

Efecto de los Biofertilizantes Líquidos de Producción Local “Bioles”, sobre el Desarrollo de Síntomas Causados por el Virus del Mosaico de la Calabaza (SqMV) en el Cultivo de Melón (*Cucumis melo* L.) var. Edisto en Condiciones de Invernadero

Robert Alvarez ⁽¹⁾ Lisbeth Espinoza ⁽²⁾ Omar Ruiz ⁽³⁾ Esther L. Peralta ⁽⁴⁾
^(1, 2, 3, 4) Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador

⁽¹⁾Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la producción
Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)

Campus Gustavo Galindo, Km 30.5 vía Perimetral. Apartado 09-01-5863. Guayaquil-Ecuador
robaalva@espol.edu.ec ⁽¹⁾ ldespino@espol.edu.ec ⁽²⁾ oruiz@espol.edu.ec ⁽³⁾

Resumen

Los bioles son un tipo de biofertilizante líquido (obtenidos anaeróbicamente), ricos en micronutrientes, fitohormonas y microorganismos benéficos. Se utilizan como abono, estimuladores del crecimiento vegetal e inductores de respuestas fisiológicas como floración y fructificación; recientemente se ha comprobado su efecto como inhibidor del crecimiento de hongos fitopatógenos. Esta investigación tuvo como objetivo realizar un estudio inicial acerca del efecto de los biofertilizantes líquidos de producción local “Bioles”, sobre el crecimiento de plantas y la severidad de síntomas observados en plantas de melón (*Cucumis melo* L) infectadas por el virus del mosaico de la calabaza (SqMV). Fueron evaluadas cuatro dosis de bioles (5, 10, 15, 25%, v:v) aplicados semanalmente vía foliar. La aplicación foliar de biol en dosis del 25% en plantas infectadas, ocasionó un incremento significativo en la longitud (22%) y número de hojas, así como una reducción (26%) en la severidad de síntomas producidos por SqMV. El análisis de correlación evidenció que las dosis de los bioles mantienen una alta correlación positiva con la longitud de las plantas y el número de hojas. Por el contrario, la dosis de los bioles se correlaciona negativamente con la severidad de los síntomas producidos por SqMV. Los resultados sugieren un efecto positivo del biol sobre las plantas de melón infectadas por SqMV, no registrados con anterioridad

Palabras Claves: virus del mosaico de la calabaza, biol, biofertilizante líquido, SqMV, agricultura sostenible, agricultura amigable.

Abstract

“Biol” is a kind of organic liquid fertilizer (anaerobically obtained), with high amounts of micronutrients, plant hormones and beneficial microorganism. Used as fertilizer, for plant growth promotion, for induce flowering and fructification; recently has founded its ability to inhibit mycelial growth in pathogenic fungus. This research were aimed as an initial study to the effect of locally produced liquid biofertilizers “Biol”, on plant growing and severity of symptoms observed in plants of melon (*Cucumis melo* L) infected with Squash mosaic virus (SqMV). Four Biol concentrations (5,10,15,25%) were evaluated through weekly foliar applications. The biol-concentration of 25% in infected plants caused a significant increase in plants length (22%) and number of leaves, besides a slight reduction (26%) in severity of symptoms produced by SqMV. Correlation analysis shows: biol concentrations are high positive correlated with plants length and the number of leaves. Unlike the biol amount is negatively correlated with severity of SqMV. These results suggest a favorable effect of biol application over melon plants infected with SqMV. These type of results have not been reported previously.

Keywords: squash mosaic virus, organic amendments, organic liquid fertilizer, organic anaerobic fertilizer, SqMV, sustainable agriculture, friendly approaches in agriculture.

1. Introducción

En el ámbito internacional las enfermedades virales han causado importantes pérdidas económicas en cultivos comerciales, aunque no han podido ser exactamente cuantificadas [1-4]. En nuestro país se estimaron pérdidas superiores a ocho millones de

dólares en el año 2007, debido a que alrededor de 3000 Ha de cultivos hortícolas fueron devastadas por virosis en una de las mayores zonas productoras de hortalizas [5].

Las pérdidas económicas causadas por los virus fitopatógenos constituyen una de las principales razones para su estudio. Estas no solo se deben a

reducción del vigor y el crecimiento de las plantas, también afectan la calidad de los productos ofrecidos [2-4]

En la actualidad no existen medidas correctivas para el control de enfermedades virales de las plantas, por lo que las medidas de manejo están orientadas a reducir las fuentes de infección y limitar la transmisión por vectores [4], [6].

El virus del mosaico de la calabaza (SqMV) es una enfermedad viral de tipo emergente, que en los últimos años ha afectado los cultivos de cucurbitáceas en el Ecuador; fue recientemente informado en nuestro país por Espinoza *et al* [7] en cultivos de melón en la provincia del Guayas.

El método más común utilizado por los agricultores para minimizar su efecto, consiste en limitar la transmisión vectorial mediante la aplicación de insecticidas de las familias organofosforados, carbamatos y piretroides, causando efectos negativos sobre su salud y el medioambiente [8], [9].

Los biofertilizantes líquidos de producción local "Bioles", son obtenidos mediante un proceso de fermentación anaeróbica, utilizando como materia prima principal estiércol vacuno, microorganismos de la rizósfera, bacterias ácido lácticas, entre otros compuestos minerales [10] Chavez.

La composición de los bioles puede ser muy variable, lo que dificulta la reproducibilidad de los resultados favorables obtenidos, Sin embargo en el CIBE, se ha logrado estandarizar la metodología para su elaboración y se han establecido parámetros de calidad. De esta manera se aseguran ligeras diferencias entre la composición final de los bioles de producción local y una composición óptima de factores benéficos [10], [11].

En los bioles de producción local, se ha demostrado la presencia de compuestos relacionados con el crecimiento vegetal (hormonas vegetales) y compuestos asociados con actividad antimicrobiana [12], [13].

Varios autores han reportado el uso de rizobacterias, como inductores de crecimiento, además que ayudan a disminuir la severidad de los síntomas en plantas infectadas por virus [14-16]. Además las fitohormonas tienen un papel importante en la respuesta de las plantas frente a infecciones virales [17], [18].

Las plantas infectadas por virus sufren cambios en su metabolismo, causando una disminución de la fotosíntesis y de la cantidad de sustancias reguladoras del crecimiento (fitohormonas) en las plantas, y reducción de la tasa de absorción de algunos nutrientes importantes como el nitrógeno; todo esto se traduce en plantas pequeñas, cloróticas y de baja productividad con un ciclo de vida más corto que el de las plantas sanas [19], [20].

A pesar de que el efecto inductor de crecimiento de los bioles ha sido ampliamente estudiado [21- 27], así como su actividad fungicida o fungistática contra

patógenos como: *Moniliophthora roreri* [28], [29], *Mycosphaerella fijiensis* [30] y recientemente *Fusarium oxysporum* y *F. solani* [31], hasta el momento no existen registros de investigaciones relacionadas al uso de los bioles con la finalidad de promover el crecimiento o reducir la severidad de los síntomas en plantas enfermas con virus.

Con estos antecedentes se plantea, el objetivo principal de esta investigación, el cual consiste en evaluar bajo condiciones de invernadero el efecto de los biofertilizantes líquidos de producción local, en el crecimiento y severidad de los síntomas en plantas de melón (*Cucumis melo* L.) infectadas por SqMV.

2. Materiales y Métodos.

2.1 Recolección e identificación de aislamientos virales.

Las muestras de material vegetal fueron recolectadas mediante un muestreo dirigido en cultivos comerciales de hortalizas ubicadas en Pedro Carbo (10 48' 12.43" S, 80 17' 16.78" O) y Santa Elena (20 18' 59.11" S, 80 35' 32.16" O), pertenecientes a las provincias de Guayas y Santa Elena respectivamente.

Las plantas de sandía, melón y algunas malezas (cucurbitáceas) que se colectaron, presentaban síntomas relacionados con virosis, como mosaicos, bandeados de nervaduras y reducción del área foliar, de acuerdo a lo sugerido por Lecoq [32], [33].

El transporte del material vegetal se realizó bajo refrigeración (4°C) hasta el laboratorio de fitopatología del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador CIBE-ESPOL; se determinó la identidad de los virus presentes en las muestras mediante la técnica inmunoenzimática ELISA de doble anticuerpo "sándwich" (ELISA-DAS), usando los diagnosticadores específicos para SqMV (V054-K2) producidos por AC Diagnostics, Inc. (Arkansas, EEUU) y las condiciones de realización sugeridas por el fabricante.

Las muestras fueron consideradas positivas para SqMV, cuando el valor promedio de las lecturas fue dos veces mayor al valor de la media de los controles negativos. La lectura de absorbancia para determinar la presencia de virus se realizó en un fotolorímetro TECAN, Sunrise 2460033, utilizando una longitud de onda de 405 nm.

2.2 Conservación y mantenimiento del inóculo viral de SqMV.

El inóculo viral fue conservado y multiplicado, realizando inoculaciones mecánicas periódicas (cada dos semanas) de las muestras de plantas positivas para SqMV, en plantas de melón sanas (8-10 días después de trasplantadas), mantenidas bajo condiciones semicontroladas de invernadero.

Las plantas sanas de melón (*C. melo* L.) empleadas en la conservación y multiplicación de SqMV fueron cultivadas en sustrato compuesto por: tierra de sembrado 40%, sustrato reciclado 20 %, esfagno 20 %, arena 5%, cascarilla de arroz 5 %, humus de lombrices 10%; el sustrato fue esterilizado a 120 °C por 40 minutos. Durante la etapa de germinación las plantas fueron aisladas de insectos vectores y otros artrópodos mediante el uso de armazones de aluminio y malla (Nylon Jordan®).

La inoculación mecánica en las plantas de melón se efectuó siguiendo los protocolos recomendados por Mathews [33] y Browning [34]. Las plantas inoculadas fueron mantenidas bajo condiciones semicontroladas de invernadero, garantizando la ausencia de vectores e insectos en general.

Para confirmar la presencia de SqMV en las plantas inoculadas se usó la prueba DAS-ELISA referida anteriormente.

2.3 Evaluación de efecto del biol en plantas de melón infectadas por SqMV.

Cada unidad experimental consistió en una planta de melón (*C. melo* L.) var. Edisto sembrada en bandejas germinadoras con sustrato BM2® producido por Berger – Canadá. El trasplante se realizó en sustrato compuesto por zeolita y esfagno en proporción 1:1 (v/v) previamente esterilizado (120 °C durante 40 min), en fundas plásticas de 1L de volumen con el sustrato mencionado, a los diez días después de sembradas.

Las unidades experimentales estuvieron dispuestas en un diseño de bloques completos al azar (DBCA) con tres repeticiones; cada tratamiento constó de 10 réplicas. Se mantuvieron en condiciones semicontroladas (25-32 °C, 80-90% HR); y fueron protegidas de insectos vectores y otros artrópodos. La nutrición y el riego se mantuvieron homogéneas durante la duración total del experimento, suministrando los nutrientes en forma de soluciones nutritivas, de acuerdo a las recomendaciones de Sánchez *et. al.*, [35].

La solución nutritiva aplicada, presentó rangos de pH entre 6.5-7.5 y valores de conductividad eléctrica entre 1700 -1800 µS/m.

Los tratamientos evaluados se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Descripción de los tratamientos

Tratamiento	Inoculación SqMV	Aplicación foliar Biol	Dosis biol
1	x	x	5 %
2	x	x	10 %
3	x	x	15 %
4	x	x	25 %
5 (Testigo enfermo)	x	-	-
6 (Testigo sano)	-	-	-

Si= (x), No= (-)

Las plantas se inocularon con el virus del mosaico de la calabaza siete días ddt, excepto las del tratamiento 6 (testigo sano). La infección fue comprobada 35 ddi, mediante la prueba inmunoquímica DAS-ELISA referida con anterioridad.

Los bioles usados en esta investigación fueron elaborados en Santa Rosa como parte del proyecto PL-480 (Programa de Tecnologías Innovativas y Ambientalmente Amigables para la Recuperación de Plantaciones de Cacao Fino de Aroma en la Provincia de El Oro), bajo los parámetros de calidad establecidos por CIBE-ESPOL (patente pendiente). Se aplicaron usando una bomba de aspersión manual de 5 L; el gasto de agua para la aplicación de bioles fue ajustado para asegurar la cobertura total del área foliar, y se dirigieron con la ayuda de una pantalla plástica. La aplicación de bioles se inició siete ddi, con una frecuencia de aplicación semanal.

El efecto de los bioles sobre las plantas infectadas por el virus del mosaico de la calabaza, se midió a través de las siguientes variables: longitud de las plantas, tomada desde la base del tallo hasta el último brote; número de hojas por planta, y severidad usando una escala categórica (Tabla 3).

Tabla 3. Escala de evaluación de síntomas.

Categoría	Descripción de síntomas
0	Planta sin síntomas
1	Síntomas iniciales: VBL, VCL, M, MtL, CL
2	Síntomas bien definidos: VBM, VBM, DFL
3	Síntomas severos: VBS, VCS, DFL en hojas nuevas
4	Síntomas muy severos: VBS, VCS, DFM, AS
5	Síntomas muy severos; VBS, VCS, AS, DFS y detención de crecimiento
6	Muy severos, con muerte de la planta.

Síntomas	Nivel de intensidad
VB: Aclareamiento de nevaduras	C= Clorosis
VC: Aclareamiento de nevaduras	DF: Distorsión foliar
M: Mosaicos	A: Ampollamientos
Mt: Moteados	S: Severos
	L: Ligero
	M: Moderado

La escala de síntomas que se muestra en la tabla 3, fue diseñada a partir de la sintomatología observada en plantas de melón infectadas con SqMV.

El índice de severidad fue calculado, mediante la fórmula de Townsend - Heuberger [36]:

$$IS = \frac{\sum_{i=1}^k X_{ki} \cdot N_{ki}}{N_j}$$

Dónde: IS= Índice de severidad; Xki = Severidad evaluada en el momento i; Nki= Número de plantas con el nivel del daño en el momento i y Nj= número total de plantas evaluadas.

El progreso de la severidad en el tiempo fue analizado, graficando los índices de severidad promedio obtenidos en cada evaluación. De manera complementaria, los índices de severidad obtenidos para cada réplica se ajustaron al modelo $f(x) = ax^2 + bx + c$, la tendencia del índice de severidad fue

comparada mediante ANOVA (Análisis de la varianza) de los coeficientes (a), correspondientes al término cuadrático.

La tendencia de los síntomas y el nivel de severidad observado con mayor frecuencia en cada tratamiento, se analizó mediante el cálculo de la moda de los valores de severidad (sin transformaciones).

Para determinar diferencias estadísticas entre tratamientos, se utilizó el ANOVA y las diferencias estadísticas entre los tratamientos, se detectaron mediante la prueba LSD Fisher al 5% de probabilidad. Además se realizó un análisis de correlación entre las variables estudiadas, calculando el coeficiente de Pearson y un nivel de significancia del 5% para el coeficiente estimado.

El análisis estadístico completo se realizó usando el software estadístico Infostat 2011® [37], [38].

3. Resultados y Discusión

3.1 Recolección e identificación de aislamientos virales.

En total se analizaron 174 muestras de material vegetal enfermo colectado en cultivos de melón y sandía. En la tabla 4 se muestran los resultados de las pruebas serológicas realizadas para la detección del virus del mosaico de la calabaza.

La mayor cantidad de muestras positivas provienen del cantón Pedro Carbo en cultivos de melón (*Cucumis melo* L.). Adicionalmente, se detectó la presencia de virus de la mancha anular de la papaya raza sandía (PRSV), virus del mosaico de la sandía (WMV2) y virus del mosaico del pepino (CMV) en las muestras analizadas (datos no mostrados). El virus del mosaico de la calabaza también fue identificado en malezas del género *Centrosoma* sp., que actúan como reservorio del virus e importantes fuentes de inóculo.

Tabla 4. Resultados de la detección inmunoenzimática de SqMV.

Localidad	Especie vegetal	Número de plantas evaluadas	Reacciones Positivas a SqMV
Santa Elena	<i>Citrullus lanatus</i>	34	0
	<i>Cucumis melo</i>	13	3
	<i>Citrullus lanatus</i>	13	4
Pedro Carbo	<i>Cucumis melo</i>	114	16
Total		174	23

SqMV= *Squash mosaic virus* UDO plantas positivas 0,205 - 2,43
 UDO control positivo 1,47 - 3,45
 UDO control negativo 0,063 - 0,105

3.2 Evaluación de efecto del biol en plantas de melón infectadas por SqMV.

3.2.1. Efecto sobre el crecimiento. Los promedios de longitud (cm) y número de hojas por planta, el análisis de la varianza (ANOVA) y las pruebas de significancia estadística (LSD Fisher) para la longitud y número de

hojas evaluadas 42 días después de la inoculación; se muestran en la tabla 5.

El tratamiento 4 (aplicación foliar de biol 25%) presentó un incremento estadísticamente significativo del 22% en la longitud (cm) con respecto del testigo enfermo.

En cuanto al número de hojas, los tratamientos 4 (10.27) y 3 (9.47), son disimiles a los demás tratamientos y mostraron una mejora estadísticamente significativa en esa variable.

Tabla 5. Efecto del biol sobre el crecimiento de las plantas de melón infectadas con SqMV.

Tratamiento ⁱ	Longitud (cm) ⁱⁱ	Número de hojas ⁱⁱⁱ
T4. Biol 25%	47.85 [†] ± 0.5 a ^{vi}	10.27 [†] ± 0.23 a ^{vi}
T3. Biol 15%	41.37 ± 0.52 b	9.47 ± 0.18 b
T2. Biol 10 %	40.91 ± 0.47 b	8.23 ± 0.17 c
T1. Biol 5%	40.95 ± 0.59 b	7.87 ± 0.16 cd
Testigo enfermo ^{iv}	39 ± 0.54 b	7.67 ± 0.15 d
Testigo sano ^v	47.99 ± 0.47 a	11.20 ± 0.2 e
CV (%)	19.07	11.7
Modelo		
F test	7.56 **	28.56 **
Valor p	<0.0001	<0.0001

ⁱ Aplicación foliar de biol, a partir de los 7 ddi (días después de la inoculación con SqMV) con frecuencia de aplicación semanal

ⁱⁱ Longitud de las plantas a los 42 ddi.

ⁱⁱⁱ Número de hojas por planta a los 42 ddi.

^{iv} Plantas inoculadas sin aplicación de bioles.

^v Plantas sin inocular y sin aplicaciones de bioles.

^{vi} Comparaciones estadísticas entre tratamientos, letras distintas muestran diferencias significativas usando el test LSD Fisher con $\alpha=0.05$

[†] X ± sem; sem = $\sqrt{\sigma/n}$

* Diferencias estadísticas significativas (p≤0.05) y ** altamente significativas (p≤0.01)

n.s.: No se encontraron diferencias estadísticas entre las repeticiones

3.2.2. Efecto sobre la severidad de síntomas. El índice de severidad fue sometido a un ANOVA que detectó la presencia de diferencias estadísticas significativas.

Los resultados del análisis *a posteriori*, en este caso la prueba de significancia estadística LSD Fisher al 5%, dividió los promedios en cuatro subgrupos homogéneos (Tabla 6).

En el primer subgrupo se encuentra el tratamiento 4 con un índice de severidad de 2.43, distinto y estadísticamente inferior a los demás tratamientos. El segundo está conformado por los tratamientos 1 (3.57), 2 (3.47) y 3 (3.20) estadísticamente similares entre sí. El tercero está conformado por los tratamientos 1, 2 (3.47) y 3 (3.20) estadísticamente similares entre sí. El tercero esta conformad por el testigo enfermo y el tratamiento 1 con los índices de severidad más altos 3.97 y 3.57 respectivamente. El tratamiento 1 comparte las medias del tercer y cuarto subgrupo.

En el último subgrupo está el testigo sano (Sin inocular SqMV, Sin aplicación de biol), no presento síntomas virales durante toda la evaluación.

Tabla 6. Efecto de la aplicación foliar de biol sobre el índice de severidad, 42 ddi.

Tratamiento ⁱ	Índice de severidad ⁱⁱ	
T4. Biol 25%	2.43 [†] ± 0.09	a ^v
T3. Biol 15%	3.2 ± 0.10	b
T2. Biol 10 %	3.47 ± 0.17	b
T1. Biol 5%	3.57 ± 0.32	bc
Testigo enfermo ⁱⁱⁱ	3.97 ± 0.28	c
Testigo sano ^{iv}	0.0	d
CV (%)	9.54	
Modelo		
F test	65.89 *	
Valor p	<0.0001	

ⁱ Aplicación foliar de biol, 7 ddi (días después de la inoculación con SqMV), frecuencia de aplicación semanal.

ⁱⁱ Índice de severidad: representa la media ponderada de severidad a los 42 ddi usando una escala entre 0-6, como se describe en el procedimiento experimental

ⁱⁱⁱ Plantas inoculadas sin aplicación de bioles.

^{iv} Plantas sin inocular y sin aplicaciones de bioles.

^v Comparaciones estadísticas entre tratamientos, letras distintas muestran diferencias significativas usando el test LSD Fisher con $\alpha=0.05$

[†] $X \pm sem$; $sem = \sqrt{a/n}$

* Diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) y ** altamente significativas ($p \leq 0.01$)

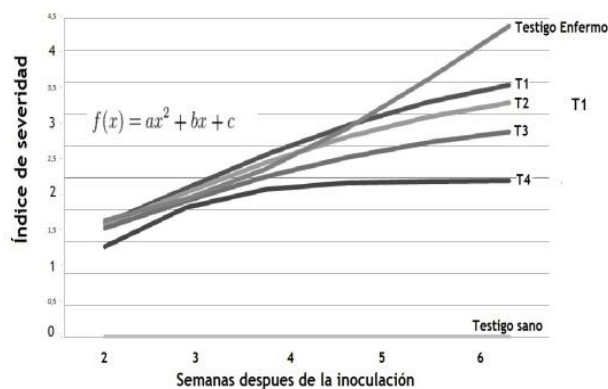
n.s.: No se encontraron diferencias estadísticas entre las repeticiones

El progreso del índice de severidad en el tiempo se grafican en la figura 1, donde se puede observar que no existieron diferencias notables entre los índices de severidad de cada tratamientos durante las primeras semanas después de la inoculación.

En la Figura 1 se presenta gráficamente el avance de la severidad en el tiempo. En el testigo enfermo se muestra una tendencia creciente, con un coeficiente a de 0.00160, que indica un incremento a partir de la cuarta semana, además es estadísticamente diferente a los demás tratamientos, por lo que la forma de esta curva de progreso es distinta.

También se destaca la estabilización del índice de severidad en el tratamiento 4 (biol al 25%) a partir de la quinta semana post inoculación. El incremento decreciente y la forma de la curva de progreso de la severidad se explica con el coeficiente a (-0.00320). Este resultó estadísticamente diferente a los demás tratamientos incluidos el testigo enfermo, lo que comprueba que la curva de progreso de severidad en el tratamiento 4 es diferente.

Los tratamientos 3, 2 y 1 comparten la misma tendencia y forma de la curva de progreso de la severidad, ligeramente crecientes a partir de la tercera semana, lo cual se evidencia en la prueba de significancia realizada a los coeficientes (a), que los muestra como similares entre sí.



Tratamiento	Est. Coef. (a)	
T4. Biol 25%	-0.00320	a
T3. Biol 10%	-0.00070	b
T2. Biol 15%	-0.00063	b
T1. Biol 5%	-0.00047	b
Testigo enfermo	0.00160	c
Testigo Sano	0.00000	
C.V	111.06	
F test	12.68*	
Valor p	0.0006	

* Diferencias significativas

Letras distintas muestran diferencias

significativas usando el test LSD Fisher con $\alpha=0.05$

Figura 1. Progreso de la severidad en el tiempo para cada tratamiento.

En la tabla 7, se presentan los valores de severidad observados con mayor frecuencia (moda) para cada tratamiento durante las cinco evaluaciones. Estos valores son obtenidos a partir de la escala de evaluación de síntomas. En el tratamiento cuatro a partir de la segunda evaluación, el valor de severidad observado con mayor frecuencia fue dos (2), inferior con respecto a los otros tratamientos y se mantuvo constante desde la segunda hasta la cuarta evaluación, lo que indica que los síntomas más frecuentes en este tratamiento fueron aclaramientos y bandeados de nervaduras moderados y ligeras deformaciones foliares.

Tabla 7. Valores de severidad observados con mayor frecuencia (Moda) por tratamiento.

Tratamientos / Evaluaciones	Ev. 1	Ev. 2	Ev. 3	Ev. 4	Ev. 5
T1 (Biol 5%)	2	2	3	4	4
T2 (Biol 10%)	2	2	3	3	4
T3 (Biol 15%)	1	2	3	3	3
T4 (Biol 25%)	1	2	2	2	2
Testigo enfermo	2	3	3	3	4
Testigo Sano	0	0	0	0	0

En el testigo enfermo el valor inicial de severidad observado con mayor frecuencia fue dos (2) y al final

de la evaluación cuatro (4). Entonces los síntomas más frecuentes al inicio fueron aclaramiento y bandeado de nervaduras moderados, para finalizar en síntomas muy severos con deformación foliar y ampollamiento severos. Por otro lado el comportamiento de los demás tratamientos (3,2 y 1) fue muy similar entre sí.

3.2.3. Análisis de correlación. Los resultados del análisis de correlación se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8. Análisis de correlación de las variables.

Correlación	r ^a	Valor p
I.S vs Longitud	-0.42 *	<0.0001
I.S vs Número de hojas	-0.6 *	<0.0001
Dosis Biol vs I.S	-0.85 *	<0.0001
Longitud vs Número de hojas	0.24 *	0.0037
Longitud vs Dosis de biol	0.31 *	<0.0001
Dosis de biol vs número de hojas	0.66 *	<0.0001

a. Coeficiente de correlación de Pearson.

* Correlación estadísticamente significativa al 5% de probabilidad

El análisis de correlación, evidenció las siguientes correlaciones (Tabla 7). El índice de severidad está correlacionado negativamente con las variables longitud ($r = -0.42$) y número de hojas por planta ($r = -0.6$); los coeficientes de correlación son estadísticamente significativos al 5%. Esto indica que la severidad de los síntomas producidos, influye negativamente en el crecimiento de la planta.

La dosis de los bioles está correlacionada positivamente con el número de hojas ($r = 0.66$) y la longitud de las plantas ($r = 0.31$); lo que indica que las dosis de bioles influyen en un incremento en el número de hojas por planta y en su longitud, a pesar de estar infectadas con SqMV.

Por el contrario, la dosis del biol presentó una alta correlación negativa (estadísticamente significativa) con el índice de severidad ($r = -0.85$), lo que sugiere una disminución de la severidad de los síntomas observados al aumentar la dosis del biol.

Todos los coeficientes de correlación resultaron significativos al 5% de probabilidad.

Los resultados obtenidos en esta investigación indican que la aplicación foliar de biol en dosis del 25%, producen una mejora significativa en el crecimiento y favoreció la disminución en la severidad de síntomas en plantas infectadas por SqMV durante la etapa vegetativa, bajo condiciones de invernadero. Aunque numerosos estudios han demostrado la capacidad estimuladora de los bioles sobre el crecimiento vegetal [21], [23], [25], [26], no se han realizado investigaciones previas con el propósito de evaluar el efecto de los bioles de producción local sobre el crecimiento de plantas enfermas por virus.

Además se evidencia la disminución estadísticamente significativa (26%), del índice de severidad respecto al testigo enfermo; aunque el porcentaje de esta disminución podría considerarse

leve o moderado, es muy importante conocer que es posible disminuir el índice de severidad de la infección viral mediante la aplicación de bioles. No existen referencias de estudios similares hasta el momento.

El incremento en longitud y la disminución en la severidad de síntomas, se los puede relacionar con el efecto estimulador de crecimiento del biol debido a su composición rica en hormonas vegetales y micronutrientes [11], [12]. La figura 2 muestra gráficamente la intensidad de síntomas observada en los diferentes tratamientos luego de 35 días post inoculación.



Figura 2. Intensidad de síntomas observados en plantas de melón infectadas con SqMV y tratadas con distintas dosis de biol, 35 ddi. A. Testigo Sano (Plantas sin inocular y sin aplicación de biol); B. Testigo Enfermo (Plantas inoculadas sin aplicación de bioles); C, D, E y F: plantas infectadas con aplicaciones foliares de bioles a diferentes dosis: C: 5% (Tratamiento 1); D: 10% (Tratamiento 2); E: 15% (Tratamiento 3) y F: 25% (Tratamiento 4).

La disminución estadísticamente significativa del índice de severidad en plantas infectadas tratadas con respecto al testigo enfermo, constituye un resultado de mucho interés por sus implicaciones prácticas, constituyendo la primera evidencia del efecto positivo de los bioles de producción local sobre la expresión de la enfermedad viral, no registrado hasta el momento.

4. Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos es posible enunciarlas siguientes conclusiones:

Se comprobó la presencia de SqMV en las muestras de melón evaluadas y se estandarizó el método para la inoculación y mantenimiento del aislamiento viral. El estado fenológico ideal de las plantas para la inoculación del virus, fue de 8-10 días después del trasplante.

La aplicación foliar de biol en dosis al 25% (v:v), con una frecuencia de aplicación semanal en plantas

infectadas por SqMV, promueve el crecimiento, favorece la emisión foliar y reduce en un 26% la severidad de los síntomas causados por el virus del mosaico de la calabaza en plantas de melón.

5. Agradecimientos.

Agradecimientos especiales al CICYT y sus directivos por apoyar en el financiamiento de este proyecto de investigación, al CIBE (Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador), por haber ofrecido sus instalaciones de laboratorios e invernadero, además por haber provisto los materiales y los equipos necesarios.

6. Referencias.

- [1] Caciagli, P. 2009. "Vegetable Viruses," en *Plant and Fungal Virology*, Mahy, B. & Van Regenmortel, M. Eds. Academic Press, pp. 479-487.
- [2] Loebenstein, G. 2009. "Plant Virus Diseases: Economic Aspects," en *Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology*, Elsevier, Mahy, B. & Van Regenmortel, M. Eds. Academic Press, pp. 171-176.
- [3] Loebenstein, G., Thottappilly, G. 2004. "Virus and Virus-like Diseases of Major Crops in Developing Countries". The Netherlands: Kluwer Academic, p. 840.
- [4] Fereres. A. 2009. *Plant Virus Epidemiology: controlling epidemics of emerging and established plant viruses - the way forward*. Preface. *Virus research*, 141, 111-2.
- [5] El Diario, "El virus anónimo sigue destruyendo cultivos", El Diario, 2007. [Recurso Online]. Disponible en: <http://www.eldiario.com.ec/noticias-manabi-ecuador/41725-el-virus-anonimo-sigue-destruyendo-cultivos/>. [Accesado: 2011].
- [6] Hull, R. 2009. "Plant Viruses in agriculture and Industry - Conventional Control," en *Comparative Plant Virology*, Hull, R., Elsevier, pp. 269-284.
- [7] Espinoza Lozano, L., Peralta, E., Paredes Montero, J.R. & Alvarez, R. 2011. Determinación de Géneros y Especies Virales que se encuentran afectando a las Cucurbitáceas en la Zona de Pedro Carbo, Provincia del Guayas. *Revista Tecnológica-ESPOL*, 23, p. 33-40.
- [8] Rathinam, X., Kota, R. & Thiyagar, N. 2005. "Farmers and formulations--rural health perspective". *The Medical journal of Malaysia*, vol. 60(1). pp. 118-24.
- [9] Zitter, T. A., Hopkins, D. & Thomas, C., 2004. "Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas". Madrid: Mundi-Prensa, p. 88.
- [10] Chávez, E., León, R., Ruíz, O., Averos, C. & Peralta, E. 2011. "Aplicación de biofertilizantes líquidos de producción local y su efecto en la rehabilitación de plantaciones de cacao fino y de aroma". *Memorias del I Congreso Binacional de Investigación en Ciencia y Tecnología de las Universidades del Norte del Perú y del Sur de Ecuador*. Universidad Nacional de Piura-UNP. pp. 6
- [11] Manzano, P., Chóez, I., Ayllón, M., Orellana-Manzano, Peralta, E. 2010. "Determinación de fitohormonas en enmiendas orgánicas líquidas (bioles)," en *XIX Reunión Internacional ACORBAT*, no. 1, p. 580.
- [12] Aparcana S., Jansen, A. 2008. "Estudio sobre el Valor Fertilizante de los Productos del Proceso 'Fermentación Anaeróbica' para Producción de Biogás," *German ProfEC, GmbH*. pp. 1-10.
- [13] Orellana, T, Manzano P, Chávez, E, Ruíz, O, León R, Orellana, A y Peralta, E., 2011, "Caracterización de los parámetros Físico - Químicos en el proceso de fermentación y maduración artesanal de Bioles. *Memorias del I Congreso Binacional de Investigación en Ciencia y Tecnología de las Universidades del Norte del Perú y del Sur de Ecuador*. Universidad Nacional de Piura-UNP. (En prensa).
- [14] Zehnder, G., C, Yao., J, Murphy., E, Sikora., J, Kloepper. & D, Schuster. 1999. "Microbe-induced resistance against pathogens and herbivores: evidence of effectiveness in agriculture," *Induced Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores: Biochemistry, Ecology, and Agriculture*. Agrawal, A., Tuzun, S., & E. Bent, eds. *American Phytopathological Society*, St. Paul, MN, pp. 335-355.
- [15] Murphy, J. F., Zehnder, G. W., Schuster, D. J., Sikora, E. J. Polston, J. E & Kloepper, J. W. 2000. "Plant Growth-Promoting Rhizobacterial Mediated Protection in Tomato Against Tomato mottle virus," *Plant Disease*, vol. 84, no. 7, pp. 779-784.
- [16] Wang, S., 2009. "Molecular Mechanism of Plant Growth Promotion and Induced Systemic Resistance to Tobacco Mosaic Virus by *Bacillus* spp.," *Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 19, no. 10, pp. 1250-1258.
- [17] Santner, A., Calderon-Villalobos, L. & Estelle, M. 2009. "Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth.," *Nature chemical biology*, vol. 5(5) pp. 301-7.
- [18] Bari R. & Jones., J. 2009. "Role of plant hormones in plant defence responses.," *Plant molecular biology*, vol. 69 (4) pp. 473-88.
- [19] Hull, R. 2002. "Matthews' plant virology", Fourth Edition. Norwich: Elsevier Academic Press. p.1056
- [20] Agrios, G. 2005. "Plant Pathology", Fifth Edition. Amsterdam: Academic Press, p. 952.

- [21] Argüello, D. 2010. "Comparación de la Acción de Diferentes Dosis de Biofertilizantes Líquidos (biol) sobre el Crecimiento de Mangle en Condiciones de Vivero," Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica del Litoral. p. 101. Disponible en: <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/5338>
- [22] Santamaría, D. 2009. "Evaluación microbiana, hormonal y nutricional de ocho formulaciones en la preparación de biol y su aplicación en tres dosis en el cultivo de palmito (*Bactris Gasipaes HBK*).", Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica del Ejército. p. 162. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/2595>
- [23] Wong M., Jimenez, E. 2009. "Comparación Del Efecto De 2 Biofertilizantes Líquidos A Base De Estiércol Caprino Y Vacuno Sobre Parámetros De Crecimiento De Algarrobo (*Prosopis Juliflora* (Sw.) Dc.) En Fase De Vivero. Artículo de Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica del Litoral p. 7. Disponible en: <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/509>
- [24] Basantes, D. 2010. "Elaboración y aplicación de dos tipos de Biol en el cultivo de brócoli (*Brassicaoleraceavar. legacy*)," Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. p. 123. Disponible en: <http://dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/352???help.index???>
- [25] Pino, C. 2009. "Determinación De La Mejor Dosis De Biol En El Cultivo De (*Musa Sapientum*) Banano, Como Alternativa A La Fertilización Foliar Química,". Escuela Superior Politécnica del Litoral. Tesis de grado p. 11. Disponible en: <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/1739>
- [26] Baldeón, P. 2009. "Efecto de la aplicación de biol activado y silicio en la calidad del cultivo de alcachofa (*Cynaras colymus* L.) en Latacunga, Ecuador,". Tesis de Grado. Zamorano, Honduras. p. 25. Disponible en: http://zamo-oti-02.zamorano.edu/tesis_infolib/2009/T2732.pdf
- [27] Chávez, E. 2009. "Determinación de la calidad de biofertilizantes líquidos y estudio del potencial para la inhibición de *Mycosphaerella fijiensis Morelet* en condiciones controladas y como alternativa en el manejo de sigatoka negra en sistemas de producción orgánica" Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica del Litoral. p. 126. Disponible en: <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/11340>
- [28] Magdama, F. 2010. "Estudio del efecto de Bioles y cepas de *Trichoderma* sp. aisladas de zonas cacaoteras, como alternativas de control de *Moniliophthora roleri*, en condiciones in vitro,". Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica del Litoral. p. 102. Disponible en: <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/11929>
- [29] Magdama, F., Maridueña, MG., Villavicencio M., Peralta, E. 2011. "Bioles con propiedades fungicidas y su uso en el control de la moniliasis" Memorias del I Congreso Binacional de Investigación en Ciencia y Tecnología de las Universidades del Norte del Perú y del Sur de Ecuador. Universidad Nacional de Piura-UNP. pp.3
- [30] Quito, D. 2009. "Estudio comparativo de dos biofertilizantes líquidos en condiciones in vitro e invernadero en plantas de banano y su efecto en el desarrollo de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis Morelet*).", Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica del Litoral. p. 150. Disponible en: <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/13330>
- [31] Milán, J.J. 2011. "Determinación de la actividad in vitro de bioles locales sobre el desarrollo de las especies fitopatógenas *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*". Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica del Litoral. p.68.
- [32] Lecoq, H. 2003. "Cucurbits," in *Virus and virus-like diseases of major crops in developing countries*, G. Loebenstein and G. Thottappilly, Eds. Springer, pp. 655-688.
- [33] Lecoq, H., Wisler, G. & Pitrat, 1998. M. "Cucurbit viruses: the classics and the emerging," en *Cucurbitaceae*, vol. 98, pp. 126-142.
- [34] Browning, I. 2009. "Bioassay for Diagnosis of Plant Viruses," en *Plant Pathology Techniques and Protocols*, R. Burns, Ed. Humana Press, pp. 1-15
- [35] Sanchez, L.R., Sironi, J.S., Crespo, J., Pellicer, C., López, M. 1998. "Crecimiento y absorción de nutrientes del melón bajo invernadero," *Investigación Agraria Producción Protección Vegetales*, vol. 13, no. 1-2, pp. 111-120.
- [36] CIBA-GEIGY.1981. Manual para Ensayos de Campo en Protección Vegetal. Segunda edición, revisada y ampliada. División Agricultura, CIBA-GEIGY. Basilea, Suiza. p. 205.
- [37] Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Casanoves F., Di Rienzo J.A., Robledo C.W. 2008. Manual del Usuario, Editorial Brujas, Córdoba, Argentina. p. 336.
- [38] Milán, J.J. 2011. "Determinación de la actividad in vitro de bioles locales sobre el desarrollo de las especies fitopatógenas *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*". Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica del Litoral. p.68.