

**INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES
AGROPECUARIAS**

Fecha de presentación:	Septiembre 2008		
Estación Experimental:	Santa Catalina		
Programa:	Fruticultura		
Proyecto:	Mejoramiento de la productividad y calidad de la fruticultura en la Región Litoral, Andina y Amazónica del Ecuador.		
Resultado:	Desarrollo de las prácticas culturales y alternativas tecnológicas para el manejo integrado de los frutales.		
Actividad:	Exploración y uso de micorrizas para la producción de portainjertos de tomate de árbol (<i>Solanum hispidum</i> , <i>Nicotiana glauca</i>).		
Título:	Estudio de la eficiencia de las micorrizas en el crecimiento de dos patrones: cujaco (<i>Solanum hispidum</i>) y tabaquillo (<i>Nicotiana glauca</i>) utilizados como portainjertos de tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>) bajo condiciones semicontroladas.		
Ubicación:	Granja Experimental Tumbaco Provincia de Pichincha		
Autor:	Egda. Andrea Lastra		
Coautores:	Ing. William Viera – INIAP Dr. Wilson Vásquez – INIAP Ing. Juan León Ing. Pablo Viteri - INIAP		
Colaboradores:	Lcda. Verónica Luna PUCE Dra. Josefina Egas PUCE Ing. Rocío Morales - ANCUPA		
Fecha Inicio:	Octubre 2008		
Fecha de Terminación:	Octubre 2009		
Presupuesto:	USD	4543.83	
Fuentes de Financiamiento:	INIAP	63%	USD 2863.83
	TESISTAS	37%	USD 1680.00

1. Antecedentes.

El tomate de árbol es un frutal Andino originario de la vertiente oriental de los Andes de Perú, Ecuador y Colombia. La demanda doméstica se ha incrementado en los últimos 15 años y existe también un crecimiento del mercado internacional (COELLO, 2004).

El Programa de Fruticultura del INIAP a través de varias investigaciones realizadas desde inicios de esta década, identificó dos especies silvestres de solanáceas (tabaquillo y cujacu) que presentan resistencia a *Fusarium sp.* y nemátodos, además muestran compatibilidad al ser injertadas con el tomate de árbol, cuando son utilizados como portainjertos; lo que ha permitido incrementar la productividad y reducir el uso de pesticidas, obteniéndose beneficios para la salud humana, el ambiente y la reducción de los costos de producción¹.

El tabaquillo (*Nicotiana glauca*) es una planta perteneciente al grupo de las solanáceas, nativo del noroeste de Argentina, donde crece a altitudes de 3700 m.s.n.m. y bien adaptadas a zonas áridas de los valles interandinos del Ecuador (COELLO, 2004).

El cujacu (*Solanum hispidum*) es otra especie silvestre dispersa en las estribaciones de la cordillera de los Andes al Litoral y la Amazonía. El Programa de Fruticultura y Departamento de Protección Vegetal del INIAP realizó trabajos con el fin de identificar especies que sean compatibles con el tomate de árbol y que a su vez tengan resistencia o tolerancia a problemas de microorganismos del suelo encontrándose que *S. hispidum* cumple con estas características².

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares juegan un papel importante en el crecimiento y la nutrición de las plantas superiores, especialmente en la mayoría de especies frutales y forestales. Los beneficios de la inoculación se expresan en una mayor supervivencia de las plántulas, mayor crecimiento en menor tiempo, reducción del tiempo de estadía en vivero, ahorro en costos de fertilización, mayor producción y calidad del producto. La modificación del sistema radicular por la asociación simbiótica contribuye a mejorar la absorción y transporte de agua y nutrientes del suelo a la raíz, por el incremento en el volumen de suelo explorado lo cual se refleja en un mayor desarrollo vegetal. (SIEVERDING Y BAREA, 1991).

En el ámbito mundial, se reportan múltiples experiencias a cerca de los beneficios de las micorrizas arbusculares (MA) sobre especies frutales (manzana, durazno), donde frecuentemente se compara el crecimiento de plantas micorrizas con no micorrizas, estas diferencias son atribuibles a una mayor absorción de nutrientes, mayores niveles en la producción de hormonas y mayores contenidos de clorofila. (AZCON; et al 1991)

¹ VASQUEZ, Wilson 2008 - Comunicación Personal.

² LEON, Juan. 2008- Comunicación Personal

2. Justificación.

La presente investigación está encaminada a estudiar la simbiosis entre el hongo y el sistema radicular de dos patrones utilizados como portainjertos del tomate de árbol.

Este estudio permitirá evaluar la eficiencia de las micorrizas en el crecimiento y desarrollo de estos dos patrones, con la finalidad de obtener planta vigorosas para ser injertadas, mayor absorción de nutrientes (especialmente de fósforo), reducción de fertilizantes químicos y mejorar la composición microbiana del sustrato y su posterior diseminación en el huerto.

El uso de tecnologías apropiadas facilitará que este enorme potencial pueda ser aprovechado para la producción competitiva y sostenible. En la actualidad, la producción comercial para el consumo en fresco o para la agroindustria requiere superar múltiples limitantes, que se manifiestan a lo largo de toda la cadena productiva, desde la selección de materiales genéticos adaptados a condiciones agroecológicas específicas, en el manejo de plantas propagadas a partir de vivero o por técnicas de micropropagación al ser transplantadas a condiciones de campo, debido al desconocimiento de los mecanismos de adaptabilidad o aclimatación de estas especies.

Con estas consideraciones, se espera que el uso de micorrizas en sustratos, mejore la calidad de las plantas de tomate de árbol, además de promover el uso de plantas injertadas.

3. Objetivos.

3.1. Objetivo general.

Evaluar la eficiencia de las micorrizas en el crecimiento de dos patrones utilizados como portainjertos de tomate de árbol bajo condiciones semicontroladas.

3.2. Objetivos específicos.

- 3.2.1. Aislar hongos micorrízicos del suelo y evaluar el grado de asociación en las raíces de (*Solanum hispidum*, *Nicotiana glauca*) usados como patrones para injertar de tomate de árbol.
- 3.2.2. Seleccionar dos inóculos eficientes para evaluar el desarrollo de plantas en los dos patrones utilizados para injertar tomate de árbol
- 3.2.3. Determinar la capacidad infectiva de los hongos micorrízicos y el efecto en el desarrollo de plantas en los dos patrones usados para injertar tomate de árbol en condiciones semicontroladas.
- 3.2.4. Evaluar los efectos en el crecimiento y contenido nutricional de plantas en los dos patrones usados para injertar tomate de árbol en el vivero.

4. Hipótesis.

H₀: El uso de micorrizas no tiene influencia en el crecimiento y contenido nutricional de plantas en los dos patrones usados para injertar tomate de árbol.

5. Materiales y métodos.

5.1. Materiales.

Material de laboratorio.

Se utilizará los materiales y equipos de laboratorio de Microbiología Agrícola de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Reactivos.

- | | |
|--|-------|
| - Hidróxido de Potasio (KOH) | 10% |
| - Peróxido de Hidrógeno (H ₂ O ₂) | 30% |
| - Ácido Clorhídrico (HCl) | 1N |
| - Azul de Tripán | 0.05% |
| - Lactoglicerol | 2:1:1 |
| - Sacarosa | 2N |
| - Alcohol antiséptico | 95% |
| - Cloro | 1.5% |
| - Agua estéril | |

Materiales empleados en invernadero.

- Semillas de cujacu
- Semillas de tabaquillo
- Semillas de sorgo
- Tierra esterilizada
- Pomina

5.2. Metodología.

El proyecto consta de tres fases: laboratorio, invernadero y vivero.

5.2.1. Fase de laboratorio.

Esta fase incluye la evaluación de la presencia de hongos micorrízicos en las muestras de suelo y raíces obtenidas de los principales sitios de muestreo. Resultados que se utilizarán como información para la selección de los dos mejores inóculos.

5.2.1.1. Características del sitio experimental.

5.2.1.1.1. Ubicación geográfica.

Esta fase se llevará a cabo en el laboratorio de Microbiología Agrícola de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador ubicada en la ciudad de Quito, y en el Centro de Investigación de Palma Aceitera (CIPAL) perteneciente a la Asociación Nacional de Cultivadores de Palma Aceitera (ANCUPA) ubicada en el Kilómetro 38 de la vía Santo Domingo Quinindé, Cantón La Concordia.

5.2.1.2. Factores en estudio.

5.2.1.2.1. Sitios de muestreo

Se realizó un muestreo y análisis previo en cada uno de los siguientes sitios: Pichincha (Mindó, Nanegalito, Saloya, Mitad del Mundo) y en Tungurahua (Los Andes); de los cuales se escogieron los cuatro suelos que tuvieron un alto conteo de esporas y una mayor colonización en raíces.

Datos geográficos, climatológicos y edafológicos de los 4 sitios de muestreo³.

S1 = sitio 1:	Provincia:	Pichincha
	Cantón:	Quito
	Parroquia:	Marianitas
	Lugar:	Nanegalito
	Altitud:	1633 m.s.n.m.
	Latitud:	0° 4' 0" N.
	Longitud:	78° 40' 35" W.
	Temperatura:	23°C.
	Textura del suelo:	Franco arenoso
S2 = sitio 2:	Provincia:	Pichincha
	Cantón:	Los Bancos
	Lugar:	Saloya
	Altitud:	1180 m.s.n.m.
	Latitud:	0° 8' 26" N.
	Longitud:	78° 40' 34" W.
	Temperatura:	22.6 °C.
	Textura del suelo:	Franco arenoso
S3 = sitio 3:	Provincia:	Tungurahua
	Cantón:	Patate
	Parroquia:	Los Andes
	Altitud:	2360 m.s.n.m.
	Latitud:	1° 18' 1" S.
	Longitud:	78° 30' 0" W.
	Temperatura:	22°C.
	Textura del suelo:	Franco arcillo – arenoso
S4 = sitio 4:	Provincia:	Pichincha
	Cantón:	Quito
	Parroquia:	San Antonio de Pichincha
	Lugar:	Mitad del mundo
	Altitud:	2402 m.s.n.m.
	Latitud:	0° 3' 0" S.
	Longitud:	78° 27' 0" W.
	Temperatura:	21.5 °C.
	Textura del suelo:	Franco arenoso

5.2.1.2.2. Tratamientos.

Los tratamientos estarán constituidos por cuatro suelos muestreados en los sitios indicados.

³ INAMHI (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrografía. Ec.2008. Manual de Codificación Meteorológica. Quito. CANADAS, L.1983 Mapa bioclimático y ecológico del Ecuador; Quito; MAG – PRONAREG.

5.2.1.3 Unidad experimental.

Estará constituido por una muestra compuesta de 1 kg de suelo, formada por 10 submuestras de 100 g, de cada sitio establecido para el muestreo.

5.2.1.4. Análisis estadístico.

Se utilizará estadísticos como: media, desviación estándar y coeficiente de variación. Además se realizará un análisis de correlación entre las características físicas (textura, humedad, densidad aparente) y químicas (pH, materia orgánica, nutrientes) de los suelos muestreados con el número de esporas presentes en los mismos.

5.2.1.5. Variables y métodos de evaluación.

5.2.1.5.1. Población de esporas micorrízicas del suelo.

La cuantificación de esporas se realizará por el método de tamizado y centrifugado descrito por Herrera (1993).

5.2.1.5.2. Tasa de colonización micorrízicas en raíces.

Se utilizará el método de clarificación y tinción de raíces, siguiendo la técnica de Phillips y Hayman, descrita por Herrera (1993).

5.2.1.6. Manejo específico del experimento.

5.2.1.6.1. Muestreo de suelo para determinación de esporas.

El muestreo se realizará alrededor de la corona de plantas seleccionadas al azar, a una profundidad de 20 cm. La muestra estará compuesta por 10 submuestras de 100 gramos. Las muestras serán extendidas sobre papel periódico y secadas a temperatura ambiente, bajo sombra, durante 15 días para luego realizar la cuantificación de esporas presentes en el suelo (Anexo 2).

5.2.1.6.2. Muestreo de suelo para análisis químico.

Se delimitará el área del terreno buscando tomar siempre en forma separada, muestras de áreas diferentes, se recorrerá el área en forma de X y se procederá a tomar submuestras hasta obtener 1kg, luego se procederá a identificar la muestra con todos los datos necesarios. Las muestras serán enviadas al Laboratorio de Suelos de la EESC.

5.2.1.6.3. Muestreo de suelo para análisis físico.

Para el análisis de la textura del suelo se tomará la muestra con un barreno común a 20 cm de profundidad, haciendo varias submuestras del terreno. Se mezclarán todas las submuestras y se obtendrá una sola de aproximadamente 1kg para luego enviar al laboratorio de suelos de la EESC.

Para el análisis de humedad y densidad aparente se tomará una sola muestra con un barreno cilíndrico específico a 20cm de profundidad, la muestra será secada en estufa a 110°C, para obtener estos dos datos mediante el método gravimétrico.

5.2.1.6.4. Muestreo de raíces.

Para obtener muestras de raíces, se deberá tomar como referencia la copa del árbol de cada uno de los patrones utilizados para injertar tomate de árbol, con ayuda de una pala de desfonde se procederá a cavar a una profundidad de 40 x 40cm para que de esta forma se pueda buscar y obtener raíces terciarias y cuaternarias sanas, jóvenes y poco

lignificadas. Las raíces serán llevadas al laboratorio para procesarlas y determinar la tasa de colonización micorrízica (Anexo1).

5.2.2. Fase de invernadero.

La fase de invernadero comprenderá la evaluación de los cuatro suelos seleccionados, utilizando plantas trampa (sorgo) para la multiplicación del inóculo.

5.2.2.1. Ubicación geográfica.

La fase de invernadero se llevará a cabo en la Granja Experimental Tumbaco perteneciente a la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) ubicada en el Cantón Quito, en la Parroquia de Tumbaco.

5.2.2.2. Factores en estudio.

Se evaluarán los mismos factores descritos en la fase de laboratorio.

5.2.2.2.1. Suelos.

Se utilizarán los cuatro suelos seleccionados en la fase de laboratorio para ser utilizados como inóculo en la multiplicación de hongos micorrízicos.

S1 = sitio 1 (Nanegalito).

S2 = sitio 2 (Saloya).

S3 = sitio 3 (Patate).

S4 = sitio 4 (Mitad del Mundo)

S5 = testigo (tierra negra y pomina).

5.2.2.2.2. Tratamientos.

Los tratamientos estarán constituidos por los cuatro suelos seleccionados de los diferentes sitios de muestreo de los dos patrones utilizados para injertar tomate de árbol.

5.2.2.3. Unidad experimental.

Estará constituido por una maceta de 2 kg de capacidad, en la cual se colocarán 10 semillas de sorgo (planta trampa), manteniéndolas hasta el final del ciclo estimado de reproducción del inóculo.

5.2.2.4. Diseño experimental.

Se aplicará un Diseño Completamente al Azar (DCA), con cinco observaciones.

5.2.2.4.1. Análisis estadístico.

Cuadro 1.- Esquema del Análisis de Varianza para evaluar los suelo seleccionados de los diferentes sitios de muestreo de los dos patrones (*Solanum hispidum*, *Nicotiana glauca*) utilizados para injertar tomate de árbol (*Solanum betaceum*) 2008.

Fuentes de Variación	Grados de Libertad
Total	24
Tratamientos	4
Error experimental	20

5.2.2.4.2. Análisis funcional.

Se realizará la prueba de Tukey al 5% para tratamientos.

5.2.2.5. Variables del cultivo trampa.

5.2.2.5.1. Población de esporas micorrízicas del suelo.

A los 90 días después de la siembra de las plantas trampa, se realizará la cuantificación de esporas utilizando el método de tamizado y centrifugado descrito por Herrera (1993).

5.2.2.5.2. Tasa de colonización micorrízicas en raíces.

A los 90 días después de la siembra de las plantas trampa, se evaluará la tasa de colonización utilizando el método de clarificación y tinción de raíces, siguiendo la técnica de Phillips y Hayman, descrita por Herrera (1993).

5.2.2.5.3. Número de hojas.

Cada 15 días durante 3 meses, se contabilizará el número de hojas de las plantas trampa.

5.2.2.5.4. Altura de planta (cm).

Cada 15 días durante 3 meses, se medirá el incremento en altura de las plantas trampa desde la base del tallo hasta el ápice.

5.2.2.5.5. Biomasa producida.

A los 90 días de instalado el ensayo se evaluará la biomasa producida en el departamento de suelos y aguas de la EESC.

5.2.2.6. Manejo específico del experimento.

5.2.2.6.1. Desinfección de semillas.

Las semillas de sorgo serán remojadas en alcohol antiséptico durante 3 minutos, posteriormente serán remojadas con una solución de Cloro al 3.5% durante 2 minutos y enjuagadas 5 veces consecutivas con agua destilada esterilizada.

5.2.2.6.2. Pregerminación de semillas.

Las semillas de sorgo se sumergirán en una solución de Ácido giberélico a una concentración de 1250 ppm por 24 horas.

5.2.2.6.3. Evaluación de plantas trampa y multiplicación del inóculo.

Se sembrarán 10 semillas de sorgo (plantas trampa) en macetas de 2 kg de capacidad, en las cuales se colocará sustrato conformado por una parte de tierra negra estéril, una parte de pomina y dos partes del suelo muestreado. Después de 3 meses de reproducido el inóculo, se escogerá 3 plantas al azar para evaluar la colonización de raíces y se sacará un promedio para obtener un dato representativo; cada 15 días se evaluará la altura ya el número de hojas de 3 plantas al azar que servirán también para la determinación de biomasa al final del ciclo, así mismo se sacará un promedio para obtener un dato representativo y las 4 plantas restantes se utilizarán para formar el inóculo que será utilizado en la fase de vivero.

5.2.2.6.4. Selección de los 2 mejores inóculos.

En base a la capacidad de colonización de los diferentes consorcios micorrizicos y a la eficiencia de los mismos, se seleccionarán los 2 mejores inóculos para ser probados en condiciones semicontroladas de vivero.

5.2.2.6.5. Preparación del inóculo.

Diez días antes de utilizar el inóculo, cortar las plantas trampa por la base del tallo y dejar de regarlas. Así se matará la planta y se engañará al hongo para que produzca esporas reproductivas. Diez días después se preparará el inóculo mezclando las raíces de las plantas trampa, las cuáles se cortarán en pedazos de aproximadamente 1cm, y la tierra de la maceta. Esta mezcla de raíces y tierra será el inóculo.

5.2.3. Fase de vivero.

En la fase de vivero se evaluarán los dos mejores inóculos (suelos muestreados) seleccionados en base a los resultados de la fase de laboratorio y de invernadero.

5.2.3.1. Ubicación geográfica.

La fase de vivero se llevará a cabo en la Granja Experimental Tumbaco perteneciente a la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) ubicada en el Cantón Quito, en la Parroquia de Tumbaco.

5.2.3.2. Factores de estudio.

5.2.3.2.1. Inóculo (I)

i1= inóculo seleccionado 1

i2= inóculo seleccionado 2

i3= inóculo comercial

i4= testigo absoluto.

5.2.3.2.2. Portainjertos (P)

p1= *Nicotiana glauca*

p2 = *Solanum hispidum*

5.2.3.2.3 Tratamientos.

Los tratamientos estarán constituidos por la combinación de los factores en estudio, dando un total de 8 tratamientos.

Cuadro2.- Tratamientos a analizar en el ensayo de evaluación de la eficiencia del uso de micorrizas en dos patrones de tomate de árbol (*Solanum hispidum*, *Nicotiana glauca*). 2008

TRATAMIENTO	CODIFICACIÓN	DESCRIPCIÓN
1	i1p1	Planta + inóculo seleccionado 1 + <i>Nicotiana glauca</i>
2	i2p1	Planta + inóculo seleccionado 2 + <i>Nicotiana glauca</i>
3	i3p1	Planta + inóculo comercial + <i>Nicotiana glauca</i>
4	i4p1	Planta + testigo absoluto + <i>Nicotiana glauca</i>
5	i1p2	Planta + inóculo seleccionado 1 + <i>Solanum hispidum</i>
6	i2p2	Planta + inóculo seleccionado 2 + <i>Solanum hispidum</i>
7	i3p2	Planta + inoculo comercial + <i>Solanum hispidum</i>
8	i4p2	Testigo absoluto + <i>Solanum hispidum</i>

5.2.3.3. Unidad experimental.

La unidad experimental estará constituida por una planta de cada uno de los patrones utilizados para injertar tomate de árbol, sembrada en una funda de 2 kg de sustrato con 200 gramos de inóculo.

5.2.3.4. Diseño experimental.

El ensayo se dispondrá en un Diseño de Bloques Completos al Azar, en arreglo factorial 4X2, con 7 repeticiones.

5.2.3.4.1. Análisis estadístico.

Cuadro No.3: Esquema del análisis de varianza para evaluar la eficiencia del uso de micorrizas en dos patrones (*Solanum hispidum*, *Nicotiana glauca*) utilizados para injertar tomate de árbol (*Solanum betaceum*). 2008.

Fuentes de variación	Grados de libertad
Total	55
Repeticiones	6
Inóculos	3
Portainjertos	1
IxP	3
Error experimental	42

5.2.3.5. Análisis funcional.

Se realizará la prueba de Tukey al 5% para inóculos, repeticiones e interacción y DMS para portainjertos.

5.2.3.6. Variables y métodos de evaluación.

5.2.3.6.1. Altura de las plantas y número de hojas.

En todas las repeticiones, se medirá la altura, expresada en centímetros, desde la base del tallo hasta la yema apical, además se registrará el incremento en el número de hojas. Los datos se tomarán cada 15 días a partir del primer mes de instalado el ensayo.

5.2.3.6.2. Diámetro del tallo.

Se determinara midiendo el diámetro del tallo, expresado en milímetros, a una altura de 10 cm de la base del tallo. Los datos se tomarán mensualmente a partir del primer mes de instalado el ensayo.

5.2.3.6.3. Tasa de colonización micorrízica en raíces.

Al quinto mes después de inoculadas las plantas de los patrones utilizados para injertar tomate de árbol, se determinará la tasa de colonización mediante la clarificación y tinción de raíces, por medio de la técnica de Phillips y Hayman, descrita por Herrera (1993). Para obtención de datos se procesará las raíces de 4 plantas de las 7 repeticiones.

5.2.3.6.4. Concentración de nutrientes.

Al quinto mes después de inoculadas las plantas de cada uno de los patrones utilizados para injertar tomate de árbol, se determinará la concentración total de nutrientes en el tejido vegetal mediante un análisis bromatológico (Departamento de Nutrición y Calidad de la EESC). Para la obtención de datos se procesarán 3 plantas de las 7 repeticiones.

5.2.3.6.5. Absorción y extracción total de nutrientes.

Al quinto mes después de inoculadas las plantas de cada uno de los patrones utilizados para injertar tomate de árbol, se determinará los valores de absorción y extracción total de nutrientes en el tejido vegetal (planta completa). Los análisis se realizarán en el Departamento de Nutrición y Calidad de la EESC. Para la obtención de datos se procesarán 3 plantas de las 7 repeticiones.

5.2.3.6.6. Biomasa.

Al quinto mes después de inoculadas las plantas de cada uno de los patrones utilizados para injertar tomate de árbol, se medirá el peso fresco (gramos), por separado, de raíz, tallo y hojas. Las muestras se colocaran en la estufa por 24 horas a 110 °C para luego medir el peso seco de cada una. Para la obtención de datos, en el caso de raíces se utilizarán 3 plantas, para tallo y hojas se utilizara el material vegetal de las 7 repeticiones.

5.2.3.7. Manejo específico del experimento

5.2.3.7.1. Implementación del Ensayo

Para la siembra del ensayo se colocarán en fundas de 2 kg, una cantidad de sustrato (en proporción 3:1) compuesto por tierra negra estéril y pomina. Se rellenará los 2/3 de la funda con el sustrato estéril, luego se colocará 200 g del inóculo preparado según el tratamiento, luego se realizará la siembra de una planta de los patrones utilizados para injertar tomate de árbol, procurando que las raíces estén en contacto con el inóculo, Finalmente se completará la funda con el sustrato estéril.

5.2.3.7.2. Fertilización por planta

Se realizará una fertilización media en base al análisis físico – químico del sustrato que se llevará a cabo en el Laboratorio de Suelos de la EESC.

5.2.3.7.3. Labores culturales

Los riegos y deshierbes se realizarán según las necesidades del cultivo.

6. Cronograma

TIEMPO ACTIVIDADES	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8	Mes 9	Mes 10	Mes 11	Mes 12
Definición de los sitios de muestreo	X											
Recolección de frutos		X										
Extracción de Semillas		X										
Secado de Semillas		X										
Preparación del material y reactivos		X										
Recolección del suelo y raíces en los sitios de muestreo			X	X								
Aislamiento de hongos micorrízicos			X	X	X							
Trampeo y preparación del inoculo					X	X	X					
Inoculación en plantas y semillas							X					
Siembra y transplante del ensayo							X					
Toma de datos							X	X	X	X	X	
Evaluación de resultados									X	X	X	
Elaboración del informe de tesis										X	X	X

7. Presupuesto.

Cuadro 4. Presupuesto para el estudio de la eficiencia del uso de micorrizas en dos patrones utilizados para injertar tomate de árbol.

RUBRO	UNIDAD	CANTIDAD	VALOR UNITARIO USD	Financiamiento INIAP	Financiamiento Tesista	VALOR TOTAL USD
Materiales laboratorio						
Tamiz	Unid.	1	120	120		120,00
Soporte universal	Unid.	1	50	50		50,00
Piceta	500ml	1	4	4		4,00
Pinza de punta de aguja	Unid.	1	8	8		8,00
Azul de Tripán	Gramos	10	1,44	14,4		14,40
Ácido Clorhídrico	Litro	1	11,25	11,25		11,25
KOH	Gramos	100	0,052	5,2		5,20
Peróxido de Hidrógeno	Litro	1	11,8	11,8		11,80
Ácido Láctico	Mililitros	100	0,076	7,6		7,60
Glicerol	Litro	1	30	30		30,00
Alcohol Polivinílico	1 litro	1	150	150		150,00
Sacarosa	Gramos	640	0,08	51,2		51,20
Alcohol industrial	Galón	1	10	10		10,00
Porta Objetos	Caja	1	1,4	1,4		1,40
Cubre Objetos	24x50-honza	1	4,5	4,5		4,50
Caja guantes quirúrgicos	100 pares	1	7	7		7,00
Manguera con regadera de lavabo	Unid.	1	5	5		5,00
Recipiente para lavado	Unid.	1	3	3		3,00
Embudo	Unid.	1	1	1		1,00
Materiales fase invernadero y vivero						
Semillas	Unid.	100	0,01	1		1,00
Macetas de 2 kg.	Unid.	20	1,5	30		30,00
Fundas para vivero	Unid.	100	0,4	40		40,00
Análisis de laboratorio						
Análisis completo de suelo	Unid.	4	14,67	58,68		58,68
Análisis de nutrientes	Unid.	7	3,3	66,		66,00
Bionasa	Unid.	18	1,34	26,8		26,80
Otros						
Becario	Unid.	6	280	1680	1680	3360,00
Viáticos	Unid.	8	50	400		400,00
Combustible	Galón	40	1,2	48		48,00
Resmas de papel	Unid.	2	4	8		8,00
Impresiones	Unid.	0,05	200	10		10,00
TOTAL				2863,83	1680	4543,83

8. Bibliografía.

1. AZCÓN, C., BAREA, J.M. 1.997. "Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture significance and potentials" *Scientia Horticulturae*, 68, p1-24.
2. AZCON, A.C.; GARCIA, G.F. y BAREA, J.M. 1991. Micorrizas. En: Fijación y movilización biológica de nutrientes. Vol. II. Consejo superior de investigaciones científicas. Madrid, España. Pp.129-147.
3. COELLO, Alcides 2004, Estudio de la Resistencia a *Meloidogyne incognita* y *Fusarium solani* sincronización y compatibilidad de cuatro portainjertos para tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav.*), Quito- Ecuador. Pág. 31-32.
4. COYNE, Mark 2000, Microbiología de suelos un enfoque exploratorio, Mexico ed. Paraninfo. Pág. 342-358
5. HERRERA, R. 1993. General methodology to analyze rootlets, raw humus and VA mycorrhizal (VAM) components. Cuba. p. 1-8
6. SIEVERDING, Edward. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Technical Coopertion-Federal Republic of Germany (GTZ). 367p.

9. Anexos

Anexo 1. Metodología para el procesamiento de raíces- Phillips y Hayman (HERRERA, 1993).

Para procesar las muestras obtenidas de raíz de tomate de árbol se aplicó la siguiente técnica:

- 1.- Escoger de la muestra a analizar las raíces más jóvenes de la planta.
- 2.- Lavar las raíces cuidadosamente con agua corriente.
- 3.- Colocar en un erlenmeyer de 100ml una cantidad suficiente de raíces para ser procesadas.
- 4.- Cubrir las raíces con KOH al 10%.
Para preparar KOH al 10% diluir 50g de KOH en 500ml de agua destilada.
- 5.- Autoclavar la muestra a 10 libras de presión durante 5 minutos.
- 6.- Enjuagar con agua corriente.
- 7.- Agregar H₂O₂ hasta cubrir las raíces.
Para preparar H₂O₂ al 30% mezclar 50ml de H₂O₂ en 450ml agua destilada.
- 8.- Dejar las raíces en contacto durante 3 minutos.
- 9.- Enjuagar con agua corriente.
- 10.- Agregar HCl por 3 minutos.
Para preparar HCl agregar 57ml de HCl en 458.5ml de agua destilada.
- 11.- Eliminar el HCl sin lavar la muestra.
- 12.- Agregar Azul de Tripán y meter al autoclave por 5 minutos a 10 libras de presión.
- 13.- Eliminar el colorante mediante el lavado de la muestra hasta que no salga más color.
- 14.- Dejar en Lactoglicerina 24 horas.
- 15.- Preparar una placa colocando las raíces en forma perpendicular al lado más largo del cubre objetos y montar.
- 16.- Observar la colonización de las raíces por micorrizas.

Anexo 2. Metodología para el procesamiento de suelos (HERRERA 1993).

Para procesar las muestras obtenidas de suelo de tomate de árbol se aplicó la siguiente técnica:

- 1.- Tamizar el suelo que se va a evaluar a través del tamiz de 2mm.
- 2.- Pesar 20g del suelo tamizado.
- 3.- Colocar en 1 litro de agua los 20 gramos de suelo y agitar con un guante hasta formar un remolino.
- 4.- Pasar la suspensión antes de que pare el molino por los tamices de 500 μ , 180 μ y 38 μ .
- 5.- Lavar lo que quedo de los tamices de 180 μ y 38 μ y colocar 20ml de cada uno en un tubo cónico de 50ml.
- 6.- Agregar a cada tubo 20ml de sacarosa 2M desde la parte inferior y agitar para homogenizar la muestra.
- 7.- Centrifugar por 15 minutos a 2500 r.p.m.
- 8.- Volver a pasar el centrifugado por los tamices de 500 μ , 180 μ y 38 μ .
- 9.- Lavar lo que quedo de los tamices de 180 μ y 38 μ y llenar 2 cajas petri de cada uno de los tamices.
- 10.- Dejar durante toda la noche.
- 11.- Observar en el estereomicroscopio las esporas obtenidas y realizar el conteo.

Anexo 3. Metodología para el procesamiento de plantas trampa – trampeo ⁴

El trampeo es una parte muy importante para formar el inóculo (multiplicación de micorrizas), se utilizará sorgo como planta trampa.

Se realizó el siguiente procedimiento:

- 1.- Preparar el invernadero cubriendo todos los lugares que tengan polvo con piedra o cemento.
- 2.- Desinfectar cuidadosamente todas las áreas con cloro.
- 3.- Las macetas a ocuparse deben ser desinfectadas 2 días antes de realizar la siembra y ser enjuagadas con agua estéril para eliminar lo que quede de cloro.
- 4.- Aspergear alcohol antiséptico en toda el área del invernadero incluyendo las macetas.
- 5.- Colocar la turba estéril que contiene arena o suelo negro, pomina, y cascarilla de arroz en una maceta de 2 Kg en proporción 2:1:1.
- 6.- Preparar la semilla pregerminada:
 - Desinfectar la semilla con cloro al 1.5% durante 2 – 3 minutos con cuatro lavados.
 - Escarificar la semilla por aproximadamente 24 horas dependiendo la calidad de la misma.
 - Colocar la semilla en una caja petri que contenga papel filtro o papel toalla estéril y húmeda.
- 7.- Colocar agua destilada o corriente en el macetero preparado con la turba durante toda la noche y que esté saturado completamente.
- 8.- Realizar un orificio con una paleta de helado limpia hasta que quede a la mitad de la maceta.
- 9.- Colocar en el fondo del orificio 50 gramos de la tierra que servirá como inóculo.
- 10.- Colocar la semilla o la planta en contacto con el inóculo y cerrar el orificio con la turba.
- 11.- Colocar muy poca cantidad de agua si es necesario.
- 12.- Identificar la plántula adecuadamente y tomar datos de crecimiento al primer mes, y luego cada semana.

⁴ MORALES, R. 2008- Comunicación Personal