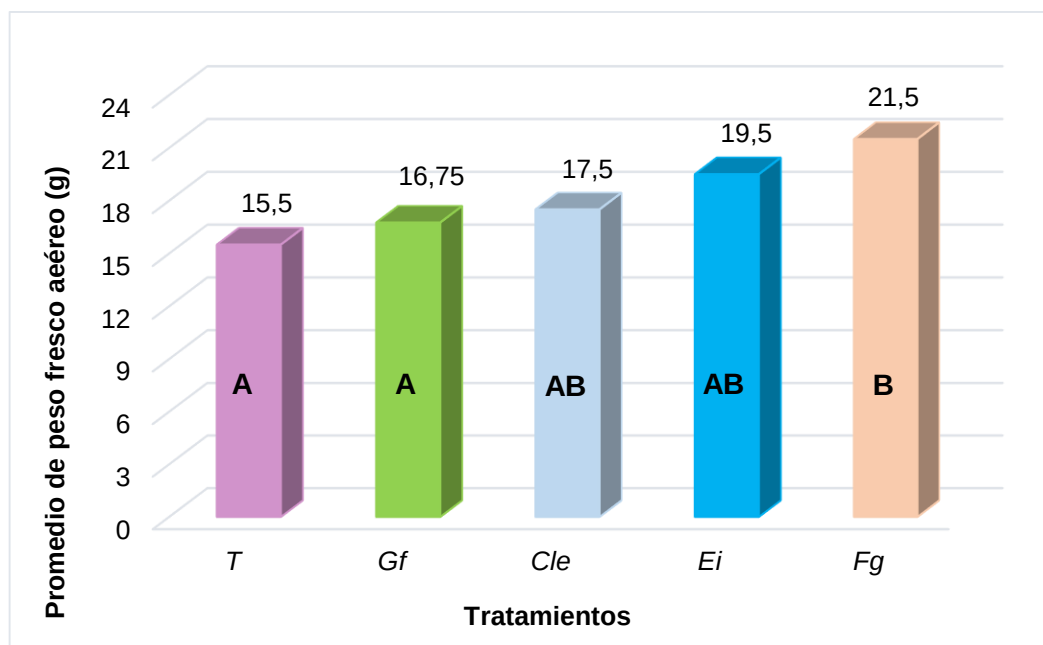


Figura 4: Efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el peso fresco aéreo en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.

Leyenda:

T: Testigo

Gf: *Glomus fasciculatum*

Ei: *Entrophospora infrequens*

Fg: *Funneliformis geosporum*

Cle: *Claroideoglomus etunicatum*

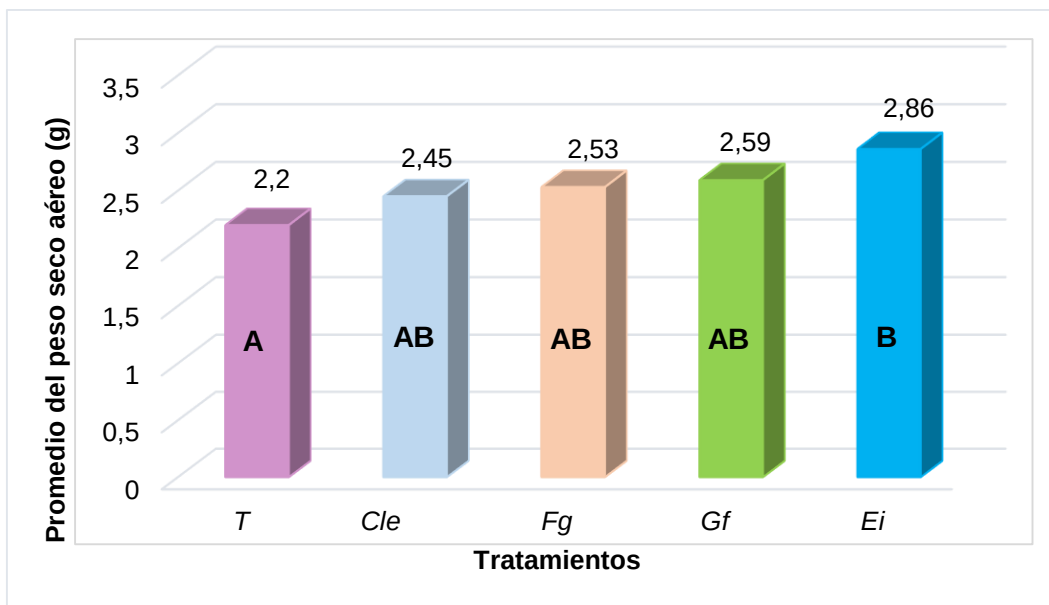


Figura 5: Efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el peso seco aéreo en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.

Leyenda:

T: Testigo

Gf: *Glomus fasciculatum*

Ei: *Entrophospora infrequens*

Fg: *Funneliformis geosporum*

Cle: *Claroideoglobus etunicatum*

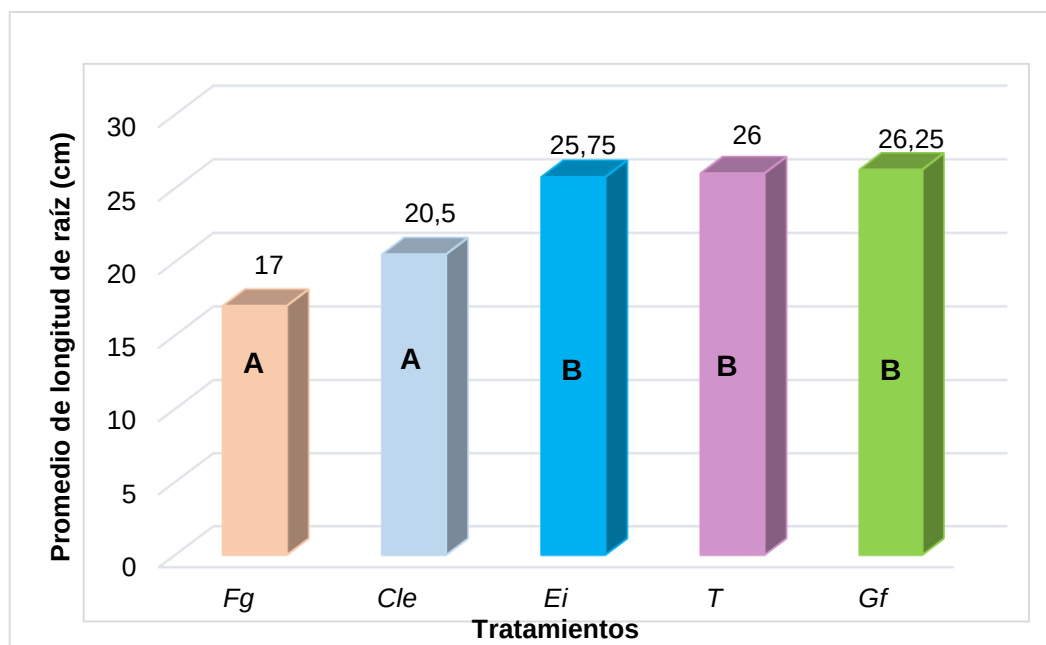


Figura 6: Efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre la longitud de la raíz en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.

Leyenda:

T: Testigo

Gf: *Glomus fasciculatum*

Ei: *Entrophospora infrequens*

Fg: *Funnelformis geosporum*

Cle: *Claroideoglomus etunicatum*

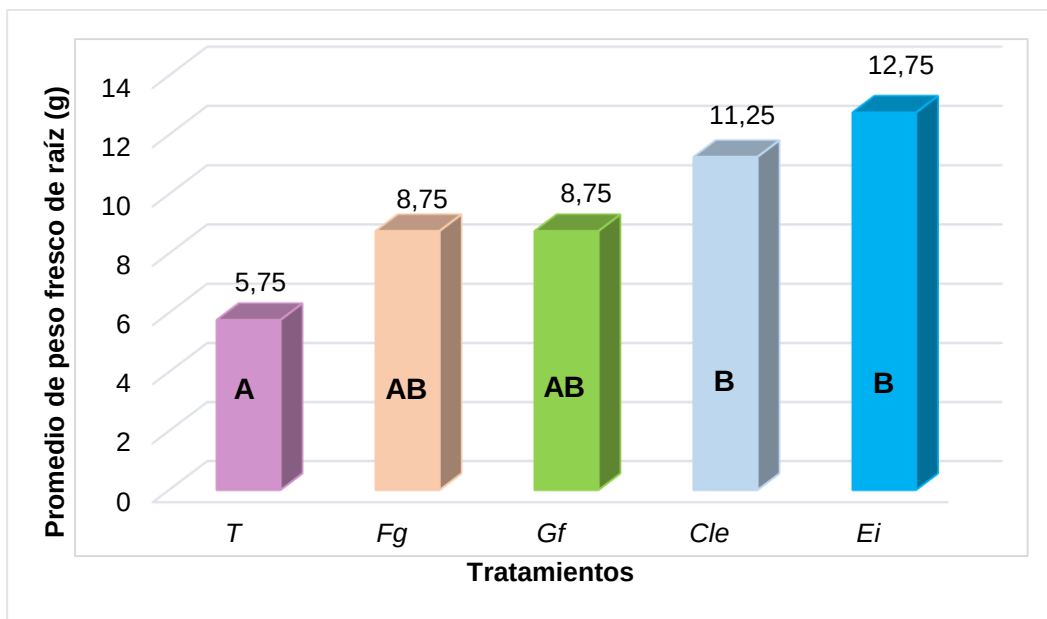


Figura 7: Efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el peso fresco de raíz en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.

Leyenda:

T: Testigo

Gf: *Glomus fasciculatum*

Ei: *Entrophospora infrequens*

Fg: *Funneliformis geosporum*

Cle: *Claroideoglossum etunicatum*

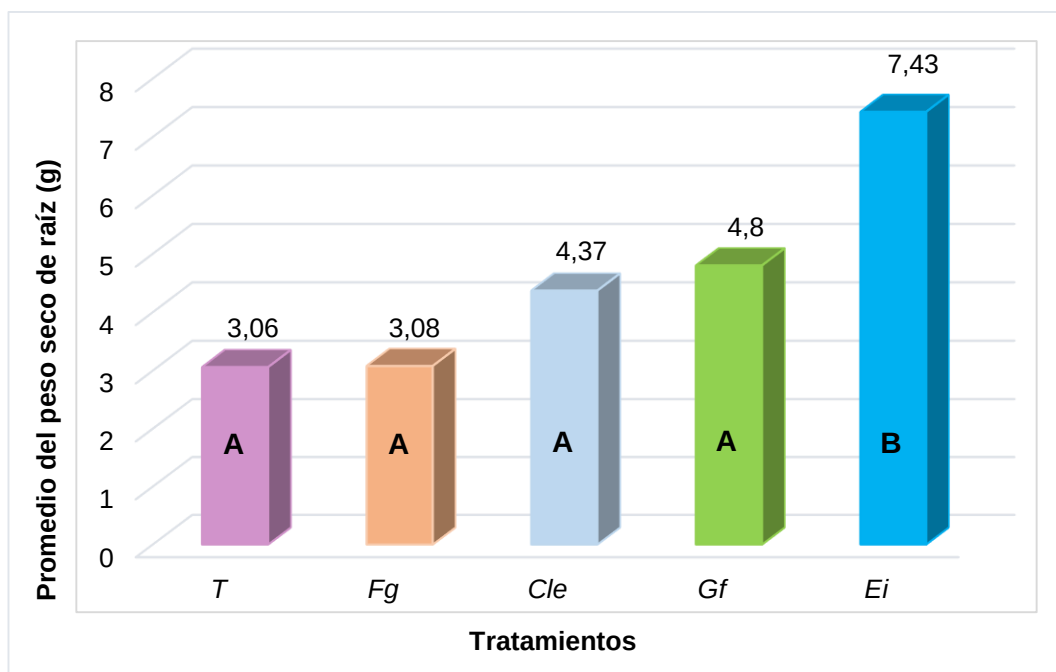


Figura 8: Efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el peso seco de raíz en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.

Leyenda:

T: Testigo

Gf: *Glomus fasciculatum*

Ei: *Entrophospora infrequens*

Fg: *Funneliformis geosporum*

Cle: *Claroideoglomus etunicatum*

Tabla 5: Análisis de varianza de las características generales de *S. tuberosum* L. “papa” inoculadas con cuatro especies de esporas de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo. Ayacucho 2016.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Longitud de la planta (cm)					
Entre tratamientos	12.8	4	3.2	0.73	0.58 NS
Error	65.75	15	4.38		
Total	78.55	19			
Número de hojas					
Entre tratamientos	582.3	4	145.6	3.74	0.027*
Error	584.25	15	38.95		
Total	1166.55	19			
Peso fresco parte aérea (g)					
Entre tratamientos	89.8	4	22.45	2.84	0.062 NS
Error	118.75	15	7.92		
Total	208.55	19			
Peso seco parte aérea (g)					
Entre tratamientos	0.92	4	0.23	1.84	0.17 NS
Error	1.88	15	0.13		
Total	2.8	19			
Longitud de raíces (cm)					
Entre tratamientos	277.3	4	69.33	6.03	0.004 **
Error	172.5	15	11.5		
Total	449.8	19			
Peso fresco de raíces (g)					
Entre tratamientos	115.2	4	28.8	2.85	0.061 NS
Error	151.75	15	10.12		
Total	266.95	19			
Peso seco de raíces (g)					
Entre tratamientos	50.98	4	12.75	5.25	0.008 *
Error	36.4	15	2.43		
Total	87.38	19			

Leyenda

** (Diferencia significativa media)

* (Diferencia significativa)

NS (No significativo)

Tabla 6: Análisis de varianza para el número de esporas en *S. tuberosum* L. “papa” inoculado con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo. Ayacucho 2016.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Entre tratamientos	3643307.5	4	910826.88	43.7	<0.0001***
Error	312606.25	15	20840.42		
Total	3955913.75	19			

Leyenda

*** (Diferencia significativa alta)

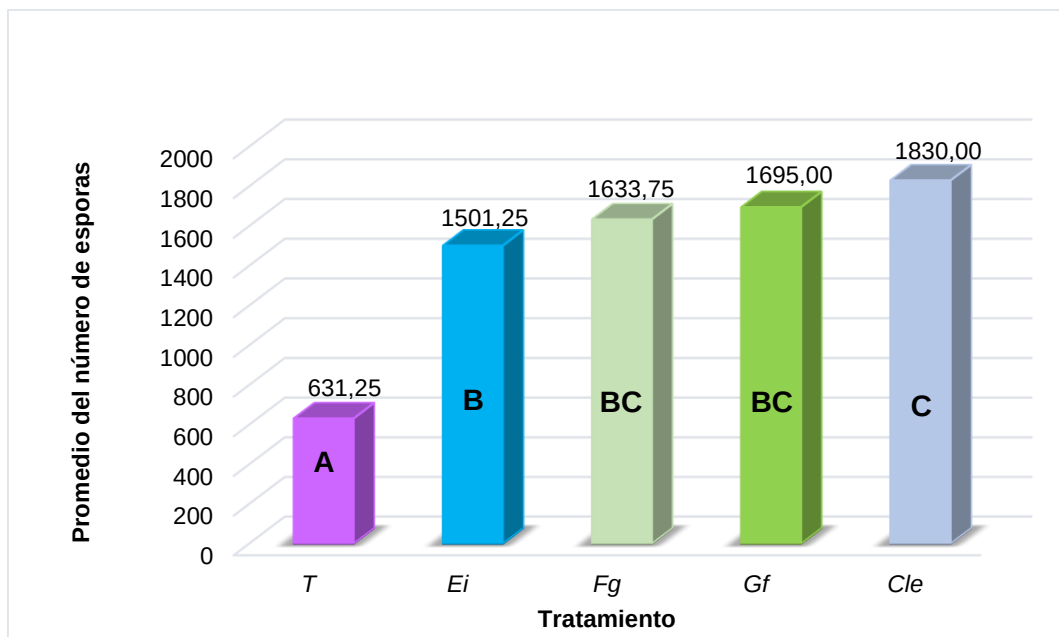


Figura 9: Número de esporas de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.

Leyenda:

T: Testigo

Gf: *Glomus fasciculatum*

Ei: *Entrophospora infrequens*

Fg: *Funneliformis geosporum*

Cle: *Claroideoglomus etunicatum*

Tabla 7: Análisis de varianza del porcentaje de infección en *S. tuberosum* L. “papa” inoculado con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo. Ayacucho 2016.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Entre tratamientos	2552	4	638	8.38	0.0009***
Error	1141.75	15	76.12		
Total	3693.75	19			

Leyenda

*** (Diferencia significativa alta)

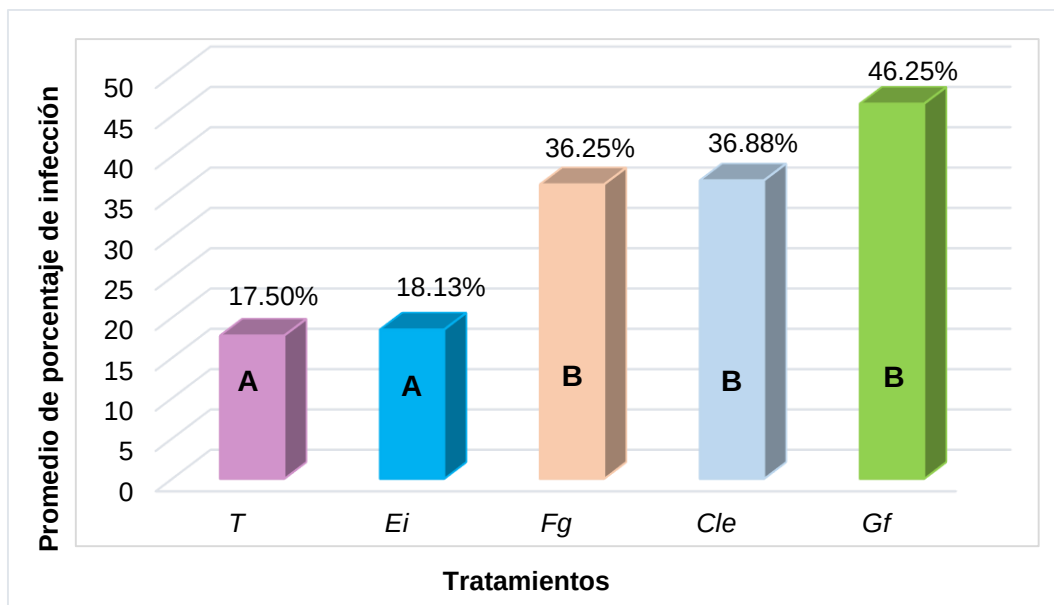


Figura 10: Porcentaje de infectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.

Leyenda:

T: Testigo

Gf: *Glomus fasciculatum*

Ei: *Entrophospora infrequens*

Fg: *Funneliformis geosporum*

Cle: *Claroideoglomus etunicatum*

V. DISCUSIÓN

En la figura 3, se observa la efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el número de hojas en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero, en el que se muestra que el tratamiento inoculado con *E. infrequens* tiene mayor cantidad de número de hojas en comparación con los tratamientos inoculados con *G. fasciculatum*, *Cl. etunicatum*; sin embargo, los tres tratamientos son estadísticamente similares en el número de hojas. Podemos observar que el tratamiento inoculado con *E. infrequens* (28.75 hojas) supera estadísticamente en número de hojas a la planta testigo (13 hojas), sin embargo, los tratamientos inoculados con *F. geosporum*, *Cl. etunicatum*; *G. fasciculatum* y el testigo son estadísticamente similares. Este efecto es debido a que las plantas micorrizadas necesitan mayor cantidad de fotosintatos para satisfacer su demanda y la del micosimbionte de tal forma que permita sin afectaciones el crecimiento y desarrollo estable de ambos organismos.⁴⁵

En cuanto al testigo, no es de esperar este rápido incremento del área foliar pues la planta solo debe satisfacer sus propias demandas, el incremento del número de hojas en los tratamientos micorrizados, fue correspondido con los resultados de Rodríguez⁴⁶ y Lagos⁴⁷ al obtener un diámetro de copa mayor y más hojas en plantas micorrizadas en plantas de tomate respectivamente.

Así mismo, en la figura 4 se observa la efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el peso fresco aéreo en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. En dicha figura se muestra que el tratamiento inoculado con *F. geosporum*, supera estadísticamente al tratamiento testigo, mientras que el resto de los tratamientos son estadísticamente similares en el peso fresco aéreo. El peso fresco de las plantas aumentó por la formación de esporas micorrizas, en comparación al tratamiento sin la adición de hongos micorrícicos, estas diferencias son el resultado de que cuanto mayor es la micorrización en las plantas, el desarrollo es mejor, porque las micorrizas actúan provocando

alteraciones morfológicas y anatómicas en las plantas hospederas como cambios en relación al tallo-raíz, este efecto se debe a que las plantas experimentan un considerable aumento en su biomasa debido principalmente al mejoramiento de la nutrición mineral del vegetal inducido por el hongo, además los hongos micorrícicos influyen sobre la proporción de biomasa que se va a distribuir en la parte aérea y parte radical. La estimulación de la captación de elementos minerales y la subsiguiente translocación de estos a la parte aérea, ocasionando que se transfiera a la raíz, relativamente menos productos de la fotosíntesis, y que gran parte de estos productos sean utilizados en las hojas y tallos para la formación de materia verde.⁴⁸

En la figura 5, se observa la efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el peso seco aéreo en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. En el que se observa que el tratamiento inoculado con *E. infrequens*, estadísticamente tiene un peso seco aéreo mayor e igual al tratamiento inoculados con *Cl. etunicatum*, *F. geosporum* y *G. fasciculatum*, se observa diferencias en cuanto al tratamiento testigo que tiene un peso seco aéreo inferior. Sin embargo, todos los tratamientos inoculados supera numéricamente al testigo. La relación peso seco de la parte aérea normalmente es más alta en plantas colonizadas por las micorrizas; La respuesta de la planta puede variar en función del grado de dependencia entre los endófitos y la planta hospedante, así como al grado de colonización. Así mismo, la actividad fúngica representa un costo para la planta, la cual aporta fuentes energéticas carbonadas para el metabolismo del hongo, de aquí la generación de un sistema de beneficio mutuo.⁴⁹

En un experimento en el que inocularon ocho especies diferentes de chile (*Capsicum annum* L.) con dos diferentes fuentes de inóculo a base de esporas, micelio y raíces micorrizadas de HMA *Glomus intradicens* (Gi) y *Gigaspora margarita* (Gm). Se reportó que en general las ocho especies de chile tuvieron mayor peso seco con respecto al testigo.⁵⁰

De la misma manera en la figura 6, se observa la efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre la longitud de la raíz en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. Figura en el que se observa que los tratamientos inoculados con *G. fasciculatum* (26.25 cm), *E. infrequens* (25.75 cm) y el tratamiento testigo (26 cm) son estadísticamente similares en cuanto a la longitud de la raíz pero numéricamente diferentes y los tratamientos inoculados con *Cl. Etunicatum* (20.5 cm) y *F. geosporum* (17 cm) también son

estadísticamente similares e inferiores al resto de los tratamientos anteriores; el tratamiento inoculado con *F. geosporum* tiene menor longitud de raíz frente al resto de los tratamientos. Esto puede estar asociado a la competencia entre planta y hongo por fotosintatos en los estados iniciales de la colonización, cuando el hongo consume el nutriente que se encuentra en el suelo, sin aportar beneficios a la planta.⁴⁴ Las plantas que mantienen una simbiosis en sus raíces necesitan una gran cantidad de energía metabólica, para lograr un armónico desarrollo aéreo y, a la vez, mantener al hongo en sus raíces. Este proceso implica un elevado flujo de carbono derivado de la fotosíntesis, desde etapas muy tempranas del desarrollo, que se traduce en un retardo del crecimiento vegetal; motivado a que la planta necesita crecer y lograr una tasa fotosintética adecuada para mantener funcionando la simbiosis.⁵¹

En la figura 7, también se observa la efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el peso fresco de la raíz en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. Figura en el que se observa que los tratamientos inoculados con *E. infrequens* (12.75 g) y *Cl. etunicatum* (11.25 g) tienen mayor peso fresco de la raíz mayor en comparación con los tratamientos inoculados con *G. fasciculatum* (8.75 g) y *F. geosporum* (8.75 g) quienes estadísticamente tienen un peso fresco de raíz igual, en el mismo grafico podemos observar que el tratamiento testigo (5.75 g) tiene un peso fresco de la raíz inferior frente al resto de los tratamientos; sin embargo estadísticamente son similares al tratamiento inoculado con *F. geosporum* y *G. fasciculatum*. La habilidad de las plantas para sacar ventaja de los nutrientes disponibles en el suelo, está sujeta a las propiedades morfológicas y fisiológicas de su sistema radicular, donde, las variables longitud total de raíz por planta y longitud de raíz por volumen de suelo, o también conocida como densidad de longitud radicular son parámetros que caracterizan la capacidad de absorción de una especie vegetal.⁵² De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación, parece existir una relación positiva entre la presencia de HMA y el incremento en la densidad de su sistema radicular. En este sentido, la simbiosis raíz-hongo micorrícico, estimuló el incremento en la densidad de longitud radicular, debido posiblemente a la ventaja que las raíces micorrizadas poseen para explorar mayor volumen de suelo y compensar sus necesidades nutricionales captando especialmente aquellos nutrientes de poca movilidad como el fósforo. Investigaciones realizadas por Moreno¹⁰ en *Solanum tuberosum* (papa) empleando consorcios micorrícicos de *G.*

fasciculatum, confirman este hecho, donde demostró que plantas micorrizadas presentaban una mayor densidad radicular que plantas no micorrizadas.

Así mismo en la figura 8, se observa la efectividad de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el peso seco de la raíz en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. Figura en el que se observa el tratamiento inoculado con *E. infrequens* (7.43 g) es estadísticamente superior en cuanto al peso seco de la raíz en comparación los demás tratamientos inoculados con *G. fasciculatum* (4.8 g), *Cl. Etunicatum* (4.37 g), *F. geosporum* (3.08 g) y el tratamiento testigo (3.06 g) estadísticamente son similares, pero numéricamente todos los tratamientos inoculados son superiores al testigo. Este resultado se debe a la simbiosis de la raíz-hongo, debido a que se incrementó la densidad del sistema radicular, ya que las raíces micorrizadas exploran más el suelo, y recibieron los beneficios de la simbiosis de los HMA, generalmente este aumento está asociado a un incremento en el área de exploración del sistema radical y por tanto mayor disponibilidad de nutrimentos. Ortas et al.⁵³ reportaron que la inoculación con diferentes HMA incrementó el peso seco de raíz como el peso seco de brotes en plantas de chile.

En la tabla 4, se muestra el análisis de varianza (ANVA) de las características generales de la planta hospedera *S. tuberosum* L. “papa” inoculado con cuatro especies de HMA, frente al tratamiento sin inocular. Respecto a la longitud de la parte aérea de la planta, peso fresco de la parte aérea, peso seco de la parte aérea y el peso fresco de las raíces; donde se muestra que no existe diferencia significativa. Mientras q en el número de hojas, peso seco de las raíces y en la longitud de raíces se encontró una diferencia significativa media. Estos resultados concuerdan con lo mencionado por Yildiz⁵⁴ quien reporto que no se presentaron efectos significativos en el incremento de la altura de plantas de chile (cv Corbac1) por la inoculación con una cepa nativa y otra comercial presentando estas plantas crecimiento similar entre ambas y con respecto al control.

En la tabla 5, se muestra el análisis de varianza para el número de esporas, en *S. tuberosum* L. “papa” inoculado con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares frente a la planta testigo. En esta tabla se observa una variación significativa muy alta para el número de esporas en los tratamientos con diferentes especies de hongos micorrícicos arbusculares, al inocular con esporas de micorrizas arbusculares hay mayor número de esporas en el sustrato utilizado a comparación de la planta testigo.⁵⁵

En la figura 9, se observa el efecto de cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares sobre el número de esporas en *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. En la que se muestra que hay mayor número de esporas en el tratamiento inoculado con *Cl. etunicatum* (1830 esporas por 10g de suelo), estadísticamente similares a los tratamientos inoculados con *G. fasciculatum* (1695 esporas) y *F. geosporum* (1633.75 esporas) pero superior a los tratamientos inoculados con *E. infrequens* (1501.25 esporas) y el testigo (631.25 esporas), los tratamientos inoculados son superiores frente al tratamiento testigo (sin inocular) la cual presenta la menor cantidad de esporas, lo que significa que el sustrato utilizado también presenta hongos formadores de micorriza nativos que fueron resistentes a la esterilización. Las diferencias en el número de esporas de HMA del suelo también pueden estar relacionadas con diferentes estrategias de supervivencia de las especies de HMA al habitar en un ecosistema determinado; es decir, el ciclo de vida de los HMA presentan una alta adaptación al ambiente que los rodea, sobre todo durante la etapa de formación de esporas, además su habilidad competitiva puede ser afectada por diversos factores, de manera general se conoce que las variaciones en el número de esporas de HMA pueden estar ligadas a patrones estacionales de la esporulación, la cual puede variar de acuerdo a la especie de HMA o de la planta hospedera.⁵⁶

Las diferencias encontradas entre los tratamientos coinciden con lo reportado por Douds et al.⁵⁷, quienes reportaron que las plantas de alfalfa alcanzan niveles de colonización diferentes en dependencia de la especie fúngica inoculada.

En la tabla 6, se muestra el análisis de varianza para el porcentaje de infección (colonización) en *S. tuberosum* L. “papa” inoculado con cuatro inoculados especies de hongos micorrícicos arbusculares y frente al testigo. En el cuadro se muestra que existe variación significativa en el porcentaje de infección de los tratamientos inoculados con las cuatro especies de HMA.

En la figura 10, se muestra el porcentaje de infectividad de cuatro especies de HMA en *S. tuberosum* L. “papa”. en condiciones de invernadero. En la que se observa que el tratamiento inoculado con *G. fasciculatum* (46.25%) presenta un mayor porcentaje de infección o colonización, el cual es estadísticamente similar a los tratamientos inoculados con *Cl. etunicatum* (36.88%) y *F. geosporum* (36.25%) pero numéricamente superior. El tratamiento inoculado con *E. infrequens* (18.13%) y el tratamiento testigo (17.5%) son estadísticamente similares, pero numéricamente diferentes; siendo el tratamiento testigo con un

menor porcentaje de infección. El tratamiento testigo tiene un porcentaje de infección debido a que las cepas nativas resistieron a la esterilización. El grado de colonización micorrícica puede depender de diversos factores tales como la humedad, temperatura, el pH del suelo, la luminosidad, el nivel de oxígeno en la rizósfera, de la especie de HMA y de la planta hospedera, aunado a que los ciclos biológicos de los HMA se sincronizan con los ciclos fenológicos y características particulares de la especie de planta a la que se asocia aumentando la diversidad de las interacciones HMA-planta.⁵⁸

Por otro lado *G. fasciculatum* ha sido señalada como especie de alta infectividad para muchos cultivos, la infección ocurre en etapa temprana y se distribuye extensivamente dentro de la raíz produciendo infección densa por punto de entrada.⁵⁹ a lo que concordamos con nuestro resultado.

Ortas et al⁵³ uso diferentes especies de HMA durante un periodo de tres años en plantas de chile (*Capsicum annum* L. cv Demre Sivrisi) donde reportaron que los niveles de colonización fueron del 21 al 66% en plantas inoculadas que en plantas sin inocular (0-14%).

Actualmente existe controversia al relacionar la densidad de esporas de HMA y el porcentaje de la colonización micorrícica de la raíz, por lo cual el número de esporas de HMA del suelo, no necesariamente se refleja en la capacidad de colonización de estos hongos. Camargo y Esperón⁶⁰, demostraron que 45 de 50 especies de plantas vasculares estudiadas, formaban micorrizas; aunque, el porcentaje de colonización de las raíces fue bajo, y señalaron la importancia de hacer observaciones en períodos anuales, dado que la asociación micorrícica puede variar a través del tiempo y del espacio.

Es más apropiado considerar en nuestro caso que no siempre la infectividad del hongo repercute en efectividad para la planta, sobre todo en casos de competencia de endófitos. La existencia en el suelo de una población nativa de hongos micorrícicos en muchos casos no puede ser detectada a través de una simple cuantificación de esporas.

VI. CONCLUSIONES

De acuerdo a las evaluaciones realizadas en el trabajo se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Las especies más efectivas son *Glomus fasciculatum*, *Entrophospora infrequens* y *Funneliformis geosporum*, quienes tuvieron un buen comportamiento en la mayoría de los indicadores como en el número de hojas, peso fresco aéreo, peso seco aéreo, longitud de raíz peso fresco y peso seco de raíz.
2. Las especies más infectivas son *Claroideoglomus etunicatum* (1830 esporas en 10 g de suelo y 36.88% de infección), *Glomus fasciculatum* (1695 esporas en 10 g de suelo esporas y 46.25% de infección) y *Funneliformis geosporum* (1633.75 esporas en 10 g de suelo y 36.25% de infección).
3. Todos los tratamientos inoculados son mayores numéricamente en comparación con el testigo en muchos de los indicadores (número de hojas, peso fresco aéreo, peso seco aéreo, peso fresco de raíz, peso seco de raíz, número de esporas y porcentaje de infección).

VII. RECOMENDACIONES

1. Según los resultados del trabajo de investigación, se recomienda inocular con las especies: *Glomus fasciculatum*, *Entrophospora infrequens*, *Funneliformis geosporum* y *Claroideoglomus etunicatum*, los cuales resultaron ser las especies más efectivas e infectivas respectivamente, en diferentes indicadores y mayor número de esporas y porcentaje de infección.
2. Se recomienda buscar otra técnica de esterilización del sustrato para eliminar los hongos micorrícicos nativos.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Guerra J., Ndiaye A., De Assis R. y Espíndola J. Cultivos de cobertura como indicadores de procesos ecológicos. LEISA Revista de Agroecología. 2007; 22:20.
2. Ferrera R. Agromicrobiología. Colegio de Posgrado de Ciencias Agrícolas. México, D.F. 1995; 233.
3. Guaman P., Identificación de Hongos Micorrízicos Arbusculares en plantas de *Cinchona spp.* en sitios perturbados y no perturbados de la Provincia de Loja. Ecuador; 2014.
4. Smith S., Read J. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, New York; 2008.
5. Gloria M. Martí, Lianne Arias y R. Rivera. Cultivos Tropicales. 2010; 31 (1): 27-31.
6. Amenta B., García G., Camacho B., Apocada M., y Nava E. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. Ra Ximhai Universidad Autónoma Indígena de México. Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa. 2010; 6: 51-56.
7. Gerderman J. W; y Nicolson, T. H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transactions of the British Mycological Society. 1963; 46: 235-244.
8. Daniels A. and Skipper H. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In Methods and Principles of Mycorrhizal Research. Ed. N. C. Schenck. The American Phytopathological Society. 1982. 29-36.
9. Phillips J. & Hayman D. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br Mycol. Soc. 1970; 55: 158-161
10. Moreno P. Inoculación de micorrizas MVA en papa (*Solanum tuberosum*) respuesta en el crecimiento y nutrición de plantas inoculadas en invernadero y en campo. Revista Latinoamericana de la Papa. 1988; 1: 84-103.
11. Rodríguez Y.; Quiñones Y.; Hernández M. Efecto de la inoculación con tres cepas de hongos micorrízicos arbusculares sobre la aclimatización de vitroplantas de papa (*Solanum tuberosum*) Cultivos Tropicales. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas La Habana, Cuba. 2006; 27 (1):19-24.
12. Rodríguez Y., De la Noval P., Fernández M. y Rodríguez H. Estudio comparativo del comportamiento de seis cepas de hongos micorrízicos arbusculares en su interacción con el tomate (*Lycopersicon esculentum* M. var "Amalia"). Ecología Aplicada. La Habana, Cuba. 2004; 3(1,2).
13. Chacón A. y Cuencas G. "Efecto de las micorrizas arbusculares y de la fertilización con fósforo, sobre el crecimiento de la guayaba (*Psidium guajava* L.) en condiciones de vivero". Agronomía tropical. 1998; 48 (4): 425-440.
14. Martín G., Arias L. y Rivera R. Selección de las cepas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) más efectivas para la *canavalia ensiformis* cultivada en suelo ferralítico rojo. Cultivos Tropicales. 2010; 31(1): 27-31.
15. Mora G. "Respuestas de los cultivos de limón (*Citrus tanaka*) y de guayaba (*Psidium guajava* L.) inoculados con tres especies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Trabajo de asenso presentado para ascender a la categoría de Asistente de la Universidad Nacional Experimental Sur Del Lago "Jesús María Semprum". 2004.
16. Fernández R. Efectividad biológica de especies nativas de hongos micorrízicos arbusculares en "cedro rojo" *Cedrela odorata* L. [tesis magister] México. Universidad Autónoma de Nuevo León; 2013.

17. Hernández, L., y Guerra, V. Propagación y micorrización de plantas nativas con potencial para restauración de suelos. Laboratorio de Micorrizas, CICB, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Sitio Experimental Tlaxcala-CIRCE-INIFAP. Tlaxcala – México; 2011.
18. Morton J.; Benny G. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (zygomycetes): a new order Glomales; tow new suborder, Glominae and Gigasporinae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigaporaceae, with and emendiation of Glomaceae. Mycotaxon. 1990; 37:471-491.
19. Coyne M. Microbiología del suelo un enfoque exploratorio. Editorial Paraninfo ITP An Internacional Thomson Publishing Company. Madrid-España. 2000; 416.
20. López, C y Barcélo, A. "Sobre micorrizas". 2004. <http://www.micorrizas.htm>.
21. Duchicela, J. Proyecto de Tesis. Evaluación del uso de endomicorrizas vesículo arbusculares (MVA) en la obtención de plántulas de tomate de árbol *Solanum betaceum* Cav. ESPE-Facultad de Ciencias Agropecuarias. Sangolqui Ecuador; 2001.
22. Smith S. y Read D. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, London. UK. 1997.
23. García J., Ocampo J. Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. J. Exp. Bot. 2002; 53: 1377-1386.
24. Guachon, T. y Prado, M. Evaluación del efecto del inoculo micorrizico en el crecimiento de *Cinchona pubescens* y *Cinchona officinales* en condiciones de vivero [Tesis de Grado]. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador. 2012.
25. Buelvas J. y Peñates W. Caracterización de Géneros de Hongos formadores de Micorrizas Arbusculares (H.M.A) y Vesículo Arbusculares (H.M.V.A) nativas, asociadas con el pasto Angleton (*Dichanthium aristatum*), bajo diferentes fuentes de abonamiento en la hacienda casanare, municipio de Tolú, Sucre. Universidad de Sucre-Colombia.2008.
26. Escobar-Acevedo C., Zuluaga-Pelaez J., Colorado-Gasca G., Paez D. Micorriza Vesícula Arbúscular (MVA) Recurso microbiológico para desarrollar una agricultura sostenible. 1998.
27. Brundett, M., Bougher, N., Dell B., Grove, T., Malajczuk, N. Working with mycorrhizas in forestry and agricultura. Australia: ACIAR Monograph. 1996.
28. Cáceres, A. "Efecto de la inoculación con micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) y de la fertilización con fósforo sobre el crecimiento de *Clusia minor* L, especie arbórea de los bosques nublados de Pipe. Trabajo de ascenso presentado ante la ilustre Universidad Central de Venezuela. Centro de Botánica Tropical del Instituto de Biología Experimental (IBE). Caracas; 1998.
29. Duran, F. Manual de cultivos orgánicos, alelopáticos y transgénicos. 2003.
30. Sánchez de Prager, M. Endomicorrizas en agroecosistemas colombianos. Universidad Nacional de Colombia. Palmira; 1999.
31. Sieverding, E. Ecology of VAM fungi in tropical agrosystems. Agric. Ecosyst. Environ; 1989.
32. Acosta, K. "Respuesta del cultivo de frijol (*Vigna unguiculata* L. Walp) a la asociación simbiótica con micorrizas vesículo arbuscular y *Rhizobium* sp". Trabajo de ascenso para ascender en el escalafón universitario a la categoría de profesor asociado de la Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía; 2004: 1-74.
33. Clapp JP, Helgason T, Young JP. Genetic studies of the structure and diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities. Vol. MGA van der Heijden. Sanders eds, Mycorrhizal ecology; 2002; 157.

34. Jeffries, P. Y Barea, J. Arbuscular mycorrhiza a key component of sustainable plant-soil ecosystems. En: The mycota IX, fungol associations. Edition Hock; 1999.
35. Bagyaraj, J. Ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. En: Aurora, D. handbook of applied mycologia soil and plants. Vol. 1. New Cork: Marcel Dekker Inc; 1991.
36. Azcon, C. y Guerrero, E. Micorrizas recurso biológico del suelo. Fondo FEN, colombia; 1996.
37. Corwel, W; Bedford, B. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in a phosphorus poor wetland and mycorrhizal response to phosphorus fertilization. En: American journal of Botany. 2001; 88 (10).
38. INVAM. International culture collection of (vesicular) arbuscular mycorrhizal fungi. URL: <http://fungi.invam.wvu.edu/>
39. Schubler, A y Walker, C. The Glomeromycota. Gloucester, England. 2010.
40. Revista Latinoamericana de la Papa. 2007; 14(1): 41-50
41. Cronquist, A. Botánica Básica. 3ra reimpression. Editorial Continental S.A. México. 1992.
42. Cartilla N°10: Condiciones agroclimáticas del cultivo de la papa-MINAGRI.
43. Catálogo de nuevas variedades de papa: sabores y colores para el gusto peruano. Instituto Nacional de Innovación Agraria, RedLatin Papa, 2016.
44. Blaszkowski J. Departament of Plant Pathology of the Agricultural University of Szczecin, Poland.2015 (<http://www.agro.arszczecin.pl/jblaszkowski>)
45. Sánchez M. Endomicorrizas y agroecosistemas. En: XVII Congreso de Fitopatología y Ciencias afines. ASCOLFI. Pineda, L.B. Palmira .1999.
46. Rodríguez B. Respuesta del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a la aplicación combinada de hongos micorrízicos arbusculares, un estimulador del crecimiento y fertilizantes minerales. Tesis de maestría, INCA, Cuba. 2009; 67.
47. Lagos S. Evaluación de cuatro cepas de micorriza arbuscular en plantas de tomate en vivero, Zamorano, Honduras. Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería Agronómica, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras. 2010; 18.
48. Miller H.; Mcgonigle P. Y Addy D. Functional ecology of vascular arbuscular mycorrhizas as influenced by phosphate fertilization and tillage in an agricultural ecosystem Crit. Rev. Biotech.. 1995; 15: 241- 255.
49. Ferrera R., Alarcón A. Biotecnología de los hongos micorrízicos arbusculares. In: A. Díaz, N. Mayek (eds.), Biofertilización como tecnología sostenible. Plaza y Valdéz / CONACYT. 2008; 25-38.
50. Sensoy S., Demir S., Turkmen O., Erdinc C. and Burack S. Responses of some different pepper (*Capsicum annum* L.) genotypes to inoculation with two different arbuscular mycorrhizal fungi. Scientia Horticulture. 2007; 113: 92-95.
51. Llonín, D. y Medina N. Nutrición mineral con N, P y K en la simbiosis hongos micorrizógenostomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en Ferralsol. Cultivos Tropicales. 2002; 23(4):83-88.
52. Jungk, A. and Claassen N. Ion diffusion in the soil-root system. Advances in Agronomy. 1997; 61:53-110.
53. Ortas, I., Sari, C. and Yetisir H. Screening mycorrhiza species for plant growth, P and Zn uptake in pepper seedling grown under greenhouse conditions. Scienti Horticulturae. 2011;28:92-98.
54. Yildiz, A. Anative Glomus sp. From fields in Aydm province and effects of native and comercial mycorrhizal fungi inoculants on the growth of some vegetables. Turk J Biol. 2010; 34: 447-452.

55. Mosquera, O. Influencia de la inoculación con micorrizas sobre la respuesta del frijol carioca a la fertilización fosfórica In: Sanchez De Prager, M. Y bravo, N. Investigación sobre micorrizas en Colombia Ed. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 1984
56. Camargo S. y Esperón M. Efecto de la heterogeneidad espacial y estacional del suelo sobre la abundancia de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares en el valle semiárido de Tehuacán-Cuicatlán México. Revista de biología tropical. 200; 53: 339-352
57. Douds D. Jr., Galvez L., Bécard G. & Kapulnik Y. Regulation of arbuscular mycorrhizal development by plant host and fungus species in alfalfa. New Phytol. 1998; 138: 27-35.
58. García R., Monroy A. y Chimal E. Hongos micorrizógenos arbusculares asociados a diferentes plantas y matorrales del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. 2008: 125 - 136
59. Wilson M. 1984b. Comparative development of infection by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist 97: 413-426.
60. Camargo S. y Esperón M. Efecto de la heterogeneidad espacial y estacional del suelo sobre la abundancia de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares en el valle semiárido de Tehuacán-Cuicatlán, México. Revista de biología tropical .2005; 53: 339-352.

ANEXOS

Anexo 1.

Datos de evaluación de las características generales de *S. tuberosum* L. “papa” en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.

TTO	REPET.	LONG. AEREA	LONG. RAIZ	N° DE HOJAS	N° DE TUBERCULOS Y ESTOLONES	PESO FRESCO AEREO	PESO SECO AEREO	PESO FRESCO RAIZ	PESO SECO RAIZ	PESO DE ESTOLONES Y TUBERCULOS	VIGOR DE LA PLANTA	N° DE ESPORAS	% INFECCION
T0	1	9	26	3	6	15.92	2.096	4.182	1.993	0.855	2	440	28
	2	9	25	11	3	13.94	2.068	5.090	2.334	0.364	3	680	10
	3	7	24	20	10	15.43	2.346	10.074	5.656	0.518	2	560	15
	4	8	29	18	11	16.84	2.283	4.249	2.273	2.141	2	845	18
T1	1	8	28	19	14	14.26	2.203	6.645	4.246	0.827	3	1855	40
	2	11	27	15	3	17.88	2.683	7.756	3.820	0.289	1	1670	63
	3	8	25	22	11	15.99	2.418	7.882	4.342	0.117	2	1675	50
	4	6	25	35	13	19.04	3.041	11.725	6.811	0.544	2	1580	33
T2	1	8	26	28	12	21.56	3.187	14.536	7.962	0.428	2	1550	25
	2	7	30	28	14	20.28	3.086	13.682	8.709	0.460	2	1455	13
	3	8	17	27	17	15.10	2.532	11.625	6.907	1.643	2	1560	23
	4	6	30	32	5	21.46	2.646	10.218	6.126	0.054	3	1440	13
T3	1	6	18	23	5	25.30	2.874	8.200	4.281	0.082	1	1340	50
	2	10	19	22	2	25.85	3.122	3.736	1.587	0.016	1	1730	33
	3	8	15	11	13	16.25	1.775	10.527	3.429	0.520	3	1830	35
	4	1	16	11	4	19.16	2.365	12.085	3.010	0.052	1	1635	28
T4	1	9	25	21	11	17.82	2.581	8.124	2.779	3.238	3	1970	38
	2	9	18	23	7	17.29	2.270	16.426	6.138	0.251	2	1710	30
	3	8	20	26	15	16.87	2.479	6.636	2.229	1.075	2	1845	40
	4	7	19	18	7	17.55	2.467	14.023	6.350	0.092	2	1975	40

Anexo 2.

Promedio de datos de la evaluación de las características generales de *S. tuberosum* L. “papa” inoculados con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo en condiciones de invernadero. Ayacucho-2016.

Trat.	Long. de planta (cm)	Núm. de hojas	Peso fresco parte aérea (g)	Peso seco parte aérea (g)	Long. de raíz (g)	Peso fresco de raíz (g)	Peso seco de raíz (g)	Peso de tubérculos y estolones	Vigor de la planta
T	8.25	13	15.5	2.2	26	5.75	3.06	0.97	2.25
Gf	8.25	22.75	16.75	2.59	26.25	8.75	4.8	0.44	2.00
Ei	7.25	28.75	19.5	2.86	25.75	12.75	7.43	0.65	2.25
Fg	6.25	16.75	21.5	2.53	17	8.75	3.08	0.17	1.50
Cle	8.25	22	17.5	2.45	20.5	11.25	4.37	1.16	2.25

Leyenda:

T: Testigo

Gf: *Glomus fasciculatum*

Ei: *Entrophospora infrequens*

Fg: *Funneliformis geosporum*

Cle: *Claroideoglomus etunicatum*

Anexo 3.

Número de esporas en 10 g de suelo y porcentaje de infección en *S. tuberosum* L. “papa” inoculadas con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo. Ayacucho 2016.

TRATAMIENTOS	Número de esporas	Porcentaje de infección
Testigo	631.25	17.50
<i>Glomus fasciculatum</i>	1695.00	46.25
<i>Entrophospora infrequens</i>	1501.25	18.50
<i>Funneliformis geosporum</i>	1633.75	36.25
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	1830.00	36.88

Anexo 4.

Comparación múltiple Duncan ($p= 0,05$), para las características generales de *S. tuberosum* L. “papa” inoculadas con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo. Ayacucho 2016.

CARACTERISTICAS	MEDIAS	
Número de hojas		
Testigo	13	A
<i>Funneliformis geosporum</i>	16.75	A
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	22	A B
<i>Glomus fasciculatum</i>	22.75	A B
<i>Entrophospora infrequens</i>	28.75	B
Peso fresco parte aérea		
Testigo	15.5	A
<i>Glomus fasciculatum</i>	16.75	A
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	17.5	A B
<i>Entrophospora infrequens</i>	19.5	A B
<i>Funneliformis geosporum</i>	21.5	B
Peso seco parte aérea		
Testigo	2.2	A
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	2.45	A B
<i>Funneliformis geosporum</i>	2.53	A B
<i>Glomus fasciculatum</i>	2.59	A B
<i>Entrophospora infrequens</i>	2.86	B
Longitud de raíces		
<i>Funneliformis geosporum</i>	17	A
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	20.5	A
<i>Entrophospora infrequens</i>	25.75	B
Testigo	26	B
<i>Glomus fasciculatum</i>	26.25	B
Peso fresco de raíz		
Testigo	5.75	A
<i>Funneliformis geosporum</i>	8.75	A B
<i>Glomus fasciculatum</i>	8.75	A B
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	11.25	B
<i>Entrophospora infrequens</i>	12.75	B
Peso seco de raíz		
Testigo	3.06	A
<i>Funneliformis geosporum</i>	3.08	A
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	4.37	A
<i>Glomus fasciculatum</i>	4.8	A
<i>Entrophospora infrequens</i>	7.43	B

Anexo 5.

Comparación múltiple Duncan ($p= 0,05$), para el número de esporas y porcentaje de infección de *S. tuberosum* L. “papa” inoculadas con cuatro especies de hongos micorrícicos arbusculares y el testigo. Ayacucho 2016.

TRATAMIENTOS	MEDIAS		
Número de esporas			
Testigo	631.25	A	
<i>Entrophospora infrequens</i>	1501.25		B
<i>Funneliformis geosporum</i>	1633.75	B	C
<i>Glomus fasciculatum</i>	1695.00	B	C
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	1830.00		C
Porcentaje de infección			
Testigo	17.5	A	
<i>Entrophospora infrequens</i>	18.13	A	
<i>Funneliformis geosporum</i>	36.25		B
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	36.88	B	
<i>Glomus fasciculatum</i>	46.25	B	

Anexo 6.

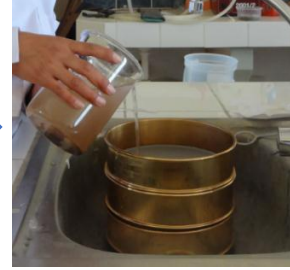
Flujograma de la metodología de extracción de esporas.



1. se pesó 50 g de suelo.



2. En un vaso de precipitado con 1L. de agua de caño se agregó el suelo.



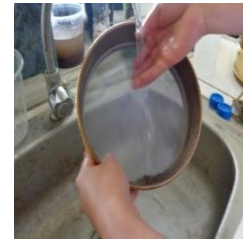
3. Se pasó por una serie de tamices 205, 106 y 45 μm .



4. En un tubo de centrifuga se puso 20 ml al 20% y 15 ml al 60% de solución sacarosa.



5. El contenido del tamiz se pasó a tubos de centrifugación. Se centrifugó por 3 min. a 3500 r.p.m.



6. El sobrenadante se lavó con abundante agua de caño.



7. El contenido se transfirió a una placa Petri con papel filtro.



8. En el estereoscopio se hizo la observación y extracción de esporas.

Anexo 7.

Flujograma de la tinción de raíces



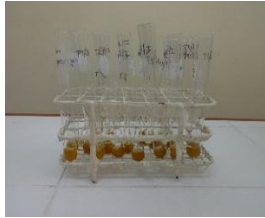
1. Se separó las raíces del substrato y se lavó con agua de caño.



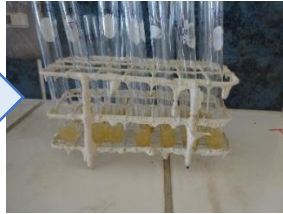
2. Se cortaron 2,5 cm de las raíces y se puso a tubos de ensayo rotulados.



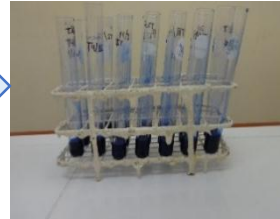
3. Se cubrió las raíces con KOH al 10 % y se calentó los tubos en baño maría a 65°C, durante 20 min (clareo).



4. Se cubrió las raíces con HCl (0,1 N) durante 10 min (Acidificación)



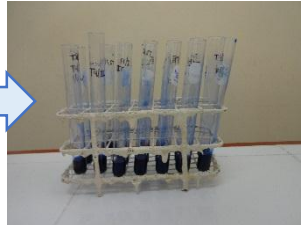
5. se desecho el HCl y enjuago con agua destilada.



6. Se agregó el colorante Azul de tripán 0,05 % en lacto



7. Se calentaron los tubos en baño maría durante 5 min a 65°C.



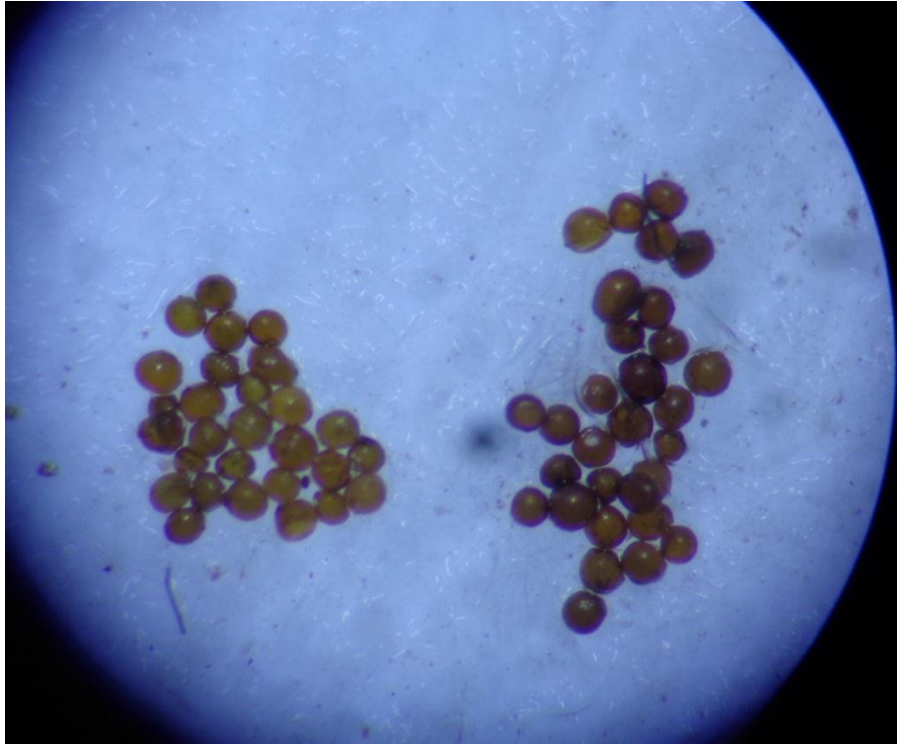
8. Se sacó los tubos del baño maría, se dejó enfriar y se enjuago col ácido láctico 3 veces para eliminar el exceso de colorante.



9. Las raíces se colocaron en portaobjetos y se cubrieron, para el conteo de la colonización.

Anexo 8.

Selección de esporas por morfotipos.



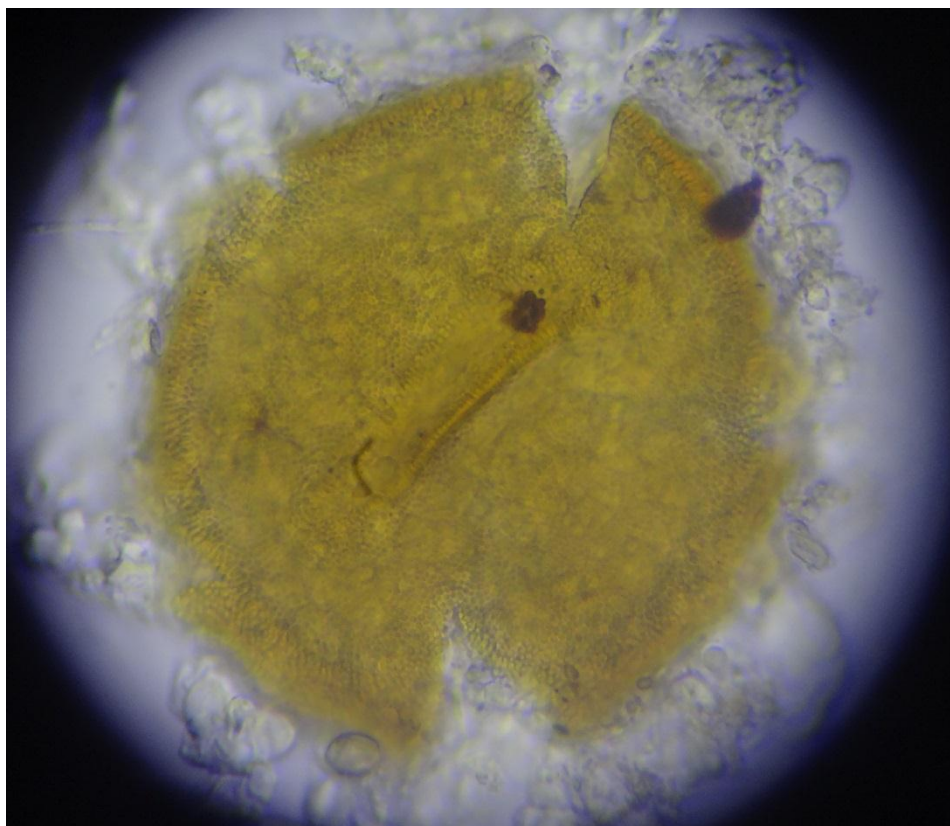
Anexo 9.

Espora de *Glomus fasciculatum*



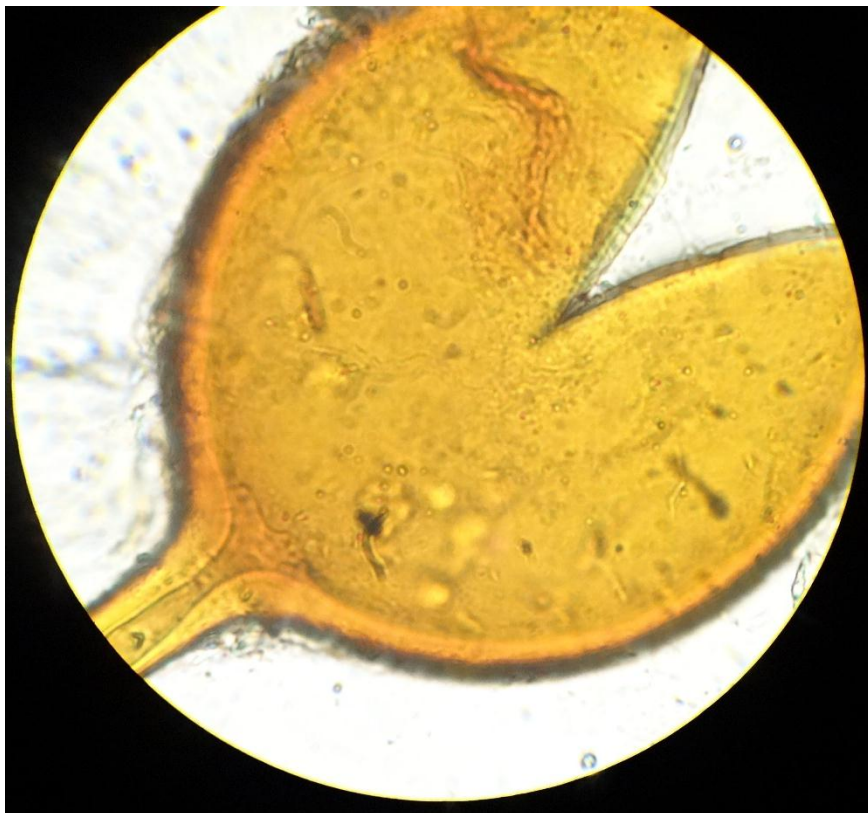
Anexo 10.

Espora de *Entrophospora infrequens*



Anexo 11.

Espora de *Funneliformis geosporum*



Anexo 12.

Espora de *Claroideoglossum etunicatum*



Anexo 13.

Desinfección de tubérculos de papa.



Anexo 14.

Inoculación de esporas en macetas.



Anexo 15.

Comparación de los tratamientos inoculados con diferentes especies de HMA frente al testigo.



Anexo 16.

Evaluación de la parte aérea de papa.



Anexo 17.

Separación de raíces de papa del sustrato.



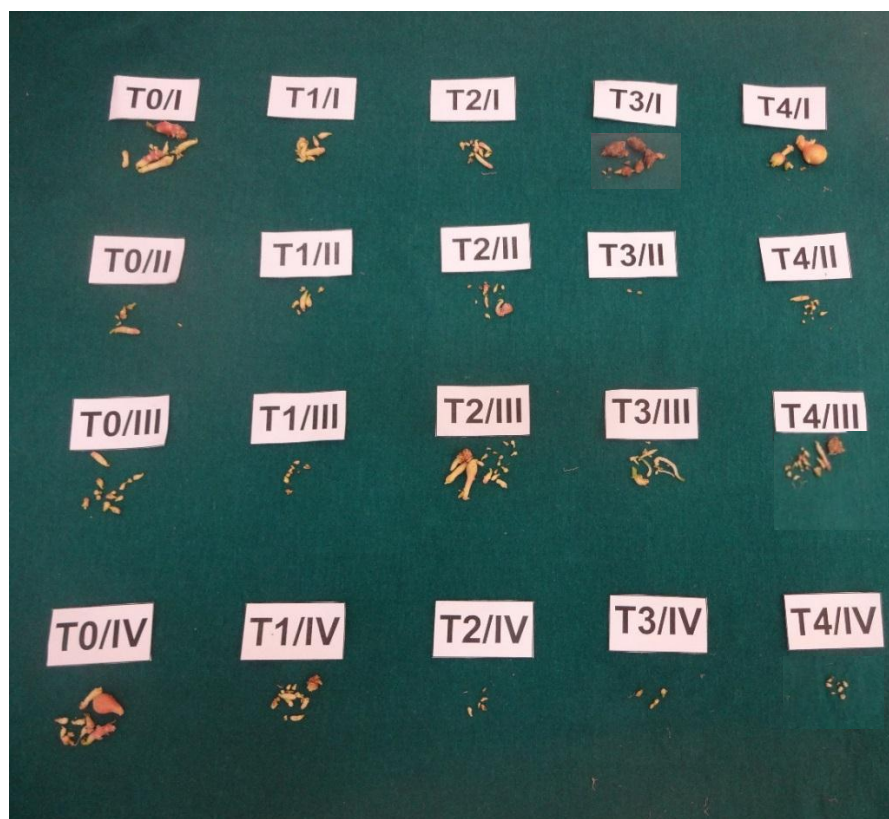
Anexo 18.

Comparación de las raíces de los tratamientos inoculados con diferentes especies de HMA frente al testigo.



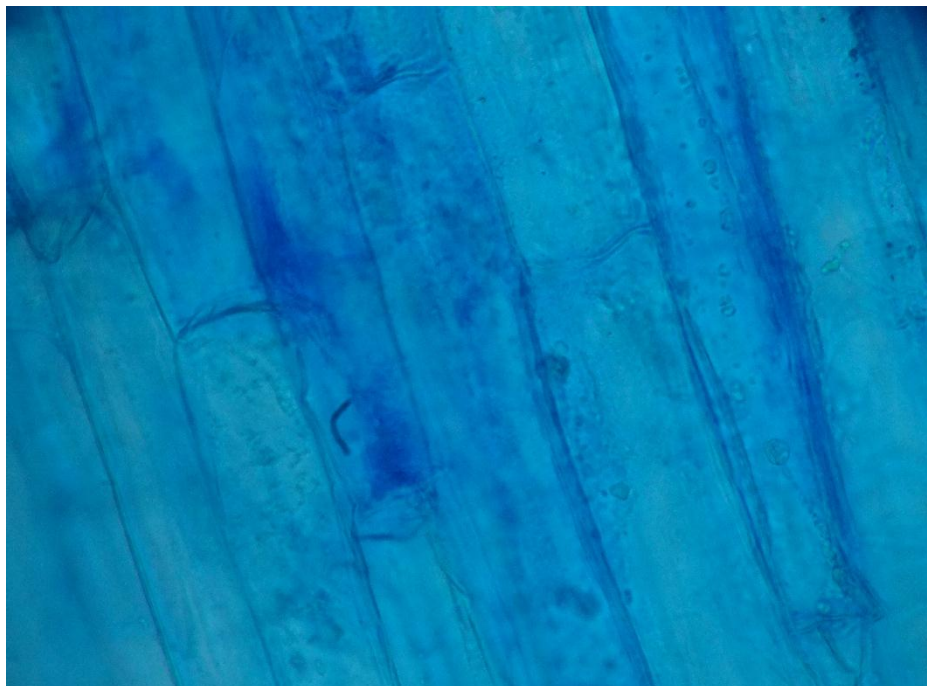
Anexo 19.

Comparación de tubérculos y estolones de los tratamientos inoculados con diferentes especies de HMA frente al testigo.



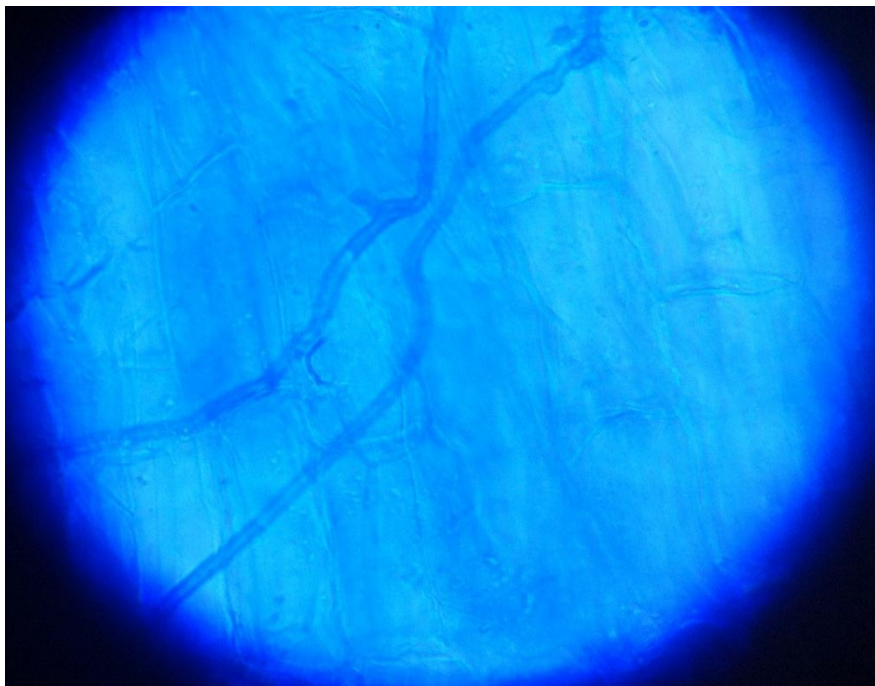
Anexo 20.

Arbúsculos en raíz de *Solanum tuberosum* L. “papa”.



Anexo 21.

Hifas en raíz de *Solanum tuberosum* L. "papa".



Anexo 22.

Matriz de consistencia

TÍTULO: “Efectividad e infectividad de especies de hongos micorrícicos arbusculares en “papa” (*Solanum tuberosum* L.), en condiciones de invernadero. Ayacucho - 2015”.

Responsable: Bach. Silvia Méndez Gálvez
Asesora: M.Cs. Blga. Roberta Esquivel Quispe

PROBLEMA	OBJETIVOS	JUSTIFICACION	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	METODOLOGÍA
Problema general ¿Cuál de las especies de Hongos micorrícicos arbusculares (HMA) será más efectivo e infectivo en “papa” (<i>Solanum tuberosum</i> L.) en condiciones de invernadero.	Objetivo general • Evaluar la efectividad e infectividad de especies de HMA “papa” • (<i>Solanum tuberosum</i> L.) en condiciones de invernadero.	Actualmente no existen investigaciones que hayan realizado a nivel de efectividad e infectividad con hongos micorrícicos arbusculares nativos de Ayacucho; por la cual este trabajo de investigación servirá para conocer la efectividad e infectividad de especies de HMA en papa; la que servirá para otros trabajos de investigación, que contribuyan en un futuro al desarrollo de una agricultura ecológica.	Hipótesis general Una de las especies de HMA será más efectivo e infectivo en “papa” (<i>Solanum tuberosum</i> L.) en condiciones de invernadero.	Independientes Especies de HMA: Especie 1 Especie 2 Especie 3 Especie 4	Indicadores • Número de esporas • Porcentaje de infección • Cantidad de micelio • Presencia de esporocarpos	Tipo de investigación Experimental.
Problemas específicos • ¿Cuál de las especies HMA será más efectivo en “papa” (<i>Solanum tuberosum</i> L.) en condiciones de invernadero? • ¿Cuál de las especies de HMA será más infectivo en el crecimiento de “papa” (<i>Solanum tuberosum</i> L.) en condiciones de invernadero?	Objetivos específicos • Evaluar la efectividad de especies de HMA en “papa” (<i>Solanum tuberosum</i> L.) en condiciones de invernadero. • Evaluar la infectividad de especies de HMA en “papa” (<i>Solanum tuberosum</i> L.) en condiciones de invernadero.		Hipótesis específico Una de las especies de HMA será más efectiva en “papa” (<i>Solanum tuberosum</i> L.) en condiciones de invernadero.	Dependientes Planta hospedera “papa” (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	Indicadores • Número de tallo • Peso fresco y seco aérea • Peso fresco y seco de la raíz • Número de estolones • Número de tuberculillos • Longitud de la planta • Número de hojas	Análisis de datos Población: 36 unidades experimentales. Diseño: Completamente randomizado. Técnicas: Aislamiento, propagación de inóculo, Siembra, inoculación, evaluación de la efectividad e infectividad. Equipos y materiales: Microscopio, estereoscopio, centrifugadora, placas Petri, bolsas polietileno etc.