



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

DOCTORADO EN CIENCIAS AGRARIAS

**INTERACCIÓN DE *Azospirillum brasilense* (TARRAND,
KRIEG & DÖBEREINER) Y HONGOS MICORRÍCICOS
DEL SUELO EN *Helianthus tuberosus* L. Y *Smallanthus
sonchifolius* [(POEPPIG & ENDLICHER) H. ROBINSON]**

Ing. Agr. María Gabriela Di Barbaro

DIRECTOR: *Dra. Celia Inés Brandán de Weht*
CO-DIRECTOR: *Dr. Eleodoro Eduardo Del Valle*

2020

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO 1. Introducción general	1
I. ANTECEDENTES	3
I.1. LOS MICROORGANISMOS	3
I.1.1. La bacteria: <i>Azospirillum</i>	3
I.1.2. Los hongos micorrícicos	7
I.2. LOS CULTIVOS	11
I.2.1. El topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i> L.)	12
I.2.2. El yacón [<i>Smallanthus sonchifolius</i> (P. & E.) H. Robinson]	22
I.3. LAS INTERACCIONES	31
I.3.1. Interacción de topinambur y hongos micorrícicos	31
I.3.2. Interacción de yacón y hongos micorrícicos	31
I.3.3. Interacción de <i>Azospirillum</i> y hongos micorrícicos	32
I.3.4. Otras interacciones	34
II. HIPÓTESIS	35
II.1. HIPÒTESIS DE INVESTIGACIÓN	35
II.2. HIPOTESIS ESTADÍSTICA	35
III. OBJETIVOS	36
III.1. OBJETIVO GENERAL	36
III.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
IV. BIBLIOGRAFÍA	37
CAPÍTULO 2. Estudio de la existencia natural de simbiosis mutualista de topinambur y yacón con bacterias endorrizosféricas del género <i>Azospirillum</i>	60
RESUMEN	61
INTRODUCCIÓN	61
MATERIALES Y MÉTODOS	62
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	64
CONCLUSIÓN	65
BIBLIOGRAFÍA	65
CAPÍTULO 3. Caracterización de bacterias endorrizosféricas fijadoras libres del nitrógeno atmosférico	68

Aislamiento de bacterias fijadoras libres del nitrógeno atmosférico de la endorrizósfera de <i>Helianthus tuberosus</i> y de <i>Smallanthus sonchifolius</i>	69
RESUMEN	69
INTRODUCCIÓN	69
MATERIALES Y MÉTODOS	72
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	73
CONCLUSIÓN	76
BIBLIOGRAFÍA	76
CAPÍTULO 4. Estudio de dependencia micotrófica de topinambur y yacón	82
RESUMEN	83
INTRODUCCIÓN	83
Micorrizas arbusculares y hongos septados oscuros nativos en topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i> L.) en Catamarca, Argentina	84
RESUMEN	84
INTRODUCCIÓN	84
MATERIALES Y MÉTODOS	85
RESULTADOS	87
CONCLUSIONES	90
BIBLIOGRAFÍA	90
Micorrizas arbusculares y hongos septados oscuros nativos en yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) en Catamarca, Argentina	93
RESUMEN	93
INTRODUCCIÓN	93
MATERIALES Y MÉTODOS	96
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	98
CONCLUSIONES	103
BIBLIOGRAFÍA	103
CAPÍTULO 5. Asociaciones micorrícicas entre hongos nativos y plantas trampas	108
Asociaciones micorrícicas entre hongos nativos y plantas forrajeras cultivadas en el Valle Central de Catamarca, Argentina	109
RESUMEN	109
INTRODUCCIÓN	109
MATERIALES Y MÉTODOS	111

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	112
CONCLUSIONES	116
BIBLIOGRAFÍA	116
CAPÍTULO 6. Evaluación del efecto de <i>Azospirillum brasilense</i> y hongos micorrícicos del suelo en topinambur y yacón cultivados en Catamarca, Argentina	119
RESUMEN	120
INTRODUCCIÓN	120
MATERIALES Y MÉTODOS	124
Bioensayos para determinar interacciones entre <i>Azospirillum brasilense</i> , hongos micorrícicos en los cultivos de topinambur y yacón	124
1. Bioensayos en invernáculo	125
1.1. Bioensayos en invernáculo con suelo estéril	125
1.2. Bioensayos en invernáculo con suelo sin esterilizar	125
2. Bioensayos en campo	126
2.1. Bioensayo de topinambur y yacón en campo con evaluación al final del ciclo de los cultivos	126
2.2. Bioensayos de topinambur y yacón en campo con evaluación periódica del ciclo de los cultivos	126
RESULTADOS	126
1. Bioensayos en invernáculo	126
1.1. Bioensayos en invernáculo con suelo estéril	126
1.1.1. Experimentos con evaluación al final del ciclo de los cultivos	127
1.1.2. Experimentos con evaluación durante el ciclo de los cultivos	133
1.2. Bioensayos en invernáculo con suelo sin esterilizar	140
1.2.1. Experimentos con evaluación al final del ciclo de los cultivos	140
1.2.2. Experimentos con evaluación durante el ciclo de los cultivos	146
2. Bioensayos en campo	154
2.1. Bioensayos en campo con evaluación al final del ciclo de los cultivos	154
2.2. Bioensayos en campo con evaluación periódica durante el ciclo de los cultivos	161
DISCUSIÓN	173
CONCLUSIONES	175
BIBLIOGRAFÍA	175

CAPÍTULO 7. Actividad biológica de suelos cultivados con topinambur y yacón, inoculados con <i>Azospirillum brasilense</i> y hongos micorrícicos nativos	182
RESUMEN	183
INTRODUCCIÓN	183
MATERIALES Y MÉTODOS	185
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	187
CONCLUSIÓN	190
BIBLIOGRAFÍA	190
DISCUSIÓN GENERAL	195
CONCLUSIÓN GENERAL	200
BIBLIOGRAFÍA	201
ANEXO	203

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Taxonomía de <i>Helianthus tuberosus</i>	12
Tabla 2.	Taxonomía de <i>Smallanthus sonchifolius</i>	22
Tabla 3.	Caracterización e identificación molecular de los diferentes aislados de bacterias fijadoras de N obtenidos de la endorrizósfera de cultivos de topinambur y yacón	74
Tabla 4.	Colonización fúngica en especies forrajeras del Valle Central de Catamarca	113
Tabla 5.	Comparación de parámetros agronómicos de 7 meses de producción en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> de topinambur (número, peso fresco, peso seco, porcentaje de materia seca y altura de tallos). (Experimento I: plantación en invierno; Experimento II: plantación en primavera).	128
Tabla 6.	Comparación de parámetros agronómicos de 7 meses de producción en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> de yacón (número, peso fresco, peso seco, porcentaje de materia seca y altura de tallos). (Experimento I y II: plantación en verano).	128
Tabla 7.	Comparación de parámetros agronómicos de 7 meses de producción en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> de topinambur (número, peso fresco, peso seco, porcentaje de materia seca, peso promedio y rendimiento de tubérculos). (Experimento I: plantación en invierno; Experimento II: plantación en primavera).	129
Tabla 8.	Comparación de parámetros agronómicos de 7 meses de producción en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> de yacón (número, peso fresco, peso seco, porcentaje de materia seca, peso promedio y rendimiento de tubérculos). (Experimento I y II: plantación en verano).	130
Tabla 9.	Comparación de parámetros agronómicos de 7 meses de producción en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> de topinambur (índice de área foliar, peso fresco, peso seco y porcentaje de materia seca de hojas y raíces). (Experimento I: plantación en invierno; Experimento II: plantación en primavera).	131
Tabla 10.	Comparación de los parámetros agronómicos de 7 meses de producción en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> de yacón (índice de área foliar, peso	

	fresco, peso seco y porcentaje de materia seca de hojas y raíces). (Experimento I y II: plantación en verano).	131
Tabla 11.	Comparación de parámetros agronómicos de 7 meses de producción en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> de topinambur (peso fresco, peso seco y porcentaje de masa seca de plantas enteras). (Experimento I: plantación en invierno; Experimento II: plantación en primavera).	132
Tabla 12.	Comparación de los parámetros agronómicos en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> de yacón (peso fresco, peso seco y porcentaje de masa seca de plantas enteras). (Experimento I y II: plantación en verano).	132
Tabla 13.	Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (altura, número, peso fresco, peso seco y materia seca de tallos) producidos en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> .	134
Tabla 14.	Comparación de parámetros agronómicos de yacón (altura, número, peso fresco, peso seco y materia seca de tallos) producidos en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> .	134
Tabla 15.	Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (índice de área foliar, peso fresco, peso seco y materia seca de hojas) producidos en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> .	135
Tabla 16.	Comparación de parámetros agronómicos de yacón (índice de área foliar, peso fresco, peso seco y materia seca de hojas) producidos en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> .	135
Tabla 17.	Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco, materia seca, cantidad, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> .	136
Tabla 18.	Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco, materia seca, cantidad, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> .	137
Tabla 19.	Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> .	138
Tabla 20.	Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> .	138

Tabla 21. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de propágulos) producidos en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> .	139
Tabla 22. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de planta completa) producidos en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> .	139
Tabla 23. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de planta completa) producidos en <i>Invernáculo con suelo estéril</i> .	140
Tabla 24. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (número, peso fresco, peso seco, materia seca y altura de tallos) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> . (Experimento I:7 meses de plantación; Experimento II:3 meses de plantación).	141
Tabla 25. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (número, peso fresco, peso seco, materia seca y altura de tallos) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> . (Experimento I y II: 7 meses de plantación).	141
Tabla 26. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (número, peso fresco, peso seco, materia seca, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> . (Experimento I: 7 meses de plantación; Experimento II: 3 meses de plantación).	143
Tabla 27. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (número, peso fresco, peso seco, materia seca, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> . (Experimento I y II: 7 meses de plantación).	143
Tabla 28. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (índice de área foliar, peso fresco, peso seco y materia seca de hojas y raíces) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> . (Experimento I: 7 meses de plantación; Experimento II: 3 meses de plantación).	144
Tabla 29. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (índice de área foliar, peso fresco, peso seco y materia seca de hojas, propágulos y raíces) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> . (Experimento I y II: 7 meses de plantación).	144

Tabla 30. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y masa seca de plantas enteras) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> . (Experimento I: 7 meses de plantación; Experimento II: 3 meses de plantación).	145
Tabla 31. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y masa seca de plantas enteras) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> . (Experimento I y II: 7 meses de plantación).	146
Tabla 32. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (altura, número, peso fresco, peso seco y materia seca de tallos) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> .	147
Tabla 33. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (altura, número, materia seca, peso fresco y seco de tallos) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> .	147
Tabla 34. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco, materia seca, número, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> .	148
Tabla 35. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco, materia seca, número, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> .	149
Tabla 36. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de propágulos) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> .	150
Tabla 37. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de hojas, e índice de área foliar,) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> .	151
Tabla 38. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco y seco, materia seca de hojas e índice de área foliar) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> .	151
Tabla 39. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> .	152
Tabla 40. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> .	152

Tabla 41. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de planta entera) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> .	153
Tabla 42. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de planta completa) producidos en <i>Invernáculo con suelo sin esterilizar</i> .	153
Tabla 43. Comparación de altura de plantas de topinambur y yacón producidos <i>en campo</i> según tratamientos. Evaluación al final del ciclo de los cultivos.	155
Tabla 44. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur y yacón (número, peso fresco, peso seco, materia seca y rendimiento de tubérculos) producidos <i>en campo</i> . Evaluación al final del ciclo de los cultivos.	157
Tabla 45. Comparación de peso promedio, mínimo y máximo de tubérculos de topinambur y de yacón según tratamientos producidos <i>en campo</i> . Evaluación al final del ciclo de los cultivos.	158
Tabla 46. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur y yacón (número, peso fresco, peso seco, materia seca de tallos aéreos) producidos <i>en campo</i> . Evaluación al final del ciclo.	158
Tabla 47. Comparación de parámetros agronómicos en topinambur y yacón (peso fresco, peso seco, materia seca de raíces) producidos <i>en campo</i> . Evaluación al final del ciclo de los cultivos.	159
Tabla 48. Comparación de parámetros agronómicos en yacón (peso fresco, peso seco y cantidad de propágulos) producidos <i>en campo</i> . Evaluación al final del ciclo de los cultivos.	160
Tabla 49. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur y yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de plantas completas) producidos <i>en campo</i> . Evaluación al final del ciclo de los cultivos.	161
Tabla 50. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (altura, cantidad, materia seca, peso fresco y seco de tallos) producido en <i>campo del Departamento Valle Viejo</i> .	162
Tabla 51. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (altura, cantidad, materia seca, peso fresco y seco de tallos) producido en <i>campo de Miraflores</i> .	163

Tabla 52. Comparación de los parámetros agronómicos de yacón (altura, cantidad, peso fresco, peso seco y materia seca de tallos) producidos en <i>campo de Valle Viejo</i> .	163
Tabla 53. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco y seco, materia seca, cantidad, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en <i>campo de Valle Viejo</i> .	165
Tabla 54. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco y seco, materia seca, cantidad, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en <i>campo de Miraflores</i> .	166
Tabla 55. Comparación de los parámetros agronómicos de yacón (peso fresco y seco, materia seca, cantidad y rendimiento de tubérculos) producidos en <i>campo de Valle Viejo</i> .	167
Tabla 56. Comparación de los parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de propágulos) producidos en <i>campo de Valle Viejo</i> .	168
Tabla 57. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco, materia seca de hojas e índice de área foliar) producidos en <i>campo de Valle Viejo</i> .	169
Tabla 58. Comparación de los parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco, materia seca de hojas e índice de área foliar) producidos en <i>campo de Miraflores</i> .	169
Tabla 59. Comparación de los parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco, materia seca de hojas e índice de área foliar) producidos en <i>campo de Valle Viejo</i> .	170
Tabla 60. Comparación de los parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en <i>campo de Valle Viejo</i> .	170
Tabla 61. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en <i>campo de Miraflores</i> .	171
Tabla 62. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en <i>campo de Valle Viejo</i> .	171

Tabla 63. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de planta completa) producidos en <i>campo de Valle Viejo</i> .	172
Tabla 64. Comparación de los parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de planta completa) producidos en <i>campo de Miraflores</i> .	172
Tabla 65. Comparación de los parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de planta completa) producidos en <i>campo de Valle Viejo</i> .	173
Tabla 66. Actividad Biológica Total por Hidrólisis del FDA en suelos cultivados con topinambur en cuatro ciclos del cultivo en la provincia de Catamarca.	189
Tabla 67. Actividad Biológica Total por Hidrólisis del FDA en suelos cultivados con yacón en tres ciclos del cultivo en la provincia de Catamarca.	189
Tabla 68. Características físicas, químicas y microbiológicas de suelos de Miraflores (M N° 1 y 2) y de Valle Viejo (M N° 3 y 4).	210

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fenología del cultivo de topinambur (<i>H. tuberosus</i>)	18
Figura 2. Fenología del cultivo de yacón (<i>S. sonchifolius</i>)	27
Figura 3. Protocolo de aislamiento de bacterias del género <i>Azospirillum</i> (Tarrand <i>et al.</i> , 1978; Döbereiner <i>et al.</i> , 1995)	63
Figura 4. Aislamientos a partir de raicillas de topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i>)	64
Figura 5. Aislamientos a partir de raicillas de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	65
Figura 6. Aislamiento y caracterización de FLN endorrizosféricos de topinambur y yacón	72
Figura 7. Colonias de bacterias fijadoras libre de nitrógeno de la endorrizósfera de topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i>) y de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	73
Figura 8. Microfotografías de bacterias FLN de la endorrizósfera de topinambur (A: Preparado en fresco) y de yacón (B: Coloración de Gram Nicolle). (A:100x)	75
Figura 9. Técnica de clareo para la observación de estructuras de micorrizas en raíces de Topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i> L.)	86
Figura 10. Raicillas de Topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i> L.) sobre cuadrícula de portaobjeto para determinar el grado de colonización micorrícica por el método de intersección de línea de Giovannetti y Mosse (1980)	86
Figura 11. Micrografías de estructuras de micorrizas en raíces de topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i> L.) a: arbuscúlos; h: hifas; v: vesículas	87
Figura 12. Micrografías (40x) de vesículas de diversas formas en la misma raicilla de topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i> L.)	87
Figura 13. Hifas melanizadas (h) y microesclerocios (m) del tipo de hongos endófitos septados oscuros (ESO) en raicillas de topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i> L.). Aumento de (40x)	88
Figura 14. Vesículas (v) y microesclerocios (m) del tipo de hongos endófitos septados oscuros (ESO) en raicillas de topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i> L.). Aumento de (40x)	89
Figura 15. A: Ejemplares de yacón. B: Clarificación de raicillas de yacón. C: Determinación del grado de colonización micorrícica por el método de	

intersección de línea (Giovanetti y Mosse, 1980; Mc Gonigle <i>et al.</i> , 1990)	97
Figura 16. Micrografías de estructuras de micorrizas en raíces de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>). a: arbuscúlos; h: hifas; v: vesículas	99
Figura 17. Micrografías de vesículas de micorrizas en raíces de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	99
Figura 18. Micrografías de arbuscúlos de micorrizas en raíces de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	100
Figura 19. Hifas melanizadas (h) y microesclerocios (m) del tipo de hongos endófitos septados oscuros (ESO) en raicillas de yacón	100
Figura 20. Hifas de endófitos septados oscuros dentro de una raíz de yacón. Numerosos cuerpos lipídicos están presentes en las hifas	100
Figura 21. Vesículas (v), arbuscúlos (a) y microesclerocios (m) del tipo hongos endófitos septados oscuros (ESO) en raicillas de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>). (A: 40x)	102
Figura 22. Vista de la superficie de la raíz de yacón que muestra el desarrollo de una cubierta de hifas en forma de manto y bobinas de hifas	102
Figura 23. Microfotografías de estructuras de micorrizas en raíces de especies forrajeras. (A: Trébol; B: Cebada; C: Centeno). (a: Arbuscúlo; h: hifa; v: Vesícula)	114
Figura 24. Microfotografías de estructuras de micorrizas en raíces de especies forrajeras. (D: Avena; E: Buffel Grass y F: Gatton Panic). (a: Arbuscúlo; h: hifa; v: Vesícula)	114
Figura 25. Microfotografías de estructuras de hongos septados oscuros en raíces de especies forrajeras. (A: Trébol; B: Cebada; C: Centeno; D: Avena; E: Buffel Grass y F: Gatton Panic). (m: Microesclerocios; h: hifa). (Aumento: 40x)	115
Figura 26. Análisis de actividad biológica total por hidrólisis del diacetato de fluoresceína	186
Figura 27. Análisis de genético del aislamiento Topi 1, bacteria FLN de la endorizósfera de topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i>)	203
Figura 28. Análisis de genético del aislamiento Topi 3, bacteria FLN de la endorizósfera de topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i>)	204

Figura 29. Análisis de genético del aislamiento Ya 3, bacteria FLN de la endorizósfera de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	205
Figura 30. Análisis de genético del aislamiento Ya11, bacteria FLN de la endorizósfera de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	206
Figura 31. Análisis de genético del aislamiento YaMi, bacteria FLN de la endorizósfera de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	207
Figura 32. Cultivos trampa de hongos formadores de micorrizas	208
Figura 33. Técnica de clareo para la observación de estructuras de micorrizas en raíces de especies forrajeras.	208
Figura 34. Análisis de genético de cepa Pi 8 de <i>Azospirillum brasilense</i>	209
Figura 35. Ensayos de topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i>) en invernáculo	211
Figura 36. Ensayos de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) en invernáculo	211
Figura 37. Ensayos de topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i>) en campo	212
Figura 38. Ensayos de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) en campo (Dpto. Valle Viejo, Catamarca)	212
Figura 39. Evaluación de ejemplares maduros de topinambur (<i>H. tuberosus</i>).	213
Figura 40. Evaluación de ejemplares en floración de topinambur (<i>H. tuberosus</i>).	214
Figura 41. Ejemplares de yacón (<i>S. sonchifolius</i>) en fase de crecimiento vegetativo y propágulos.	215
Figura 42. Ejemplares maduros de yacón (<i>S. sonchifolius</i>).	215
Figura 43. Lote de cultivo de topinambur (<i>H. tuberosus</i>) en la localidad de Miraflores, Dpto. Capayán, Provincia de Catamarca	216

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

[C]: Concentración	FAV: Frecuencia de Aparición de Vesículas
>: Mayor	FBN: Fijación Biológica de Nitrógeno
°C: Grado Centígrado o Grado Celsius	FDA: Diacetato de fluoresceína
16S rRNA: ARN ribosomal 16S	Fe: Hierro
3-CQA: 3-0-ácido cafeicoilquinico	FLN: Fijación Libre de Nitrógeno
a: Arbúsculo	FOS: Fructooligosacáridos
A: Arbúsculos	G (-): Gram negativo
A°: Absorbancia	g: Gramo
ABT: Actividad Biológica Total	h: Hifa
ADN: Ácido desoxirribonucleico	H₀: Hipótesis nula
ANAVA: Análisis de varianza	H₁: Hipótesis alternativa
atm.: Atmosfera	ha: Hectárea
Azosp.+Mico.: <i>Azospirillum brasilense</i>	HM: Hongos Micorrícicos
más hongos micorrícicos	HMA: Hongos Micorrícicos Arbusculares
Ca: Calcio	HMVA: Hongos Micorrícicos Vesículo Arbusculares
Cd: Cadmio	IAF: Índice de Área Foliar
Cl₂ Hg: Bicloruro de mercurio	INASE: Instituto Nacional de Semillas
cm: Centímetro	K: Potasio
CM: Colonización Micorrícica	kg de K.ha⁻¹: Kilogramos de potasio por hectárea
CO₂: Dióxido de carbono	kg de N.ha⁻¹: Kilogramos de nitrógeno por hectárea
Dpto.: Departamento	kg.ha⁻¹: kilogramo por hectárea
ECM: Ectomicorizas	kg: Kilogramo
ESO: Endófitos Septados Oscuros	l: Litro
FAA: Frecuencia de Aparición de Arbúsculos	LO: Longitud Oeste
FAM: Frecuencia de Aparición de Microesclerocios	LS: Latitud Sur
FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura	LSD: Mínima diferencia significativa

m: Metro	PF: Peso Fresco
m: Microesclerocios	PGPR: Plant Growth Promoting Rizobacteria ó Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal.
MA: Micorrizas Arbusculares	pH: Potencial Hidrógeno
Mg: Magnesio	plantas.ha⁻¹: plantas por hectárea
M_{Giovannetti} (%): Porcentaje de infección micorrícica	PS: Peso Seco
mL: mililitro	RC: Medio de cultivo Rojo Congo
mm: Milímetro	Rdto.: Rendimiento
Mn: Manganeso	S: Sur
MPCV: Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal	SEF: Systemic Endophytic Fungi
MS (%): Porcentaje de Materia Seca	SI: Segmentos infectados
MS: Materia Seca	SIDA: Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida
msnm: Metros Sobre el Nivel del Mar	SO: Segmentos Observados
MVA: Micorrizas Vesículo Arbuscular	t.ha⁻¹: Tonelada por hectárea
N: Nitrógeno	t: Toneladas
N₂: Nitrógeno molecular o dinitrógeno	UFC: Unidades Formadoras de Colonias
NFb: Medio de cultivo libre de nitrógeno con azul de bromotimol	v: Vesícula
NH₃: Amoníaco	V: Vesícula
Ni: Níquel	var.: Variedad
Nro.: Número	VIH: Virus de Inmunodeficiencia Humana
P. Medio: Peso Medio	Zn: Zinc
P: Fósforo	µg: Microgramo
Pb: Plomo	
Pba. LSD: Prueba LSD	

INTERACCIÓN DE *Azospirillum brasilense* (TARRAND, KRIEG & DÖBEREINER) Y HONGOS MICORRÍCICOS DEL SUELO EN *Helianthus tuberosus* L. Y *Smallanthus sonchifolius* [(POEPPIG & ENDLICHER) H. ROBINSON]

RESUMEN

El objetivo general de esta tesis fue determinar la interacción de *Azospirillum brasilense* y hongos micorrícicos sobre *Helianthus tuberosus* (topinambur) y *Smallanthus sonchifolius* (yacón), por lo cual se realizaron estudios con enfoque sistémico, evaluando los elementos interrelacionados. Plantas de ambas especies fueron cultivadas para las investigaciones en el Valle Central de la Provincia de Catamarca y no se pudo determinar si existe naturalmente una simbiosis mutualista con bacterias autóctonas endorrizosféricas del género *Azospirillum*. Sin embargo, se pudieron establecer otras interacciones que ocurren naturalmente entre plantas de topinambur y yacón con bacterias endorrizosféricas fijadoras libres del nitrógeno atmosférico del género *Pseudomonas*. Se determinó la presencia de micorrizas en topinambur y yacón, interacciones que ocurren naturalmente con hongos nativos del suelo. Se describió y cuantificó la asociación micorrícica en seis especies forrajeras cultivadas en el Valle Central de Catamarca, las cuales se pueden considerar como plantas trampa y multiplicadoras de hongos micorrícicos. Mediante experimentos en invernáculo y en campo, se determinó que la coinoculación de *A. brasilense* y hongos micorrícicos nativos en el momento de la implantación de los cultivos de topinambur y yacón, mejoró el crecimiento de las plantas e incrementó su productividad. Lo que sugiere que se establecieron interacciones benéficas consistentes entre *A. brasilense* y hongos micorrícicos nativos sobre *H. tuberosus* y *S. sonchifolius*. Se determinó el potencial biotecnológico de los microorganismos estudiados para la formulación de biofertilizantes para cultivos de regiones áridas y semiáridas.

INTERACTION OF *Azospirillum brasilense* (TARRAND, KRIEG & DÖBEREINER) AND Mycorrhizal fungi of the soil in *Helianthus tuberosus* L. AND *Smallanthus sonchifolius* [(POEPPIG & ENDLICHER) H. ROBINSON]

ABSTRACT

The general objective of this thesis was to determine the interaction of *Azospirillum brasilense* and mycorrhizal fungi on *Helianthus tuberosus* (topinambur) and *Smallanthus sonchifolius* (yacón), for which studies with a systemic approach were carried out, evaluating the interrelated elements. Plants from both species were grown to conduct this research in the Central Valley of the Province of Catamarca and the possibility of a naturally occurring mutually beneficial symbiosis with native endorhizosphere bacteria of the genus *Azospirillum* could not be determined. However, other naturally occurring interactions between topinambur and yacón plants with endorhizosphere fixing bacteria free from the atmospheric nitrogen of the genus *Pseudomonas* could be established. The presence of mycorrhizae in topinambur and yacón plants was determined, interactions naturally occurring in native soil fungi. The mycorrhizal association was described and quantified in six forage species cultivated in the Central Valley of Catamarca, which can be considered trap plants and multipliers of mycorrhizal fungi. Through greenhouse and field experiments, it was determined that the coinoculation of *A. brasilense* and native mycorrhizal fungi at the time of implantation of topinambur and yacón crops, improved plant growth and increased their productivity. This suggests that consistent beneficial interactions between *A. brasilense* and native mycorrhizal fungi on *H. tuberosus* and *S. sonchifolius* were established. The biotechnological potential of the studied microorganisms for the formulation of biofertilizers for crops in arid and semi-arid regions was determined.

CAPÍTULO 1.

Introducción general

INTERACCIÓN DE *Azospirillum brasilense* (TARRAND, KRIEG & DÖBEREINER) Y HONGOS MICORRÍDICOS DEL SUELO EN *Helianthus tuberosus* L. Y *Smallanthus sonchifolius* [(POEPPIG & ENDLICHER) H. ROBINSON]

INTRODUCCIÓN GENERAL

El continuo incremento de la población mundial, la reducción progresiva de la superficie cultivable por causa del avance de las urbanizaciones, la erosión del suelo y la contaminación de los suelos por acumulación de productos tóxicos, son aspectos que hacen imprescindibles la aplicación de estrategias y biotecnologías con el objetivo de aumentar la productividad de los cultivos. Entre ellas, se destacan la utilización de nuevos cultivares de especies vegetales, variedades más productivas, mejor adaptadas al ambiente, con mayor resistencia a fitopatógenos y plagas; y el uso de microorganismos del suelo que promuevan el crecimiento de las plantas.

Debido al conocimiento de la contribución de los microorganismos del suelo en la promoción del crecimiento de las plantas, se considera de interés recurrir a la utilización de éstos en cultivos de importancia económica de la región. Entre estos microorganismos se encuentran las llamadas PGPR, rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas, que facilitan el crecimiento de los vegetales ya sea directamente por la provisión de nitrógeno, fósforo y minerales esenciales o por la biosíntesis y regulación de niveles hormonales, o indirectamente por la disminución de los efectos inhibidores de diversos fitopatógenos y el desarrollo en formas de agentes de control biológico. Todo esto por su capacidad de fijación biológica del nitrógeno atmosférico, el aumento de la actividad nitrato reductasa cuando crecen endofíticamente en las plantas, la producción de hormonas, tales como auxinas, citoquininas, giberelinas, de etileno y una variedad de otras moléculas, la solubilidad de fosfato, por favorecer a las asociaciones de micorrizas que son beneficiosas para las plantas y pueden actuar indirectamente en el crecimiento al proteger a las plantas de bacterias y hongos fitopátogenos del suelo (Perrig *et al.*, 2007; Cassán & Garcia Salamone, 2008; Reis Júnior *et al.*, 2008; Díaz-Zorita & Fernández-Caniggia, 2009; Hungria, 2011; Piccinin Gleberon *et al.*, 2013; Ahemad & Kibret, 2014).

Por ello, el tema de investigación tiene como principal objetivo contribuir al conocimiento de los cultivos de topinambur (*Helianthus tuberosus*) y yacón (*Smallanthus sonchifolius*) a fin de mejorar el crecimiento, desarrollo y producción por microorganismos del género *Azospirillum* y hongos micorrícicos para la nutrición y defensa de fitopatógenos mediante el aislamiento, selección, inoculación y evaluación de estos microorganismos del suelo como promotores del crecimiento de las plantas y la potencialidad de los mismos al ser incorporados en la actividad productiva. Este estudio tendrá la ventaja de contar con prácticas no contaminantes del ambiente y que al mismo tiempo se encuentren en equilibrio con las condiciones ecológicas de las regiones áridas y semiáridas propias de la provincia de Catamarca.

I. ANTECEDENTES

I.1. LOS MICROORGANISMOS

I.1.1. La bacteria: *Azospirillum*

Azospirillum es un género de bacterias que pertenece a la subclase alfa de las proteobacterias, identificándose a *Azospirillum lipoferum* como la especie tipo. Sus características típicas son: la forma vibrioide, el pleomorfismo y la movilidad en espiral. Contienen sus células cantidades elevadas, hasta el 50% del peso seco celular, de poli-beta-hidroxibutirato, observándose microscópicamente como gránulos refringentes en las células jóvenes. Los cultivos viejos presentan frecuentemente células refringentes de forma ovoide y paredes gruesas, semejantes a quistes (Caballero Mellado, 2002).

La utilización de microorganismos promotores del crecimiento vegetal ha sido investigada durante muchos años, siendo el género *Azospirillum* uno de los más destacados, debido fundamentalmente a su capacidad de producir una amplia gama de metabolitos activos tales como ácido indol acético, citoquininas, giberelinas y sideróforos (Caballero Mellado, 2002; Bashan *et al.*, 2007), que influyen positivamente sobre el crecimiento y desarrollo saludable de las plantas. Se lo considera al *Azospirillum sp.* como PGPRs, es decir “Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal” (por sus siglas en inglés que significa Plant Growth Promoting Rizobacteria) o “Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal” (MPCV), no específicos proporcionando variadas contribuciones a la mejora del crecimiento y la productividad en muchas especies de cultivos agrícolas (Díaz-Zorita & Fernández-Caniggia, 2009; Hungria, 2011; Pernasetti & Di Barbaro, 2012; Pereira *et al.*, 2020).

La práctica de la inoculación con bacterias rizosféricas puede aportar diferentes beneficios a los cultivos desde el momento de la germinación y en los estados de su desarrollo posterior (Di Barbaro *et al.*, 2012; Pernasetti & Di Barbaro, 2012). *Azospirillum*, es una rizobacteria considerada promotora del crecimiento vegetal por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, producir reguladores del crecimiento vegetal y el mayor desarrollo de raíces, lo cual puede implicar otros efectos tales como incrementos la mayor absorción de agua y nutrientes, mayor tolerancia al estrés, tales como salinidad y sequía, que resultan en una planta más vigorosa y productiva (Caballero Mellado, 2002; Bashan *et al.*, 2007; Hungria, 2011; Pereira *et al.*, 2020). Probablemente por el mayor crecimiento de raíces y una mejor nutrición de las plantas haya un aumento de la tolerancia a los agentes fitopatógenos (Correa *et al.*, 2008; Hungria, 2011; El_Komy *et al.*, 2020) y por mejorar la expresión génica de resistencia a la enfermedad de los genes relacionados con la defensa (Galindo *et al.*, 2019; Boyd Lade *et al.*, 2019).

Se conoce que esta bacteria, inoculada en semillas de cereales, aumenta el porcentaje de germinación y de biomasa (Bellone, 1997; Scott *et al.*, 2020), debido a que produce sustancias promotoras que estimulan el crecimiento radical, lo que permite que el potencial de absorción de nutrientes y agua se eleve, beneficio que, en el caso de cultivos de zonas áridas y semiáridas, constituye una ventaja aún mayor (Bashan *et al.*, 2007).

Díaz-Zorita y Fernández-Caniggia (2009) cuantificaron la productividad de trigo (*Triticum aestivum* L.) inoculado con *Azospirillum brasilense* (cepa INTA Az-39) en condiciones normales de cultivo de secano en localidades de la región pampeana Argentina, y determinaron que las plantas inoculadas mostraron un crecimiento vegetativo más vigoroso, con mayor número y rendimiento de granos. En Brasil, Piccinin Gleberon *et al.* (2013) experimentaron con inoculantes líquidos y de turba, y evaluaron la eficiencia de la inoculación de semillas con *A. brasilense* en el comportamiento agronómico y rendimiento de trigo. En el momento de la cosecha evaluaron el número de granos por espigas, peso de granos y rendimiento, y concluyeron que *A. brasilense* es eficiente en la fijación de nitrógeno y que el rendimiento está influenciado positivamente por la fertilización nitrogenada asociada con la inoculación, independientemente del tipo de inoculante.

Además de las investigaciones sobre la eficiencia de *Azospirillum* en la promoción del crecimiento de las plantas en diferentes condiciones de cultivo, se estudia también la

compatibilidad de su inoculación con otros microorganismos PGPR en diversos cultivos (Heidari & Golpayegani, 2012; García de Salamone *et al.*, 2012; Hungria *et al.*, 2013; Berquó Marks, 2013; Ali *et al.*, 2019; Pereira *et al.*, 2020), la influencia del genotipo de la planta, las sustancias generadas en las plantas inoculadas y su impacto sobre las comunidades microbianas del suelo (D'Angioli *et al.*, 2017; Mendez-Gomez *et al.*, 2020; Asghari *et al.*, 2020).

García de Salamone *et al.* (2012) midieron la respuesta de tres cultivares de arroz en condiciones de campo inoculados con una formulación comercial de *A. brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* y evaluaron mediante análisis moleculares la influencia sobre las comunidades microbianas del suelo; y concluyeron que la inoculación combinada con *A. brasilense* y *P. fluorescens* aumentó la producción de biomasa aérea y el rendimiento de grano en los tres cultivares de arroz y no generaron un impacto significativo sobre las comunidades microbianas del suelo.

Son numerosas las investigaciones de inoculaciones bipartitas con *Azospirillum* y rizobios sobre plantas leguminosas con el objetivo de estudiar una estrategia para mejorar la sostenibilidad de la producción agrícola e incluso ponen de relieve el potencial biotecnológico de metabolitos secundarios de rizobios junto con inoculantes que contienen rizobios y *A. brasilense* para mejorar el crecimiento y rendimiento de los cultivos de leguminosas y de cereales como el maíz (Hungría *et al.*, 2013; Berquó Marks, 2013; Moretti *et al.*, 2019; Naoe *et al.*, 2020).

También hay estudios que determinan que las variaciones genotípicas de la bacteria y *Azospirillum* no influye sobre su capacidad de promover el crecimiento de las plantas (Volfson *et al.*, 2013), como así también las variaciones fenotípicas de las colonias de diferentes cepas de *Azospirillum brasilense* en medios de cultivo (Reem Brenholtz *et al.*, 2017).

La combinación de la fertilización con nitrógeno y la inoculación con *Azospirillum* puede asegurar una mayor absorción de nutrientes y así aumentar el rendimiento de los cultivos. Ferreira *et al.* (2013) evaluaron la respuesta del cultivo de maíz a la inoculación con *A. brasilense* y la fertilización con macronutrientes y micronutrientes realizando experimentos en invernadero y en condiciones de campo, en suelos arcillosos y arenosos. Obtuvieron diferentes respuestas, desde aumentos significativos de los parámetros de crecimiento y rendimiento evaluados con la inoculación de *A. brasilense* en comparación

con el tratamiento control y fertilizados; mientras que en suelos arenosos y en condiciones de invernadero no hubo diferencias entre los tratamientos. Determinaron que la inoculación con *A. brasilense* dio un rendimiento comparable al tratamiento fertilizado; que la combinación de *A. brasilense* y fertilizante incrementó un 29 % la producción de granos; además concluyeron que la respuesta a la inoculación y la fertilización fue dependiente del tipo de suelo en condiciones de invernadero. Existen estudios sobre la aplicación en plantas para reforestación de la combinación de *A. brasilense* con residuo orgánico se obtenían mejores resultados en el crecimiento y establecimiento de las plantas y un efecto aditivo de mejora de la calidad bioquímica y microbiológica de los suelos, en comparación con la aplicación independiente del inóculo microbiano y el residuo orgánico (Schoebitz *et al.*, 2014). En esta línea de estudio, se determinó un ahorro de fertilizante nitrogenado con la inoculación con *A. brasilense* lo que hizo que sea una tecnología económicamente viable por la disminución de los fertilizantes químicos necesarios, lo cual mejoró el contenido de nitrógeno y contrarrestó los efectos de la salinidad y aumentaron la tolerancia a la salinidad de plantas (Alamri & Mostafa, 2009; Hungría, 2011; Haji Nia Somayeb *et al.*, 2012).

Algunas investigaciones dentro del campo de la biología molecular, tienen por objetivo determinar las sustancias generadas en plantas inoculadas con *A. brasilense*, se han logrado determinar proteínas que se acumulan solo en plántulas de maíz como respuesta a la inoculación (Cangahuala-Inocente *et al.*, 2013); como así también determinar las moléculas biosintetizadas por *A. brasilense* y de las que influyen en su comportamiento (Borisov *et al.*, 2009; Schelud'ko *et al.*, 2009; Boyko *et al.*, 2011; Cui *et al.*, 2011; Li Huamin *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2011; Romero Osorio, 2012; Santos *et al.*, 2017).

Larraburu *et al.* (2016) estudiaron los cambios en los niveles enzimáticos producidos durante la rizogénesis *in vitro* del lapacho rosado (*Handroanthus impetiginosus*) por la inoculación con *A. brasilense*, y determinaron el efecto significativo de la interacción triple entre la composición del medio de cultivo, la concentración de auxinas y la bacterización en las actividades de enzimas antioxidantes, y analizaron el papel de *A. brasilense* en el enraizamiento y el estrés *in vitro*. Las determinaciones bioquímicas realizadas en este estudio contribuyen a una mejor comprensión de cómo la inducción de auxinas, los medios de cultivo y la inoculación de PGPR afectan la fisiología de las plantas leñosas.

Líneas de investigación que se llevan a cabo actualmente tienen como objetivo estudiar la diversidad de nuevos aislados de *A. brasilense* y seleccionar bacterias de acuerdo con la capacidad de promoción del crecimiento de las plantas, desde nativas forrajeras (Souza *et al.*, 2017), cereales (Santos *et al.*, 2017; García *et al.*, 2017; Ribaud *et al.*, 2017; Alvarez *et al.*, 2019; dos Santos Júnior *et al.*, 2019; Galindo *et al.*, 2019; Skonieski *et al.*, 2019; Galindo *et al.*, 2020; Scott *et al.*, 2020), frutales (Koyama *et al.*, 2019), microplantas (Evseeva *et al.*, 2019), como así también la capacidad de promover el crecimiento de microalgas (Ramos-Ibarra *et al.*, 2019; Lopez *et al.*, 2019; Pagnussat *et al.*, 2020).

Otras de las líneas de trabajo estudian los mecanismos y moléculas involucradas en el establecimiento de la interacción planta-microorganismo. En estudios recientes de genética molecular mediante técnicas de inmunomicroscópica determinaron las proteínas de la superficie celular involucradas en el establecimiento de la interacción planta-*A. brasilense* (Shirokova *et al.*, 2017).

I.1.2. Los hongos micorrícicos

Las micorrizas son asociaciones mutualistas entre hongos del suelo y raíces de plantas superiores (Blanco & Salas, 1997; Brundrett, 2009). Como en otras relaciones simbióticas, ambos participantes obtienen beneficios. Estos hongos dependen de la planta para el suministro de energía, hidratos de carbono y vitaminas, que el hongo por sí mismo es incapaz de sintetizar mientras que la planta lo puede hacer gracias a la fotosíntesis y otras reacciones internas. A la vez ellas entregan a la planta nutrientes minerales, especialmente los poco móviles como fósforo y agua (Kirk, *et al.* 2001; Selosse *et al.*, 2006; Harrison, 2005; Wang & Qiu, 2006). Además, los hongos les imparten a las plantas otros beneficios como: estimulación de sustancias reguladoras de crecimiento, incremento de la tasa fotosintética, ajustes osmóticos cuando hay sequía, aumento de la fijación de nitrógeno por bacterias simbióticas o asociadas, incremento de resistencia a plagas y enfermedades, tolerancia a estrés ambiental, mejoramiento de la agregación del suelo y mediación en muchas interacciones de la microflora y microfauna que ocurren en rizósfera (Blanco & Salas, 1997). Es decir, que las asociaciones de micorrizas son el resultado de tres vías interactivas entre hongos micorrícicos, las plantas y el medio ambiente o condiciones del suelo donde prosperan (Sánchez de Prager, 2007; Brundrett, 2009).

Los factores que pueden influir en la aparición y la eficacia de las asociaciones de micorrizas incluyen: las propiedades de las raíces, los factores edáficos y climáticos, los organismos del suelo, la perturbación del suelo y la compatibilidad planta - hongo (Brundrett, 2009). Por lo que su estudio es complejo ya que implica a la planta, el medio ambiente y al hongo. Se debe conocer: fenología de las micorrizas, factores responsables de la mayor o menor dependencia micorrícica en las plantas hospederas (grados de micotrofia), el papel de las hifas en el suelo, la competencia por los nutrientes entre las plantas micorrizadas y no micorrizadas, y las interacciones micorrícicas que implican la contaminación y otros factores de estrés, la rizósfera, las propiedades del suelo y alelopatía (Brundrett, 2009).

Las micorrizas se han clasificado en base a su estructura, morfología y modo de infección (Blanco & Salas, 1997; Sánchez de Prager, 2007). Se reconocen al menos siete tipos diferentes de las asociaciones micorrícicas que implican distintos grupos de hongos y de plantas hospederas, y con diferentes patrones morfológicos (Peterson *et al.*, 2004; Brundrett, 2009). Las asociaciones más comunes son: micorrizas vesículo-arbusculares (MAV) en la que los hongos pertenecientes al *Phylum* Glomeromycota producen arbusculos, hifas y, algunos de ellos, vesículas inter e intracelulares en la corteza de la raíz; las ectomicorrizas (ECM) donde hongos pertenecientes a los *Phylum* Basidiomycota y Ascomycota forman una capa de hifas, más o menos compacta por encima de la superficie de la raíz, llamada manto, vaina o manguito y las hifas que penetran intercelularmente en las primeras capas de células radicales, forman lo que se conoce como red de Hartig (Peterson *et al.*, 2004). Las micorrizas Orquidioides o micorrizas de ovillo, se caracterizan por formar enrollamientos de hifas, llamados ovillos intracelulares y se distribuyen en el velamen (capa esponjosa de la raíz de estas especies vegetales epífitas y terrestres) en las plantas de la familia de las Orquidaceae (Peterson *et al.*, 2004; Sánchez de Prager, 2007). Las micorrizas ericoides penetran en las células y también forman ovillos de hifas en miembros de la familia de las Ericaceae; sus raíces se caracterizan por formar monocapas celulares en la epidermis, corteza, floema y xilema; no forman manto y se interconectan intercelularmente. Las micorrizas arbutoides forman un manto externo, una red de Hartig bien desarrollada e hifas que penetran en las células donde forman “rulos” de hifas enrolladas (Peterson *et al.*, 2004). Se presentan en plantas de los géneros *Arctostaphylos*, *Arbutus* y *Pyrola*, integrantes del orden Ericales. Generalmente los hongos que forman micorriza arbutoide son capaces de formar

ectomicorriza si interactúan con plantas del género *Pinus* (Peterson *et al.*, 2004). Por último, las micorrizas monotropoides se caracterizan por la forma de penetración de las hifas en forma recta o en ángulo de casi 90 grados respecto a la superficie de las raíces (Parniske, 2008; Brundrett, 2009; Andrade Torres, 2010).

Las micorrizas cumplen una función clave en la agricultura sostenible, ya que, si se quiere reducir el uso de agroquímicos por razones ambientales, de costos de producción y de salud, entonces es necesario restablecer los hongos micorrícicos y otros microorganismos benéficos, pero es fundamental un aprovechamiento óptimo y responsable de los microorganismos y otros pobladores del suelo (Blanco & Salas, 1997). La función clave de la micorriza radica en que su micelio intra y extra radical, constituye un enlace o puente entre las plantas y el suelo. Cuando se forma la micorriza se altera la fisiología y exudación de las raíces, lo que a su vez cambia la población microbiana circundante. No sólo contribuye a la nutrición de la planta al explorar un volumen de suelo mayor que el de la raíz sola, sino también a la nutrición del suelo, por cuanto incrementa la actividad microbiana (Blanco & Salas, 1997; Brundrett, 2009).

Las micorrizas tienen ventaja sobre la raíz no micorrizada porque el micelio externo se extiende a mayor distancia que los pelos radicales, lo que, desde el punto de vista nutricional, el beneficio es el mayor crecimiento de las plantas debido a un incremento en la absorción de fósforo cuando este elemento es limitante, cuando el P no es limitante el beneficio puede ser nulo o reducido, según el grado de dependencia micorrícica de la planta. Además, influye en forma directa o indirecta en la absorción de otros minerales (N, K, Ca, Mg, Fe, Mn) (Blanco & Salas, 1997; Brundrett, 2009).

Las plantas micotróficas tienen diferente grado de dependencia micorrícica. Las obligadas no pueden crecer sin micorriza aún en suelos fértiles; las facultativas se benefician incrementando el crecimiento cuando los niveles de P son bajos y pueden sobrevivir y crecer sin micorriza en condiciones de suelos fértiles (Blanco & Salas, 1997). Además, las micorrizas presentan diferencias interespecíficas de efectividad para absorber P y otros nutrientes y traslocarlos a la planta, y por ende conferir diferente beneficio fisiológico a la misma especie de planta (Blanco & Salas, 1997; Sánchez de Prager, 2007; Brundrett, 2009).

Los microorganismos del suelo presentan interacciones complejas que afectan la fertilidad del suelo y el desarrollo de las plantas. Los hongos micorrícicos además de su

efecto directo en la nutrición de las plantas inducen cambios fisiológicos que comprenden un aumento de la tasa fotosintética y redistribución del carbono fijado en mayor proporción hacia las raíces, lo cual ocasiona un notable aumento del carbono disponible para la actividad microbiana (Blanco & Salas, 1997). Se han comprobado efectos inhibitorios y estimulatorios de los procesos de germinación de esporas y crecimiento de los hongos micorrícicos por diferentes microorganismos del suelo (Blanco & Salas, 1997). Lombrices y nematodos tienen un efecto positivo en las poblaciones de hongos micorrícicos y contribuyen a su distribución espacial, mientras que los colémbolos se alimentan de las hifas extraradicales causando reducciones de su efectividad y reducen la longitud de la raíz colonizada (Blanco & Salas, 1997; Brundrett, 2009).

Numerosas investigaciones estudiaron los efectos de la asociación mutualistas entre micorrizas y plantas, las cuales han concluido en:

- Las hifas de hongos micorrícicos intervienen en la agregación de las partículas del suelo, ya que prolongan el sistema radical de las plantas, y ello facilita una mayor retención física de partículas del suelo, limitando los efectos dañinos de la erosión causada por el agua (Brundrett, 2009).

- Mejoran la toma de agua y nutrientes, que influye en la capacidad nutricional, el aumento de la producción y mayor calidad biológica de ésta (Blanco & Salas, 1997; García Rodríguez, 2006; Brundrett, 2009; Eckhard *et al.*, 2012).

- Confieren a las plantas mayor tolerancia a muchos factores de estrés como: sequía, salinidad, desequilibrios en el pH, entre otros (Brundrett, 2009; Navarro *et al.*, 2012; Eckhard *et al.*, 2012).

- Otorgan protección contra la herbivoría y al ataque de agentes fitopatógenos del suelo (Zhang *et al.*, 2013; Eid *et al.*, 2019).

- Reducen el estrés ambiental que predispone a la planta a las enfermedades (Sánchez de Prager, 2007; Brundrett, 2009).

- Modifican el nivel endógeno de fitohormonas relacionadas con el crecimiento vegetal (Navarro *et al.*, 2012).

- Generan una mejor adecuación a la capacidad fotosintética de la planta para satisfacer la demanda de carbono que existe al asociarse con los hongos micorrícicos. (Las plantas micotróficas obligadas dependen del suministro de carbohidratos derivados

de la fotosíntesis para conservar una apropiada simbiosis micorrícica) (Blanco & Salas, 1997; García Rodríguez, 2006; Brundrett, 2009; Eckhard *et al.*, 2012).

- Funcionan como un sistema fitoestabilizador, debido a que las plantas micorrizadas crecen en suelos contaminados, lo que permite su uso en la fitorremediación de suelos contaminados (Alvarado *et al.*, 2011).

Por todo esto las micorrizas constituyen una alternativa ecológica para una agricultura sustentable y abre nuevos horizontes no sólo en el campo de la producción agrícola sino también en la reforestación, el cultivo de plantas ornamentales, etc. (Blanco & Salas, 1997; Velasco Velasco *et al.*, 2001; Zulueta Rodríguez, 2003; Parniske, 2008; Brundrett, 2009; Paucar, 2012).

Son numerosas las investigaciones que tienen el objetivo de evaluar la colonización y el efecto de hongos micorrícicos nativos asociados sobre diferentes especies vegetales (Perez *et al.*, 2010; Barrera Berdugo & Rodriguez Lopez, 2010; Aguirre-Cadena & Aguirre-Medina, 2011; Martino *et al.*, 2011; Lugo *et al.*, 2011; Rodríguez-Morelos *et al.*, 2011; De la Rosa Mera *et al.*, 2012; Covacevich *et al.*, 2012; Quiñones-Aguilar *et al.*, 2012; Lara-Pérez *et al.*, 2014; Ruscitti *et al.*, 2015; Reyes Tena *et al.*, 2015; Álvarez *et al.*, 2018). Urgilés Gómez *et al.* (2010) evaluaron el efecto de la inoculación con hongos micorrícicos nativos en la propagación de *Alnus acuminata* y *Morella pubescens*. Las dos especies propagadas en invernadero demostraron un mejoramiento en el crecimiento al ser inoculadas con propágulos de hongos micorrícicos, respecto de los controles, y concluyeron que la relación simbiótica entre planta-hongo, aseguraron su sobrevivencia en vivero y posteriormente en plantaciones con fines de forestación, reforestación o en restauración de ecosistemas.

I.2. LOS CULTIVOS

El cultivo de topinambur (*Helianthus tuberosus*) y de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) se remontan a épocas precolombinas y ha permanecido por mucho tiempo restringido a áreas muy pequeñas ya que está adaptada a las condiciones ecológicas andinas, donde su uso está fuertemente ligado a las tradiciones de los pueblos (Mansilla *et al.*, 2010). En los últimos años ha cobrado gran interés por sus propiedades nutraceuticas.

I.2.1. El topinambur (*Helianthus tuberosus* L.)

El topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) también conocido como tupinambo, pataca, alcachofa de Jerusalén, topi y girasol batatero, pertenece a la familia botánica de las Asteraceae (Tabla 1) es originaria de la región central de América del Norte (Cosgrove *et al.*, 1991).

Tabla 1. Taxonomía de *Helianthus tuberosus*.

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae
Subfamilia:	Asteroideae
Tribu:	Heliantheae
Subtribu:	Helianthinae
Género:	Helianthus
Especie:	<i>Helianthus tuberosus</i> L.

Fuente: <https://www.tropicos.org/name/2700862>

El nombre deriva de la tribu tupinambá de Brasil, que fueron llevados a París, al mismo tiempo que la planta se difundió en Europa. En el año 1605 se introdujo primero a Francia y luego a varios países de Europa; allí fue ampliamente utilizada en la alimentación humana y del ganado (Rebora, 2008). En nuestro país fue introducida a principios del siglo XX por inmigrantes europeos, donde su cultivo fue limitado y de carácter familiar (Rebora, 2008).

El topinambur se cultiva por sus siguientes usos: hortícola, forrajero e industrial, además en Turquía es considerada una planta medicinal donde consumen los tubérculos las personas diabéticas (Altundaga & Ozturkb, 2011).

Alimentación humana: Se considera que el topinambur es un cultivo de gran potencial para la alimentación humana como especie hortícola y por la elaboración de alimentos para diabéticos y celíacos, por su contenido de inulina. Los tubérculos son consumibles en fresco, pueden transformarlos en harinas para el uso en pastelería (Gedrovica *et al.*, 2011), extraer inulina (Fawzi, 2011; Taha *et al.*, 2012). Pero el uso tradicional del tubérculo de topinambur es como un vegetal “gourmet” (Cosgrove *et al.*, 1991) por sus cualidades de nutrición sana o como exquisiteces, teniendo entre sus

propiedades el hecho de que no contiene gluten. Se ha estudiado la forma de obtener un alimento sano de consumo diario utilizando como materia prima tubérculos de *H. tuberosus* (Takeuchi & Nagashima, 2011; Ibarguren *et al.*, 2019), como también el efecto de la preparación culinaria sobre la composición de carbohidratos, la textura y la calidad sensorial de los tubérculos (Bach, *et al.*, 2013; Ibarguren *et al.*, 2019). Su composición química rica en azúcares, principalmente inulina, le permite actuar como un excelente prebiótico (Gedrovica *et al.*, 2011; Volpini-Rapina *et al.*, 2012; Iraporda *et al.*, 2019).

Se demostró la viabilidad de la elaboración de puré de topinambur, el cual se considera beneficioso para la salud por su alto contenido en fructanos, cuyo valor mínimo cuantificado fue de 7,4% en el producto preparado, y se considera que el mismo sería aceptado por la población y producirse a escala industrial de puré instantáneo (Tessaro, 2014; Ibarguren *et al.*, 2019). Mientras que Okada *et al.* (2017) determinaron que la alimentación con tubérculos de *H. tuberosus* mejoran la tolerancia a la glucosa y el perfil de lípidos hepáticos en ratas alimentadas con una dieta alta en grasas y concluyeron que los tubérculos de topinambur ejercen efectos anti-grasos en el hígado basados en las mejoras en la tolerancia a la glucosa y el perfil lipídico hepático.

En Francia, se ha utilizado tubérculos de topinambur para la producción de vino y cerveza durante muchos años (Cosgrove *et al.*, 1991).

Alimentación animal: La parte aérea es de uso forrajero en época estival y los tubérculos en época invernal. La parte aérea y los tubérculos tienen una gran diversidad de usos, entre ellos como alimento a distintos tipos de ganado: bovinos, porcinos, caprinos. Constituye una parte importante de la dieta de cerdos en Cuba (Ly, 2000). Papi *et al.* (2019), demostraron que las partes aéreas de *H. tuberosus* podrían usarse como un valioso forraje en la dieta de ovejas. Mientras que Yildiz *et al.*, (2006) estudiaron el efecto *H. tuberosus* en la dieta de gallinas ponedoras y determinaron que la producción, calidad y contenido de colesterol de huevos no se vio afectada ni se registró ningún efecto adverso en el rendimiento y la calidad de los huevos de las gallinas.

Investigaciones realizadas en Polonia por Denisow *et al.* (2019), determinaron en *H. tuberosus* una alta producción de néctar y polen, por lo que constituye un atractivo recurso alimenticio para polinizadores, debido a que la floración ocurre en un momento de baja oferta alimenticia para abejas y avispa.

Uso industrial: Numerosos trabajos señalan el potencial del topinambur para producir bioetanol (Parameswarab, 1999; Berenji & Sikora, 2001, Kays & Nottingham, 2008; Lima Verde Leal *et al.*, 2008; Rebora, 2008; Leslio *et al.*, 2009) y de etanol (Pimsaen *et al.*, 2010; Chi *et al.*, 2011). Tiene ventajas sobre otros cultivos, principalmente por su alto rendimiento de biomasa. Hay antecedentes que señalan que a partir de 50 t de tubérculos de *H. tuberosus* se obtienen 4500 l de etanol (Reust & Dutoit, 1992); otras investigaciones en España (Fernández, 1998) indican que en términos generales se puede obtener 1 l de etanol a partir de 12 kg de tubérculos de topinambur. Mientras que en experiencias realizadas en la provincia de Mendoza se logró obtener 1 l de alcohol a partir de 11 kg de tubérculos de topinambur (Leslio *et al.*, 2009). Investigaciones sobre el procesamiento de la biomasa de *H. tuberosus*, permitieron extraer ácidos fenólicos comercialmente interesantes, como antioxidantes naturales para alimentos, con aplicaciones farmacéuticas y cosmetológicas, y como fungicidas (Showkat *et al.*, 2019). Mientras, Prusov *et al* (2019) determinaron el potencial de los tallos de topinambur para la producción de celulosa.

Rubel *et al.* (2018) estudiaron diferentes metodologías para la extracción y obtención de mayores rendimientos de inulina de tubérculos de topinambur, así como las condiciones óptimas para obtener un producto en polvo estable. Describieron un método de extracción y secado para obtener inulina rica en carbohidratos que se puede aplicar a escala industrial, y estimaron que el secado por congelación es un método que debe considerarse como una alternativa de secado teniendo en cuenta el costo y tiempo de producción.

Otros usos: Se puede considerar al *H. tuberosus* como un cultivo alternativo para usarlo como una especie promisoriosa por sus multipropósitos y una importante fuente de materia prima de varias industrias. En la actualidad se está trabajando en la extracción de diferentes compuestos químicos (tales como azúcares, 5-hidroximetilfurfural, ácido levulínico, inulina, compuestos fenólicos como ácido clorogénico, ácido gálico, ácido salicílico y ácido cafeico, además de terpenos y flavonas) que se encuentran en plantas de *H. tuberosus* y en el desarrollo de técnicas eficientes y de bajo costo de extracción y purificación (Yuan *et al.*, 2013; Jeong, 2015; Bach, *et al*, 2015; Sun *et al.*, 2015; Showkat *et al.*, 2019). Diferentes trabajos que se mencionan a continuación pueden respaldar el posible uso del topinambur como materia prima en los campos de la producción de biocombustibles y productos químicos.

Se estudió un método simple y eficiente para la separación ácido clorogénico del extracto de hojas de *H. tuberosus*. Se encontró que las hojas de topinambur exhiben notables actividades antimicrobianas, antifúngicas y anticancerosas. Los estudios fitoquímicos han revelado que los polifenoles, especialmente el ácido clorogénico, han sido considerados como responsables de estos beneficios para la salud humana. El ácido clorogénico (3-O-ácido cafeoilquinico, 3-CQA), recientemente ha recibido significativa atención debido a su amplio espectro de propiedades farmacológicas que incluyen agentes anticancerígenos, antioxidantes, antiinflamatorios, hipoglucemiantes y hepatoprotectores, utilizado ampliamente en las industrias farmacéutica, alimentaria y cosmética. También es un prometedor compuesto utilizado como precursor para el desarrollo de medicamentos que pueden controlar el virus del VIH, SIDA. Las fuentes de ácido clorogénico son limitadas, de ahí radica la importancia de la producción de hojas de *H. tuberosus*, como materia prima para extraer 3-CQA (Sun *et al.*, 2015).

Chen *et al.* (2013) analizaron la actividad antifúngica de sustancias fenólicas extraídas de hojas de *H. tuberosus* e investigaron su uso potencial para mejorar la conservación de las frutas y verduras almacenadas mediante el desarrollo de tratamientos con nuevos antimicóticos naturales. Sus resultados indican que las hojas de topinambur podrían ser una fuente potencial de fungicidas naturales.

Judprasong *et al.* (2018), evaluaron el contenido de nutrientes y sustancias tóxicas en tubérculos de *H. tuberosus* de consumo común. Este estudio determinó los nutrientes, contaminantes químicos (residuos de insecticidas y metales pesados) y sustancias tóxicas naturales (nitrato, nitrito, cianuro, oxalato, fitato e inhibidor de tripsina) en tubérculos de topinambur cultivados en cuatro provincias de Tailandia. Todas las muestras contenían cantidades considerables de fructanos y fibra dietética, así como potasio y hierro. Todas las muestras tenían cantidades muy bajas de residuos de insecticidas y de sustancias tóxicas naturales (cianuro e inhibidor de tripsina, así como Pb, Cd, nitrato y nitrito, además de oxalato y fitato. Información importante de la composición de alimentos y establecer la seguridad de su consumo.

Actualmente se está estudiando la utilización de plantas de topinambur en técnicas de fitorremediación. Experimentos desarrollados por Willscher *et al.* (2017), indican que *H. tuberosus* representa una especie de planta adecuada para tecnologías de fitorremediación debido a su capacidad de fitoextracción de metales pesados, tales como Mn, Zn, Cd y Ni, además de crecer en suelos a diferentes niveles de pH (4 a 6). Por lo

cual, la consideran como una especie promisorio para lograr el éxito de la fitorremediación de suelos afectados por la minería y contaminados con metales pesados. Marzec *et al.* (2019), determinaron que plantas de *H. tuberosus* se puede utilizar con éxito en plantas de tratamientos de aguas residuales, logrando una alta eficiencia en la eliminación de sólidos en suspensión y, debido a su alto potencial de producción de biomasa, también pueden ser explotados como recurso bioenergético. También, se investigó la viabilidad de los residuos de cultivos agrícolas de *H. tuberosus*, *Helianthus annuus* y *Silphium perfoliatum*, como materias primas alternativas para la producción de tableros, con el propósito de ser utilizados en la construcción de muebles. Lograron tableros con rendimientos aceptables, aunque con propiedades por debajo de los tableros convencionales de partículas de abeto. El hallazgo relevante para aplicaciones industriales fue que los tableros producidos de partículas de residuos agrícolas unidos con determinadas resinas cumplen totalmente con la normativa europea para uso en condiciones secas. Esto significa que los tableros de partículas de residuos agrícolas de los mencionados cultivos presentan propiedades físicas y mecánicas que los hacen adecuados para ser utilizados en la producción de muebles (Klímek *et al.*, 2016).

Por las características de sus tallos se utilizaba al topinambur para el acondicionamiento de material fitopatológico y realizar cortes muy precisos de material fresco que permitan se observación (Sarasola & Rocca de Sarasola, 1975).

Por lo tanto, el topinambur es una materia prima potencial para la producción sostenible de bioenergía, que incluye biocombustibles como bioetanol, biobutanol, biogás y otros, como así también de precursores para el desarrollo de medicamentos, cosméticos y alimentos fundamentalmente y en procedimientos de saneamiento de suelos contaminados con metales pesados.

Por lo cual se considera al topinambur como un cultivo multipropósito utilizado para el consumo humano de alimentos, con aplicaciones farmacéuticas, para la producción de biomasa para forraje y bioenergía. Además, para elaborar cerveza y para cubrir la demanda alimenticia de insectos polinizadores. Constituye una importante materia prima por sus beneficios medioambientales y su rendimiento agronómico.

El cultivo de *H. tuberosus* presenta una amplia distribución mundial. Se reportan trabajos del cultivo *H. tuberosus* en diversos países del mundo, tales como Italia, Australia (De Mastro *et al.*, 2004; Tesio *et al.*, 2011; Tesio *et al.*, 2012), Alemania

(Klímek *et al.*, 2016; Willscher *et al.*, 2017), Austria, República Checa (Klímek *et al.*, 2016), Dinamarca (Bach *et al.*, 2013; Bach *et al.*, 2015), Polonia (Szambelan *et al.*, 2004; Florkiewicz *et al.*, 2007; Wielgosz, 2010; Gedrovica *et al.*, 2011), Letonia (Kronberga *et al.*, 2013), Serbia (Terzic *et al.*, 2012), Tuquía (Yildiz *et al.*, 2006; Öztürk, 2008; Altundag & Ozturk, 2011), Egipto (Taha *et al.*, 2012), China (Yanming Zhang *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2013; Yuan *et al.*, 2013; Sun *et al.*, 2015), Corea del Sur (Jeong, 2015; Kim *et al.*, 2016), Japón (Takeuchi & Nagashima, 2011; Okada *et al.*, 2017), Tailandia (Pimsaen *et al.*, 2010.; Chi *et al.*, 2011; Judprasong *et al.*, 2018), Estados Unidos (Kantar *et al.*, 2014), Cuba (Ly, 2000), Brasil (Volpini-Rapina *et al.*, 2012), Chile (Cruz Filla, 2009).

En el país se tienen referencias de algunos productores dispersos en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Mendoza, Río Negro, Chubut y San Luis (Rossi & Chicahuala, 2017), que fundamentalmente han dado a esta especie un uso forrajero, con la comercialización de tubérculos. Sin embargo, no está clara la situación varietal disponible, ni existe una caracterización de los materiales disponibles en relación con los usos del cultivo.

Descripción botánica: *H. tuberosus* es una planta perenne y herbácea, de tallos robustos, pubescentes y ramificados que pueden alcanzar 2 a 3 metros de altura, con tubérculos que llevan rizomas. Las hojas varían de 3 a 8 centímetros de ancho y de 10 a 20 centímetros de largo. Las hojas gruesas con textura rugosa tienen pelos gruesos en la superficie superior y pubescencia fina debajo. Son opuestos en la parte inferior de la planta y se alternan en la parte superior. Con inflorescencias en capítulos terminales de flores amarillas a finales de agosto y septiembre que tienen aproximadamente 3 a 8 centímetros de diámetro (Mombelli, 2011; Bach *et al.*, 2015) (Figura 1).

Las raíces son fibrosas, con rizomas cortos que terminan en un tubérculo caulinar hipógeo. Estos órganos subterráneos son oblongos, escamosos y con reserva de inulina en vez de almidón (Mombelli, 2011; Fawzi, 2011). Los tubérculos varían de racimos nudosos a redondos y tienen presentan un rango de coloración de rojo a blanco (Rossi & Chicahuala, 2017). Las variedades cultivadas producen tubérculos blancos que se agrupan cerca del tallo principal en contraste con los tipos silvestres que producen tubérculos alargados rojizos en el extremo de los rizomas largos.

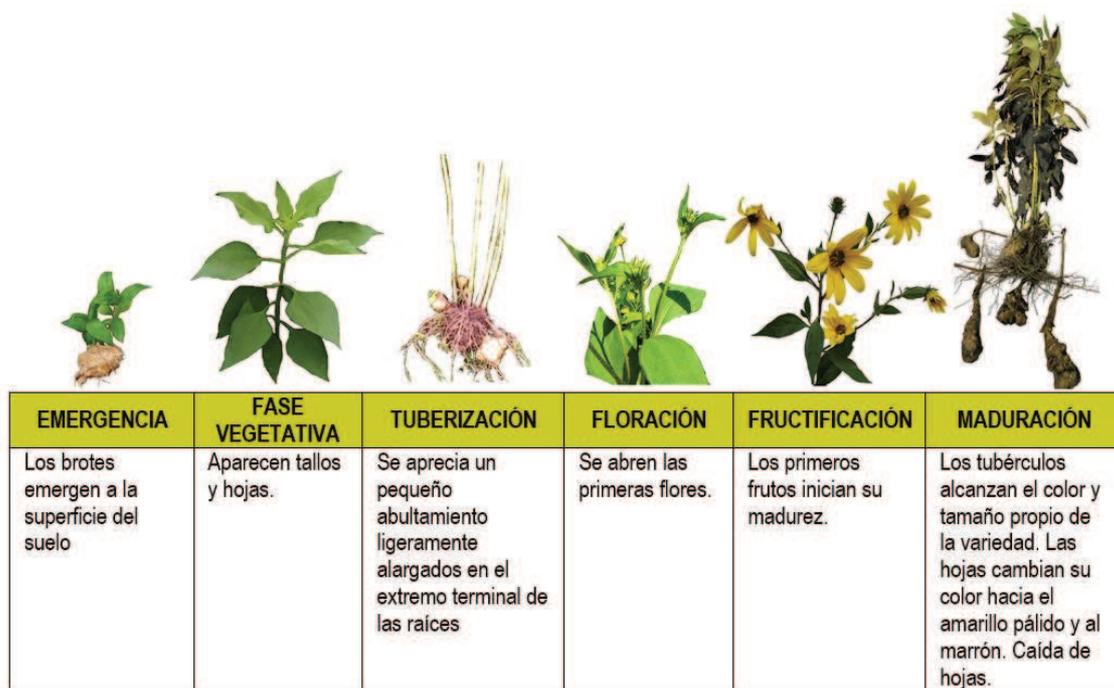


Figura 1. Fenología del cultivo de topinambur (*H. tuberosus*).

En América del Norte y Europa existen numerosas variedades de topinambur, sin embargo, en Argentina no hay cultivares registrados, aunque existe documentación y testimonios del ingreso de distintas variedades al país. Un estudio realizado en Mendoza detectó diferencias morfológicas que permitieron agrupar a las introducciones en dos grupos, correspondiendo uno a tubérculos con epidermis roja y forma aproximadamente esférica y otro a tubérculos blancos de forma irregular (Rebora, 2008).

Hasta el momento no hay variedades registradas de *H. tuberosus* en el país idéntica situación para yacón (INASE, 2019). Dependiendo de los cultivares, el ciclo del cultivo puede ser de 100 días hasta 9 meses (Denoroy, 1996).

Investigaciones actuales tienen como objetivo lograr el mejoramiento de plantas de *H. tuberosus* por mutación química, de manera de inducir variación en las plantas de topinambur (Altindal, 2019), y trabajar en la caracterización del topinambur según su crecimiento y seleccionar plantas de alto rendimiento con el objetivo de lograr nuevos cultivares (Lv *et al.*, 2019)

El topinambur es una planta de ciclo anual, y el desarrollo de los tubérculos se puede resumir de la siguiente forma: los estolones comienzan a crecer y a diez días más tarde aparecen los tubérculos (Schorr-Galindo & Guiraud, 1997). El número de tubérculos aumenta hasta el momento de la floración, llegando a cerca de 20 a 40 por planta (Schorr-

Galindo & Guiraud, 1997; Andrada *et al.*, 2012). Los tubérculos continúan creciendo en tamaño, pero no en número hasta que las hojas se secan. Durante el invierno los estolones se descomponen lentamente dejando separados los tubérculos de la planta (Schorr-Galindo & Guiraud, 1997).

Se caracteriza por ser una planta con reproducción predominantemente asexual, baja a nula producción de semilla, ciclo de crecimiento primavero-estival y período de floración entre febrero y marzo, en la latitud sur de 30° del centro de la Argentina (Mombelli, 2011).

H. tuberosus crece sin mayores problemas en suelos pobres (Rebora, 2008). Se menciona que esta planta se adapta a un rango relativamente amplio de pH del suelo, la producción se ve favorecida en suelos levemente alcalinos (Cosgrove *et al.*, 1991). Es considerado un cultivo muy rústico por ser bastante tolerante a las bajas temperaturas (Rebora, 2008) y a las altas temperaturas del verano. Esta especie es resistente a la sequía, sin embargo, hay dos períodos que presentan sensibilidad a estrés hídrico: la emergencia y el crecimiento de los tubérculos (Rebora, 2008; Tessaro, 2014).

Estudios realizados por Andrada *et al.* (2012) indican que en el Valle Central de la Provincia de Catamarca se encuentran las condiciones agroecológicas óptimas para obtener altos rendimientos de materia seca y tubérculos de topinambur, con excelentes cualidades nutricionales.

La evaluación de datos de producción vegetativa de topinambur permitió inferir que el marco de plantación más conveniente para las condiciones agroecológicas imperantes en el Valle Central de la Provincia de Catamarca es de 35 cm x 70 cm (Andrada *et al.*, 2011a). Andrada *et al.* (2011b) también evaluaron la producción tubérculos de topinambur y determinaron que el marco de plantación más conveniente para las condiciones agroecológicas imperantes es de 35 cm x 70 cm, conclusión coincidente con la evaluación estival de la parte aérea de este cultivo.

Experiencias realizadas por Rebora *et al.* (2011) con el objetivo de determinar el efecto de la densidad de plantación sobre el rendimiento de topinambur (*H. tuberosus*) regado con aguas residuales urbanas, determinaron que los mayores rendimientos se evidencian cuando se aumenta la densidad por disminución de la distancia entre plantas en la hilera (0,30 ó 0,40 m) independientemente de la distancia entre las mismas (0,70 a

0,80 m). Gao *et al.* (2019) evaluaron la remoción de hojas de topinambur como método para mejorar el rendimiento y la calidad de tubérculos de topinambur.

H. tuberosus es un cultivo poco susceptible a plagas y enfermedades (Rebora, 2008). Además, no tiene problemas de malezas dada su rusticidad, velocidad de crecimiento y tamaño de las plantas. Sin embargo, estudios realizados por Tesio *et al.* (2011; 2012) estimaron que el potencial alelopático de *H. tuberosus* puede ser de interés en la implementación de programas integrados de manejo de malezas al considerar la capacidad supresora de esta planta y sus residuos para el manejo de malezas en el campo.

La extracción e identificación de aleloquímicos a partir de residuos de topinambur (*H. tuberosus*) promovieron estudios de la potencial actividad inhibitoria en el campo y laboratorio, y de la persistencia alelopática de residuos de *H. tuberosus* en el suelo. Los extractos de *H. tuberosus* inhiben la germinación y el crecimiento de las semillas de lechuga. Se identificaron los siguientes aleloquímicos de topinambur: etil éter, ácido salicílico, p-hidroxibenzaldehído, ácido o-cumarínico y cumarina. Además, estos estudios no solo aumentan el conocimiento sobre el potencial alelopático de topinambur, sino que también llaman la atención sobre el efecto residual en el tiempo. Al aumentar el tiempo de exposición del sustrato residual de topinambur aumento el efecto inhibitorio, retrasando la germinación y el crecimiento de muchas especies, sin embargo, la mayor sensibilidad a la actividad alelopática de topinambur la mostraron las malezas, proporcionando una buena evidencia del potencial alelopático de los residuos de *H. tuberosus* (Tesio *et al.*, 2011; Tesio *et al.*, 2012).

Otro aspecto para considerar es que los tubérculos de topinambur pueden cosecharse luego de la primera helada, o dejarse en el campo para su almacenamiento bajo tierra. En este último caso se recolectan en la primavera siguiente. Cuando ocurren bajas temperaturas, las células colapsan y la planta muere, exceptuando los tubérculos. Antes de que esto ocurra, en la planta se produce la traslocación de los carbohidratos y proteínas desde la parte aérea a los órganos de reserva. Por tal motivo se recomienda la cosecha después de la primera helada, para asegurarse que todos los nutrientes de la planta fueron movilizados hacia los tubérculos (Ibarguren & Rebora, 2013).

Se determinó que el período de cosecha, para garantizar la calidad de los tubérculos y buena evolución en cámara frigorífica durante todo el año, no debería extenderse más allá de los 49 días desde la ocurrencia de la primera helada. Para consumo en fresco se

puede cosechar hasta los 98 días luego de la primera helada, pero estos tubérculos no se conservan correctamente en cámara frigorífica (Ibarguren, 2015).

El método de cosecha más común para los pequeños productores es el arrancado con arado y recolección manual de los tubérculos. También, puede llevarse a cabo con máquinas arrancadoras recolectoras de papas previa eliminación de la parte aérea de la planta (Rebora, 2008). Los tubérculos se pueden transportar en bolsas de polietileno tipo big bags.

Los tubérculos de topinambur pueden almacenarse de tres formas: en cámara frigorífica, en sótanos o a campo. En las dos primeras opciones, los tubérculos se cosechan luego de la primera helada y se almacenan; mientras que, con la conservación a campo, los tubérculos se dejan en el suelo y se recolectan cuando se los necesita. Los tubérculos de topinambur pueden ser almacenados durante varios meses de 4 a 12 meses a bajas temperaturas de entre -0,5 y 2°C y 90 a 95 % de humedad relativa. Los tubérculos de topinambur pueden almacenarse cubiertos con turba o arena húmeda, de esta forma mejor mantienen su calidad y valor nutritivo (Danilcenko *et al.*, 2008) y también se pueden usar para su almacenaje bolsas de polietileno, de papel y bolsas de red de polipropileno.

Actuales investigaciones sobre *H. tuberosus* se basan fundamentalmente en el estudio de diferentes variedades, distintas técnicas de manejo del cultivo, de la selección y mejoramiento vegetal, la optimización de las determinaciones analíticas de los azúcares etc., con el objetivo de obtener mayores rendimientos y mejores contenidos de inulina (Schorr-Galindo & Guiraud, 1997; Pimsaen *et al.*, 2010; Chi *et al.*, 2011; Andrada *et al.*, 2012; Terzić *et al.*, 2012; Taha *et al.*, 2012; Bach *et al.*, 2013). Estudiado también en los programas de mejoramiento de girasol (*H. annuus*) (Kantar *et al.*, 2013) y de papa (*Solanum tuberosum*). Moon *et al.* (2019), obtuvieron papas transgénicas mediante la transferencia de los genes (Ht1-SST y Ht1-FFT) aislados de *H. tuberosus* y se expresaron en papa, por lo cual estas, potencialmente podrían usarse como un suplemento nutricional con propiedades promotoras de la salud y/o como cultivo capaz de soportar condiciones desfavorables y tener resistencia contra el estrés abiótico por frío y por sequía fundamentalmente.

I.2.2. El yacón [*Smallanthus sonchifolius* (Poeppig & Endlicher) H. Robinson]

El yacón (*Smallanthus sonchifolius*) de la familia botánica Asteraceae (Tabla 2) es una planta de tubérculos originaria de los Andes (Fernández *et al.*, 2006), se parece mucho al topinambur (*H. tuberosus*); fue domesticada hace siglos por las culturas preincaicas cuyo hábitat original son las tierras altas de los Andes, desde el sur de Colombia hasta el norte de Argentina, en las provincias de Jujuy y Salta, entre los 800 y 2.800 msnm, en climas templados montañosos (Manrique *et al.*, 2005).

Tabla 2. Taxonomía de *Smallanthus sonchifolius*.

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae
Subfamilia:	Asteroideae
Género:	<i>Smallanthus</i>
Especie:	<i>Smallanthus sonchifolius</i> (POEPP. & ENDL.) H. ROBINSON
SINONIMIA	<i>Polymnia sonchifolia</i> Poepp. & Endl.

Fuente: <https://www.tropicos.org/name/2734075>

Su nombre procede de la voz quechua Q.I. o Waywash, yakun (← yakunyuq), flexión sustantiva de la voz yaku que nombra el agua, justamente el yacón es bastante jugoso y dulce. Adquiere varios nombres comunes por región o sinónimos, tales como llacón, jícama, Yacuma, puche, arizona, arikoachira, aricoma y racón (Calle & Catacata, 2012).

El consumo de yacón ha sido asociado con la prevención de enfermedades crónicas (dislipidemias y resistencia a la insulina), cáncer de colon ya que reconstituye la microflora benéfica del colon, mejora la asimilación de calcio, corrige el estreñimiento, reduce el colesterol sanguíneo e incluidos los efectos prebióticos, antidiabéticos, antioxidantes y antimicrobianos, entre otras propiedades (Geyer *et al.*, 2008; Dornas *et al.*, 2009; Genta *et al.*, 2009; Ojansivu *et al.* 2011; Myint *et al.*, 2019). Además, es un alimento ideal para diabéticos y para personas que desean bajar de peso ya que su consumo no eleva la concentración de glucosa en la sangre y aporta muy pocas calorías a la dieta. Estas propiedades están fuertemente asociadas a los compuestos fenólicos y a los fructooligosacáridos (FOS) y está comprobado que estos compuestos tienen efectos beneficiosos en la nutrición y en la salud (Pacheco *et al.*, 2019). En contraste con otros cultivos de raíces, que almacenan los carbohidratos en forma de almidón, el yacón

acumula los carbohidratos como inulina y fructooligosacáridos (FOS), polímeros de fructosa, los cuales no pueden ser hidrolizados por el organismo humano y atraviesan el tracto digestivo sin ser metabolizados, no aumenta el nivel de glucosa en sangre, proporcionando calorías inferiores al de la sacarosa, excelentes para las dietas hipocalóricas y dietas para diabéticos (Fernández *et al.*, 2006; Wagner *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 2019; Silveira Adriano *et al.*, 2019). La raíz reservante de yacón posee un sabor dulce agradable, se consume usualmente después de un período de secado al sol. Este procedimiento incrementa el dulzor de las raíces y éstas están listas cuando la piel empieza a arrugarse (Manrique *et al.*, 2005; Santana & Cardoso, 2008).

Su importancia radica en la presencia de componentes bioactivos presentes principalmente en el tubérculo y hojas de la planta que ha despertado gran interés por su contenido de FOS y compuestos fenólicos con propiedades beneficiosas para la salud ya que la baja digestibilidad de FOS permite ser consumida por diabéticos, porque no elevan el nivel de glucosa en sangre y su consumo está asociado a otras propiedades como la reducción del colesterol y de triglicéridos; mejora la absorción de calcio, fortalece el sistema inmunológico, previene y reduce el riesgo de cáncer de colon, previene el estreñimiento, y restaura la flora intestinal (Manrique *et al.*, 2005; Santana & Cardoso, 2008; Muñoz Jáuregui, 2009; Yan *et al.*, 2019). El yacón (*S. sonchifolius*), contiene FOS (50–70% de su peso seco) y, por lo tanto, se considera un prebiótico. Velez *et al.* (2013) analizaron si el yacón previene la infección entérica causada por una cepa de *Salmonella enteritidis serovar Typhimurium* (*S. typhimurium*) en ratones y concluyeron que el yacón puede prevenir la infección entérica causada por *S. typhimurium* cuando se administra hasta 30 días del inicio de la infección e indicaron que este efecto estaría mediado por un aumento de la inmunidad no específica. Mientras Grancieri *et al* (2017), observaron que la harina de yacón suplementada en la dieta de ratones promovió efectos beneficiosos en la salud del intestino de los animales con cáncer colorectal inducido.

Estudios fitoquímicos han demostrado la presencia de lactonas sesquiterpénicas bioactivas en *S. sonchifolius* las cuales inducen diferentes mecanismos de muerte celular en tres líneas celulares de cáncer. Los resultados demostraron que las lactonas sesquiterpénicas de yacón poseen una notable citotoxicidad, especialmente la fluctuanina y la polimatina, y pueden tener el potencial de desarrollarse para fármacos terapéuticamente útiles (De Ford *et al.*, 2015; Myint *et al.*, 2019). Dou *et al.* (2008), estudiaron los componentes químicos de hojas de yacón cultivadas en China,

determinaron los componentes antidiabéticos del yacón y los que proporcionaron información quimiotaxonómica, informaron que la hoja de yacón contiene monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos, que tienen un papel fisiológico en las actividades antimicrobianas y resistentes a plagas de esta planta, además aislaron y explicaron la estructura de cuatro nuevos diterpenoides. Mientras, investigaciones realizadas en Japón lograron aislar de hojas de yacón sustancias como la uvedafolina, compuesto líder de los nuevos agentes anticancerígenos (Kitai *et al.*, 2017).

Por sus propiedades se realizaron investigaciones para estudiar el jarabe de yacón, producido a partir de tubérculos de *S. sonchifolius*, y determinar la viabilidad de la fabricación de caramelos y de otros productos en base a este (Boon, 2003; Manrique *et al.*, 2005; Yan *et al.*, 2019).

Por la alta concentración de fructanos que contienen los tubérculos de *S. sonchifolius* se investigan los efectos protectores de su ingesta frente a la carcinogénesis de colon (De Nadai Marcon *et al.*, 2019). De Moura *et al.* (2012) determinaron el potencial beneficio de la ingesta de yacón para la prevención del cáncer de colon, sus hallazgos indican que el yacón puede reducir el desarrollo de cáncer de colon. Además, el consumo de tubérculos de *S. sonchifolius* es cada vez más popular en la dieta japonesa por su bajo valor calórico y el alto contenido de fibra. Recientes estudios han sugerido que la alimentación con yacón previene y controla la diabetes por la disminución de glucosa en sangre (Sato *et al.*, 2013; Yan *et al.*, 2019; Wagner *et al.*, 2019).

En Perú, el yacón es un cultivo tradicional; es parte de la biodiversidad alimentaria y medicinal y se utiliza allí tanto las raíces como las hojas, por sus propiedades antioxidantes, hipoglucemiantes y antibacterianas. Por estas características, su uso como alimento funcional y/o nutracéutico es popular y promisorio (Arnao *et al.*, 2011; Pacheco *et al.*, 2019). Se lo comercializa en estado fresco y o en forma de jugos, jarabes, te en cajas con sobres filtrantes.

Se ha demostrado que bebidas a base de yacón (*S. sonchifolius*) mejora el estado diabético en ratas. El yacón ha sido ampliamente reconocido como una excelente fuente de compuestos bioactivos, incluyendo prebióticos y antioxidantes (Campos *et al.*, 2012; Cruz *et al.*, 2019; Ueda *et al.*, 2019), que pueden ser beneficiosos para la salud. Los datos experimentales indican que los prebióticos y algunos polifenoles específicos podrían reducir la gravedad o la incidencia de enfermedades degenerativas, como los diabéticos.

Dionisio *et al.*, 2015, evaluaron el efecto hipoglucémico de una bebida compuesta de yacón y *Anacardium occidentale* en ratas diabéticas inducidas por alloxan. Los resultados apoyan firmemente que el yacón y el anacardo-manzana tienen propiedades hipoglucémicas importantes que podrían mejorar el estado diabético.

S. sonchifolius originario de la región andina crece entre los 2000 y 3500 msnm. Su cultivo se remonta a épocas precolombinas y ha permanecido por mucho tiempo restringido a áreas muy pequeñas ya que está adaptada a las condiciones ecológicas de los Andes (Mansilla *et al.*, 2010). Actualmente, distribuido en gran parte del territorio andino como planta silvestre o en cultivo, desde el norte de Ecuador hasta el noroeste argentino. El centro de diversidad se encuentra entre la cuenca del Apurímac en el sur de Perú (14° S) y La Paz en Bolivia (17° S), en este territorio se encuentra la más alta diversidad genética del yacón (Roque, 2009).

S. sonchifolius se ha cultivado con éxito en varias regiones y con diferentes climas, incluyendo: Brasil, República Checa, China, Corea, Japón, Nueva Zelanda, Rusia, Taiwán y Estados Unidos (Manrique *et al.*, 2005; Fernández *et al.*, 2006; Santana & Cardoso, 2008). La distribución geográfica del yacón a mayores latitudes y altitudes se ha limitado debido a la combinación de su larga estación de crecimiento (> 180 días) y su susceptibilidad a las heladas (Manrique *et al.*, 2005). Se reportan trabajos del cultivo de yacón en diversos países, tales como: Brasil (Delgado *et al.*, 2013), República Checa (Lachman *et al.*, 2004), Perú (Arnao *et al.*, 2011).

En Argentina, el yacón sólo se cultiva en las provincias norteñas de Jujuy y Salta (Muñoz Jáuregui, 2009). En esta región se comercializan los tubérculos en estado fresco en los mercados de productos agropecuarios y ferias rurales. En la provincia de Jujuy es un producto con gran potencial; desde hace pocos años se está incentivando su producción y se ha incrementado levemente el número de productores, así como el interés por su cultivo. La mayor proporción del cultivo se vende en fresco, al mismo tiempo que se desarrollan algunos productos artesanales que se comercializan en el mercado local (Maldonado *et al.*, 2008).

Descripción botánica: *S. sonchifolius* es una planta herbácea perenne, pero se cultiva como anual, de 1,5 a 3 metros de altura (Roque, 2009). El tallo se compone de una parte subterránea perenne con vástagos aéreos anuales que se secan una vez pasada la floración. El tallo aéreo es cilíndrico a angular, surcado, hueco en la madurez y

densamente pubescente en la parte superior. Las hojas son opuestas, con lámina decurrente hacia el pecíolo; la lámina foliar es anchamente obovada con la base astada, auriculada o connada; las hojas superiores son obovado-lanceoladas; el haz de la hoja es piloso y el envés o abaxial pubescente. Las inflorescencias en capítulos terminales amarillos a anaranjados, con 1-5 ejes, cada uno con tres capítulos y pedúnculos densamente pubescentes (Figura 2). Cada capítulo posee un involucre conformado por 5 a 8 filarias uniseriadas y ovadas y dos tipos de flores: las radiales que son liguladas y las del disco que son tubulares. Las flores liguladas, alrededor de 15, son femeninas y las tubulares son masculinas. El fruto es un aquenio con forma elipsoidal, color café oscuro, con epidermis lisa, endocarpio sólido caracterizado por el libre desprendimiento del pericarpio con un ligero frotamiento; algunos ecotipos no producen frutos y si los producen no son viables (Dostert *et al.*, 2009; Mansilla *et al.*, 2010).

El sistema subterráneo consta de tres partes: los rizomas o raíces adventicias, raíces fibrosas o delgadas y reservantes o raíces tuberosas. Los rizomas son ricos en fibras y dan lugar a nuevas plantas. Las raíces fibrosas son muy delgadas y su función es la absorción de agua y nutrientes. Las raíces de reservas de hasta 20 raíces carnosas y tuberosas de almacenaje (Santana & Cardoso, 2008). Las raíces de almacenaje se forman a partir de un sistema ramificado de ejes subterráneos; son mayoritariamente napiformes, pueden alcanzar hasta 25 cm de largo y 10 cm de grosor y pesan entre 0,2-2Kg (Santana & Cardoso, 2008). El color de la corteza de las raíces y del tejido de almacenaje varía, dependiendo del clon, entre blanco, crema, rosado (estriado), lila y hasta marrón (FAO, 1992).

La planta forma entre los tallos y las raíces, una masa irregular de tejido de reserva, con muchas yemas que dan lugar a brotes y se denomina “cepa” o “corona” que se obtiene después de la cosecha. De este órgano, se obtiene la “semilla” tradicional en forma de porciones de corona que son los propágulos para la siembra o implantación del cultivo (Figura 2). Por lo que la propagación del yacón con fines de producción es predominantemente vegetativa, mediante propágulos (o porciones de la corona) con 4 o más yemas o brotes (Seminario *et al.*, 2003; Valderrama Cabrera, 2005).

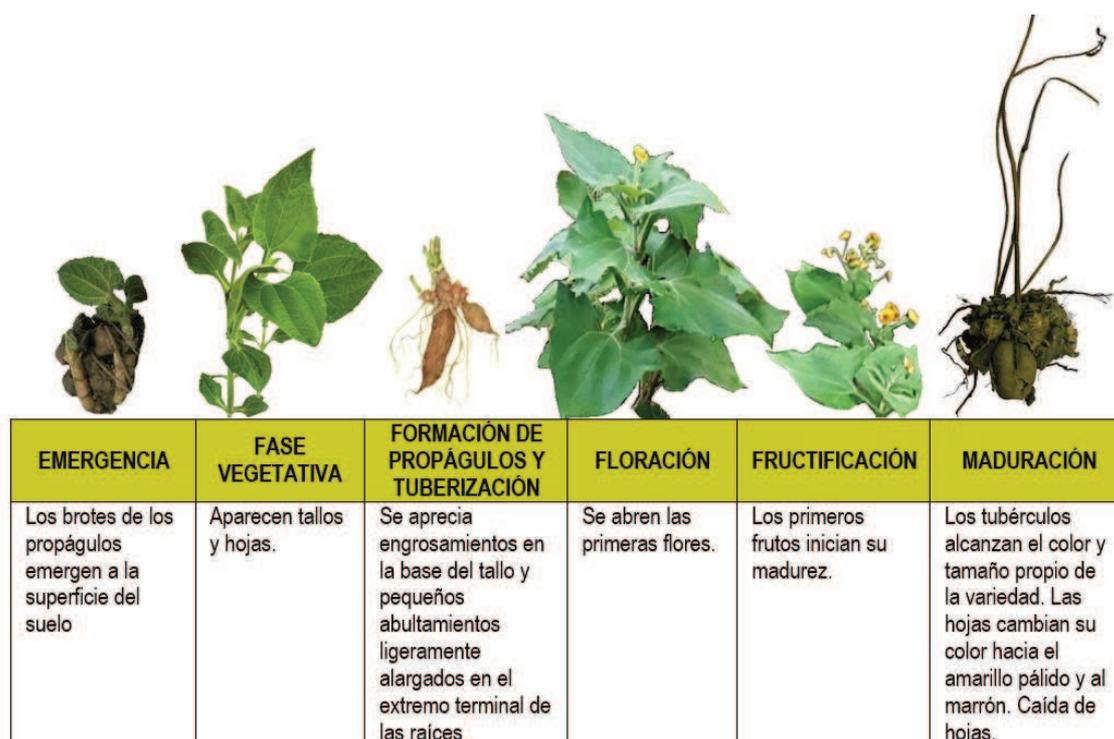


Figura 2. Fenología del cultivo de yacón (*S. sonchifolius*).

En condiciones naturales o controladas el yacón produce muy pocas semillas, la mayor parte de las cuales son vanas o no alcanzan un desarrollo adecuado dentro del aquenio (Seminario *et al.*, 2003). La escasa reproducción sexual es un rasgo característico de esta especie, por lo cual se realizaron estudios y evaluaciones en aspectos de la biología floral y reproductiva del yacón que permitan entender su baja capacidad reproductiva por la vía sexual. Estos estudios estiman que, por la elevada frecuencia de visitas y el comportamiento de los polinizadores, el transporte del polen es insecto dependiente. Además, indican que pese a presentar elevada receptividad de los estigmas durante todo el desarrollo del capítulo sólo el 11.71 % de los aquenios de las accesiones presentarían semillas y con casi nula viabilidad (Mansilla *et al.*, 2010).

Según Ishiki *et al.* (1997) el yacón tiene un origen aloploiploide, originado por cruzamientos complejos entre *S. macroscyphus* ($2n=28$, $A=7$) y *S. riparius* ($2n=32$, $B=8$). Este origen explicaría la naturaleza octoploide ($2n=6A+2B=58$) y dodecaploide ($2n=9A+3B=87$). El origen híbrido del yacón y su naturaleza aloploiploide podría ser también una de las causas de la escasa producción de semillas y de su baja viabilidad.

En Perú se han descrito doce cultivares (qello llakjum, checche llakjum, yurac llakjum, yurac checche, culli llakjum, hualqui, morado o púrpura, amarillo o intermedio,

checchje o moteado) cuyas características diferenciales se refieren a color externo de la raíz, colores de la pulpa, color de tallo y de la flor, forma de hoja, color de brote, ramificación del tallo y ciclo vegetativo (FAO, 1992; Valderrama Cabrera, 2005).

El crecimiento óptimo se produce bajo temperaturas entre 18 y 25°C, en el que las hojas toleran temperaturas de hasta 40°C sin daño evidente. Temperaturas nocturnas bajas en lugares de altitud media llevan a un desarrollo óptimo de raíces de almacenaje, mientras que zonas bajas cálidas favorecen un mayor desarrollo de porciones caulinares subterráneas o propágulos (erróneamente llamados rizomas). Los órganos aéreos del yacón no son tolerantes a las heladas y evidencian daño bajo temperaturas desde -1°C. El cultivo del yacón, sin embargo, no presenta problemas en zonas con heladas débiles en tanto que estas ocurran al término del período vegetativo. En Nueva Zelanda, temperaturas de alrededor de -7 °C producen también la muerte de todos los órganos subterráneos de la planta. Temperaturas menores a 10 - 12 °C bajo radiación solar intensa provocan daño en las hojas (Roque, 2009).

El yacón se desarrolla y adapta fácilmente a una diversidad amplia de climas y suelos, desde el nivel del mar hasta los 3.500 msnm (Muñoz Jáuregui, 2009), siendo la altura óptima de cultivo entre los 500 y 3.200 msnm.

Los suelos más apropiados parecen ser los livianos, profundos, con buen drenaje y ricos en nutrientes. Estos suelos favorecen un desarrollo uniforme de las raíces de almacenaje y limitan la descomposición. Suelos muy pesados son poco aptos. Incluso se han logrado buenos resultados en terrazas fluviales en Bolivia en suelos laterizados tratados con dolomitas en Brasil. El pH del suelo puede ser ácido o levemente alcalino, los mejores resultados se logran en suelos con pH neutro a levemente ácido (Roque, 2009).

La plantación de los esquejes de los propágulos, se realiza en hileras con una distancia de 0,6 - 1,0 m entre plantas y 0,8 - 1,0 m entre hileras. Ensayos de distanciamiento de yacón en Corea sugieren una densidad de 30.000 plantas.ha⁻¹, con distancias de 70 cm entre hileras y de 47 cm entre plantas. También, en Nueva Zelanda, se ha mostrado un incremento en el rendimiento con el aumento de la densidad sobre 24.000 plantas.ha⁻¹ (Roque, 2009).

La propagación es vegetativa y se efectúa tradicionalmente por propágulos, esquejes y nudos enraizados. Los propágulos son porciones caulinares subterráneas,

deben ser divididos de modo que cada fragmento tenga entre 3 a 5 brotes. Las raíces de almacenaje no pueden ser propagadas. La propagación mediante esquejes de tallos (con al menos dos brotes) puede ser también llevada a cabo; para ello, lo mejor es emplear plantas antes de la floración, por ejemplo, de 5 a 6 meses de edad. En laboratorio, bajo condiciones controladas (atmósfera saturada), el mejor enraizamiento se produce mediante tratamiento con auxinas. En invernadero, se puede realizar la propagación mediante brotes individuales colocados en sustrato enraizante bajo condiciones estériles y después de 60 días enraízan entre el 43 y 97% dependiendo el cultivar. La propagación in vitro es también posible y comercialmente interesante; varios protocolos han sido desarrollados para ello, los que son interesantes en la producción de ejemplares vegetales libres de virus (Roque, 2009).

El yacón necesita relativamente mucha agua en el inicio del período vegetativo. Es cultivado en territorios con precipitaciones entre 300-600 mm de precipitaciones bajo riego, con 800 mm se consideran óptimas. Se recomienda mullir las hileras durante el periodo vegetativo. Si se plantan fragmentos de rizoma, el desarrollo inicial de las plantases relativamente lento y los vástagos no emergen sino hasta después de 30-50 días.

El control de malezas es aplicado normalmente sólo dos veces al comienzo del período vegetativo, ya que las plantas de yacón pueden subsecuentemente suprimir las malezas.

La fertilización de yacón se ha investigado muy poco, en un ensayo realizado en Brasil con un cultivar, los rendimientos más altos se obtienen mediante fertilización con 140 kg de N.ha⁻¹ y 100 kg de K.ha⁻¹; en Cajamarca la fertilización con 5-10 t.ha⁻¹ de humus es suficiente para equilibrar la pérdida de nutrientes. Debido a no existían recomendaciones para los agricultores sobre la fertilización nitrogenada y la absorción de nitrógeno (N) del yacón, en Alemania se realizaron evaluaciones de diferentes niveles de fertilización nitrogenada (Kamp *et al.*, 2019).

Enfermedades y plagas no son hasta ahora un gran problema en el cultivo del yacón, ya que no existen monocultivos de gran extensión. Los parásitos aparecen en cultivo en latitudes cálidas y húmedas. Algunos parásitos y enfermedades de hojas y raíces han sido reportados (Roque, 2009).

Se cosecha fundamentalmente hojas adultas y raíces de almacenaje. La cosecha de hojas adultas se realiza cuando forman aproximadamente un ángulo recto con el tallo y

se estima que pueden ser cosechadas cada 30 días, con un rendimiento de 2 a 4 toneladas de peso seco bajo densidades de 18.500 plantas.ha⁻¹ (Roque, 2009).

Al término del ciclo vegetativo, las partes aéreas del yacón comienzan a morir, lo cual indica la época de cosecha de las raíces de almacenaje y estas pueden permanecer un tiempo en el suelo sin dañarse, dependiendo de la región y el clima. La cosecha de raíces de almacenaje se realiza, dependiendo de la región y la altitud, entre los 6 y 12 meses después de la plantación y la producción media de raíces de almacenaje por hectárea de cultivo en el territorio alto-andino, alcanza por lo normal entre 20 y 40 t.ha⁻¹ de peso fresco, correspondiendo en peso seco entre el 10 y 14%. En Brasil se han obtenido hasta 100 t.ha⁻¹ (Roque, 2009).

La producción de yacón depende fuertemente de la elección del cultivar, características del lugar de cultivo (altitud, fotoperíodo, fertilidad del suelo) y de las labores culturales, fundamentalmente.

Las raíces de almacenaje del yacón acumulan una gran cantidad de fructo-oligosacáridos (FOS) del tipo inulina. Los FOS constituyen cerca del 10% del peso fresco, y del 70 al 80% del peso seco. Durante el almacenamiento de las raíces de almacenaje del yacón, la concentración de FOS disminuye. En Nueva Zelanda las raíces de almacenaje son guardadas por 30 días a 1°C sin cambios en la concentración de FOS. Para la elaboración de productos con alta concentración de FOS las raíces de almacenaje deberían ser guardadas sólo por períodos cortos en espacios fríos y oscuros con alta humedad del aire, y ser procesados, en lo posible, directamente. Tradicionalmente las raíces de almacenaje permanecen un par de días al sol después de la cosecha, ya que de este modo las raíces se vuelven más dulces por la pérdida de agua del 40%. Ello significa que la cantidad absoluta de FOS es mayor directamente después de la cosecha y la cantidad relativa, mayor después de la exposición al sol. Las condiciones de almacenamiento deben ser seleccionadas dependiendo del tipo de producto deseado (Roque, 2009).

El yacón se comercializa en estado fresco y procesado. Los tubérculos se consumen como una fruta fresca y utilizarse para la elaboración de jugos y comidas. Mientras que los tubérculos procesados, como hojuelas deshidratadas, jalea, dulce, escabeche, mermelada, jugos, licor y con las hojas té. Además, la planta completa se utiliza como forraje y los tallos se usan para elaborar la “yista”, “Ilicta” o “Ilipta” (preparado sólido

que se hace con las cenizas de estas u otras plantas y se utiliza en el proceso de coqueo o insalivación de la coca) (Calle & Catacata, 2012). Estudios realizados por Aban (2019), sugieren la factibilidad de la producción y comercialización de hojuelas de yacón en la Provincia de Jujuy.

El cultivo de yacón exige la generación de información agronómica, por lo que, en la actualidad, investigadores de varios países (Brasil, Alemania, China, Japón), estudian diferentes formas de producción, en distintos ambientes, genotipos y sistemas de fertilización fundamentalmente (Silva *et al.*, 2019; Wagner *et al.*, 2019; Kamp *et al.*, 2019; Kamp *et al.*, 2019b; Kamp *et al.*, 2019c).

I.3. LAS INTERACCIONES

I.3.1. Interacción de topinambur y hongos micorrícicos

Se determinó la presencia de hongos micorrícicos arbusculares en raíces de topinambur (*H. tuberosus*), siendo baja su colonización: 2,5 %. Esto resultó de un estudio realizado en 36 especies de plantas medicinales en Cracovia; en el mismo se concluye que los niveles de colonización micorrícica están relacionados con las condiciones edáficas. También se determinó que el hongo *Oplidium sp.* colonizó raíces de *H. tuberosus* (Zubek *et al.*, 2011). La baja colonización pudo deberse a que esta planta es originaria de América y si bien se extendió por Europa es probable que sus micorrizas no se hayan difundido de igual manera, por lo cual es importante estudiar la micorrización de *H. tuberosus* en esta región. Estudios recientes realizados por Eid *et al.* (2019), determinaron que las micorrizas arbusculares mejoran el estado nutricional de *H. tuberosus* e inducen su resistencia contra el hongo fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*, donde las plantas micorrizadas disminuyeron la incidencia y la gravedad de la enfermedad causada por *S. rolfsii*, mientras que mejoraron la producción de biomasa y aumentaron los rendimientos de los tubérculos más allá de los obtenidos en las plantas tratadas con fungicidas sintéticos.

I.3.2. Interacción de yacón y hongos micorrícicos

En estudios realizados en la provincia de Tucumán (Argentina) se describió por primera vez la presencia de micorrizas arbusculares y endófitos septados oscuros (ESO) en yacón cultivado (*S. sonchifolius*) y en yacón del campo o silvestre (*Smalanthus*

macroscyphus Baker ex Martius). Las raíces fibrosas de yacón creciendo en un cultivo presentaron un alto nivel de colonización por hongos micorrícicos arbusculares (86 %). Los hongos micorrícicos arbusculares identificados correspondieron mayormente a los géneros *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora*, *Gigaspora* y *Pacispora*. El alto nivel de colonización y las pocas raíces fibrosas observadas sugieren que el yacón (*S. sonchifolius*) es una especie micotrofa-dependiente (Mercado *et al.*, 2013).

I.3.3. Interacción de *Azospirillum* y hongos micorrícicos

El trabajo de revisión bibliográfica realizado por Parra y Cuevas (2001), indican que la inoculación mixta *Azospirillum*-hongo micorrícico vesículo arbuscular provoca incrementos significativos en el crecimiento y contenido de fósforo de las plantas, lo que puede sustituir completamente la aplicación de fertilizantes fosfóricos y nitrogenados, y favorecer la infección de plantas por hongos micorrizógenos. Sin embargo, el déficit de información obtenida hasta el momento puede solamente estimular nuevas investigaciones sobre esta interacción.

Entre las investigaciones realizadas para evaluar la asociación entre bacterias del género *Azospirillum* y hongos micorrícicos se citan las siguientes:

La asociación entre la bacteria *Azospirillum* y hongos micorrícicos determinó un efecto sinérgico, el cual se evidenció en una mejora adicional para casi la totalidad de los parámetros de crecimiento en alfalfa (*Medicago sativa*), lo que demuestra una compatibilidad funcional entre ellos (Biró *et al.*, 2000).

Un comportamiento similar se obtuvo en un bioensayo de producción de tomate, donde la infección de *A. brasilense* a la raíz, se afectó positivamente con la inoculación del hongo micorrícico arbuscular *Glomus intraradices* y se presentó un efecto sinérgico entre ambos. Se observó un incremento de las unidades formadoras de colonias (UFC) de rizósfera a rizoplano; esto probablemente se debe a que esta última es la zona que está más cerca de la raíz, tiene mayor influencia de los exudados radicales y favorece el incremento de las poblaciones de *A. brasilense*, y en la zona de la endorizósfera, el tratamiento *G. intraradices* + *A. brasilense* mostró el 72 % de raíces infectadas (Velasco Velasco *et al.*, 2001). Por otra parte, observaron que la inoculación por separado de *G. intraradices* y *A. brasilense* presentó efectos positivos en la tasa fotosintética de plantas inoculadas comparados con el tratamiento no inoculado, debido a que la bacteria aportó

nitrógeno a través de la fijación biológica y el hongo facilitó la absorción de fósforo por la planta (Velasco Velasco *et al.*, 2001).

Alarcón *et al.* (2002), evaluaron el efecto del hongo micorrícico *Glomus claroideum* sobre el área foliar de *Carica papaya*, la cual se incrementó significativamente, además favoreció la actividad enzimática de la fosfatasa ácida soluble y extractable en la raíz e incrementó la población de *A. brasilense* cepa VS-7.

En investigaciones sobre las interacciones microbianas se discute la compatibilidad funcional de los diazotrofos y las micorrizas, tema que no está del todo dilucidado en la actualidad. Un ejemplo de estos estudios fue el realizado por Biró *et al.* (2000), en el cual se evaluaron las co-inoculaciones de alfalfa (*M. sativa*) con *A. brasilense*, *Rhizobium meliloti*, *Glomus fasciculatum* en diferentes condiciones de cultivo; si bien se observó un efecto sinérgico entre los diazotrofos (asociado y simbiótico) y el hongo micorrícico, la variación de resultados obtenidos por influencia de los factores ambientales y la microflora nativa no les permitió llegar a conclusiones taxativas.

Sánchez de la Cruz *et al.* (2008), estudiaron la influencia del hongo micorrícico arbuscular *G. intraradices* y de *A. brasilense* en trigo (var. 'Sauteña F-01'), en invernadero y en campo. En invernadero, la inoculación independiente de *Glomus* ó *Azospirillum*, incrementó la altura de planta, la biomasa foliar fresca y seca, y la biomasa radical; la colonización micorrícica aumentó en todos los tratamientos con microsimbiontes. En campo y en dos regímenes de humedad (temporal y con un riego de auxilio), los microsimbiontes no influyeron en las características de planta, la colonización micorrícica, el rendimiento o en la calidad de grano. Los resultados de campo indicaron que solo existió respuesta del trigo a la aplicación de un riego de auxilio.

Lo que, si queda claro, es que el efecto final de cualquier inoculación microbiana de funcionamiento planta - rizósfera es, por lo tanto, el resultado de un complejo de interacciones entre las plantas, los habitantes de la rizósfera, los diferentes microorganismos inoculados y los componentes ambientales involucrados (Biró *et al.*, 2000).

Sete da Cruz *et al.* (2020), demostraron que la coinoculación de hongos micorrícicos arbusculares con *A. brasilense* sobre *Cymbopogon citratus* (hierba limón), modificó la composición química y provocó la alteración del contenido de aceites esenciales de la planta.

Por todo esto, el estudio y la búsqueda de microorganismos del suelo con probada capacidad para promover el crecimiento y productividad de las plantas por incrementar la nutrición y defensa de los cultivos ante microorganismos causantes de enfermedades en las plantas resulta una temática, que promete aplicaciones prácticas, además de considerarse una alternativa importante para el desarrollo de la agricultura orgánica y sustentable en la región.

I.3.4. Otras interacciones

Se pudo observar la regeneración y transformación eficiente de plantas de *H. tuberosus* mediante la inoculación con la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*. Consideran que estos estudios podrían ser útiles en el mejoramiento genético de *H. tuberosus* a través de la regeneración eficiente de brotes mediada por bacterias productoras de hormonas de crecimiento (Kim *et al.*, 2016).

Investigaciones realizadas en Tailandia, determinaron que bacterias endofíticas promueven el crecimiento y el rendimiento de las plantas *H. tuberosus*. Trabajaron con cuatro cepas de bacterias endofíticas aisladas de la hoja y tallo de topinambur, que fueron identificadas como *Bacillus aquimaris*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus sp.* y *Bacillus methylotrophicus*. Estas bacterias endofíticas asociadas con la planta estaban en simbiosis, dando metabolitos para el crecimiento y defensa de plantas de *H. tuberosus* (Namwongsa *et al.*, 2019).

II. HIPÓTESIS

II.1. HIPÒTESIS DE INVESTIGACIÓN

- El crecimiento, desarrollo y producción del topinambur y yacón se incrementan con la aplicación de microorganismos fijadores libres del nitrógeno atmosférico y hongos micorrícicos.

- La capacidad de promover el crecimiento de las plantas por los microorganismos del suelo está relacionada y condicionada con la especie vegetal hospedera.

II.2. HIPOTESIS ESTADÍSTICA

H₀: El crecimiento, desarrollo y producción del topinambur y yacón no se incrementan con la aplicación de microorganismos fijadores libres del nitrógeno atmosférico y hongos micorrícicos.

La capacidad de promover el crecimiento de las plantas por los microorganismos del suelo no está relacionada y condicionada con la especie vegetal hospedera.

H₁: El crecimiento, desarrollo y producción del topinambur y yacón se incrementan con la aplicación de microorganismos fijadores libres del nitrógeno atmosférico y hongos micorrícicos.

La capacidad de promover el crecimiento de las plantas por los microorganismos del suelo está relacionada y condicionada con la especie vegetal hospedera.

III. OBJETIVOS

III.1. OBJETIVO GENERAL

En el presente trabajo se planteó como objetivo general determinar la interacción de *Azospirillum brasilense* y hongos micorrícicos sobre *Helianthus tuberosus* y *Smallanthus sonchifolius*.

III.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar si topinambur y yacón tienen naturalmente una simbiosis mutualista con bacterias endorizosféricas del género *Azospirillum*.

- Caracterizar y/o identificar estas bacterias endorizosféricas fijadores libres del N atmosférico.

- Determinar si topinambur y yacón son micotrofas dependientes en cultivos en parcelas de la provincia de Catamarca.

- Aislar, identificar y multiplicar en especies de plantas trampas y multiplicadoras los hongos micorrícicos locales o nativos asociados a topinambur y yacón.

- Evaluar los efectos sobre la nutrición, por determinación de parámetros agronómicos y el estado sanitario de las plantas.

IV. BIBLIOGRAFÍA

- Aban M.J. (2019). Formulación y evaluación de un proyecto de inversión para la producción de hojuelas de Yacón en la provincia de Jujuy. Argentina. 2019. Repositorio. Universidad Siglo 21. (<https://repositorio.uesiglo21.edu.ar/bitstream/handle/ues21/16929/ABAN%20MARIA%20JIMENA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>).
- Aguirre-Cadena J.F.; Aguirre-Medina J.F. (2011). Biofertilizantes a base de micorriza arbuscular y su aplicación en la agricultura. *AgroProduc.* Año 4. 1(1):12-19.
- Ahemad M.; Kibret M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *J. King Saud Univ.-Sci.* (<https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>).
- Alamri S.A.; Mostafa Y.S. (2009). Effect of nitrogen supply and *Azospirillum brasilense* Sp-248 on the response of wheat to seawater irrigation. *Saudi J. Biol. Sci.* 16:101-107.
- Alarcón A.; Davies Jr. F.T.; Egilla J.N.; Fox T.C.; Estrada-Luna A.A.; Ferrera-Cerrato R. (2002). Short term effect of *Glomus claroideum* and *Azospirillum brasilense* on growth and root acid phosphatase activity of *Carica papaya* L. under phosphorus stress. *Rev. Latinoam. de Microbiol.* 44 (1):31-37.
- Ali A.F.; Alsaady M.H.; Salim H.A. (2019). Impact of bio fertilizer and magnetic irrigation water on growth and yield of melon *Cucumis melo* L. *IOPConf. Series: Earth Environ. Sci.* (<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/388/1/012070/pdf>).
- Altindal N. (2019). Molecular characterization of *Helianthus tuberosus* L. treated with ethyl methanesulfonate based on inter-simple sequence repeat markers. *Intern. J. Environ. Sci. Technol.* (<https://doi.org/10.1007/s13762-019-02486-1>).
- Altundag E.; Ozturk M. (2011). Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia – Soc. Behav. Sci.* (<https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2011.05.195>).
- Alvarado C.J.; Dasgupta-Schubert N.; Ambriz E.; Sánchez-Yañez J.M.; Villegas J. (2011). Hongos micorrízicos arbusculares y la fitorremediación de plomo. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 27(4) :357-364.
- Álvarez A.S.; Pérez D.R.; Oneto M.E. (2018). Ensayo de inoculación de micorrizas nativas en *Atriplex undulata* (Chenopodiaceae) para su establecimiento en sustratos

- salinos. En: Restauración ecológica en la diagonal árida Argentina, (Virginia Massara Paletto ... [et al.]; editado por Gustavo Buono; Cynthia Gonzalez; Ciano Nicolás). 1a ed. especial – Guaymallén. :163-169.
- Alvarez R. de C.F.; Benetão J.; Barzotto G.R.; Andrade M.G. de O.; de Lima S.F. (2019). Application methods of *Azospirillum brasilense* in first-and second-crop corn. Rev. Bras. Eng. Agr. Amb. (<http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v23n11p840-846>).
- Andrada H.; Di Barbaro G.; Paz I.; Clérico S. (2012). Evaluación productiva del cultivo de *Helianthus tuberosus* para las condiciones agroclimáticas de Catamarca. ReBeA. 2(2):42-54.
- Andrada H.; Di Barbaro G.; Paz de Arias I.; Clérico S.; Eliazarian M.; Córdoba R. (2011b). Evaluación productiva del cultivo de *Helianthus tuberosus* para las condiciones agroclimáticas de Catamarca. Evaluación invernal. ReBeA. 1(2):159-160.
- Andrada H.; Gómez Bello C.; Ulla E.; Viale S.; Tapia A.; Córdoba R.; Eliazarian M.; Di Barbaro G. (2011a). Evaluación productiva del cultivo de *Helianthus tuberosus* para las condiciones agroclimáticas de Catamarca. ReBeA. 1(1):157-158.
- Andrade-Torres A. (2010). Micorrizas: antigua interacción entre plantas y hongos. Ciencia. (http://www.academia.edu/653234/Micorrizas_Antigua_interaccion_entre_plantas_y_hongos).
- Arnao I.; Seminario J.; Cisneros R.; Trabucco J. (2011). Potencial antioxidante de 10 accesiones de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, procedentes de Cajamarca – Perú. An. de la Fac. de Medicina. (<http://dx.doi.org/10.15381/anales.v72i4.1075>).
- Asghari B.; Khademian R.; Sedaghati B. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) confer drought resistance and stimulate biosynthesis of secondary metabolites in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) under water shortage condition. Sci. Hort. (<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109132>).
- Bach V.; Clausen M.R.; Edelenbos M. (2015). Production of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) and Impact on Inulin and Phenolic Compounds. Process. Impact Act. Components in Food. Cap. 12. :97-102. (<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00012-3>).

- Bach V.; Jensen S.; Kidmose U.; Sorensen J.N.; Edelenbos M. (2013). The effect of culinary preparation on carbohydrate composition, texture and sensory quality of Jerusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus* L.). LWT - Food Sci. Technol. (<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.003>).
- Barrera Berdugo S.E.; Rodriguez Lopez N.F. (2010). Efecto de hongos micorrizicos arbusculares en plántulas de *Elaeis guineensis* (palmaceae) con alto nivel de fósforo en el suelo. Acta biol. Colomb. 15(1):105-114.
- Bashan L.; Holguin G.; Glick B.; Bashan Y. (2007). Bacterias promotoras del crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales. En: Microbiología Agrícola: Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, plantas - microorganismos. (Editores Ronald Ferrera-Cerrato, A. Alarcon y C.A. Champer) & Publisher by Editorial Trillas. México. Capítulo 8. :170-224.
- Bellone C.H. (1997). Recuperación de la germinación de semillas de soja por inoculación con *Azospirillum*. Iº Biología del suelo. Fijación Biológica del Nitrógeno. Tucumán. Argentina. :123-125.
- Berenji J.; Sikora V. (2001). Variability ASD stability of tuber yield of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). Helia. 24:25-32.
- Berquó Marks B.; Megías M.; Nogueira M.A.; Hungria M. (2013). Biotechnological potential of rhizobial metabolites to enhance the performance of *Bradyrhizobium spp.* and *Azospirillum brasilense* inoculants with soybean and maize. AMB Express (<http://www.amb-express.com/content/3/1/21>).
- Biró B.; Köves-Péchy K.; Vörös I.; Takács T.; Eggenberger P.; Strasser R.J. (2000). Interrelations between *Azospirillum* and *Rhizobium* nitrogen-fixers and arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of alfalfa in sterile, AMF-free or normal soil conditions. App. Soil Ecol. 15:159-168.
- Blanco F.A.; Salas E. A. (1997). Micorrizas en la agricultura: Contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. Agron. Costarricense 21(1):55-67.
- Boon C. (2003). Making Yacon Candy. Project Report International Potato Center, Lima, Perú. :28p.
- Borisov I.V.; Schelud'ko A.V.; Petrova L.P.; Katsy E.I. (2009). Changes in *Azospirillum brasilense* motility and the effect of wheat seedling exudates. Microbiol. Res. 164: 578-587.

- Boyd Lade S.; Román C.; del Cueto-Ginzo A.I.; Serrano L.; Sin E.; Achón M.A.; Medina V. (2019). Differential proteomics analysis reveals that *Azospirillum brasilense* (Sp7) promotes virus tolerance in maize and tomato seedlings. *Eur J. Plant Pathol.* (<https://doi.org/10.1007/s10658-019-01852-6>).
- Boyko A.S.; Konnova S.A.; Fedonenko Y.P.; Zdrovenko E.L.; Smol'kina O.N.; Kachala V.V.; Ignatov V.V. (2011). Structural and functional peculiarities of the lipopolysaccharide of *Azospirillum brasilense* SR55, isolated from the roots of *Triticum durum*. *Microbiol. Res.* 164:585-593.
- Brundrett M. (2009). Mycorrhizas in Natural Ecosystems. In “*Advances in ecological research*”. (Begon, M, Fitter, A. H. & Macfadyen, A.) Academic Press Limited. 21:171-313.
- Caballero-Mellado J. (2002). El género *Azospirillum*. :177-198. In “Microbios en línea”. (E. Martínez-Romero & J. Martínez-Romero). Univ. Nac. Autónoma de México. (<http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios>).
- Calle M.P.; Catacata A. (2012). YACÓN en Jujuy. Un alimento ancestral. Localidad de Bárcena – Dpto. Tumbaya – Jujuy – República Argentina. :28p.
- Campos D.; Betalleluz-Pallardel I.; Chirinos R.; Aguilar-Galvez A.; Noratto G.; Pedreschi R. (2012). Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. *Food Chem.* (<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.088>).
- Cangahuala-Inocente G.C.; Plucani do Amaral F.; Faleiro A.C.; Huergo L.F.; Maisonnave Cassán F.D.; Garcia de Salamone I. (Eds.). (2008). *Azospirillum* sp.: Cell Physiology, Plant Interactions and Agronomic Research in Argentina. *Asoc. Argen. Microbiol.* :268 p.
- Chen F.; Long X.; Yu M.; Liu Z.; Liu L.; Shao H. (2013). Phenolics and antifungal activities analysis in industrial crop Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) leaves. *Ind. Crops Prod.* (<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.03.027>).
- Chi Z.M.; Zhang T.; Cao T.S.; Liu X.W.; Cui W.; Zhao C.H. (2011). Biotechnological potential of inulin for bioprocesses. *Bioresource Technol.* 102:4295-4303.
- Correa O.S.; Romero A.M.; Soria M.A.; De Estrada M. (2008). *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant

- interactions and agronomic research in Argentina. (Cassán F.D. & Garcia de Salamone I.) Asoc. Argentina de Microbiología, :87-95.
- Cosgrove D.R.; Oelke D.A.; Doll J.D.; Davis D.W.; Undersander D.J.; Oplinger E.S. (1991). Topinambur. Alternative Field Crops Manual. Jerusalem artichoke. (<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/jerusart.html>).
- Covacevich F.; Eyherabide M.; Sainz Rozas H.; Echeverría H.E. (2012). Características químicas determinan la capacidad micotrófica arbuscular de suelos agrícolas y prístinos de Buenos Aires (Argentina). *Ciencia del Suelo (Argent.)* 30(2):119-128.
- Cruz Filla P.A. (2009). Respuesta a la fertilización nitrogenada en rendimiento y sus componentes para el cultivo del topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) en tres fechas de cosecha. Memoria Fac. de Agron. de la Univ. de Concepción. Chillán, Chile. :24p.
- Cruz P.N.; Fetzer D.L.; do Amaral W.; de Andrade E.F.; Corazza M.L.; Masson M.L. (2019). Antioxidant activity and fatty acid profile of yacon leaves extracts obtained by supercritical CO₂ + ethanol solvent. *The J. Supercr. Fluids* (<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.01.007>).
- Cui Y.; Tu R.; Wu L.; Hong Y.; Chen S. (2011). A hybrid two-component system protein from *Azospirillum brasilense* Sp7 was involved in chemotaxis. *Microbiol. Res.* 166:458-467.
- D'Angioli A.M.; Gorne Viani R.A.; Lambers H.; Frankland Sawaya A.C.H.; Silva Oliveira R. (2017). Inoculation with *Azospirillum brasilense* (Ab-V4, Ab-V5) increases *Zea mays* root carboxylate-exudation rates, dependent on soil phosphorus supply. *Plant Soil* (<https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-016-3044-5>).
- Danilcenko H.; Jariene E.; Aleknavičienė P.; Gajewski M. (2008). Quality of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers in relation to storage conditions. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.* 36 (2), :23-27.
- De Ford C.; Ulloa J.L.; Catalán C.A.N.; Grau A.; Martino V.S.; Muschietti L.V.; Merfort I. (2015). The sesquiterpene lactone polymatin B from *Smallanthus sonchifolius* induces different cell death mechanisms in three cancer cell lines. *Phytochem.* (<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.06.020>).
- De la Rosa-Mera C.; Ferrera-Cerrato R.; Alarcón A.; Sánchez-Colín M.; Franco-Ramírez A. (2012). Aislamiento de consorcios de hongos micorrízicos arbusculares de

- plantas medicinales y su efecto en el crecimiento de vinca (*Catharanthus roseus*). Rev. Chilena de Historia Nat. 85:187-198.
- De Mastro G.; Manolio G.; Marzi V. (2004). Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) and Chicory (*Cichorium intybus* L.): Potential Crops for Inulin Production in the Mediterranean Area. Acta horticulturae 629 (XXVI International Horticultural Congress: The Future for Medicinal and Aromatic Plants). (<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.629.47>).
- de Moura Nelci A.; Caetano Brunno F.R.; Sivieri K.; Urbano L.H.; Cabello C.; Rodrigues M.A.M.; Barbisan L.F. (2012). Protective effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) intake on experimental colon carcinogenesis. Food & Chem. Toxicol. 50:2902-2910.
- De Nadai Marcon L.; de Sousa Moraes L.F.; dos Santos Cruz B.C.; de Oliveira Teixeira M.D.; Vidon Bruno T.C.; Egídio Ribeiro I.; Messiasa A.C.; Fortes Ferreira C.L.; de Oliveira L.L.; Gouveia Peluzio M. (2019). Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)-based product increases fecal short-chain fatty acids and enhances regulatory T cells by downregulating ROR γ t in the colon of BALB/c mice. J. Func. Foods (<https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.039>).
- Delgado G.T.; Tamashiro W.M.; Maróstica Junior M.R.; Pastore G.M. (2013). El yacón (*Smallanthus sonchifolius*): un alimento funcional. Plantar alimentos Hum Nutr. (<https://link.springer.com/article/10.1007/s11130-013-0362-0>).
- Denisow B.; Tymoszuk K.; Dmitruk M. (2019). Nectar and pollen production of *Helianthus tuberosus* L. – an exotic plant with invasiveness potential. Acta Bot. Croat. (<https://doi.org/10.2478/botcro-2019-0019>).
- Denoroy P. (1996). The crop physiology of *Helianthus tuberosus* L.: a model orientated view. Biom. Bioen. 11(1):11-32.
- Di Barbaro G.; Nieva S.; Seleme F. (2012). Evaluación del efecto de *Azospirillum brasilense* en la germinación y emergencia del cultivo de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.). ReBeA. 2(2):16-25.
- Díaz-Zorita M.; Fernández-Caniggia M.V. (2009). Field performance of a liquid formulation of *Azospirillum brasilense* on dryland wheat productivity. Eur. J. Soil Biol. 45:3-11.
- Dionísio A.P.; de Carvalho-Silva L.B.; MenezesVieira N.; de Souza Goes T.; Wurlitzera N.J.; Borges M.F.; Sousa de Brito E.; Ionta M.; Wilane de Figueiredo R. (2015).

- Cashew-apple (*Anacardium occidentale* L.) and yacon (*Smallanthus sonchifolius*) functional beverage improve the diabetic state in rats. *Food Res. Inter.* (<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.020>).
- Dornas W.C.; de Oliveira T.T.; Dores R.G.R.; Fabres M.H.A.; Nagem T.J. (2008). Efeitos antidiabéticos de plantas medicinais. *Rev. Bras. de Farmac. Brazilian J. Pharmac.* 19(2A):488-500.
- dos Santos Júnior A.C.; de Carvalho M.A.C.; Yamashita O.M.; Tavanti T.R.; Tavanti R.F.R. (2019). Maize productivity in succession to cover crops, nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Rev. Brasileira de Engen. Agríc. Amb.* (<http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v23n12p966-971>).
- Dostert N.; Cano A.; Roque J.; La Torre M.I.; Weigend M. (2009). Factsheet: Datos botánicos de Yacón - *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob. Proyecto Perúbiodiverso - PBD. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH: Programa Desarrollo Rural Sostenible - PDRS - Secretaría de Estado de Economía Suiza. Lima- Perú. (<http://perubiodiverso.pe/assets/Hoja-Bot%C3%A1nica-Yac%C3%B3n-20092.pdf>).
- Dou D.Q.; Tian F.; Qiu Y.K.; Kang T.G.; Dong F. (2008). Structure elucidation and complete NMR spectral assignments of four new diterpenoids from *Smallanthus sonchifolius*. *Magnetic Resonance in Chem.* (<https://doi.org/10.1002/mrc.2242>).
- Eckhard G.; Horst W.J.; Neumann E. (2012). Chapter 17 - Adaptation of Plants to Adverse Chemical Soil Conditions Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition). :409-472.
- Eid K.E.; Abbas M.H.H.; Mekawi E.H.; ElNagar M.M.; Abdelhafez A.A.; Amin B.H.; Mohamed I.; Ali M.M. (2019). Arbuscular mycorrhiza and environmentally biochemicals enhance the nutritional status of *Helianthus tuberosus* and induce its resistance against *Sclerotium rolfsii*. *Ecotoxicol. Env. Saf.* (<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109783>).
- El_Komy M.H.; Hassouna M.G.; Abou-Taleb E.M.; Al-Sarar A.S.; Abobakr Y. (2020). A mixture of *Azotobacter*, *Azospirillum*, and *Klebsiella* strains improves root-rot disease complex management and promotes growth in sunflowers in calcareous soil. *Eur. J. Plant Pathol.* (<https://doi.org/10.1007/s10658-019-01921-w>).
- Evseeva N.V.; Tkachenko O.V.; Denisova A.Yu.; Burygin G.L.; Veselov D.S.; Matora L. Yu.; Shchyogolev S.Yu. (2019). Functioning of plant-bacterial associations

- under osmotic stress in vitro. *World J. Microbiol. Biotechnol.* (<https://doi.org/10.1007/s11274-019-2778-7>).
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (1992). Cultivos marginados: otra perspectiva de 1492. (Colección FAO: Producción y protección vegetal, N°26) :174-177.
- Fawzi E.M. (2011). Comparative study of two purified inulinases from thermophile *Thielavia terrestris* NRRL 8126 and mesophile *Aspergillus foetidus* NRRL 337 grown on *Cichorium intybus* L. *Brazilian J. Microbiol.* 42:633-649.
- Fernández E.C.; Viehmannová I.; Lachman J.; Milella L. (2006). Yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poeppig & Endlicher) H. Robinson]: a new crop in the Central Europe. *Plant Soil Environ.* 52(12):564-570.
- Fernández J. (1998). Production costs of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) for ethanol production in Spanish irrigated lands. (<http://www.eeci.net/archive/biobase/B10245.html>).
- Ferreira A.S.; Pires R.R.; Rabelo P.G.; Oliveira R.C.; Luz J.M.Q.; Brito C.H. (2013). Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. *App. Soil Ecol.* 72:103-108.
- Florkiewicz A.; Cieslik E.; Filipiak-Florkiewicz A. (2007). Wpływ odmiany i terminu zbioru na skład chemiczny bulw topinamburu (*Helianthus tuberosus* L.). *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technol. Jakość.* (<http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.agro-e110bfce-a837-4795-87f4-177c604240f6>).
- Galindo F.S.; Buzetti S.; Lima Rodrigues W.; Marcandalli Boleta E.H.; Martins Silva V.; Rimoldi Tavanti R.F.; Fernandes G.C.; Campos Biagini A.L.; Leonel Rosa P.A.; Carvalho Minhoto Teixeira Filho M. (2020). Inoculation of *Azospirillum brasilense* associated with silicon as a liming source to improve nitrogen fertilization in wheat crops. *Sci. Reports.* (<https://doi.org/10.1038/s41598-020-63095-4>).
- Galindo F.S.; Lima Rodrigues W.; Campos Biagini A.L.; Fernandes G.C.; Bianchi Baratella E.; da Silva Junior C.A.; Buzetti S.; Carvalho Minhoto Teixeira Filho M. (2019). Assessing Forms of Application of *Azospirillum brasilense* Associated with Silicon Use on Wheat. *Agron.* (<https://www.mdpi.com/2073-4395/9/11/678>).

- Gao K.; Zhang Z.; Zhu T.; Tian X.; Gao Y.; Zhao L.; Li T. (2019). The influence of leaf removal on tuber yield and fuel characteristics of *Helianthus tuberosus* L. in a semi-arid area. Ind. Crops & Prod. (<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.024>).
- García de Salamone I.E.; Funes J.M.; Di Salvo L.P.; Escobar-Ortega J.S.; D`Auria F.; Ferrando L.; Fernandez-Scavino A. (2012). Inoculation of paddy rice with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: Impact of genotypes on rhizosphere microbial communities and field crop production. App. Soil Ecol. 61:196-204.
- García J.E.; Maroniche G.; Creus C.; Suárez-Rodríguez R.; Ramirez-Trujillo J.A.; Groppa M.D. (2017). In vitro PGPR properties and osmotic tolerance of different *Azospirillum* native strains and their effects on growth of maize under drought stress. Microbiol. Res. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2017.04.007>).
- García Rodríguez S. (2006). Efecto de las micorrizas arbusculares sobre la regulación de genes implicados en el metabolismo carbonado en plantas de tomate (*Solanum esculentum*). Tesis doctoral. Univer. de Granada. :246p.
- Gedrovica I.; Karklina D.; Frás A.; Jablonka O.; Boros D. (2011). The non-starch polysaccharides quantity changes in pastry products where Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) added. Procedia Food Sci. 1:1638-1644.
- Genta S.; Cabrera C.; Habib N.; Pons J.; Manrique I.; Grau A.; Sánchez S. (2009). Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. Clinical Nutr. 28(2):182-187.
- Geyer M.; Manrique I.; Degen L.; Beglinger C. (2008). Effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on colonic transit time in healthy volunteers. Digestion. 78(1):30-33.
- Grancieri M.; Brunoro Costa N.M.; Vaz Tostes M.; Silva de Oliveira D.; de Carvalho Nunes L.; de Nadai Marcon L.; Agrizzi Veridiano T.; Lomar Viana M. (2017). Yacon flour (*Smallanthus sonchifolius*) attenuates intestinal morbidity in rats with colon cancer. J. Func. Foods (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2017.08.039>).
- Haji Nia Somayeh; Mohammad Javad. Zarea; Farhad Rejali; A. Varma. (2012). Yield and yield components of wheat as affected by salinity and inoculation with *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil. J. Saudi Soc. Agric. Sci. 11:113-121.

- Harrison M.J. (2005). Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annu Rev. Microbiol.* (<https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.micro.58.030603.123749>).
- Heidari M.; Golpayegani A. (2012). Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 11:57-61.
- Hungria M. (2011). Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Embrapa Soja. Janeiro. :36p.
- Hungria M.; Nogueira M.A.; Silva Araujo R. (2013). Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. *Biol. Fertil. Soils* 49:791-801.
- Ibarguren L.; Calderon M.; Tessaro S.; Bertona A.; Reborá C. (2019). Evaluación sensorial del topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) como alimento. *RIA.* 45(2):204-210.
- Ibarguren L.; Reborá C. (2013). El cultivo de Topinambur: generalidades sobre su ecofisiología y manejo. *Hort. Argent.* 32(77):35-41.
- Ibarguren L. (2015). Efecto del momento de cosecha sobre la calidad hortícola del topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) conservado en cámara frigorífica. Tesis de maestría. Fac. de Cs. Agrarias. Univ. Nac. de Cuyo. Mendoza. :98p.
- INASE (2019). Instituto Nacional de Semillas. República Argentina. (<https://gestion.inase.gov.ar/consultaGestion/gestiones/index/page:9>).
- Iraporda C.; Rubel I.A.; Manrique G.D.; Abraham A.G. (2019). Influence of inulin rich carbohydrates from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers on probiotic properties of *Lactobacillus* strains. *LWT - Food Sci. Technol.* (<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.074>).
- Ishiki K.; Salgado Moreno V.; Arellano J. (1997). Revision of chromosome number and karyotype of Yacon (*Polymnia sonchifolia*). Resúmenes del primer taller internacional sobre recursos fitogenéticos del noroeste argentino. INTA, Salta, Argentina.
- Jeong G.T. (2015). Catalytic conversion of *Helianthus tuberosus* L. to sugars, 5-hydroxymethylfurfural and levulinic acid using hydrothermal reaction. *Biom. & Bioen.* (<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.01.014>).

- Judprasong K.; Archeepsudcharit N.; Chantapiriyapoon K.; Tanaviyutpakdee P.; Temviriyankul P. (2018). Nutrients and natural toxic substances in commonly consumed Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tuber. Food Chem. (<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.116>).
- Kamp L.; Hartung J.; Mast B.; Graeff-Hönninger S. (2019). Impact of Nitrogen Fertilization on Tuber Yield, Sugar Composition and Nitrogen Uptake of Two Yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) Genotypes. Agron. (<https://doi.org/10.3390/agronomy9030151>).
- Kamp L.; Hartung J.; Mast B.; Graeff-Hönninger S. (2019b). Tuber Yield Formation and Sugar Composition of Yacon Genotypes Grown in Central Europe. Agron. (<https://doi.org/10.3390/agronomy9060301>).
- Kamp L.; Hartung J.; Mast B.; Graeff-Hönninger S. (2019c). Plant growth, tuber yield formation and costs of three different propagation methods of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Ind. Crops & Prod. (<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.006>).
- Kantar M.B.; Betts K.; Michno J.M.; Luby J.J.; Morrell P.L.; Hulke B.S.; Stupar R.M.; Wyse D.L. (2014). Evaluating an interspecific *Helianthus annuus* × *Helianthus tuberosus* population for use in a perennial sunflower breeding program. Field Crops Res. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2013.04.018>).
- Kays S.J.; Nottingham S.F. (2008). Biology and chemistry of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). CRC Press. Taylor & Francis Group. :478 p.
- Kim M.J.; An D.J.; Moon K.B.; Cho H.S.; Min S.R.; Sohn J.H.; Heung J.; Jeon J.H.; Kim H.S. (2016). Highly efficient plant regeneration and *Agrobacterium*-mediated transformation of *Helianthus tuberosus* L. Ind. Crops & Prod. (<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.054>).
- Kirk P.M.; Cannon P.F.; David J.C.; Stalpers J. (2001). Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. 9th ed. CAB International, Wallingford, UK. (doi:[https://doi.org/10.1016/S0024-2829\(03\)00055-0](https://doi.org/10.1016/S0024-2829(03)00055-0)).
- Kitai Y.; Zhang X.; Hayashida Y.; Kakehi Y.; Tamura H. (2017). Induction of G2/M arrest and apoptosis through mitochondria pathway by a dimer sesquiterpene lactone from *Smallanthus sonchifolius* in HeLa cells. J. food & drug anal. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.005>).
- Klímek P.; Meinschmidt P.; Wimmer R.; Plinke B.; Schirp A. (2016). Using sunflower (*Helianthus annuus* L.), topinambour (*Helianthus tuberosus* L.) and cup-plant

- (*Silphium perfoliatum* L.) stalks as alternative raw materials for particleboards. Ind. Crops & Prod. (<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.004>).
- Koyama R.; Ribeiro Júnior W.A.; Mariani Zeffa D.; Tadeu Faria R.; Mitsuharu Saito H.; Azeredo Gonçalves L.S.; Ruffo Roberto S. (2019). Association of Indolebutyric Acid with *Azospirillum brasilense* in the Rooting of Herbaceous Blueberry Cuttings. Hort. (<https://doi.org/10.3390/horticulturae5040068>).
- Kronberga M.M.; Gedrovica I.; Karklina D. (2013). The Influence of Jerusalem Artichoke as Nutrition Value Increaser on Microbiological Parameters of Confectionery Products. 2nd International Conference on Nutrition and Food Sciences IPCBEE IACSIT Press, Singapore. (<http://www.ipcbee.com/vol53/004-ICNFS2013-F0008.pdf>)
- Lachman J.; Havrland B.; Fernández E.C.; Dudjak J. (2004). Saccharides of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] tubers and rhizomes and factors affecting their content. Plant Soil Environ. (<https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/52777.pdf>).
- Lara-Pérez L.A.; Noa-Carrazana J.C.; Landa López A.; Hernández-González S.; Oros-Ortega I.; Andrade Torres A. (2014). Colonización y estructura de la comunidad de hongos micorrízicos arbusculares en *Alsophila firma* (Cyatheaceae) en bosque mesófilo de montaña en Veracruz, México. Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol.) 62 (4):1609-1623.
- Larraburu E.E.; Yarte M.E.; Llorente B.E. (2016). *Azospirillum brasilense* inoculation, auxin induction and culture medium composition modify the profile of antioxidant enzymes during in vitro rhizogenesis of pink lapacho. Plant Cell Tiss Orgn. Cult. (<https://doi.org/10.1007/s11240-016-1060-z>).
- Lelio H.; Rebora C.; Gómez L. (2009). Potencial de obtención de bioetanol a partir de topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) regado con aguas residuales urbanas. Rev. FCA. UNCuyo. (http://revista.fca.uncu.edu.ar/images/stories/pdfs/2009-01/T41_1_11.pdf).
- Li Huamin; Yanhua Cui; Lixian Wu; Ran Tu; Sanfeng Chen. (2011). cDNA-AFLP analysis of differential gene expression related to cell chemotactic and encystment of *Azospirillum brasilense*. Microbiol. Res. 166:595-605.

- Lima Verde Leal M.R.; Tarántola F.; Roggiero A.; Castro D.; Barbosa Cortez L. A. (2008). Biomassa para energía. Capítulo 5: Producao de etanol em regioes semi-áridas. UNICAMP Editora. :113-131.
- Lopez B.R.; Palacios O.A.; Bashan Y.; Hernández-Sandoval F.E.; de-Bashan L.E. (2019). Riboflavin and lumichrome exuded by the bacterium *Azospirillum brasilense* promote growth and changes in metabolites in *Chlorella sorokiniana* under autotrophic conditions. *Algal Res.* (<https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101696>).
- Lugo M.A.; Giordano P.G.; Urcelay C.; Crespo E.M. (2011). Colonización radical por endófitos fúngicos en *Trithrinax campestris* (Arecaceae) de ecosistemas semiáridos del centro de Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 46 (3-4): 213-222.
- Lv S.; Wang R.; Xiao Y.; Li F.; Mu Y.; Lu Y.; Gao W.; Yang B.; Kou Y.; Zeng J.; Zhao C. (2019). Growth, yield formation, and inulin performance of a non-food energy crop, Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.), in a semi-arid area of China. *Ind. Crops & Prod.* (<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.064>).
- Ly J. (2000). Nitrogen and energy balance in pigs fed jerusalem artichokes (*Helianthus tuberosus* L.). *Rev. Comput. de Produc. Porcina.* (<http://www.iip.co.cu/RCPP/ant/RCPP7.3.pdf>).
- Maldonado S.; Luna Pizarro P.; Martínez V.; Villatarco M.; Singh J. (2008). Producción y comercialización de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en comunidades rurales del noroeste argentino. *Agroalim.* (<http://www.scielo.org.ve/pdf/a/v13n26/art09.pdf>).
- Manrique I.; Párraga A.; Hermann M. (2005). Yacon syrup: Principles and processing (8B). Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. :31p.
- Mansilla R.; López C.; Flores M.; Espejo R. (2010). Estudios de la biología reproductiva en cinco accesiones de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) Robinson. *Ecol. Apl. Univ. Nac. Agr. La Molina, Lima – Perú.* 9(2):167-175.
- Martino J.; Urcelay C.; Renison D. (2011). Crecimiento y colonización micorrícica de *Polylepis australis* Bitter (Rosaceae) en suelos con distinta historia de pastoreo. *Kurtziana* 36 (1):69-77.
- Marzec M.; Gizińska-Górna M.; Józwiakowski K.; Pytka-Woszczyło A.; Kowalczyk-Juško A.; Gajewska M. (2019). The efficiency and reliability of pollutant removal

- in a hybrid constructed wetland with giant miscanthus and Jerusalem artichoke in Poland. *Ecol. Eng.* (<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.11.008>).
- Mendez-Gomez M.; Castro-Mercado E.; Pena-Uribe C.A.; Reyes-de la Cruz H.; Lopez-Bucio J.; Garcia-Pineda E. (2020). TARGET OF RAPAMYCIN signaling plays a role in *Arabidopsis* growth promotion by *Azospirillum brasilense* Sp245. *Plant Sci.* (<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110416>).
- Mercado M. I.; Coll Aráoz M.V.; Brandán de Weht C.I.; Ponessa G.I.; Grau A. (2013). Arbuscular mycorrhizal associations and dark septate endophytes in Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and a wild relative (*Smallanthus macroscyphus*). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 48 (2):193-200.
- Mombelli J.C. (2011). Evaluación agronómica del topinambur (*Helianthus tuberosus* L.). EEA INTA Manfredi. (http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas%20artificiales/72- evaluacion_topinambur.pdf).
- Moon K.B.; Ko H.; Park J.S.; Sohn J.H.; Cho H.S.; Park Y.; Kim Y.S.; Jeon J.H. (2019). Expression of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) fructosyltransferases, and high fructan accumulation in potato tubers. *Appl. Biol. Chem.* (<https://doi.org/10.1186/s13765-019-0481-x>).
- Moretti L.G.; Crusciol C.A.C.; Kuramae E.E.; Bossolani J.W.; Moreira A.; Costa N.R.; Alves C.J.; Pascoaloto I.M.; Rondina A.B.L.; Hungria M. (2019). Effects of growth-promoting bacteria on soybean root activity, plant development, and yield. *Agron. J.* (<https://doi.org/10.1002/agj2.20010>).
- Muñoz Jáuregui A.M. (2009). Monografía del yacón *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.). Perúbiodiverso. Lima, Perú. :5-60. [<http://perubiodiverso.pe/assets/Monograf%C3%ADa-del-yac%C3%B3n.pdf>].
- Myint P.P.; Dao T.T.P.; Kim Y.S. (2019). Anticancer Activity of *Smallanthus sonchifolius* Methanol Extract against Human Hepatocellular Carcinoma Cells. *Molec.* (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31443460/>).
- Namwongsa J.; Jogloy S.; Vorasoot N.; Boonlue S.; Riddech N.; Mongkoltharuk W. (2019). Endophytic Bacteria Improve Root Traits, Biomass and Yield of *Helianthus tuberosus* L. under Normal and Deficit Water Conditions. *J. Microbiol. Biotechnol.* (<https://doi.org/10.4014/jmb.1903.03062>).
- Naoe A.M. de L.; Peluzio J.M.; Campos L.J.M.; Naoe L.K.; Silva R.A. (2020). Co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean cultivars subjected to water

- déficit. Rev. Brasileira de Eng. Agríc. Amb. (<http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v24n2p89-94>).
- Navarro A.; Elia A.; Conversa G.; Campi P.; Mastroilli M. (2012). Potted mycorrhizal carnation plants and saline stress: Growth, quality and nutritional plant responses. *Sci. Hort.*140:131-139.
- Ojansivu I.; Ferreira C.L.; Salminen S. (2011). Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends in Food Sci. & Technol.* (<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.11.005>).
- Okada N.; Kobayashi S.; Moriyama K.; Miyataka K.; Abe S.; Sato C.; Kawazoe K. (2017). *Helianthus tuberosus* (Jerusalem artichoke) tubers improve glucose tolerance and hepatic lipid profile in rats fed a high-fat diet. *Asian Pacific J. of Trop. Med.* (<https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.03.028>).
- Öztürk H. (2008). Effects of inulin on rumen metabolism in vitro. *Ankara Üniv., Vet. Fak. Derg.* (https://www.researchgate.net/publication/228801489_Effects_of_inulin_on_rumen_metabolism_in_vitro).
- Pacheco M.T.; Escribano-Bailón M.T.; Moreno F.J.; Villamiel M.; Dueñas M. (2019). Determination by HPLC-DAD-ESI/MSn of phenolic compounds in Andean tubers grown in Ecuador. *J. Food Comp. & Anal.* (<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103258>).
- Pagnussat L.A.; Maroniche G.; Curatti L.; Creus C. (2020). Auxin-dependent alleviation of oxidative stress and growth promotion of *Scenedesmus obliquus* C1S by *Azospirillum brasilense*. *Algal Res.* (<https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101839>).
- Papi N.; Kafilzadeh F.; Fazaeli H. (2019). Use of Jerusalem artichoke aerial parts as forage in fat-tailed sheep diet. *Small Rumin. Res.* (<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.03.001>).
- Parameswarab M. (1999). Urban wastewater use in plant biomass production. *Resources, Conserv. & Recyc.* 27:39-56.
- Parniske M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews. Microbiol.* 6:763-775.
- Parra Y.; Cuevas F. (2001). Potencialidades de *Azospirillum* como inoculante para la agricultura. *Revisión bibliográfica. Cult. Trop.* 23(3):31-41.

- Paucar E. (2012). Las micorrizas alternativa ecológica para una agricultura sostenible. (<http://www.monografias.com/trabajos72/micorrizas-alternativa-ecologica-agricultura-sostenible/micorrizas-alternativa-ecologica-agricultura-sostenible.Shtml>).
- Pereira N.C.M.; Galindo F.S.; Gazola R.P.D.; Dupas E.; Rosa P.A.L.; Mortinho E.S.; Teixeira Filho M.C.M. (2020). Corn Yield and Phosphorus Use Efficiency Response to Phosphorus Rates Associated With Plant Growth Promoting Bacteria. *Front. Environ. Sci.* (<https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.00040>).
- Perez C.A.; Rojas S.J.; Fuentes C.J. (2010). Determinación de un modelo logístico para evaluación *in situ* de la colonización de micorrizas en pasto *Dichanthium aristatum* (L). *Rev. Colombiana cienc. Anim.* 2(1):73-84.
- Pernasetti S.; Di Barbaro G. (2012). Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal como biofertilizantes. *ReBeA.* 2(2):119-128.
- Perrig D.; Boiero L.; Masciarelli O.; Penna C.; Cassán F.; Luna V. (2007). Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 75:1143-1150.
- Peterson L.; Massicotte H. B.; Melville L. (2004). *Mycorrhizas: Anatomy and cell Biology.* NRC. Res. Press. Ottawa. Canada. :173p.
- Piccinin Gleberston G.; Braccini A.L.; Dan L.G.M.; Scapim C.A.; Ricci T.T.; Bazo G.L. (2013). Efficiency of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* on agronomic characteristics and yield of wheat. *Ind. Crops & Prod.* 43:393-397.
- Pimsaen W.; Jogloy S.; Suriharn B.; Kesmala T.; Pensuk V.; Patanothai A. (2010). Genotype by Environment (GxE) Interactions for Yield Components of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Asian J. Plant Sci.* 9(1):11-19.
- Prusov A.N.; Prusova S.M.; Zakharov A.G.; Bazanov A.V.; Ivanov V.K. (2019). Potential of Jerusalem Artichoke Stem for Cellulose Production. *Eurasian Chem.-Technol. J.* (<https://doi.org/10.18321/ectj828>).
- Quiñones-Aguilar E.E.; Hernández-Acosta E.; Rincón-Enríquez G.; Ferrera-Cerrato R. (2012). Interacción de hongos micorrízicos arbusculares y fertilización fosfatada en papaya. *Terra Latinoam.* 30(2):165-176.
- Ramos-Ibarra J.R.; Rubio-Ramírez T.E.; Mondragón-Cortez P.; Torres-Velázquez J.R.; Choix F.J. (2019). *Azospirillum brasilense*-microalga interaction increases growth and accumulation of cell compounds in *Chlorella vulgaris* and *Tetradasmus*

- obliquus* cultured under nitrogen stress. J. App. Phycol. (<https://doi.org/10.1007/s10811-019-01862-1>).
- Rebora C. (2008). Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.): usos, cultivo y potencialidad en la región de Cuyo. Hort. Argent. (63):27-37.
- Rebora C.; Lelio H.; Ibareguren L.; Gómez L. (2011). Efecto de la densidad de plantación sobre el rendimiento de topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) regado con aguas residuales urbanas. Rev. FCA UNCUYO. 43(2):83-90.
- Reem Brenholtz G.; Tamir-Ariel D.; Okon Y.; Burdman S. (2017). Carotenoid production and phenotypic variation in *Azospirillum brasilense*. Res. Microbiol. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2017.02.008>).
- Reis Júnior F.B.; Machado C.T.T.; Machado A.T.; Sodek L. (2008). Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. Rev. Bras. Ciênc. Solo 32(3):1139-1146.
- Reust W.; Dutoit J.P. (1992). Renewable raw materials and alternative crops: yield potential of Jerusalem artichoke, sweet sorghum and a spurge. Landwirtschaft-Schweiz. 5(10):509-516.
- Reyes-Tena A.; López-Pérez L.; Quiñones-Aguilar E.E.; Rincón-Enríquez G. (2015). Evaluación de consorcios micorrízicos arbusculares en el crecimiento vegetal de plantas de maíz, chile y frijol. Biols. 17(2):35-42 Número especial: XLII
- Ribaudó C.M.; Curá J.A.; Cantore M.L. (2017). Activation of a calcium-dependent protein kinase involved in the *Azospirillum* growth promotion in rice. World J. Microbiol. Biotechnol. (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28044270/>).
- Rodríguez-Morelos V.H.; Soto-Estrada A.; Pérez-Moreno J.; Negreros-Castillo P. (2011). Los hongos micorrízicos arbusculares y su implicación en la producción y manejo de especies neotropicales forestales, con énfasis en meliáceas. Intercienc. 36(8):564-569.
- Romero Osorio A. (2012). Estudio de la formación de la biopelícula de *Azospirillum brasilense*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Puebla. Centro de Investigaciones en Cs. Biológicas. México. :63p.
- Roque J. (2009). Factsheet: Datos botánicos de Yacón. *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob. Primera Ed. Lima-Perú. (http://www.academia.edu/24861153/Factsheet_Datos_bot%C3%A1nicos_de_Yac%C3%B3n._Smallanthus_sonchifolius_Poepp._H._Rob).

- Rossi R.; Chicahuala M.S. (2017). Evaluación productiva de topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) bajo diferentes densidades y fertilización en el semiárido central de la Argentina. Hort. Argent. 36(90):49-58.
- Rubel I.A.; Iraporda C.; Novosad R.; Cabrera F.A.; Genovese D.B.; Manrique G.D. (2018). Inulin rich carbohydrates extraction from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers and application of different drying methods. Food Res. Intern. (<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.041>).
- Ruscitti M.; Garita S.; Arango M.C.; Beltrano J. (2015). Inoculación con aislamientos seleccionados de hongos vesículo-arbusculares como alternativa para moderar el estrés hídrico en plantas de tomate platense bajo condiciones de invernáculo. Rev. Fac. Agron. 114(2):219-229
- Sánchez de la Cruz R.; Díaz-Franco A.; Pecina-Quintero V.; Garza-Cano I.; Loera-Gallardo J. (2008). *Glomus intraradices* y *Azospirillum brasilense* en trigo bajo dos regímenes de humedad en el suelo. Univ. y Ciencia. Tróp. Húmedo. (<http://www.scielo.org.mx/pdf/uc/v24n3/v24n3a8.pdf>).
- Sánchez de Prager M. (2007). Las micorrizas: estrategia compartida para colonizar el suelo. Capítulo 4. Las Endomicorrizas: Expresión bioedáfica de importancia en el trópico. Univ. Nac. de Colombia. Fac. de Cs. Agropecuarias.:115-175.
- Santana I; Cardoso M.H. (2008). Raíz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. Ciência Rural. Sta. Ma. 38(3):898-905.
- Santos K.F.D.N.; Moure V.R.; Hauer V.; Santos A.R.S.; Donatti L.; Galvão C.W.; Pedrosa F.O.; Souza E.M.; Wassem R.; Steffens M.B.R. (2017). Wheat colonization by an *Azospirillum brasilense* ammonium-excreting strain reveals upregulation of nitrogenase and superior plant growth promotion. Plant Soil (<https://doi.org/10.1007/s11104-016-3140-6>).
- Sarasola A.A.; Rocca de Sarasola M.A. (1975). Fitopatología. Curso moderno. Tomo IV. Editorial Hemisferio Sur. Argentina. :191-192.
- Satoh H.; Audrey Nguyen M.T.; Kudoh A.; Watanabe T. (2013). Yacon diet (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae) improves hepatic insulin resistance via reducing Trb3 expression in Zucker fa/fa rats. Nutrit. & Diabetes 3:1-6.
- Schelud'ko A.V.; Makrushin K.V.; Tugarova A.V.; Krestinenko V.A.; Panasenko V.I.; Antonyuk L.P.; Katsy E.I. (2009). Changes in motility of the rhizobacterium

- Azospirillum brasilense* in the presence of plant lectins. *Microbiol. Res.* 164:149-156.
- Schoebitz M.; Mengual C.; Roldán A. (2014). Combined effects of clay immobilized *Azospirillum brasilense* and *Pantoea dispersa* and organic olive residue on plant performance and soil properties in the revegetation of a semiarid area. *Sci. Total Environ.* 466-467:67-73.
- Schorr-Galindo S.; Guiraud J.P. (1997). Sugar potential of different Jerusalem Artichoke cultivars according. *Bioresource Technol.* 60:15-20.
- Scott S.; Housh A.; Powell G.; Anstaett A.; Gerheart A.; Benoit M.; Wilder S.; Schueller M.; Ferrieri R. (2020). Crop Yield, Ferritin and Fe (II) boosted by *Azospirillum brasilense* (HM053) in Corn. *Agron.* (<https://doi.org/10.3390/agronomy10030394>).
- Selosse M.A.; Richard F.; He X.; Simard S.W. (2006). Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses?. *Trends Ecol. Evol.* (<https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.07.003>).
- Seminario J.; Valderrama M.; Manrique I. (2003). El yacón: Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Lima (Perú). Centro Internacional de la Papa (CIP); Universidad Nacional de Cajamarca; Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE). :57 p.
- Sete da Cruz R.M.; Alberton O.; da Silva Lorencete M.; Sete da Cruz G.L.; Gasparotto-Junior A.; Cardozo-Filho L.; Hulse de Souza S.G. (2020). Phytochemistry of *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting bacteria. *Ind. Crops & Prod.* (<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112340>).
- Shirokova A.A.; Budanova A.A.; Burova A.M.; Khlebtsova B.N.; Krasova A.I.; Shchyogoleva S.Yu.; Matora L.Yu. (2017). Immunoelectron Microscopy Investigation of the Cell Surface of *Azospirillum brasilense* Strains. *Microbiol.* (<https://doi.org/10.1134/S0026261717040142>).
- Showkat M.M.; Falck-Ytter A.B.; Strætkevørn K.O. (2019). Phenolic Acids in Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.): Plant Organ Dependent Antioxidant Activity and Optimized Extraction from Leaves. *Molec.* (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31510058/>).

- Silva D.M.M.; Oliveira F.L.; Quaresma M.A.L.; Erlacher W.A.; Mendes T.P. (2019). Yacon production at different planting seasons and growing environments. *Biosci. J. Uberlândia*. (<http://dx.doi.org/10.14393/BJ-v35n4a2019-42091>).
- Silveira Adriano L.; Dionísio A.P.; Pinto de Abreu F.A.; Ferreira Carioca A.A.; Zocolo G.J.; Wurlitzer N.J.; de Oliveira Pinto C.; Cunha de Oliveira A.; de Carvalho Sampaio H.A. (2019). Yacon syrup reduces postprandial glycemic response to breakfast: A randomized, crossover, double-blind clinical trial. *Food Res. Intern.* (<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108682>).
- Singh R.S.; Singh T.; Larroche C. (2019). Biotechnological applications of inulin-rich feedstocks. *Bioresource Technol.* (<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.031>).
- Skonieski F.R.; Viégas J.; Newton Martin T.; Mingotti C.A.C.; Naetzold S.; Tonin T.J.; Dotto L.R.; Meinerz G.R. (2019). Effect of Nitrogen Topdressing Fertilization and Inoculation of Seeds with *Azospirillum brasilense* on Corn Yield and Agronomic Characteristics. *Agron.* (<https://doi.org/10.3390/agronomy9120812>).
- Souza M.S.T.; de Baura V.A.; Santos S.A.; Fernandes-Júnior P.I.; Reis Junior F.B.; Marques M.R.; Matos Paggi G.; da Silva Brasil M. (2017). *Azospirillum spp.* from native forage grasses in Brazilian Pantanal floodplain: biodiversity and plant growth promotion potential. *World J. Microbiol. Biotechnol.* (<https://doi.org/10.1007/s11274-017-2251-4>).
- Sun P.C.; Liu Y.; Yi Y.T.; Li H.J.; Fan P.; Xia C.H. (2015). Preliminary enrichment and separation of chlorogenic acid from *Helianthus tuberosus* L. leaves extract by macroporous resins. *Food Chem.* (<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.038>).
- Szambelan K.; Nowak J.; Chrapkowska K.J. (2004). Comparison of bacterial and yeast ethanol fermentation yield from jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers pulp and juices. *Acta Scientiarum Polonorum, Technol. Alim.* (https://www.food.actapol.net/pub/5_1_2004.pdf).
- Taha H.S.; Abd El-Kawy A.M.; Abd El-Kareem Fathalla M. (2012). A new approach for achievement of inulin accumulation in suspension cultures of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) using biotic elicitors. *J. Genetic Eng. Biotechnol.* 10:33-38.
- Takeuchi J.; Nagashima T. (2011). Preparation of dried chips from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) tubers and analysis of their functional properties. *Food Chem.* 126:922-926.

- Terzic S.; Atlagic J.; Maksimovic I.; Zeremski T.; Zoric M.; Miklic V.; Balalic I. (2012). Genetic variability for concentrations of essential elements in tubers and leaves of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Sci. Hort.* (<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.01.016>).
- Tesio F.; Vidotto F.; Ferrero A. (2012). Allelopathic persistence of *Helianthus tuberosus* L. residues in the soil. *Sci. Hort.* (<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.12.008>).
- Tesio F.; Weston L.A.; Ferrero A. (2011). Allelochemicals identified from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) residues and their potential inhibitory activity in the field and laboratory. *Sci. Hort.* (<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.04.003>).
- Tessaro S.E. (2014). Alimento con alto contenido de fructanos: puré de topinambur (*Helianthus tuberosus* L.). Tesis de grado. Fac. de Cs. Agrarias. Univ. Nac. de Cuyo. Mendoza. (http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/6793/tesis-tessaro-silvina.pdf).
- Ueda Y.; Apiphuwasukcharoen N.; Tsutsumi S.; Matsuda Y.; Areekul V.; Yasuda S. (2019). Optimization of Hot-water Extraction of Dried Yacon Herbal Tea Leaves: Enhanced Antioxidant Activities and Total Phenolic Content by Response Surface Methodology. *Food Sci. & Technol. Res.* (https://www.jstage.jst.go.jp/article/fstr/25/1/25_131/_pdf/-char/ja).
- Urgilés Gómez N.; Quichimbo L.; Schuessler A.; Krueger C. (2010). Evaluación del efecto de la inoculación con hongos micorrízicos en la propagación de *Alnus acuminata* y *Morella pubescens*. *Ecol. For.* 1(1):37-46.
- Valderrama Cabrera M. (2005). Manual del cultivo del yacón. Experiencias de introducción y manejo técnico en el Valle de Condebamba. Programa Pymagros (Convenio Cosude- Minaq), Cajamarca. Perú.
- Velasco Velasco J.; Ferrera-Cerrato R.; Almaraz Suárez J.J. (2001). Vermicomposta, micorriza arbuscular y *Azospirillum brasilense* en tomate de cascara. *Terra.* 19 (3):241-248.
- Velez E.; Castillo N.; Meson O.; Grau A.; Bibas Bonet M.E.; Perdigon G. (2013). Study of the effect exerted by fructo-oligosaccharides from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) root flour in an intestinal infection model with *Salmonella typhimurium*. *British J. Nutr.* (<https://doi.org/10.1017/S0007114512004230>).

- Volfson V.; Fibach-Paldi S.; Paulucci N.S.; Dardanelli M.S.; Matan O.; Burdman S.; Okon Y. (2013). Phenotypic variation in *Azospirillum brasilense* Sp7 does not influence plant growth promotion effects. *Soil Biol. & Biochem.* 67:255-262.
- Volpini-Rapina L.F.; Ruriko Sokei F.; Conti-Silva A.C. (2012). Sensory profile and preference mapping of orange cakes with addition of prebiotics inulin and oligofructose. *LWT - Food Sci. & Technol.* 48:37-42.
- Wagner M.; Kamp L.; Graeff-Hönninger S.; Lewandowski I. (2019). Environmental and economic performance of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) cultivated for fructooligosaccharide production. *Sustain.* (<https://doi.org/10.3390/su11174581>).
- Wang B.; Qiu Y.L. (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhizahello.* (<http://www.springerlink.com/index/X7151P60502078U1.pdf>).
- Wielgosz E. (2010). Effect of selected plant species on enzymatic activity of soil microorganisms. *Pol. J. Soil Sci.* [http://www.pjss.org/artykuly/pjss/Polish_Journal_of_Soil_Science_2010_43_1_73.pdf].
- Willscher S.; Jablonski L.; Fona Z.; Rahmi R.; Wittig J. (2017). Phytoremediation experiments with *Helianthus tuberosus* under different pH and heavy metal soil concentrations. *Hydrometal.* (<https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2016.10.016>).
- Wu L.; Cui Y.; Hong Y.; Chen S. (2011). A CheR/CheB fusion protein is involved in cyst cell development and chemotaxis in *Azospirillum brasilense* Sp7. *Microbiol. Res.* 166:606-617.
- Yan M.R.; Welch R.; Rush E.C.; Xiang X.; Wang X. (2019). A Sustainable Wholesome Foodstu_; Health Effects and Potential Dietotherapy Applications of Yacon. *Nutrients.* (<https://doi.org/10.3390/nu11112632>).
- Yanming Zhang; Li Y.; Jiang L.; Tian C.; Li J.; Xiao Z. (2011). Potential of Perennial Crop on Environmental Sustainability of Agriculture. *Procedia Environ. Sci.* (<https://doi.org/10.1016/j.proenv.2011.09.182>).
- Yildiz G.; Sacakli P.; Gungor T. (2006). The effect of dietary Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) on performance, egg quality characteristics and egg cholesterol content in laying hens. *Czech J. Anim. Sci.* 51(8):349-354.
- Yuan X.; Cheng M.; Gao M.; Zhuo R.; Zhang L.; Xiao H. (2013). Cytotoxic constituents from the leaves of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) and their

structure–activity relationships. *Phytochem. Lett.* (<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2012.10.007>).

Zhang Rui-Qin; Hong-Hui Zhu; Hai-Quan Zhao; Qing Yao. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation increases phenolic synthesis in clover roots via hydrogen peroxide, salicylic acid and nitric oxide signaling pathways. *J. Plant Physiol.* 170(1):74-79.

Zubek S.; Janusz B.; Mleczko P. (2011). Arbuscular mycorrhizal and dark septate endophyte associations of medicinal plants. *Acta Soc. Bot. Poloniae.* 80(4):285-292.

Zulueta Rodríguez R. (2003). Eficiencia de morfoespecies de hongos formadores de micorriza arbuscular aislados en la rizósfera de *Jacaratia mexicana* A. Dc. para promover la absorción de fósforo. Tesis doctoral. Univ. de Colima. Tecomán. México. :35-79.

CAPÍTULO 2.

“Estudio de la existencia natural de simbiosis mutualista de topinambur y yacón con bacterias endorrizosféricas del género *Azospirillum*”

Estudio de la existencia natural de simbiosis mutualista de topinambur y yacón con bacterias endorrizosféricas del género *Azospirillum*

RESUMEN

El género *Azospirillum*, comprende bacterias de vida libre que habitan en suelos de diversas condiciones ecológicas, donde a menudo se asocian a la rizosfera y a la endorrizosfera de las plantas. Estas bacterias tienen múltiples atributos que pueden beneficiar a las plantas hospederas, debido a capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (N₂), secretar fitohormonas como auxinas, citoquininas y giberelinas. Además, pueden suprimir poblaciones de microorganismos fitopatógenos del suelo y descomponer contaminantes del suelo. Por lo cual, el objetivo del trabajo fue determinar si plantas de topinambur (*Helianthus tuberosus*) y de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) cultivadas en el Valle Central de la Provincia de Catamarca, tienen naturalmente simbiosis mutualista con bacterias endorrizosféricas del género *Azospirillum*. Los aislamientos se realizaron en forma continua, a partir de raicillas de plantas de topinambur y de yacón, mediante siembras en medios de cultivos indicadores, diferenciales y selectivos libres de nitrógeno. No se obtuvieron resultados positivos, no se aislaron de rizobacterias nativas del género *Azospirillum* en la endorrizósfera de plantas de topinambur y de yacón. No se pudo comprobar la colonización natural de la endorrizósfera de los cultivos de topinambur (*H. tuberosus*) y de yacón (*S. sonchifolius*) por rizobacterias autóctonas del género *Azospirillum*.

PALABRAS CLAVES: *Helianthus tuberosus*; *Smallanthus sonchifolius*; PGPR.

INTRODUCCIÓN

El género *Azospirillum* fue definido por primera vez por Tarrand *et al.* (1978), en este género se encuentran bacterias de vida libre que habitan en suelos de diversas condiciones ecológicas, donde a menudo se asocian a la rizosfera o a la endorrizosfera de las plantas, y como tienen un metabolismo del carbono y del nitrógeno versátil, les otorga una característica adaptativa que les permite sobrevivir en diferentes ambientes (Souza *et al.*, 2017; Maroniche *et al.*, 2017). En la actualidad es uno de los géneros más estudiados

de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) debido a su capacidad de colonizar muchas especies de plantas (Cassán & Díaz-Zorita, 2016) y a su potencial biotecnológico como inoculantes de cultivos (Maroniche *et al.*, 2017), siendo *A. brasilense* la especie más investigada (Souza *et al.*, 2017).

A. brasilense es una PGPR que mejora el crecimiento y aumenta la resistencia a los factores de estrés bióticos y abióticos en algunas plantas. Esta mejora se debe a la capacidad de fijar N atmosférico, a la producción de fitohormonas (como auxinas, citoquininas y giberelinas) y a la inducción de resistencia sistémica de la planta (Larraburu *et al.*, 2016; D`Angioli *et al.*, 2017). Además, pueden suprimir poblaciones de microorganismos fitopatógenos del suelo, descomponer contaminantes del suelo, entre otros procesos (D`Angioli *et al.*, 2017). Naturalmente puede colonizar algunas especies vegetales y agronómicamente a diversos cultivos como trigo, frutilla, tomate, pimiento, pepino, cebada, arroz, maíz, etc. (Di Barbaro *et al.*, 2005; Pii *et al.*, 2016; Schenberger Santos *et al.*, 2017; Ribaudó *et al.*, 2017; D`Angioli *et al.*, 2017; García *et al.*, 2017).

Como la colonización de las bacterias del suelo en las plantas es un proceso complejo, que implica la interacción entre muchos caracteres bacterianos y respuestas de las plantas (Schenberger Santos *et al.*, 2017), la búsqueda de candidatos para la producción de biofertilizantes específicos para un determinado cultivo debe iniciarse con el estudio de su rizósfera. Por lo cual, el objetivo del trabajo fue determinar si plantas de topinambur (*H. tuberosus*) y yacón (*S. sonchifolius*) cultivadas en el Valle Central de la Provincia de Catamarca, tienen naturalmente simbiosis mutualista con bacterias endorrizosféricas del género *Azospirillum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron ejemplares de topinambur (*H. tuberosus*) y de yacón (*S. sonchifolius*) de diferentes bioensayos de reproducción de material vegetal que se efectuaron en el Valle Central de la Provincia de Catamarca a (Departamento Valle Viejo, 28°28'07"LS 65°46'60"LO), lugar que está inmerso en la región semiárida del noroeste de la República Argentina.

Los aislamientos se realizaron en forma continua, a partir de raicillas de plantas de topinambur y yacón, siguiendo el protocolo correspondiente a la "Técnica de aislamiento de *Azospirillum*" (Tarrand *et al.*, 1978; Döbereiner *et al.*, 1995), que consistió en:

- Lavar enérgicamente raíces, cortar trozos de aproximadamente 1 cm y realizar una desinfección con bicloruro de mercurio al 0,1% durante un minuto.

- Lavar no menos de 4 veces utilizando agua corriente estéril para eliminar el Cl_2 Hg remanente y en forma aséptica, colocar un trozo de raíz en frascos que contengan medio NFb semisólido y se incubaba a 36 °C.

- Después de 2, 3 ó 5 días se observa “velo o sombrilla” que luego se transforma en una película blanca y densa bajo la superficie del medio y alcalinización del medio que provoca viraje del indicador Azul de Bromotimol, tomándose la presencia de *Azospirillum* como positivo cuando existen estas dos características.

- A partir de los tubos positivos se realiza el aislamiento por agotamiento en superficie mediante siembra por estrías en medio de cultivo Rodríguez Cáceres agarizado, para obtener colonias típicas (rojo escarlata y secas). Los cultivos aislados se deben de estriar varias veces en el mismo medio de cultivo hasta obtener crecimientos bacterianos puros (Figura 3). Se corroborará la identificación con el análisis molecular de los aislamientos.

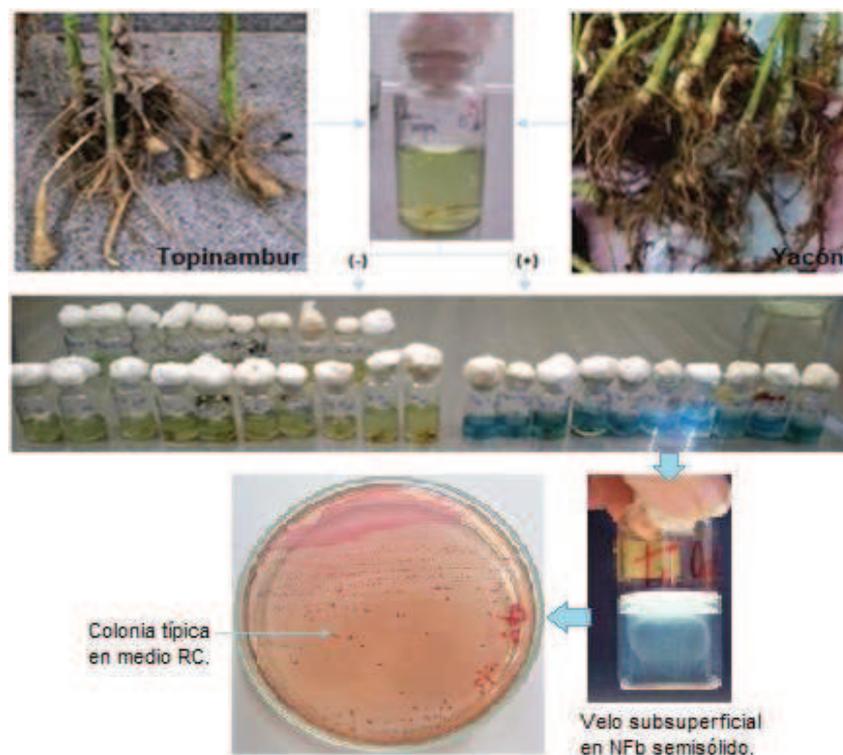


Figura 3. Protocolo de aislamiento de bacterias del género *Azospirillum* (Tarrand *et al.*, 1978; Döbereiner *et al.*, 1995).

Se trabajó con las raíces procedentes de más de 30 ejemplares de cada cultivo, los cuales fueron colectados en diferentes estados fenológicos. Se realizaron siembras de raicillas de topinambur y de yacón en más de 500 tubos para cada especie.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se obtuvieron resultados positivos, sin lograr el aislamiento de rizobacterias nativas del género *Azospirillum* de la endorrizósfera de topinambur y de yacón (Figuras 4 y 5). Estos resultados pueden deberse a que estas especies vegetales, topinambur y yacón, no son cultivos tradicionales en el Valle Central de la Provincia de Catamarca y los ejemplares estudiados fueron cultivados en un sitio que no tenía antecedentes previos de producción de estos cultivos, lo que implica que estas plantas son nuevos componentes de este ambiente y de los complejos procesos de interacciones que suceden en la rizósfera. Y como, el reconocimiento entre las plantas y los microorganismos del suelo es el proceso inicial de relaciones de doble vía, raíz-suelo y suelo-raíz, y mediado por las condiciones ambientales y el sistema planta (Sánchez de Prager, 2007). Donde cada raíz analizada ha sufrido un proceso de desarrollo que la ha llevado a construir su rizósfera y establecer las relaciones entre la planta y microorganismos nativos de la rizósfera. Por ende, los resultados obtenidos pueden deberse a que bacterias del género *Azospirillum* no son componentes de la comunidad microbiana de ese suelo, o bien porque estas bacterias no han tenido la capacidad de colonizar la endorrizósfera de estas plantas.

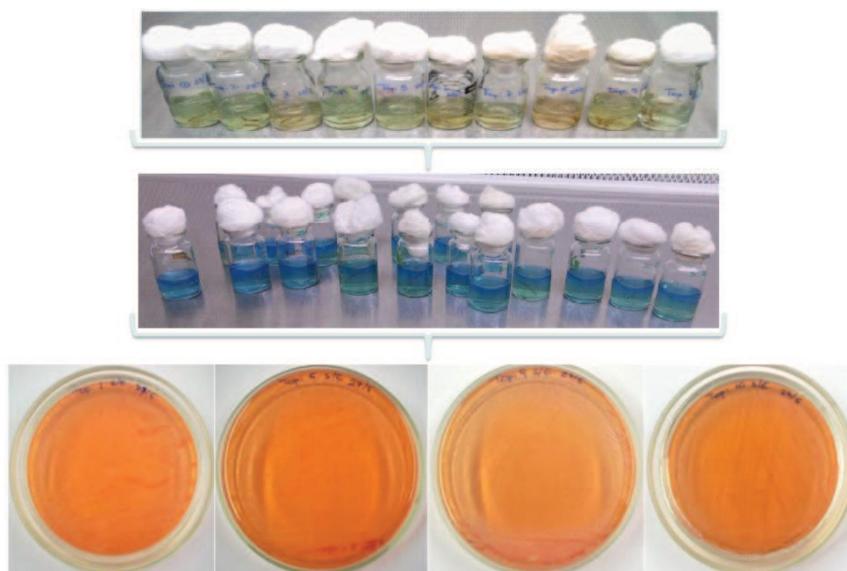


Figura 4. Aislamientos a partir de raicillas de topinambur (*H. tuberosus*).

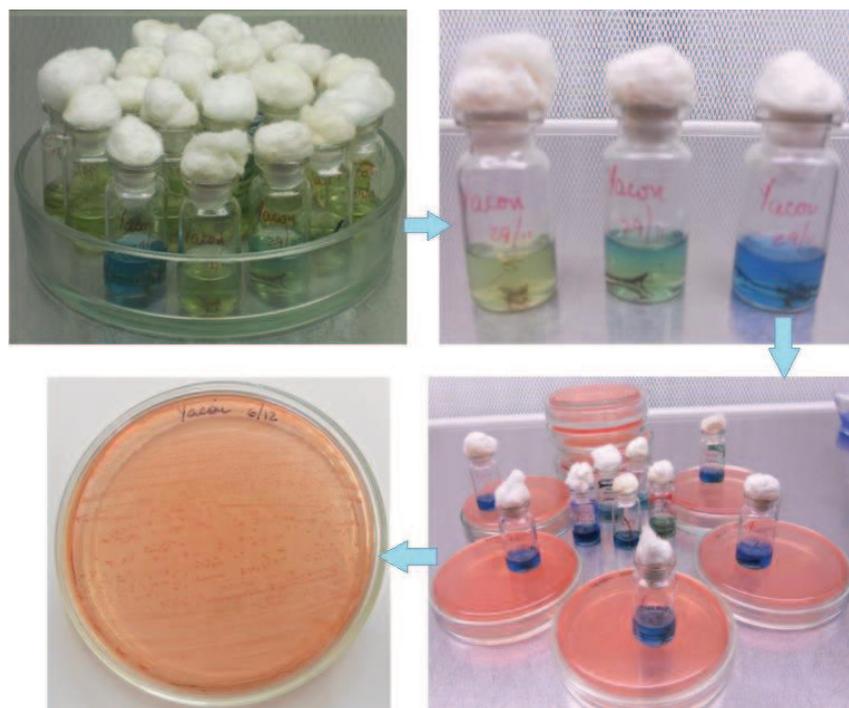


Figura 5. Aislamientos a partir de raicillas de yacón (*S. sonchifolius*).

Los biofertilizantes han surgido como la solución para la agricultura orgánica y sostenible, por lo que es importante incrementar la búsqueda con respaldo científico de microorganismos del suelo para lograr prácticas agrícolas sostenibles, por sus beneficios en la agricultura y los efectos positivos en la fertilidad de los suelos (Afanador Barajas, 2017).

CONCLUSIÓN

No se pudo determinar si plantas de topinambur (*H. tuberosus*) y yacón (*S. sonchifolius*) cultivadas en el Valle Central de la Provincia de Catamarca, tienen naturalmente simbiosis mutualista con bacterias autóctonas endorrizosféricas del género *Azospirillum*. Por lo cual, no se pudo comprobar la colonización natural de la endorrizósfera de los cultivos de topinambur (*H. tuberosus*) y de yacón (*S. sonchifolius*) por rizobacterias autóctonas del género *Azospirillum*.

BIBLIOGRAFÍA

Afanador Barajas L.N. (2017). Biofertilizantes: conceptos, beneficios y aplicación en Colombia. *Ingecienc.* 2(1):65-76.

- Cassán B.; Diaz-Zorita M. (2016). *Azospirillum sp.* in current agriculture: from the laboratory to the field. *Soil Biol. Biochem.* (<http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.08.020>).
- D'Angioli A.M.; Gorne Viani R.A.; Lambers H.; Frankland Sawaya A.C.H.; Silva Oliveira R. (2017). Inoculation with *Azospirillum brasilense* (Ab-V4, Ab-V5) increases *Zea mays* root carboxylate-exudation rates, dependent on soil phosphorus supply. *Plant Soil.* (<https://doi.org/10.1007/s11104-016-3044-5>).
- Di Barbaro G.; Pernasetti S.; Stegmayer A. (2005). Evaluación del efecto de *Azospirillum brasilense* en la germinación y emergencia del pimiento pimentonero (*Capsicum annum* L. var. trompa de elefante). *Revista del CIZAS.* 6 (1-2):74-85.
- Döbereiner J.; Baldani V.L.D.; Baldani J.I. (1995). Como isolar e identificar bacterias diazotróficas de plantas ñao leguminosas. Brasília: EMBRAPA-SPI. Itaguaí, RJ: EMBRAPA-CNPAB. :11-60.
- García J.E.; Maroniche G.; Creus C.; Suárez-Rodríguez R.; Ramirez-Trujillo J.A.; Groppa M.D. (2017). In vitro PGPR properties and osmotic tolerance of different *Azospirillum* native strains and their effects on growth of maize under drought stress. *Microbiol. Res.* 202:21-29.
- Larraburu E.E.; Yarte M.E.; Llorente B.E. (2016). *Azospirillum brasilense* inoculation, auxin induction and culture medium composition modify the profile of antioxidant enzymes during in vitro rhizogenesis of pink lapacho. *Plant Cell Tiss Organ. Cult.* (<https://doi.org/10.1007/s11240-016-1060-z>).
- Maroniche G.A.; García J.E.; Salcedo F.; Creus C.M. (2017). Molecular identification of *Azospirillum spp.*: Limitations of 16S rRNA and qualities of rpoD as genetic markers. *Microbiol. Res.* 195 :1-10.
- Pii Y.; Marastoni L.; Springeth C.; Fontanella M.C.; Beone G.M.; Cesco S.; Mimmo T. (2016). Modulation of Fe acquisition process by *Azospirillum brasilense* in cucumber plants. *Environ. Exp. Bot.* 130:216-225.
- Ribaudo C.M.; Curá J.A.; Cantore M.I. (2017). Activation of a calcium-dependent protein kinase involved in the *Azospirillum* growth promotion in rice. *World J. Microbiol. Biotechnol.* (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28044270/>).
- Sánchez de Prager M. (2007). La rizósfera: estrategia de colonización del suelo. Capítulo 3. Las Endomicorrizas: Expresión bioedáfica de importancia en el trópico. Univ. Nac. de Colombia. Fac. de Cs. Agropecuarias. :84-114.

- Schenberger Santos A.R.; Mazer Etto R.; Wiegand Furmam R.; de Freitas D.L.; Freire d'Eça Nogueira Santos K.; Maltempi de Souza E.; de Oliveira Pedrosa F.; Ayub R.A.; Reynaud Steffens M.B.; Weigert Galvão C. (2017). Labeled *Azospirillum brasilense* wild type and excretion-ammonium strains in association with barley roots. *Plant Physiol. & Biochem.* 118, :422-426.
- Souza M.S.T.; de Baura V.A.; Santos S.A.; Fernandes-Junior P.I.; Reis Junior F.B.; Marque M.R.; Matos Paggi G.; Silva Brasil M. (2017). *Azospirillum spp.* from native forage grasses in Brazilian Pantanal floodplain: biodiversity and plant growth promotion potential. *World J. Microbiol. Biotechnol.* (<https://doi.org/10.1007/s11274-017-2251-4>).
- Tarrand J.J.; Krieg N.R.; Döbereiner J. (1978). A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. *Can. J. Microbiol.* 24(8):967-980.

CAPÍTULO 3.

“Caracterización de bacterias endorrizosféricas fijadoras libres del nitrógeno atmosférico”

La versión en inglés de este capítulo fue publicada en el 2020 en el Horticulture International Journal. 2020;4(4):129–134. *Di Barbaro Gabriela; Del Valle Eleodoro; Brandán de Weht Celia.* DOI: 10.15406/hij.2020.04.00171. <https://medcraveonline.com/HIJ/HIJ-04-00171.pdf>

Aislamiento de bacterias fijadoras libres del nitrógeno atmosférico de la endorrizósfera de *Helianthus tuberosus* y de *Smallanthus sonchifolius*

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue determinar la presencia de bacterias fijadoras libres del nitrógeno atmosférico en la endorrizósfera de topinambur (*Helianthus tuberosus*) y de yacón (*Smallanthus sonchifolius*), cultivados en el Valle Central de la Provincia de Catamarca. Se colectaron raíces de cada especie y se les aplicó la técnica propuesta por Döbereiner *et al.* (1995) para el aislamiento de la bacteria endorrizosférica fijadora libre de N₂, *Azospirillum sp.* Los aislamientos obtenidos se caracterizaron morfológica y fisiológicamente, y se seleccionaron tres morfotipos diferentes de cada especie vegetal para su identificación molecular. Se describieron once microorganismos autóctonos fijadores libres del nitrógeno atmosférico presentes en la endorrizósfera de los cultivos en estudio, 6 en topinambur y 5 en yacón. Todos los aislamientos pertenecientes al género *Pseudomonas*. En topinambur, *Pseudomonas sihuiensis* y en yacón de *Pseudomonas alcaligenes*, *P. resinovorans* y *P. sihuiensis*. Se reporta por primera vez el aislamiento de bacterias fijadoras libres del nitrógeno atmosférico autóctonas de *P. sihuiensis*, *P. alcaligenes* y *P. resinovorans* en la endorrizósfera de topinambur (*H. tuberosus*) y de yacón (*S. sonchifolius*), cultivados en suelos del Valle Central de la Provincia de Catamarca.

PALABRAS CLAVES: Topinambur; Yacón; Catamarca; diazótrofos; *Pseudomonas*.

INTRODUCCIÓN

El nitrógeno molecular (N₂) que existe en la atmósfera no es fácilmente asimilable por los vegetales debido a que el triple enlace que une los átomos que forman la molécula es difícil de romper; entonces las plantas aprovechan el nitrógeno atmosférico mediante el proceso metabólico conocido como Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN) (Martín Alonso *et al.*, 2017). Este proceso es llevado a cabo por ciertos microorganismos del suelo que se conocen como “microorganismos fijadores de nitrógeno” que convierten el

nitrógeno (N₂) en amoníaco (NH₃) a través del complejo enzimático llamado nitrogenasa (Calderoli, 2016). Los microorganismos fijadores de nitrógeno incluyen a los fijadores simbióticos que fijan nitrógeno en asociación con plantas, y los de vida libre que proporcionan al medio compuestos nitrogenados que son aprovechados por los vegetales (Mayz-Figueroa, 2004).

La FBN es la principal fuente de este elemento a ecosistemas naturales y a los agroecosistemas sin fertilización química (Ibarra Sánchez, 2010; Afanador Barajas, 2017; Martín Alonso *et al.*, 2017), donde este proceso aporta aproximadamente 140 millones de toneladas de nitrógeno por año constituyéndose en la principal entrada de este elemento a la biosfera (Calderoli, 2016). Estos microorganismos al fijar nitrógeno influyen en la productividad de los cultivos y parte de este queda disponible en el suelo como fuente de carbono para la microflora del mismo (Afanador Barajas, 2017; Martín Alonso *et al.*, 2017). Entre los géneros de bacterias FBN de vida libre están *Azomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Clostridium*, *Derrxia*, *Desulfovibrio*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Paenibacillus* y *Pseudomonas* (Aguilar Borja, 2015). Sin embargo, los principales microorganismos fijadores del N en vida libre constituyentes de los principales biofertilizantes corresponden a los géneros: *Achromobacter*, *Acetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Cyanobacteria*, *Azospirillum* y *Pseudomonas* (Aguilar Borja, 2015; Afanador Barajas, 2017).

Por su capacidad de fijar nitrógeno, las bacterias fijadoras de nitrógeno se consideran como candidatos para la elaboración de biofertilizantes, que se fabrican en varios países del mundo. En la actualidad, se consideran a los biofertilizantes como importante herramienta biotecnológica, que consiste en aplicar microorganismos que ayudan a mejorar la disponibilidad de nutrientes en el suelo y así logran disminuir los efectos causados por el exceso de fertilizantes. El uso de biofertilizantes en diferentes cultivos ha evidenciado efectos positivos en la fertilidad del suelo (Afanador Barajas, 2017).

Los cultivos de topinambur (*H. tuberosus*) y de yacón (*S. sonchifolius*) se remontan a épocas precolombinas y han permanecido por mucho tiempo restringido a áreas muy pequeñas ya que están adaptados a las condiciones ecológicas de los Andes, donde su uso está fuertemente ligado a las tradiciones de los pueblos (Mansilla *et al.*, 2010), y en los últimos años ha cobrado gran interés por sus propiedades nutraceuticas.

El consumo de alimentos con beneficios fisiológicos y bioquímicos están aumentando, por lo cual la producción de topinambur y de yacón ha generado interés en la última década. El topinambur y el yacón son plantas herbáceas perennes que tienen raíces tuberosas de sabor dulce y son originarias de América del Sur, donde se lo utiliza en la alimentación humana y en medicina popular para el tratamiento de la diabetes, problemas digestivos, estreñimiento y otras enfermedades (Manrique *et al.*, 2005; Yan *et al.*, 2019). Estos tubérculos contienen antioxidantes naturales, fructanos y fructooligosacáridos de interés para la industria nutracéutica (Pacheco *et al.*, 2019; Yan *et al.*, 2019; Satoh *et al.*, 2013; Adriano *et al.*, 2019).

El cultivo de *H. tuberosus* presenta una amplia distribución mundial. Se cultiva en diversos países del mundo, tales como Italia, Australia (Tesio *et al.*, 2012), Alemania (Willscher *et al.*, 2017), Austria, República Checa (Klímek *et al.*, 2016), Dinamarca (Bach *et al.*, 2015), Polonia (Gedrovica *et al.*, 2011), Serbia (Terzic *et al.*, 2012), China (Sun *et al.*, 2015), Corea del Sur (Jeong, 2015; Kim *et al.*, 2016), Japón (Okada *et al.*, 2017), Tailandia (Judprasong *et al.*, 2018), Estados Unidos (Kantar *et al.*, 2014), Cuba (Ly, 2000) y Brasil (Volpini-Rapina *et al.*, 2012). Sin embargo, en el país se tienen referencias de algunos productores dispersos en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos, Mendoza, Río Negro, Chubut y San Luis (Rossi & Chicahuala, 2017).

Mientras que, *S. sonchifolius* está actualmente distribuido en gran parte del territorio andino desde el norte de Ecuador hasta el noroeste argentino (Roque, 2009; Arnao *et al.*, 2011) y se ha cultivado con éxito en varias regiones, incluyendo: Brasil, República Checa, China, Corea, Japón, Nueva Zelanda, Rusia, Taiwán y Estados Unidos (Lachman *et al.*, 2004; Manrique *et al.*, 2005; Fernández *et al.*, 2006; Santana & Cardoso, 2008; Delgado *et al.*, 2013). En Argentina, el yacón sólo se cultiva en las provincias norteañas de Jujuy, Salta y Tucumán (Muñoz Jáuregui, 2009; Mercado *et al.*, 2013). En Catamarca, tanto el topinambur y el yacón son cultivos no tradicionales en la provincia y que vienen produciéndose por un único productor en la zona.

El objetivo del trabajo fue determinar la presencia de bacterias fijadoras libres del N atmosférico en la endorrizósfera de plantas de topinambur y de yacón en la provincia de Catamarca.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron ejemplares de topinambur (*H. tuberosus*) y de yacón (*S. sonchifolius*) de diferentes bioensayos de reproducción de material vegetal que se efectuaron en el Valle Central de la Provincia de Catamarca a (28°28'07''LS 65°46'60''LO), lugar que está inmerso en la región semiárida del noroeste de la República Argentina.

Los aislamientos de bacterias fijadoras libres del N atmosférico de la endorrizósfera de plantas de topinambur y yacón se realizaron de acuerdo con el procedimiento descrito por Döbereiner *et al.* (1995) en el que se utilizaron los medios de cultivo NFb semisólido y RC (Tarrand *et al.*, 1978; Döbereiner *et al.*, 1995). Para la identificación de las bacterias aisladas se establecieron los caracteres morfológicos, fisiológicos y bioquímicos fueron examinados de acuerdo con los métodos descritos por Holt (1994) y Buchanan *et al.* (1994). Para cada aislado se determinó el color de las colonias en medios de cultivo específicos (RC); morfología de la colonia observada; respuesta a la coloración de Gram Nicolle y de Shaffer y Fulton; producción de ácido/álcalis (NFb semisólido con azul de bromotimol como indicador) y pruebas de asimilación utilizando diferentes fuentes de carbono (glucosa, lactosa, ácido málico y almidón). Las pruebas de cada aislado bacteriano se realizaron por triplicado (Figura 6).

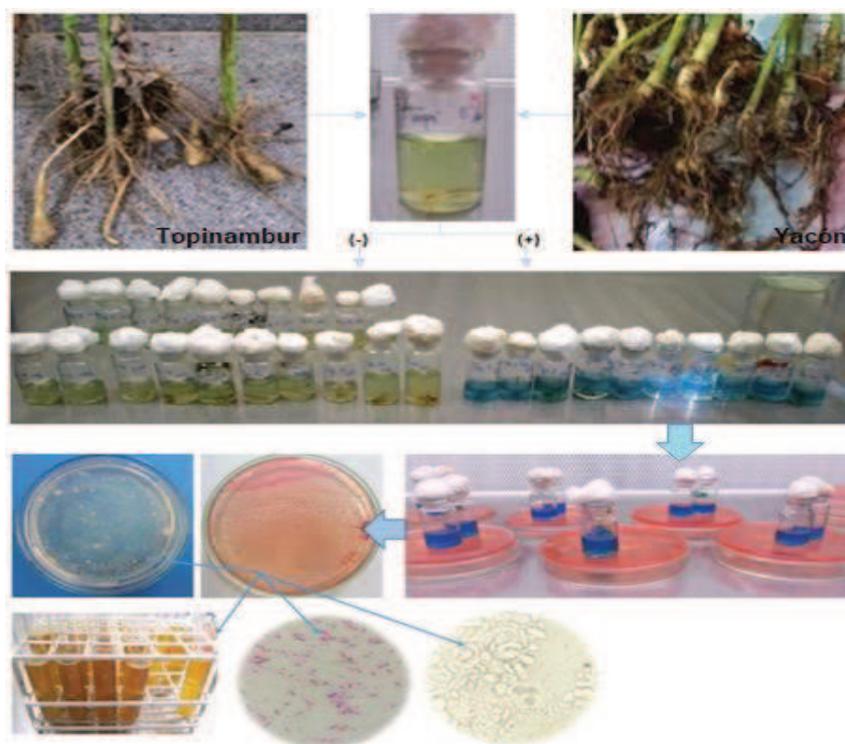


Figura 6. Aislamiento y caracterización de FLN endorrizosféricos de topinambur y yacón.

Para la identificación molecular se enviaron los aislamientos a la empresa Macrogen (Corea), quienes se encargaron de la extracción, amplificación y secuenciación del ADN de cada cepa, y del análisis bioinformático, que consistió en el análisis de las secuencias obtenidas en la búsqueda de secuencias similares en el GenBank por medio del programa BLAST.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De la totalidad de las muestras de raíces estudiadas se obtuvieron once aislados bacterianos. Seis de ellos fueron provenientes de la endorrizósfera de topinambur y cinco de la de yacón. En base a los diferentes morfotipos obtenidos se enviaron a Macrogen (Corea) 3 aislamientos de topinambur y 3 de yacón para su identificación molecular. Morfológicamente, la mayoría de los aislados presentaron colonias pequeñas y mucoides, y correspondieron en su totalidad a bacilos Gram negativos no esporulados (Tabla 3, Figuras 7 y 8).

El análisis de la secuencia 16S rRNA determinó que las bacterias identificadas molecularmente pertenecen al género *Pseudomonas*. De los tres aislamientos procedentes de la endorrizósfera de topinambur, dos de ellos correspondieron a la especie *P. sihuiensis* y el restante a *Pseudomonas sp.* En referencia a los aislados obtenidos de plantas de yacón correspondieron a las especies *Pseudomonas alcaligenes*, *P. resinovorans* y *P. sihuiensis* (Tabla 3 y anexo).

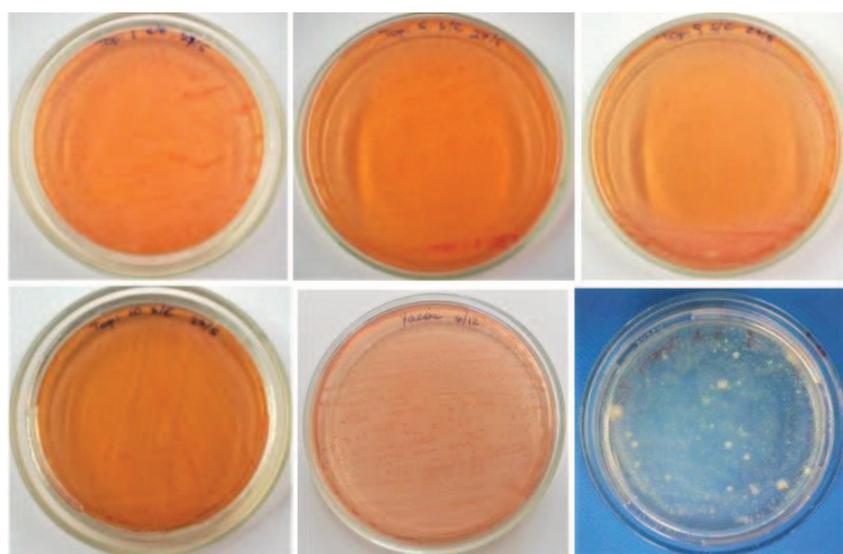


Figura 7. Colonias de bacterias fijadoras libre de nitrógeno de la endorrizósfera de topinambur (*Helianthus tuberosus*) y de yacón (*Smallanthus sonchifolius*).

Tabla 3. Caracterización e identificación molecular de los diferentes aislados de bacterias fijadoras de N obtenidos de la endorrizósfera de cultivos de topinambur y yacón.

Cultivo	Aislado	Caracterización morfológica de colonias	Caracterización Bioquímica	Gen 16S rRNA % identidad
Topinambur	Topi1	Microcolonias rojas y cremosas en medio RC. Bacilos G (-), no esporulada	Aerobia, móvil, glucosa (-), lactosa (-).	<i>Pseudomonas sihuiensis</i> 99
	Topi1A	Microcolonias amarillentas y mucosas en medio RC. Bacilos G (-), no esporulada	Aerobias, móvil, glucosa (+), lactosa (-).	<i>Pseudomonas sp.</i>
	Topi3	Microcolonias naranjas y cremosas en medio RC. Bacilos G (-), no esporulada	Aerobia, móvil, glucosa (-), lactosa (-).	<i>Pseudomonas sihuiensis</i> 99
	Topi5	Microcolonias rojas y cremosas en medio RC. Bacilos G (-), no esporulada	Aerobia, móvil, glucosa (-), lactosa (-).	-
	Topi9	Microcolonias rojas y cremosas en medio RC. Bacilos G (-), no esporulada	Aerobia, móvil, glucosa (-), lactosa (-).	-
	Topi10	Microcolonias rojas y cremosas en medio RC. Bacilos G (-), no esporulada	Aerobia, móvil, glucosa (-), lactosa (-).	-
Yacón	Ya3	Microcolonias rojas y consistentes en medio RC. Bacilos G (-), no esporulada.	Aerobia, móvil, glucosa (-), lactosa (-).	<i>Pseudomonas alcaligenes</i> 99
	Ya6	Microcolonias rojas y cremosas en medio RC. Bacilos G (-), no esporulada.	Aerobia, móvil, glucosa (-), lactosa (-).	-
	Ya11	Microcolonias rojas y fluidas en medio RC. Bacilos G (-), no esporulada	Aerobia, móvil, glucosa (-), lactosa (-).	<i>Pseudomonas resinovorans</i> 99
	Ya15	Microcolonias rojas y cremosas en medio RC. Bacilos G (-), no esporulada	Aerobia, móvil, glucosa (-), lactosa (-).	-
	YaMi	Microcolonias rojas y cremosas en medio RC. Bacilos G (-), no esporulada	Aerobia, móvil, glucosa (-), lactosa (-).	<i>Pseudomonas sihuiensis</i> 99

Pseudomonas es un género de gammaproteobacterias aerobias gramnegativas, perteneciente a la familia Pseudomonadaceae que contiene 191 especies descritas (Peix *et al.*, 2018). Los miembros del género demuestran una gran diversidad metabólica y, en consecuencia, son capaces de colonizar una amplia gama de nichos (Cutiño-Jiménez & Peña Cutiño, 2019).

Diferentes especies del género *Pseudomonas* se utilizan en la fabricación de biofertilizantes no sólo como FBN, sino también como solubilizadoras de fósforo, PGPR, y movilizadoras de zinc y potasio (Afanador Barajas, 2017). Sin embargo, los aislamientos identificados molecularmente corresponden a microorganismos reportados en otros países y estudiados en la biorremediación de suelos y aguas contaminados por su capacidad de biodegradar hidrocarburos, pesticidas y ciertas sustancias químicas (Nojiri *et al.*, 2002; Widada *et al.*, 2002; O'Mahony *et al.*, 2006; Yang & Lee, 2007), pero sin relevancia agrícola. Tal como, *P. sihuiensis* fue aislado de suelos forestales del sur de China (Wu *et al.*, 2014) y en Brasil en sitios con historia de derrames frecuentes de petróleo (Pereira *et al.*, 2019) y estudiada por su capacidad de biodegradar hidrocarburos en agua de mar y su aplicación en la biorremediación de ambientes marinos por derrames de petróleo (Pereira *et al.*, 2019). Además, *P. alcaligenes* es usada en ensayos antibacterianos con el objetivo de evaluar las propiedades antimicrobianas de aceites esenciales sustancias (Kaczorek, 2012), actividad antagónica frente a fitopatógenos (Widnyana *et al.*, 2013). Mientras que, *P. resinovorans* estudiada para conocer mecanismos de transcripción génica y actividad enzimática (Nojiri *et al.*, 2002; Takagi *et al.*, 2002; Nam *et al.*, 2005), puede ser un patógeno humano, pero los casos son muy raros (Zuzuki *et al.*, 2013).

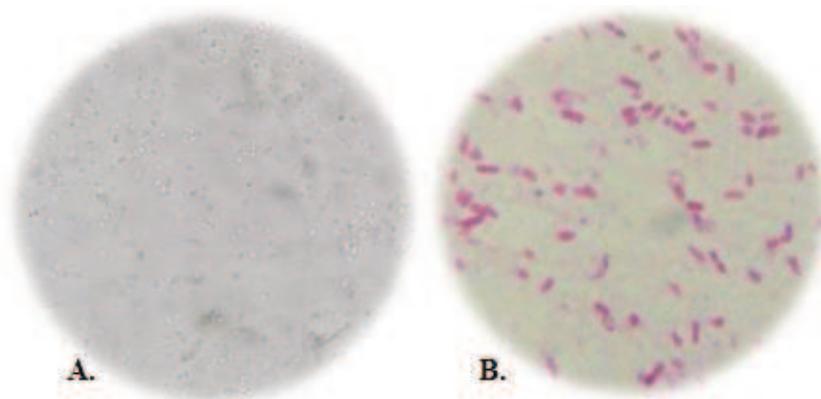


Figura 8. Microfotografías de bacterias FLN de la endorrizósfera de topinambur (A: Preparado en fresco) y de yacón (B: Coloración de Gram Nicolle). (A:100x).

CONCLUSIÓN

La investigación señaló la presencia de bacterias del género *Pseudomonas* como fijadoras libres del nitrógeno atmosférico en la endorrizósfera de topinambur y de yacón cultivados en suelos del Valle Central de la Provincia de Catamarca. Se reporta por primera vez en la provincia de Catamarca a las especies *Pseudomonas sihuiensis*, *P. alcaligenes* y *P. resinovorans*.

BIBLIOGRAFÍA

- Adriano L.S.; Dionísio A.P.; Pinto de Abreu F.A.; Ferreira Carioca A.A.; Zocolo G.J.; Wurlitzer N.J.; de Oliveira Pinto C.; Cunha de Oliveira A.; Alves de Carvalho Sampaio H. (2019). Yacon syrup reduces postprandial glycemc response to breakfast: A randomized, crossover, double-blind clinical trial. *Food Res. Intern.* 126 :108682; 8p.
- Afanador Barajas L.N. (2017). Biofertilizantes: conceptos, beneficios y aplicación en Colombia. *Ingecienc.* 2(1):65-76.
- Aguilar Borja M.B. (2015). Selección de bacterias de vida libre eficientes en fijación biológica de nitrógeno como alternativa sustentable para ecosistemas terrestres. *Fac. de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Univ. Téc. de Ambato. Ecuador.* :149p.
- Arnao I.; Seminario J.; Cisneros R.; Trabucco J. (2011). Potencial antioxidante de 10 accesiones de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, procedentes de Cajamarca – Perú. *Anales de la Fac. de Medicina.* (<http://dx.doi.org/10.15381/anales.v72i4.1075>).
- Bach V.; Clausen M.R.; Edelenbos M. (2015). Production of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) and Impact on Inulin and Phenolic Compounds. Processing and Impact on Active Components in Food. Cap. 12. (<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00012-3>).
- Buchanan R.E.; Gibbonns N.E. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th de Baltimore: Williams & Wilkins Company.
- Calderoni P.A. (2016). Análisis de las poblaciones de microorganismos fijadores de nitrógeno del suelo aplicando procedimientos metagenómicos. Tesis doctoral. *Fac. de Cs. Exactas. Univ. Nac. de La Plata.* :228p.

- Cutiño-Jiménez A.M.; Peña Cutiño H.A. (2019). Inserciones en secuencias de proteínas para la taxonomía y filogenia de las familias Pseudomonadaceae y Moraxellaceae (Orden Pseudomonadales). Rev. CENIC Cienc. Biol. 50(2):143-157.
- Delgado G.T.; Tamashiro W.M.; Maróstica Junior M.R.; Pastore G.M. (2013). El yacón (*Smallanthus sonchifolius*): un alimento funcional. Plantar alimentos Hum Nutr. (<https://doi.org/10.1007/s11130-013-0362-0>).
- Döbereiner J.; Baldani V.L.D.; Baldani J.I. (1995). Como isolar e identificar bacterias diazotróficas de plantas ñao leguminosas. Brasília: EMBRAPA-SPI. Itaguaí, RJ. EMBRAPA-CNPAB. :11-60.
- Fernández E.C.; Viehmannová I.; Lachman J.; Milella L. (2006). Yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poeppig & Endlicher) H. Robinson]: a new crop in the Central Europe. Plant Soil Environ. 52(12):564–570.
- Gedrovica I.; Karklina D.; Frás A.; Jablonka O.; Boros D. (2011). The non–starch polysaccharides quantity changes in pastry products where Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) added. Procedia Food Sci. 1:1638-1644.
- Holt J.G.; Kreig N.R.; Sneath P.H.; Staley J.T.; Williams S.T. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th de Baltimore: Williams and Wilkins Company.
- Ibarra Sánchez C.L. (2010). Diversidad de bacterias fijadoras de nitrógeno aisladas de suelo de Chinampa y su efecto en plantas de interés agrícola. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. México. :85p.
- Jeong, G.T. (2015). Catalytic conversion of *Helianthus tuberosus* L. to sugars, 5-hydroxymethylfurfural and levulinic acid using hydrothermal reaction. Biom. & Bioen. (<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.01.014>).
- Judprasong K.; Archeepsudcharit N.; Chantapiriyapoon K.; Tanaviyutpakdee P.; Temviriyankul P. (2018). Nutrients and natural toxic substances in commonly consumed Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tuber. Food Chem. (<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.116>).
- Kaczorek E. (2012). Effect of external addition of rhamnolipids biosurfactant on the modification of Gram positive and Gram negative bacteria cell surfaces during biodegradation of hydrocarbon fuel contamination. 2012. Pol. J. Environ. Stud. 21(4):901-909.
- Kantar M.B.; Betts K.; Michno J.M.; Luby J.J.; Morrell P.L.; Hulke B.S.; Stupar R.M.; Wyse D.L. (2014). Evaluating an interspecific *Helianthus annuus* × *Helianthus*

- tuberosus* population for use in a perennial sunflower breeding program. Field Crops Res. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2013.04.018>).
- Kim M.J.; Dong-Ju An; Ki-Beom Moon; Hye-Sun Cho; Sung-Ran Min; Jung-Hoon Sohn; Jae-Heung Jeon; Hyun-Soon Kim. (2016). Highly efficient plant regeneration and *Agrobacterium*-mediated transformation of *Helianthus tuberosus* L. Ind. Crops & Prod. (<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.054>).
- Klímek P.; Meinschmidt P.; Wimmer R.; Plinke B.; Schirp A. (2016). Using sunflower (*Helianthus annuus* L.), topinambour (*Helianthus tuberosus* L.) and cup-plant (*Silphium perfoliatum* L.) stalks as alternative raw materials for particleboards. Ind. Crops & Prod. (<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.004>).
- Lachman J.; Havrland B.; Fernández E.C.; Dudjak J. (2004). Saccharides of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] tubers and rhizomes and factors affecting their content. Plant Soil Environ. (<https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/52777.pdf>).
- Ly J. (2000). Nitrogen and energy balance in pigs fed jerusalem artichokes (*Helianthus tuberosus* L.). Rev. Comput. Produc. Porcina. (<http://www.iip.co.cu/RCPP/ant/RCPP7.3.pdf>).
- Manrique I.; Párraga A.; Hermann M. (2005). Yacon syrup: Principles and processing (8B). Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. :31p.
- Mansilla R.; López C.; Flores M.; Espejo R. (2010). Estudios de la biología reproductiva en cinco accesiones de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) Robinson. Ecología Aplicada, Univ. Nac. Agraria La Molina, Lima – Perú. 9(2):167-175.
- Martín Alonso G.M.; Tamayo Aguilar Y.; Hernández Forte I.; Varela Nualles M.; da Silva Araujo E. (2017). Cuantificación de la fijación biológica de nitrógeno en *Canavalia ensiformis* crecida en un suelo pardo mullido carbonatado mediante los métodos de abundancia natural de ¹⁵N y diferencia de N total. Cult. Trop. (<http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v38n1/ctr16117.pdf>)
- Mayz-Figueroa J. (2004). Fijación Biológica del Nitrógeno. Rev. UDO Agríc. 4(1):1-20.
- Mercado M.I.; Coll A.M.V.; Brandán de Weht C.I.; Ponessa G.I.; Grau A. (2013). Arbuscular mycorrhizal associations and dark septate endophytes in Yacon

- (*Smallanthus sonchifolius*) and a wild relative (*Smallanthus macroscyphus*). Bol. Soc. Argent. Bot. 48(2):193-200.
- Muñoz Jáuregui A.M. (2009). Monografía del yacón *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.). Perúbiodiverso. Lima, Perú. (http://perubiodiverso.pe/_assets/Monograf%C3%ADa-del-yac%C3%B3n.pdf).
- Nam J.W.; Noguchi H.; Fujimoto Z.; Mizuno H.; Ashikawa Y.; Abo M.; Fushinobu S.; Kobashi N.; Wakagi T.; Iwata K.; Yoshida T.; Habe H.; Yamane H.; Omori T.; Nojiri H. (2005). Crystal structure of the ferredoxin component of carbazole 1,9a-dioxygenase of *Pseudomonas resinovorans* strain CA10, a novel Rieske non-heme iron oxygenase system. Proteins. (<https://doi.org/10.1002/prot.20374>).
- Nojiri H.; Maeda K.; Sekiguchi H.; Urata M.; Shintani M.; Yoshida T.; Habe H.; Omori T. (2002). Organization and Transcriptional Characterization of Catechol Degradation Genes Involved in Carbazole Degradation by *Pseudomonas resinovorans* Strain CA10, Biosci. Biotechnol. & Biochem. (<https://doi.org/10.1271/bbb.66.897>).
- Okada N.; Kobayashi S.; Moriyama K.; Miyataka K.; Abe S.; Sato C.; Kawazoe K. (2017). *Helianthus tuberosus* (Jerusalem artichoke) tubers improve glucose tolerance and hepatic lipid profile in rats fed a high-fat diet. Asian Pacific J. Trop. Medic. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.03.028>).
- O'Mahony M.M.; Dobson A.D.; Barnes J.D.; Singleton I. (2006). The use of ozone in the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminated soil. Chemosphere. (<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.07.018>).
- Pacheco M.T.; Escribano-Bailón M.T.; Moreno F.J.; Villamiel M.; Dueñas M. (2019). Determination by HPLC-DAD-ESI/MSn of phenolic compounds in Andean tubers grown in Ecuador. J. Food Comp. & Anal. 84:103258; 9p.
- Peix A.; Ramírez-Bahena M.H.; Velázquez E. (2018). Review: The current status on the taxonomy of *Pseudomonas* revisited: An update. Infec. Genetics & Evol. (<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.10.026>).
- Pereira E.; Napp A.P.; Allebrandt S.; Barbosa R.; Reuwsaat J.; Lopes W.; Kmetzsch L.; Staats C.C.; Schrank A.; Dallegrove A.; Peralba M. do C.R.; Passaglia L.M.P.; Bento F.M.; Vainstein M.H. (2019). Biodegradation of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in seawater by autochthonous microorganisms. Intern. Biodet. & Biodeg. (<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104789>).

- Roque J. (2009). Factsheet: Datos botánicos de Yacón. *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob. Primera Edición. Lima- Perú. (http://www.academia.edu/24861153/Factsheet_Datos_bot%C3%A1nicos_de_Yac%C3%B3n._Smallanthus_sonchifolius_Poepp._H._Rob).
- Rossi R.; Chicahuala M.S. (2017). Evaluación productiva de topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) bajo diferentes densidades y fertilización en el semiárido central de la Argentina. Hort. Argent. 36(90):49-58.
- Santana I.; Cardoso M.H. (2008). Raíz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. Ciência Rural. Sta. Ma. 38(3):898-905.
- Satoh H.; Audrey Nguyen M.T.; Kudoh A.; Watanabe T. (2013). Yacon diet (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae) improves hepatic insulin resistance via reducing Trb3 expression in Zucker fa/fa rats. Nutrit. & Diabetes. 3:1-6.
- Sun P.C.; Liu Y.; Yi Y.T.; Li H.J.; Fan P.; Xia C.H. (2015). Preliminary enrichment and separation of chlorogenic acid from *Helianthus tuberosus* L. leaves extract by macroporous resins. Food Chem. 168:55-62.
- Suzuki Masato; Suzuki Satowa; Matsui Mari; Hiraki Yoichi; Kawano Fumio; Shibayama Keigo. (2013). Genome Sequence of a Strain of the Human Pathogenic Bacterium *Pseudomonas alcaligenes* That Caused Bloodstream Infection. Genome Announc. (<https://mra.asm.org/content/ga/1/5/e00919-13.full.pdf>)
- Takagi T.; Nojiri H.; Yoshida T.; Habe H.; Omori T. (2002). Detailed comparison between the substrate specificities of two angular dioxygenases, dibenzofuran 4,4a-dioxygenase from *Terrabacter* sp. and carbazole 1,9a-dioxygenase from *Pseudomonas resinovorans*. Biotechnol. Lett. (<https://doi.org/10.1023/A:1021325816766>).
- Tarrand J.J.; Krieg N.R.; Döbereiner J. (1978). A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. Can. J. Microbiol. 24(8):967-980.
- Terzic S.; Atlagic J.; Maksimovic I.; Zeremski T.; Zoric M.; Miklic V.; Balalic I. (2012). Genetic variability for concentrations of essential elements in tubers and leaves of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). Sci. Hort. (<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.01.016>).

- Tesio F.; Vidotto F.; Ferrero A. (2012). Allelopathic persistence of *Helianthus tuberosus* L. residues in the soil. *Sci. Hort.* (<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.12.008>).
- Volpini-Rapina L.F.; Ruriko Sokei F.; Conti-Silva A.C. (2012). Sensory profile and preference mapping of orange cakes with addition of prebiotics inulin and oligofructose. *LWT - Food Sci. & Technol.* 48:37-42.
- Widada J.; Nojiri H.; Yoshida T.; Habe H.; Omori T. (2002). Enhanced degradation of carbazole and 2,3-dichlorodibenzo-*p*-dioxin in soils by *Pseudomonas resinovorans* strain CA10. *Chemosphere.* ([https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00334-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00334-X))
- Widnyana I.K.; Suprpta D.N.; Sudana I.M.; Temaja I.G.R.M. (2013). *Pseudomonas alcaligenes*, Potential Antagonist Against *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersicum* the Cause of *Fusarium* Wilt Disease on Tomato. *J. Biol. Agric. & Healthcare.* 3(7):163-169.
- Willscher S.; Jablonski L.; Fona Z.; Rahmi R.; Wittig J. (2017). Phytoremediation experiments with *Helianthus tuberosus* under different pH and heavy metal soil concentrations. *Hydrometal.* 168:153-158.
- Wu M.; Wen J.; Chang M.; Yang G.; Zhou S. (2014). *Pseudomonas sihuiensis* sp. nov., isolated from a forest soil in South China. *A. van Leeuwenhoek* (<https://doi.org/10.1007/s10482-014-0134-3>).
- Yan M.R.; Welch R.; Rush E.C.; Xiang X.; Wang X. (2019). A Sustainable Wholesome Foodstu_; Health E_ects and Potential Dietotherapy Applications of Yacon. *Nutrients*, 11:2632, 16p.
- Yang C.F.; Lee C.M. (2007). Enrichment, isolation, and characterization of phenol-degrading *Pseudomonas resinovorans* strain P-1 and *Brevibacillus* sp. strain P-6. *Intern. Biodet. & Biodeg.* (<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.09.010>).

CAPÍTULO 4.

“Estudio de dependencia micotrófica de topinambur y yacón”

- La versión resumida de la primera parte del capítulo fue presentada X Reunión Nacional Científico-Técnica de Biología del Suelo. *Gabriela Di Barbaro; Valeria González Basso; Ana Lilia Alurralde; Belén Barrera y Celia Brandán de Weht.* 2015. Detección de hongos micorrícicos arbusculares y endófitos septados oscuros nativos en topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) en Catamarca, Argentina. La versión completa fue publicada en la Revista Ciencias Agrícolas. 34(2):98-106. Colombia. *Gabriela Di Barbaro; Horacio Andrada; Valeria González Basso; Ana Lilia Alurralde; Eleodoro Del Valle y Celia Brandán de Weht.* 2017. Micorrizas arbusculares y hongos septados oscuros nativos en topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) en Catamarca, Argentina. doi: <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.173402.75>. (<http://revistas.udenar.edu.co/index.php/rfacia/article/view/3694>).

- La segunda parte del capítulo fue presentada en el IV CAMAyA (IV Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental). *Gabriela Di Barbaro; Horacio Andrada; Valeria González Basso; Ana Lilia Alurralde; Eleodoro Del Valle; Celia Brandán de Weht.* 2018. Micorrizas arbusculares y hongos septados oscuros nativos en yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en Catamarca, Argentina. (<https://drive.google.com/file/d/1n42GaJEtKkXNCDmOPVEs1feLyoVuQh4W/view>).

Estudio de dependencia micotrófica de topinambur y yacón

INTRODUCCIÓN

La simbiosis micorrízico-arbuscular (MA) se establece entre las raíces de la mayoría de las plantas terrestres y hongos pertenecientes al Phylum Glomeromycota (Schubler *et al.*, 2001). Estos hongos reciben compuestos carbonados de la planta, como contraparte estos promueven el crecimiento de las plantas al suministrar nutrientes del suelo especialmente los pocos móviles como fósforo y agua (Kirk *et al.*, 2001; Harrison, 2005; Selosse *et al.*, 2006; Wang & Qiu, 2006; Parodi & Pezzani, 2011). Además, confieren una mayor tolerancia al ataque de patógenos y a la sequía (Newsham *et al.*, 1995; Pérez & Vertel, 2010). Las micorrizas constituyen un recurso biológico cuyo manejo y conservación, genera beneficios ambientales al mejorar las condiciones físico-químicas y biológicas del suelo (Pérez & Vertel, 2010; Martínez, 2011).

Es frecuente encontrar un grupo de Ascomycetes anamórficos dematiáceos que colonizan intra e intercelularmente los tejidos de las raíces formando asociaciones que van desde el mutualismo al parasitismo (Jumpponen, 2001). Estos hongos, denominados Endófitos Septados Oscuros (ESO), se asocian con angiospermas dicotiledóneas y monocotiledóneas, y se encuentran a menudo en las plantas micorrizadas. Los ESO son en su mayoría pigmentados y crecen en el parénquima cortical y en elementos de vaso del cilindro vascular central. Forman microesclerocios pigmentados, de estructura hifal apretada y sinuosa (Jumpponen y Trappe, 1998). Además, presentan hifas hialinas y delgadas con cuerpos lipídicos en su interior, denominadas SEF-(systemic endophytic fungi), (Barrow, 2003), que colonizan en forma sistémica al hospedante. Estas hifas incoloras constituyen zonas potenciales de transferencia de carbono (Barrow & Aaltonen, 2001).

Micorrizas arbusculares y hongos septados oscuros nativos en topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) en Catamarca, Argentina

RESUMEN

Para determinar y valorar la infección fúngica radicular, se estudió la colonización por simbiontes fúngicos nativos en raíces de Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.), cultivado en el Valle Central de la provincia de Catamarca, región árida del Noroeste Argentino. Los estudios se efectuaron mediante observación microscópica de estructuras fúngicas teñidas dentro de la raíz. La cuantificación de la infección se efectuó mediante metodologías de clarificación y conteo sobre cuadrícula bajo lupa. Se observaron estructuras endomicorrícicas como hifas, arbuscúlos y vesículas del tipo vesículo arbuscular (MVA) y de hongos endofíticos septados oscuros (ESO) con hifas tabicadas, melanizadas y con numerosos microesclerocios. Se determinó un alto nivel de colonización fúngica con ocurrencia simultánea de MVA y hongos ESO. Este estudio es el primer informe sobre colonización por MVA y ESO en raíces de topinambur.

PALABRAS CLAVES: hongos de raíz, endomicorrizas, alcachofa de Jerusalén, ESO.

INTRODUCCIÓN

El topinambur o alcachofa de Jerusalén (*H. tuberosus*) es una Asterácea originaria de América Central (Cosgrove *et al.*, 1991). En Argentina fue introducido a principios del siglo XX para los programas de mejoramiento de la especie y también de girasol (*Helianthus annuus* L.), donde el topinambur constituye una fuente de genes de interés agronómico (Rebora, 2008). Se cultiva como hortaliza, forrajera, industrial y medicinal, sin embargo, en Catamarca sólo se cultiva para la alimentación animal, fundamentalmente para producción porcina. Uno de los primeros usos fue en investigaciones histológicas, debido a las características de sus tallos, que han sido utilizados para el acondicionamiento de material fitopatológico con la finalidad de realizar cortes finos y precisos de material fresco para que faciliten su observación (Sarasola & Rocca, 1975).

Los antecedentes sobre micorrizas en plantas del género *Helianthus* se refieren fundamentalmente a la inoculación para mejorar el rendimiento del cultivo de Girasol (*H. annuus* L.) (Álvarez *et al.*, 2008; Perez, 2012). Debido a que no se registran antecedentes que estudien el mutualismo de hongos benéficos asociados con plantas de topinambur en la provincia de Catamarca ni en el país, los objetivos de esta investigación fueron estudiar los hongos formadores de micorrizas arbusculares u otros tipos de hongos y la incidencia de los mismos en *H. tuberosus* en el Valle Central de la provincia de Catamarca, República Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal: Muestras de plantas de topinambur (*H. tuberosus* L. variedad Topianka) de 90 días en floración.

Localización: procedencia de plantas de topinambur de un cultivo a campo, ubicado en el Valle Central de la provincia de Catamarca a (28°28'07"LS 65°46'60"LO), que está inmerso en la región semiárida del noroeste de Argentina.

Tratamiento de raíces. Las muestras de raíces se recolectaron al azar de cinco plantas en el período de plena floración. En laboratorio, las raíces de cada una de las plantas recolectadas se extrajeron y lavaron con agua corriente, luego se seleccionaron las más delgadas, las que se clarificaron y tiñeron siguiendo la metodología de Phillips y Hayman (1970) para la detección de estructuras de micorrizas (Figura 9). La tinción se realizó con solución de triple colorante de Gueguén (Sarasola & Rocca, 1975), porque permite diferenciar algunos elementos del hongo las grasas aparecen en color rosa o en rojo, el glicógeno en caoba, el almidón en azul (Verna & Herrero, 1952).

Examen microscópico. Las raíces se montaron entre porta y cubreobjetos, por cada ejemplar se realizaron preparados microscópicos. Las raíces fueron observadas utilizando microscopio óptico con objetivos estándar de 10, 40 y 100x.

Cuantificación de infección. Para cada individuo se cuantificó el porcentaje de colonización por MVA (hifas, arbuscúlos y vesículas) y ESO. Se realizó la cuantificación microscópica del porcentaje de colonización micorrícica arbuscular (MA), el contenido de arbuscúlos (A) y de vesículas (V), por el método de intersección de línea de Giovannetti y Mosse (1980). Para ello, de cada ejemplar se tomaron 15 segmentos de las raíces tratadas y coloreadas. Se distribuyeron al azar sobre un portaobjeto cuadrículado y

mediante observación microscópica (10x y 40x) se registró la presencia-ausencia de estructuras micorrícicas (A y V) en las intersecciones horizontales y verticales entre raíces y líneas de la cuadrícula (Figura 10). De cada planta se realizaron tres repeticiones, cuantificándose al menos 100 intersecciones por preparado y se calculó la frecuencia de infección micorrícica, $M_{\text{Giovannetti}} (\%) = (SI \times 100) / SO$, donde SI corresponde al número de segmentos infectados (hifas + arbusculos + vesículas) y SO al número de segmentos observados totales (hifas + arbusculos + vesículas + sin infección). También se calculó la frecuencia de aparición de arbusculos y de vesículas (Covacevich *et al.*, 2001), cuantificándose arbusculos, vesículas e hifas de micorrizas VA, además se registró el porcentaje de hifas de ESO y porcentaje de microesclerocios en raicillas de topinambur.

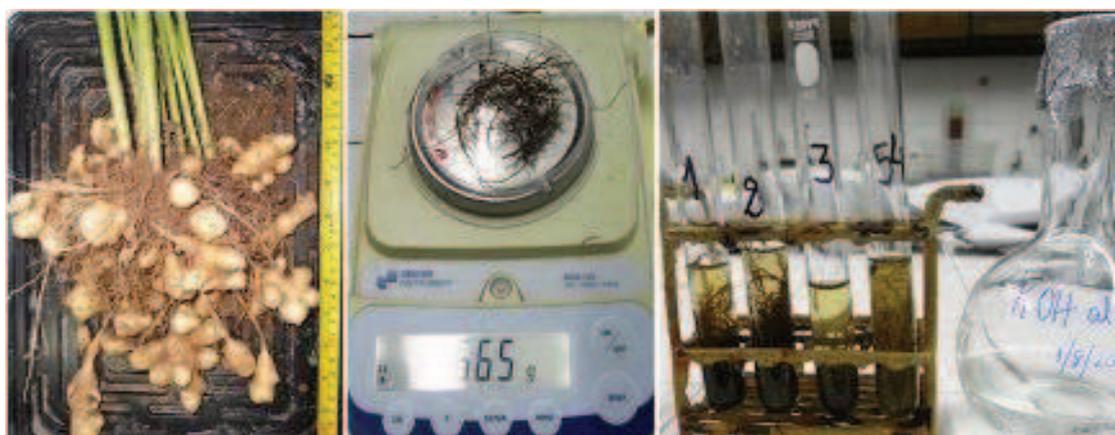


Figura 9. Técnica de clareo para la observación de estructuras de micorrizas en raíces de topinambur (*H. tuberosus* L.).

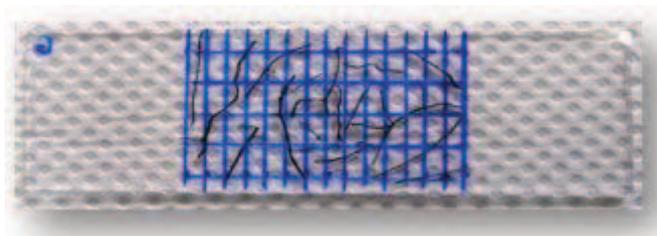


Figura 10. Raicillas de topinambur (*H. tuberosus* L.) sobre cuadrícula de portaobjeto para determinar el grado de colonización micorrícica por el método de intersección de línea de Giovannetti y Mosse (1980).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tres estructuras típicas de las micorrizas vesículo-arbusculares (VA) fueron observadas: hifas, arbusculos y vesículas, en raíces de todas las plantas de topinambur recolectadas. (Figura 11). Las hifas son continuas finas y gruesas, algunas de ellas con lípidos en rosario en su interior con crecimiento intracelular e intercelular. Se destaca la presencia de una raíz con arbusculos bien desarrollados. También se observaron numerosas vesículas de morfología diversa (esféricas, ovaladas, ahusadas) (Figura 11 y 12), por lo que se infiere que las raicillas de este vegetal están colonizadas por varias especies o géneros de hongos micorrícicos VA nativos.

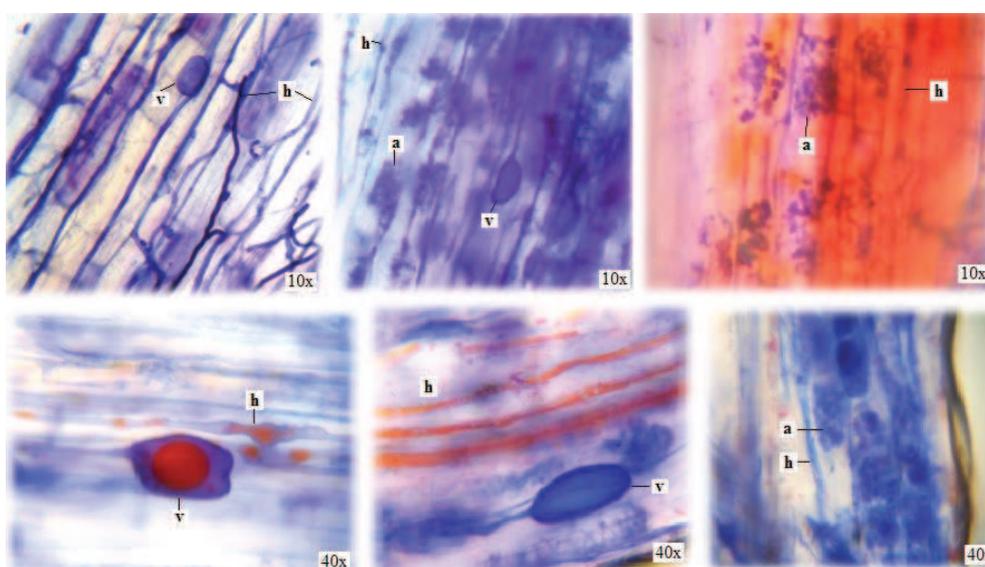


Figura 11. Micrografías de estructuras de micorrizas en raíces de topinambur (*H. tuberosus* L.) a: arbusculos; h: hifas; v: vesículas.

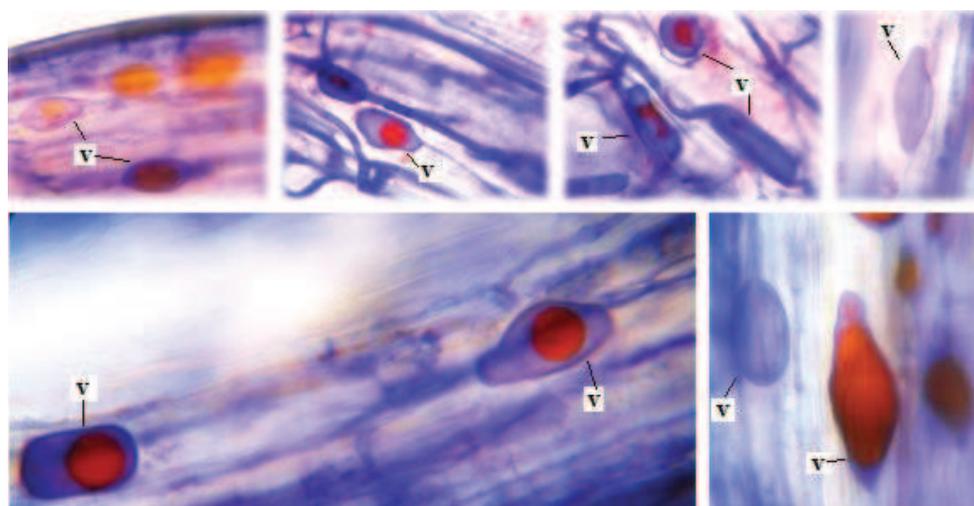


Figura 12. Micrografías (40x) de vesículas de diversas formas en la misma raicilla de Topinambur (*H. tuberosus* L.).

Las vesículas se mostraron con coloraciones celestes (sáculo) y rojas (glóbulos uni o múltiples). Estas estructuras se encuentran relacionadas con el almacenamiento de carbono en forma de lípidos y ácidos grasos, razón por la que se definen las vesículas como órganos de reserva del simbionte fúngico (Sieverding, 1983). Se observaron arbuscúlos distribuidos a lo largo de la corteza, los que están involucrados en la transferencia bidireccional de nutrientes (Smith & Read, 1997).

Además de las estructuras mencionadas, se observaron otras hifas tabicadas, melanizadas y con numerosos microesclerocios del tipo de hongos endófitos septados oscuros (ESO) (Peterson *et al.*, 2004; Figura 13).

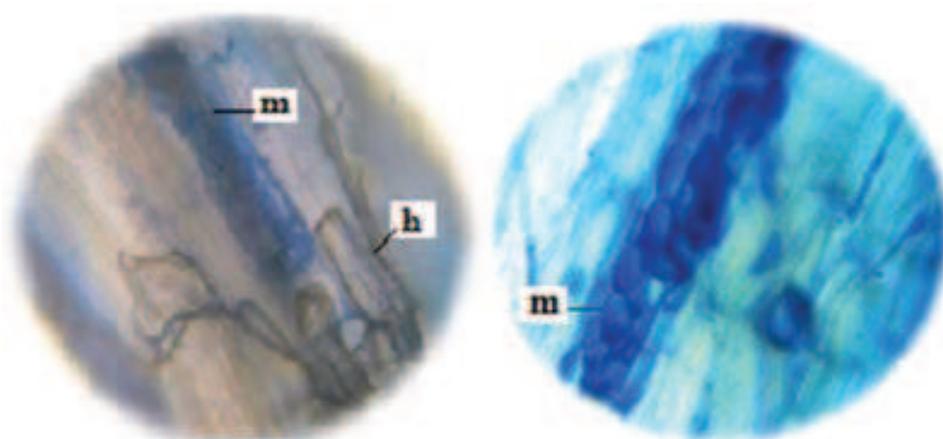


Figura 13. Hifas melanizadas (h) y microesclerocios (m) del tipo de hongos endófitos septados oscuros (ESO) en raicillas de topinambur (*H. tuberosus* L.). Aumento de (40x).

Acorde con lo expuesto anteriormente, el presente estudio representa el primer antecedente de co-ocurrencia de ambos tipos de colonización en topinambur (*H. tuberosus* L.), tal como ocurre en la especie la familia Asteraceae, *Smallanthus sonchifolius* (Mercado *et al.*, 2013), y en *Miconia ioneura* y *Tibouchina paratropicade*, especies de la familia Melastomataceae (Urcelay *et al.*, 2005). Todas estas especies procedentes del noroeste argentino.

Se ha propuesto que estos hongos mejoran el funcionamiento de las plantas en ambientes áridos por las características morfo-anatómicas y algunos estudios experimentales, en virtud de su extensa red hifal, que aumenta el área de exploración del suelo, permitiendo a la mayoría de las plantas acceder a las fuentes de agua y nutrientes y mejorar así la supervivencia de las plantas hospedantes (Lugo *et al.*, 2011), tal como

sucede con las micorrizas MA (*Glomus spp.*) que contribuyen al crecimiento y la acumulación de cobre en girasol (*H. annuus*) y favorecen los procesos de recuperación de suelos contaminados con desechos tóxicos (Castañón-Silva *et al.*, 2013).

Las raíces presentaron un 97% de colonización micorrícica. La frecuencia de aparición de arbuscúlos y de vesículas fue de 34% y 21% respectivamente. La frecuencia de aparición de microesclerocios de ESO alcanzó el 11% de las raíces evaluadas. El alto nivel de colonización con hongos VA nos permite inferir que esta especie vegetal se comporta como micotrofa dependiente. Estos resultados sugieren que simbiontes fúngicos, micorrizas y endófitos septados oscuros nativos están presentes en el agroecosistema en estudio, y también parecen encontrarse en una concentración alta en el suelo, lo que estaría permitiendo la asociación con las raíces de topinambur favorecidas por el ambiente en el que se desarrollan y adaptadas a las condiciones del suelo.

Las raíces de topinambur estuvieron simultáneamente colonizadas por ambos endófitos, hifas de micorrizas vesículo arbusculares y de septados oscuros, detectándose también la presencia de vesículas, arbuscúlos típicos de micorrizas VA y de microesclerocios de ESO.

El alto nivel de colonización fúngica con ocurrencia simultánea de micorrizas vesículo arbusculares y hongos ESO han sido observados en todas las plantas estudiadas. En la Figura 14 se muestra la presencia de vesículas y de microesclerocios en una raicilla de topinambur, lo cual indica la colonización dual por micorrizas y endófitos septados oscuros. Esto también fue observado en diversos grupos de plantas, incluyendo helechos, mono y dicotiledóneas que se encuentran simultáneamente colonizados por micorrizas vesículo arbusculares (MVA) y endófitos septados oscuros (ESO) (Urcelay *et al.*, 2005; Lugo *et al.*, 2011; Lizárraga *et al.*, 2015).

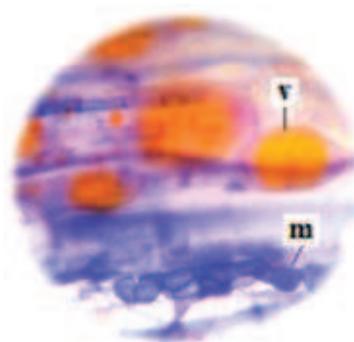


Figura 14. Vesículas (v) y microesclerocios (m) del tipo de hongos endófitos septados oscuros (ESO) en raicillas de topinambur (*H. tuberosus* L.). Aumento de (40x).

Se estima que estas interacciones microbianas con raíces de topinambur son microorganismos nativos debido a que el cultivo se realizó en un monte natural sin historial de cultivo previo, sumado a que es un cultivo no tradicional en la provincia de Catamarca y que es producido casi exclusivamente por un solo agricultor en la zona.

CONCLUSIONES

Se describe por primera vez para Argentina, la asociación micorrícica en topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) con la co-ocurrencia de micorrizas vesículo arbusculares y endófitos septados oscuros nativos de Catamarca.

Se registra un alto nivel de colonización fúngica, con presencia de vesículas polimórficas, arbusculos típicos de micorrizas VA y de hifas tabicadas, melanizadas con numerosos microesclerocios de ESO.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez C.; Scianca C.; Barraco M. (2008). Fertilización fosfatada e inoculación con micorrizas en girasol. Asagir. (<http://www.asagir.org.ar/descargar-archivo-158/archivos-e33c7ca860479c961c763742a9cd2e60>).
- Barrow J.R.; Aaltonen R.E. (2001). Evaluation of the internal colonization of *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. roots by dark septate fungi and the influence of host physiological activity. Mycorrhiza (<https://doi.org/10.1007/s005720100111>).
- Barrow J.R. (2003). Atypical morphology of dark septate fungal root endophytes of *Bouteloua* in arid southwestern U.S.A. rangelands. Mycorrhiza. (<https://doi.org/10.1007/s00572-003-0222-0>).
- Castañón-Silva P.A.; Venegas-Urrutia M.A.; Lobos-Valenzuela M.G.; Gaete-Olivares H.J. (2013). Influence of arbuscular mycorrhizal *Glomus spp.* On growth and accumulation of copper in sunflower *Helianthus annuus* L. Agrocia. 47(4):309-317.
- Cosgrove D.R.; Oelke D.A.; Doll J.D.; Davis D.W.; Undersander D.J.; Oplinger E.S. (1991). Topinambur. Alternative Field Crops Manual. Jerusalem artichoke. (<https://hort.purdue.edu/newcrop/afcm/jerusart.html>).
- Covacevich F.; Echeverría H.E.; Aguirrezabal L.A.N. (2001). Comparación de dos técnicas de cuantificación de infección micorrícica. Ciencia del Suelo. 19(2):155-158.

- Giovannetti M.; Mosse B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular infection in roots. *New Phytol.* (<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x>).
- Harrison M.J. (2005). Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annu Rev. Microbiol.* (<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.58.030603.123749>).
- Jumpponen A. (2001). Dark septate endophytes– are they mycorrhizal?. *Mycorrhiza.* (<https://doi.org/10.1007/s005720100112>).
- Jumpponen A.; Trappe J.M. (1998). Darkseptate root endophytes: a review with special reference to facultative biotrophic symbiosis. *New Phytol.* (<https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00265.x>).
- Kirk P.M.; Cannon P.F.; David J.C.; Stalpers J. (2001). *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. 9th ed. CAB International, Wallingford, UK. ([https://doi.org/10.1016/S0024-2829\(03\)00055-0](https://doi.org/10.1016/S0024-2829(03)00055-0)).
- Lizarraga S.V.; Ruiz A.I.; Salazar S.M.; Díaz Ricci J.C.; Albornoz P.L. (2015). Micorrizas vesículo-arbusculares, endófitos septados oscuros y anatomía radical en *Fragaria ananassa* var. Camino Real (Rosaceae), en la provincia de Tucumán, Argentina. *Rev. Agr. Noroeste Argent.* 35(1):11-17.
- Lugo M.A.; Giordano P.G.; Urcelay C.; Crespo E.M. (2011). Colonización radical por endófitos fúngicos en *Trithrinax campestris* (Arecaceae) de ecosistemas semiáridos del centro de Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 46(3-4):213-222.
- Martínez-García L.B. (2011). Micorrizas arbusculares en ecosistemas semiáridos. Respuesta a factores de estrés ambiental. *Ecosis.* 20(2-3):117-120.
- Mercado M.I.; Coll A.M.V.; Brandán de Weht C.I.; Ponessa G.I.; Grau A. (2013). Arbuscular mycorrhizal associations and dark septate endophytes in Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and a wild relative (*Smallanthus macroscyphus*). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 48(2):193-200.
- Newsham K.K.; Fitter A.H.; Watkinson A.R. (1995). Multi-functionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. *Trends in Ecol. & Evol.* 10:407-411.
- Parodi G.; Pezzani F. (2011). Micorrizas arbusculares en dos gramíneas nativas de Uruguay en áreas con y sin pastoreo. *Agrocienc. Uruguay.* 15(2):1-10.
- Pérez G. (2012). Fertilizantes y microorganismos en el cultivo de girasol. INTA. Estación Experimental Agropecuaria Pergamino. (http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-fertilizantes_y_microorganismos_en_el_cultivo_de_gira.pdf).

- Pérez C.A.; Vertel M.M. (2010). Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus. Rev. MVZ Córdoba. 15(3):2165-2174.
- Peterson R.L.; Massicote H.B.; Melville L.H. (2004). Dark septate fungal endophytes. In P.B. CAVERS (ed.), Mycorrhizas: Anatomy and cell biology. NRC. Ottawa. :145-153.
- Phillips J.M.; Hayman D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. ([https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)).
- Rebora C. (2008). Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.): usos, cultivo y potencialidad en la región de Cuyo. Hort. Argent. (63):27-37.
- Sarasola A.; Rocca M. (1975). Fitopatología. Curso moderno. Tomo IV. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. :191-192.
- Schübler A.; Schwarzott D.; Walker C. (2001). A new fungal phylum the Glomeromycota: phylogeny and evolution. Mycol. Res. (<https://doi.org/10.1017/S0953756201005196>).
- Selosse M.A.; Richard F.; He X.; Simard S.W. (2006). Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses?. Trends Ecol Evol. (<https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.07.003>).
- Sieverding E. (1983). Proyecto Micorriza. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali. Colombia. :121p.
- Smith S.E.; Read D.J. (1997). Chapter 2. The development of infection and anatomy of vesicular-arbuscular mycorrhizas. In "Mycorrhizal symbiosis". 2nd ed. Academic Press, London. :32-63p.
- Urcelay C.; Tecco P.A.; Chiarini F. (2005). Micorrizas arbusculares del tipo 'Arum' y 'Paris' y endófitos radicales septados oscuros en *Miconia ioneura* y *Tibouchina paratropica* (Melastomataceae). Bol. Soc. Argent. Bot. 40(3-4):151-155.
- Wang B.; Qiu Y.L. (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. Mycorrhizahello. 16(5):299-363.
- Verna L.C.; Herrero F.J. (1952). Micología. Morfología, biología, experimentación. El Ateneo. Buenos Aires. :209-210.

Micorrizas arbusculares y hongos septados oscuros nativos en yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en Catamarca, Argentina

RESUMEN

El yacón (*Smallanthus sonchifolius* [(Poeppig & Endlicher) H. Robinson]) es una planta que produce un tipo particular de azúcar, los fructooligosacáridos (FOS) de baja digestibilidad que aporta pocas calorías al organismo y pueden ser consumidos por personas diabéticas porque no elevan el nivel de glucosa en sangre. Este cultivo está generando mucho interés. Por lo cual, el objetivo de este trabajo fue determinar si el cultivo de yacón puede establecer asociaciones micorrícicas naturalmente. Para determinar y valorar la infección fúngica radicular, se estudió la colonización por simbiontes fúngicos nativos en raíces de yacón cultivado en el Valle Central de la provincia de Catamarca. Se realizaron observaciones microscópicas de estructuras fúngicas teñidas dentro de la raíz. La cuantificación de la infección se efectuó mediante metodologías de clarificación y conteo sobre cuadrícula bajo microscopio. Se observaron estructuras típicas de endomicorrizas como hifas, arbuscúlos y vesículas del tipo vesículo arbuscular (MVA) y hongos endofíticos septados oscuros (ESO) con hifas tabicadas, melanizadas y con numerosos microesclerocios. Se determinó un alto nivel de colonización fúngica con ocurrencia simultánea de MVA y hongos ESO. Se describe por primera vez la asociación micorrícica en yacón (*S. sonchifolius*) con micorrizas vesículo arbusculares nativas y con endófitos septados oscuros en el Valle Central de la Provincia de Catamarca.

PALABRAS CLAVES: hongos de raíz; endomicorrizas; Catamarca.

INTRODUCCIÓN

Las micorrizas son simbiosis compatibles e íntimas entre las raíces de las plantas y algunos hongos del suelo. El término micorriza describe al conjunto u “órgano dual” conformado por las estructuras de absorción de las plantas y de los simbiontes fúngicos que las colonizan en forma características y definen una integración estructural y metabólica propia de la simbiosis (Sánchez de Prager, 2007; Perez *et al.*, 2010). La absorción de nutrientes por la mayoría de las plantas ocurre a través de órganos dobles

raíz-hongo y la simbiosis va más allá del plano nutricional, con profundas implicaciones en la sanidad, productividad y adaptación de las plantas a las condiciones ambientales, al manejo y conservación de los ecosistemas y agroecosistemas (Sánchez de Prager, 2007). Es decir, es la unión entre diferentes hongos y las raíces de algunas plantas, donde ambos participantes de esta asociación obtienen beneficios. Fundamentalmente, la planta le proporciona al hongo hidratos de carbono, proteínas y lípidos, necesarios para su desarrollo, y a su vez, el hongo le permite a la planta una mejor captación de nutrientes del suelo, tanto macronutrientes y micronutrientes, especialmente de aquellos pocos móviles, como el fósforo y agua (Kirk *et al.*, 2001; Harrison, 2005; Selosse *et al.*, 2006; Wang & Qiu, 2006; Parodi & Pezzani, 2011). Por lo cual, mejora la calidad del cultivo.

Además, confieren una mayor tolerancia al ataque de patógenos y a la sequía (Newsham *et al.*, 1995; Pérez & Vertel, 2010). Las micorrizas constituyen un recurso biológico cuyo manejo y conservación, genera beneficios ambientales al mejorar las condiciones físico-químicas y biológicas del suelo (Pérez & Vertel, 2010; Martínez, 2011).

Hay diferentes tipos de micorrizas, pero las endomicorrizas son las más frecuentes en la naturaleza que las ectomicorrizas (ECM) (Sieverding, 1983; García *et al.*, 2000; Biais, 2017). Las endomicorrizas se caracterizan por la colonización de las células corticales por el micosimbionte, el cual vive entre ellas y dentro de ellas, inter e intracelularmente (Montenegro Gómez *et al.*, 2017). De los diferentes tipos de endomicorrizas, las más extendidas dentro de las especies vegetales son las micorrizas vesículo – arbusculares (MVA) o las micorrizas arbusculares (MA) y algunas formas más específicas como las orquidíode y ericoide (Sánchez de Prager, 2007).

También se puede encontrar un grupo de Ascomycetes anamórficos dematiáceos que colonizan intra e intercelularmente los tejidos de las raíces formando asociaciones que van desde el mutualismo al parasitismo (Jumpponen, 2001). Estos hongos, denominados Endófitos Septados Oscuros (ESO), se asocian con angiospermas dicotiledóneas y monocotiledóneas, y se encuentran a menudo en las plantas micorrizadas. Los ESO son en su mayoría pigmentados y crecen en el parénquima cortical y en elementos de vaso del cilindro vascular central. Forman microesclerocios pigmentados, de estructura hifal apretada y sinuosa (Jumpponen & Trappe, 1998). Además, presentan hifas hialinas y delgadas con cuerpos lipídicos en su interior, denominadas SEF-(systemic endophytic fungi) (Barrow, 2003), que colonizan en forma

sistémica al hospedante. Estas hifas incoloras constituyen zonas potenciales de transferencia de carbono (Barrow & Aaltonen, 2001).

El yacón (*S. sonchifolius* [(Poeppig & Endlicher) H. Robinson]) de la familia botánica Asteraceae es una planta de tubérculos que se originó en los Andes (Fernández *et al.*, 2006). Fue domesticada hace siglos por las culturas preincaicas cuyo hábitat original son las tierras altas de los Andes, desde el sur de Colombia hasta el norte de Argentina, en las provincias de Jujuy y Salta, entre los 800 y 2.800 msnm, en climas templados montañosos (Manrique *et al.*, 2005).

En contraste con otros cultivos de raíces, que almacenan los carbohidratos en forma de almidón, el yacón acumula los carbohidratos como inulina (Cano Romero, 2016) y fructooligosacáridos (FOS) (Grancieri *et al.*, 2017), polímeros de fructosa, los cuales no pueden ser hidrolizados por el organismo humano y atraviesan el tracto digestivo sin ser metabolizados, no elevan el nivel de glucosa en sangre, proporcionando calorías inferiores al de la sacarosa, excelentes para las dietas hipocalóricas y dietas para diabéticos (Fernández *et al.*, 2006; Satoh *et al.*, 2013). y su consumo está asociado a otras propiedades como la reducción del colesterol y de triglicéridos; mejora la absorción y asimilación de calcio, fortalece el sistema inmunológico, previene y reduce el riesgo de cáncer de colon ya que reconstituye la microflora benéfica del colon, previene y corrige el estreñimiento, y restaura la flora intestinal (Manrique *et al.*, 2005; Santana & Cardoso, 2008; Muñoz Jáuregui, 2009; Grancieri *et al.*, 2017). Por lo que, en la actualidad el consumo de yacón está asociado con la prevención de enfermedades crónicas (dislipidemias y resistencia a la insulina), reduce el colesterol sanguíneo e incluidos los efectos prebióticos, antidiabéticos, antioxidantes y antimicrobianos, entre otras propiedades (Geyer *et al.*, 2008; Genta *et al.*, 2009; Kitai *et al.*, 2017). Siendo un alimento ideal para diabéticos y para personas que desean bajar de peso ya que su consumo no eleva la concentración de glucosa en la sangre y aporta muy pocas calorías a la dieta. Estas propiedades están fuertemente asociadas a los compuestos fenólicos y a los fructooligosacáridos (FOS) y está comprobado que estos compuestos tienen efectos beneficiosos en la nutrición y en la salud. La raíz reservante de yacón posee un sabor dulce agradable, se consume usualmente después de un período de secado al sol. Este procedimiento incrementa el dulzor de las raíces y éstas están listas cuando la piel empieza a arrugarse (Manrique *et al.*, 2005; Santana & Cardoso, 2008).

La importancia del yacón (*S. sonchifolius*), radica en la presencia de componentes bioactivos presentes principalmente en el tubérculo y hojas de la planta que ha despertado gran interés por su contenido de FOS y compuestos fenólicos con propiedades beneficiosas para la salud. Contiene FOS (50–70% de su peso seco) y, por lo tanto, se considera un prebiótico y recientes estudios han sugerido que la alimentación con yacón previene y controla la diabetes por la disminución de glucosa en sangre (Satoh *et al.*, 2013). Además, el consumo de tubérculos de *S. sonchifolius* es cada vez más popular en la dieta japonesa por su bajo valor calórico y el alto contenido de fibra (Kitai *et al.*, 2017).

En Perú, el yacón es un cultivo tradicional, es parte de la biodiversidad alimentaria y medicinal y se utiliza allí tanto las raíces como las hojas, por sus propiedades antioxidantes, hipoglucemiantes y antibacterianas. Por estas características, su uso como alimento funcional y/o nutracéutico es popular y promisorio (Arnao *et al.*, 2011). Se lo comercializa en estado fresco y o en forma de jugos, jarabes, capsulas y te en cajas con sobres filtrantes.

Debido a que no se registran antecedentes que estudien el mutualismo de hongos benéficos asociados con plantas de yacón en la provincia de Catamarca, el objetivo de este trabajo fue estudiar los hongos formadores de micorrizas u otros tipos de hongos y la incidencia de los mismos en *S. sonchifolius* en el Valle Central de la provincia de Catamarca, Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal: Muestras de plantas de yacón (*S. sonchifolius*) de 90 días en fase vegetativa de formación de propágulos y tuberización.

Localización: procedencia de plantas de yacón de un cultivo a campo, ubicado en el Valle Central de la provincia de Catamarca a (28°28'07"LS 65°46'60"LO), que está inmerso en la región semiárida del noroeste de Argentina.

Tratamiento de raíces: Las muestras de raíces se recolectaron al azar de cinco plantas en el período de formación de tubérculos. En laboratorio, las raíces de cada una de las plantas recolectadas se extrajeron y lavaron con agua corriente, luego se seleccionaron las más delgadas, las que se clarificaron y tiñeron siguiendo la metodología de Phillips y Hayman (1970) para la detección de estructuras de micorrizas (Figura 15). La tinción se realizó con solución de triple colorante de Gueguén que permite teñir

simultáneamente en los hongos a las proteínas de azul, el almidón de violeta, a las grasas de rojo (Sarasola & Rocca, 1975) y el glicógeno en caoba (Verna & Herrero, 1952).

Examen microscópico: Las raíces se montaron entre porta y cubreobjetos, por cada ejemplar se realizaron preparados microscópicos. Las raíces fueron observadas utilizando microscopio óptico con objetivos estándar de 10, 40 y 100x.

Cuantificación de infección: Para cada individuo se cuantificó el porcentaje de colonización por MVA (hifas, arbusculos y vesículas) y ESO. Se realizó la cuantificación microscópica del porcentaje de colonización micorrícica arbuscular (MA), el contenido de arbusculos (A) y de vesículas (V), por el método de intersección de línea de Giovannetti y Mosse (1980). Para ello, de cada ejemplar se tomaron 15 segmentos de las raíces tratadas y coloreadas. Se distribuyeron al azar sobre un portaobjeto cuadrículado y mediante observación microscópica (10x y 40x) se registró la presencia-ausencia de estructuras micorrícicas (A y V) en las intersecciones horizontales y verticales entre raíces y líneas de la cuadrícula (Figura 15, C).

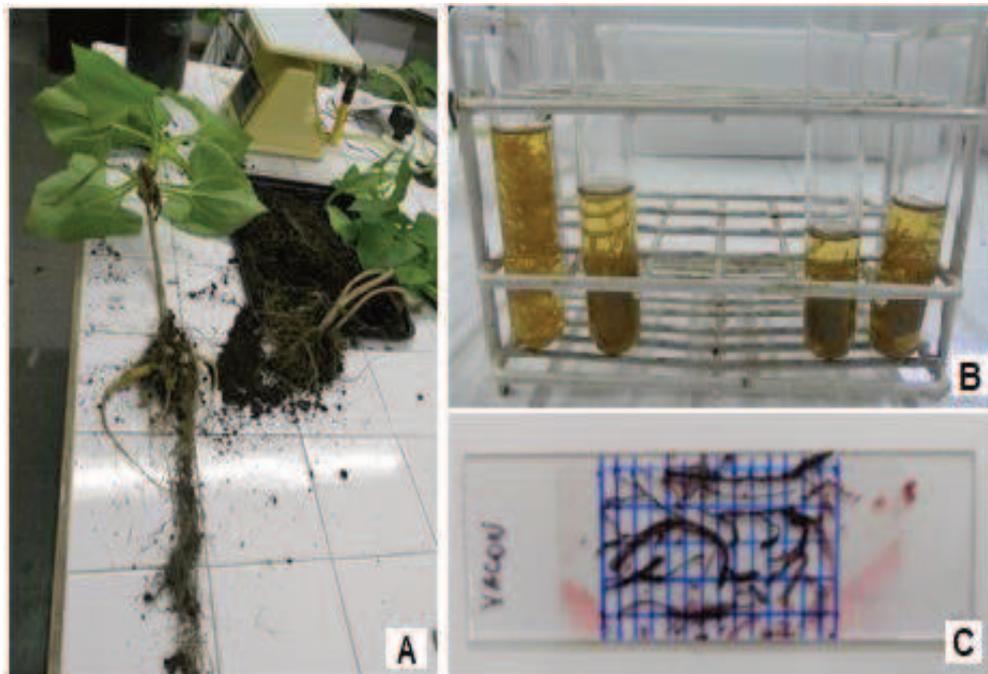


Figura 15. A: Ejemplares de yacón. B: Clarificación de raicillas de yacón. C: Determinación del grado de colonización micorrícica por el método de intersección de línea (Giovannetti y Mosse, 1980; Mc Gonigle *et al.*, 1990).

De cada planta se realizaron tres repeticiones, cuantificándose al menos 100 intersecciones por preparado y se calculó la frecuencia de infección micorrícica,

$$M_{\text{Giovannetti}} (\%) = (\text{SI} \times 100) / \text{SO}, \quad \text{donde:}$$

SI: corresponde al número de segmentos infectados (hifas + arbuscúlos + vesículas) y

SO: al número de segmentos observados totales (hifas + arbuscúlos + vesículas + sin infección).

También se calculó la frecuencia de aparición de arbuscúlos y de vesículas (Covacevich *et al.*, 2001), cuantificándose arbuscúlos, vesículas e hifas de micorrizas VA, además se registró el porcentaje de hifas de ESO y de microesclerocios en raicillas de yacón.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tres estructuras típicas de las micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) fueron observadas: hifas, arbuscúlos y vesículas, en raíces de todas las plantas de yacón recolectadas (Figura 16). Las hifas son continuas finas y gruesas, algunas de ellas con lípidos en rosario en su interior con crecimiento intracelular e intercelular. Se destaca la presencia de arbuscúlos bien desarrollados. También se observaron numerosas vesículas de morfología diversa (esféricas, ovaladas, ahusadas e irregulares) (Figuras 16 y 17), por lo que se infiere que las raicillas de este vegetal están colonizadas por varias especies o géneros de hongos micorrícicos VA nativos.

Las vesículas se mostraron con coloraciones celestes (sáculo) y rojas (glóbulos uni o múltiples) (Figuras 16 y 17). Estas estructuras se encuentran relacionadas con el almacenamiento de carbono en forma de lípidos y ácidos grasos, razón por la que se definen las vesículas como órganos de reserva del simbionte fúngico (Sieverding, 1983). Se observaron arbuscúlos (Figuras 16 y 18) distribuidos a lo largo de la corteza, los que están involucrados en la transferencia bidireccional de nutrientes (Smith & Read, 1997).

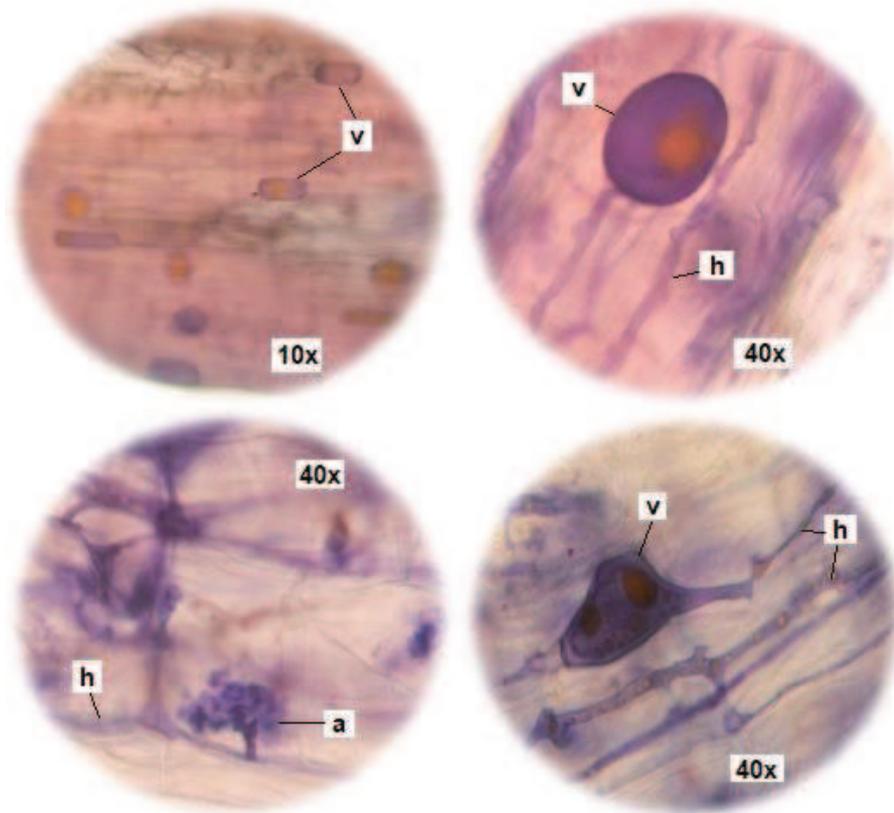


Figura 16. Micrografías de estructuras de micorrizas en raíces de yacón (*S. sonchifolius*).
a: arbusculos; h: hifas; v: vesículas.

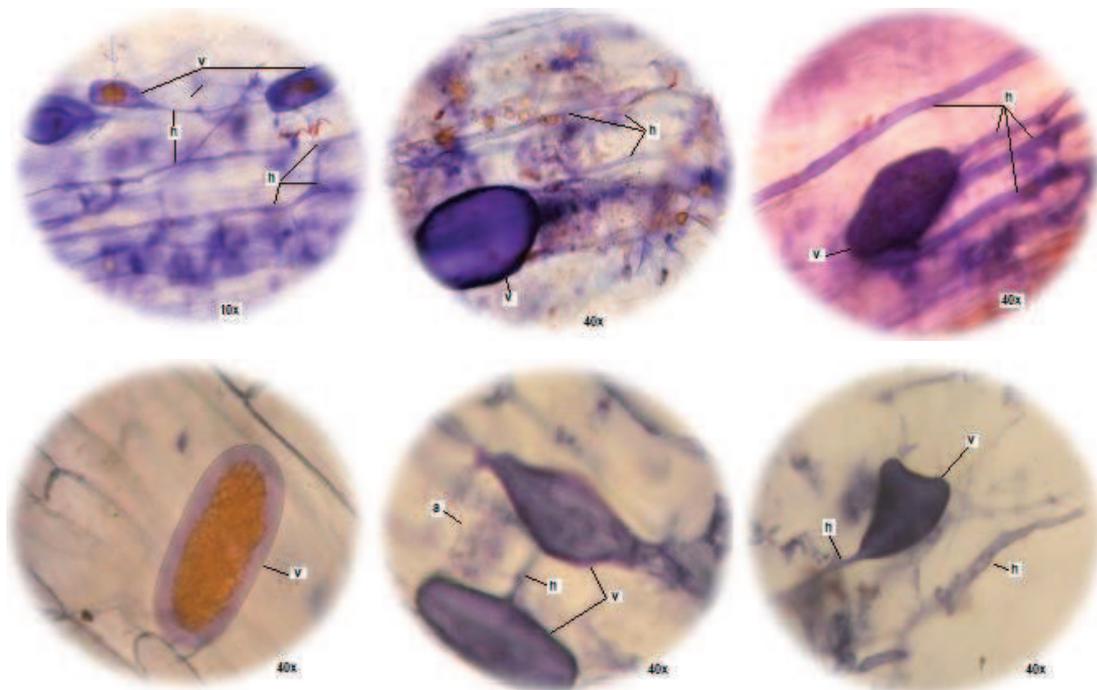


Figura 17. Micrografías de vesículas de micorrizas en raíces de yacón (*S. sonchifolius*).

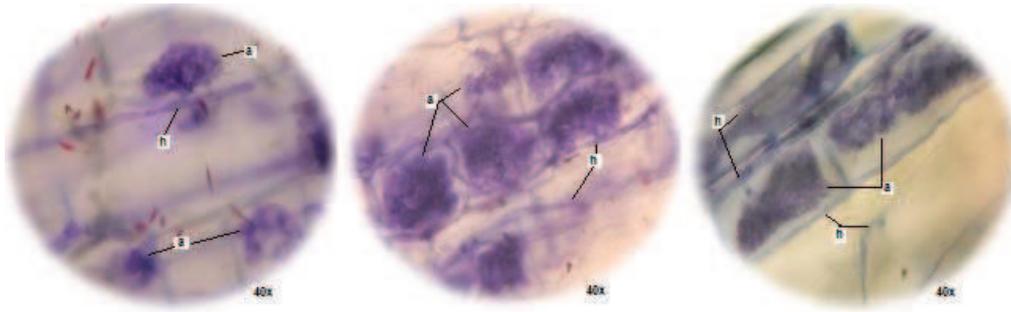


Figura 18. Micrografías de arbusculos de micorrizas en raíces de yacón (*S. sonchifolius*).

Además de las estructuras mencionadas, se observaron otras hifas tabicadas, melanizadas y con numerosos microesclerocios del tipo de hongos endófitos septados oscuros (ESO) (Peterson *et al.*, 2004; Figura 19).

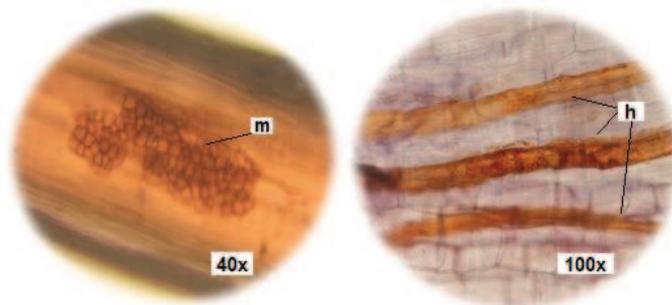


Figura 19. Hifas melanizadas (h) y microesclerocios (m) del tipo de hongos endófitos septados oscuros (ESO) en raicillas de yacón.

También se observaron hifas con numerosos cuerpos lipídicos en su interior, por Barrow (2003) denominadas SEF-(systemic endophytic fungi) que colonizan en forma sistémica al hospedante (Figura 20), y se estima que están involucradas en la transferencia de carbono (Barrow & Aaltonen, 2001).

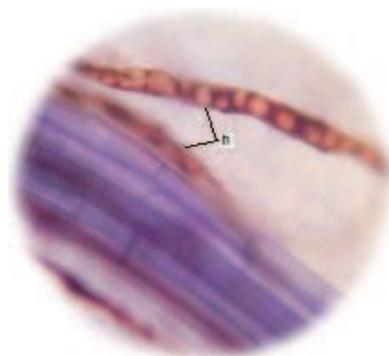


Figura 20. Hifas de endófitos septados oscuros dentro de una raíz de yacón. Numerosos cuerpos lipídicos están presentes en las hifas.

Este estudio representa el primer antecedente de co-ocurrencia de ambos tipos de colonización en yacón (*S. sonchifolius*), con microorganismos nativos de suelos del Valle Central de la Provincia de Catamarca, tal como ocurre con especies nativas de suelos de la Provincia de Tucumán (Mercado *et al.*, 2013).

Se ha propuesto que estos hongos mejoran el funcionamiento de las plantas en ambientes áridos por las características morfo-anatómicas y algunos estudios experimentales, en virtud de su extensa red hifal, que aumenta el área de exploración del suelo, permitiendo a la mayoría de las plantas acceder a las fuentes de agua y nutrientes y mejorar así la supervivencia de las plantas hospedantes (Lugo *et al.*, 2011). Dado, que las hifas excretan principalmente ácido oxálico que ayuda a desgastar las superficies rocosas; además el diámetro que presenta el ápice de una hifa comparado con el ápice de una raíz, le confiere una gran ventaja a la planta pues le permite explorar sustratos a los cuales no podría alcanzar sin la asociación con su hongo micorrízico (Landeweert *et al.*, 2001).

Las raíces de yacón presentaron un alto nivel de colonización fúngica (88,57%), con ocurrencia simultánea de MVA y hongos ESO, y de 75,23 % de colonización micorrízica. La frecuencia de aparición de arbusculos fue de 20,95%, de vesículas de 6,66% y de microesclerocios de ESO de 23,80% de las raíces evaluadas.

El alto nivel de colonización con hongos VA permite inferir que esta especie vegetal se comporta como micotrofa dependiente. Estos resultados sugieren que simbiontes fúngicos, micorrizas y endófitos septados oscuros nativos están presentes en el agroecosistema en estudio, y también parecen encontrarse en una concentración alta en el suelo, lo que estaría permitiendo la asociación con las raíces de yacón favorecidas por el ambiente en el que se desarrollan y adaptadas a las condiciones del suelo. Dado, que las raíces de yacón estuvieron simultáneamente colonizadas por ambos endófitos, hifas de MVA y de septados oscuros, detectándose también la presencia de vesículas, arbusculos típicos de micorrizas VA y de microesclerocios de ESO.

El alto nivel de colonización fúngica con ocurrencia simultánea de micorrizas vesículo arbusculares y hongos ESO han sido observado en todas las plantas estudiadas. En la figura 21 se muestra la presencia de vesículas y de microesclerocios en una raicilla de yacón, lo cual indica la colonización dual por micorrizas y endófitos septados oscuros. Esto también fue observado en diversos grupos de plantas, incluyendo helechos, mono y

dicotiledóneas que se encuentran simultáneamente colonizados por MVA y ESO (Urcelay *et al.*, 2005; Lugo *et al.*, 2011; Lizárraga *et al.*, 2015; Di Barbaro *et al.*, 2017).

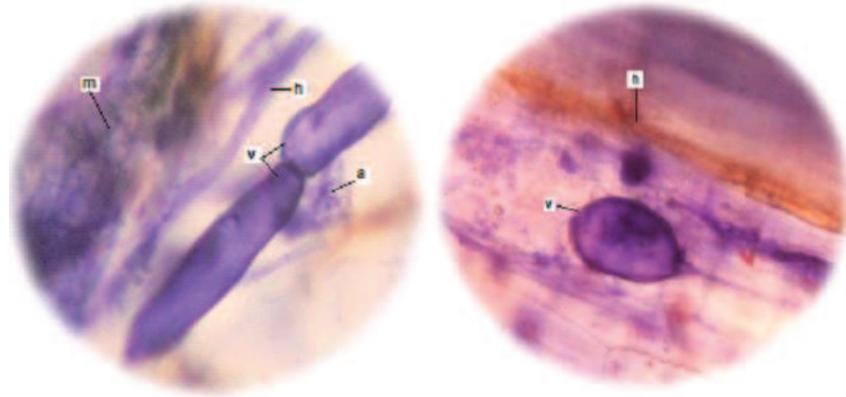


Figura 21. Vesículas (v), arbusculos (a) y microsclerocios (m) del tipo hongos endófitos septados oscuros (ESO) en raicillas de yacón (*S. sonchifolius*). (A: 40x).

Se observó un alto grado de desarrollo de hifas superficiales en las raíces yacón, formando una estructura tipo manto (Figura 22 A), y también una proliferación de hifas formando bobinas de hifas (Figura 22 B), similares a las presentadas por Peterson y colaboradores (2004).

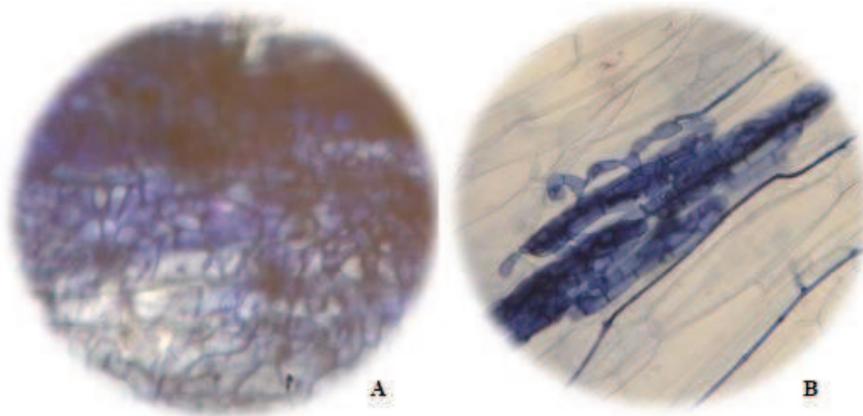


Figura 22. Vista de la superficie de la raíz de yacón que muestra el desarrollo de una cubierta de hifas en forma de manto y bobinas de hifas.

Se estima que estas interacciones microbianas con raíces de yacón son microorganismos nativos debido a que el cultivo se realizó en un lote sin historial de

cultivo previo, sumado a que es un cultivo no tradicional en la provincia de Catamarca y que es producido casi exclusivamente por un solo agricultor en la zona.

CONCLUSIONES

Se describe por primera vez para Catamarca, la asociación micorrícica en yacón (*Smallanthus sonchifolius*) con la co-ocurrencia de micorrizas vesículo arbusculares y endófitos septados oscuros nativos del Valle Central de la Provincia de Catamarca.

Se registra un alto nivel de colonización fúngica, con presencia de vesículas polimórficas, arbusculos típicos de micorrizas VA y de hifas tabicadas, melanizadas con numerosos microesclerocios de ESO.

BIBLIOGRAFÍA

- Arnao I.; Seminario J.; Cisneros R.; Trabucco J. (2011). Potencial antioxidante de 10 accesiones de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, procedentes de Cajamarca – Perú. Anales de la Fac. de Medicina. (<http://dx.doi.org/10.15381/anales.v72i4.1075>).
- Barrow J.R. (2003). Atypical morphology of dark septate fungal root endophytes of *Bouteloua* in arid southwestern U.S.A. rangelands. Mycorrhiza. (<https://doi.org/10.1007/s00572-003-0222-0>).
- Barrow J.R.; Aaltonen R.E. (2001). Evaluation of the internal colonization of *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. roots by dark septate fungi and the influence of host physiological activity. Mycorrhiza. (<https://doi.org/10.1007/s005720100111>).
- Biaus A.J. (2017). Evaluación de la aplicación de nematicidas y hongos micorrícicos arbusculares sobre un cultivo de berenjena infestado con *Nacobbus aberrans*. Fac. de Cs. Agr. y Forestales. Univ. Nac. de La Plata. :50p.
- Cano Romero M.A. (2016). Propagación clonal del yacón [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. and Endl.) H. Robinson] y determinación de los contenidos de inulina. Trabajo de Tesis de Magíster en Biotecnología. Medellín. :63p.
- Covacevich F.; Echeverría H.E.; Aguirrezabal L.A.N. (2001). Comparación de dos técnicas de cuantificación de infección micorrícica. Cienc. Suelo. 19(2):155-158.
- Di Barbaro G.; Andrada H.; Gonzalez Basso V.; Alurralde A.; Del Valle E.; Brandran, C. (2017). Micorrizas arbusculares y hongos septados oscuros nativos en topinambur

- (*Helianthus tuberosus* L.) en Catamarca, Argentina. Rev. Cienc. Agri. (<http://dx.doi.org/10.22267/rcia.173402.75>).
- Fernández E.C.; Viehmannová I.; Lachman J.; Milella L. (2006). Yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poeppig & Endlicher) H. Robinson]: a new crop in the Central Europe. Plant Soil Environ. 52, (12):564-570.
- García C.; Franco M.; Quintero J.; Rao I. (2000). Catálogo de cepas de micorrizas arbusculares. CIAT. Cali, Colombia. :78p.
- Genta S.; Cabrera C.; Habib N.; Pons J.; Manrique I.; Grau A.; Sánchez S. (2009). Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. Clinical Nutrit. 28(2):182-187.
- Geyer M.; Manrique I.; Degen L.; Beglinger C. (2008). Effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on colonic transit time in healthy volunteers. Digestion. 78(1) :30-33.
- Giovannetti M.; Mosse B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular infection in roots. New Phytol. (<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x>).
- Harrison M.J. (2005). Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Annu. Rev. Microbiol. (<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.58.030603.123749>)
- Grancieri M.; Brunoro Costa N.M.; Vaz Tostes M.; Silva de Oliveira D.; de Carvalho Nunes L.; de Nadai Marcon L.; Agrizzi Veridiano T.; Lomar Viana M. (2017). Yacon flour (*Smallanthus sonchifolius*) attenuates intestinal morbidity in rats with colon cancer. J. Func. Foods. 37:666-675.
- Jumpponen A. (2001). Dark septate endophytes– are they mycorrhizal?. Mycorrhiza. (<https://doi.org/10.1007/s005720100112>).
- Jumpponen A.; Trappe J.M. (1998). Darkseptate root endophytes: a review with special reference to facultative biotrophic symbiosis. New Phytol. (<https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00265.x>).
- Kirk P.M.; Cannon P.F.; David J.C.; Stalpers J. (2001). Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. 9th ed. CAB International, Wallingford, UK.
- Kitai Y.; Zhang X.; Hayashida Y.; Kakehi Y.; Tamura H. (2017). Induction of G2/M arrest and apoptosis through mitochondria pathway by a dimer sesquiterpene lactone from *Smallanthus sonchifolius* in HeLa cells. J. food & drug anal. 25:619-627.

- Landeweert R.; Hoffland E.; Finlay R.D.; Kuyper T.W.; van Breemen N. (2001). Linking plants to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. *Trends in Ecol. & Evol.* 16:248-254.
- Lizarraga S.V.; Ruiz A.I.; Salazar S.M.; Díaz Ricci J.C.; Albornoz P.L. (2015). Micorrizas vesículo-arbusculares, endófitos septados oscuros y anatomía radical en *Fragaria ananassa* var. Camino Real (Rosaceae), en la provincia de Tucumán, Argentina. *Rev. Agron. Noroeste argent.* 35(1):11-17.
- Lugo M.A.; Giordano P.G.; Urcelay C.; Crespo E.M. (2019). Colonización radical por endófitos fúngicos en *Trithrinax campestris* (Arecaceae) de ecosistemas semiáridos del centro de Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 46(3-4):213-222.
- Manrique I.; Párraga A.; Hermann M. (2005). Yacon syrup: Principles and processing (8B). Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. :31p.
- Martínez-García L.B. (2011). Micorrizas arbusculares en ecosistemas semiáridos. Respuesta a factores de estrés ambiental. *Ecosis.* (<http://revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/viewFile/654/617>).
- McGonigle T.P.; Miller M.H.; Evans D.G.; Fairchild G.L.; Swan J.A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115:495-501.
- Mercado M.I.; Coll A.M.V.; Brandán de Weht C.I.; Ponessa G.I.; Grau A. (2013). Arbuscular mycorrhizal associations and dark septate endophytes in Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and a wild relative (*Smallanthus macroscyphus*). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 48(2):193-200.
- Montenegro Gómez S.; Barrera Berdugo S.; Valencia C.M. (2017). Bioprospección de hongos micorrízicos arbusculares como alternativa para el fortalecimiento del cultivo de aguacate (*Persea americana* Miller) en Colombia. *Rev. de Inv. Agr. y Amb.* 8. :13p.
- Muñoz Jáuregui A. M. (2009). Monografía del yacón *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.). Perú biodiverso. Lima, Perú. :5-60. (<http://perubiodiverso.pe/assets/Monograf%C3%ADa-del-yac%C3%B3n.pdf>).
- Newsham K.K.; Fitter A.H.; Watkinson A.R. (1995). Multi-functionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. *Trends in Ecol. & Evol.* 10:407-411.

- Parodi G.; Pezzani F. (2011). Micorrizas arbusculares en dos gramíneas nativas de Uruguay en áreas con y sin pastoreo. *Agrocienc. Uruguay*. 15(2):1-10.
- Pérez C.A.; Vertel M.M. (2010). Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus. *Rev. MVZ Córdoba* 15(3):2165-2174.
- Peterson R.L.; Massicote H.B.; Melville L.H. (2004). Dark septate fungal endophytes. In P.B. Cavers editor. *Mycorrhizas: Anatomy and cell biology*. NRC. Ottawa. :171p.
- Phillips J.M.; Hayman D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* ([https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)).
- Sánchez de Prager M. (2007). Las micorrizas: estrategia compartida para colonizar el suelo. Capítulo 4. Las Endomicorrizas: Expresión bioedáfica de importancia en el trópico. Univ. Nac. de Colombia. Fac. de Cs. Agropecuarias.:115-175.
- Santana I.; Cardoso M.H. (2008). Raíz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. *Ciência Rural*. Sta. Ma. 38(3):898-905.
- Sarasola A.; Rocca M. (1975). Fitopatología. Curso moderno. Tomo IV. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. :191-192.
- Satoh H.; Audrey Nguyen M.T.; Kudoh A.; Watanabe T. (2013). Yacon diet (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae) improves hepatic insulin resistance via reducing Trb3 expression in Zucker fa/fa rats. *Nutrit. & Diabetes*. 3:1-6.
- Selosse M.A.; Richard F.; He X.; Simard S.W. (2006). Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses?. *Trends Ecol Evol*. (<https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.07.003>).
- Sieverding E. (1983). Proyecto Micorriza. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali. Colombia. :121 p.
- Smith S.E.; Read D.J. (1997). The development of infection and anatomy of vesicular-arbuscular mycorrhizas. Chapter 2. In "Mycorrhizal symbiosis". 2nd ed. Academic Press, London. :32-63 p.
- Urcelay C.; Tecco P.A.; Chiarini F. (2005). Micorrizas arbusculares del tipo 'Arum' y 'Paris' y endófitos radicales septados oscuros en *Miconia ioneura* y *Tibouchina paratropica* (Melastomataceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 40(3-4):151-155.

- Verna L.C.; Herrero F.J. (1952). *Micología. Morfología, biología, experimentación*. El Ateneo. Buenos Aires. :209-210 p.
- Wang B.; Qiu Y.L. (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhizahello*. 16(5):299-363.

CAPÍTULO 5.

“Asociaciones micorrícicas entre hongos nativos y plantas trampas o multiplicadoras, cultivadas en el Valle Central de Catamarca”

La versión resumida de este capítulo fue presentada en las 1° Jornadas de Ciencia y Tecnología. FCA, UNCa. *Di Barbaro G., Espeche E., Manenti L., Rizo M., Andrada H., Viale S. & Batallán Morales S.* 2018. Asociaciones micorrícicas entre hongos nativos y plantas forrajeras cultivadas en el Valle Central de Catamarca. (<http://agrarias.unca.edu.ar/wp-content/uploads/2018/10/Res%C3%BAmenes%20I%20Jornada%20de%20divulgaci%C3%B3n/Resumen%20-%20Di%20Barbaro.pdf>).

La versión completa será publicada en RIA, Revista de Investigaciones Agropecuarias. *Di Barbaro Gabriela; Andrada Horacio; Del Valle Eleodoro; Brandán Celia.* 2020. Asociaciones micorrícicas entre hongos nativos y plantas forrajeras cultivadas en el Valle Central de Catamarca, argentina. (URL del manuscrito: <http://ppct.caicyt.gov.ar/index.php/ria/author/submission/17501>). (En prensa).

Asociaciones micorrícicas entre hongos nativos y plantas forrajeras cultivadas en el Valle Central de Catamarca, Argentina.

RESUMEN

Las micorrizas son simbiosis entre las raíces de algunas plantas y determinados hongos del suelo, donde ambos participantes de esta asociación obtienen beneficios. Fundamentalmente, la planta le proporciona al hongo hidratos de carbono, proteínas y lípidos, y a su vez, el hongo le permite a la planta una mejor captación de nutrientes del suelo y agua. El objetivo fue determinar la existencia de asociaciones micorrícicas entre hongos nativos y cultivos forrajeros del Valle Central de Catamarca. Se estudió la colonización en raíces de *Melilotus officinalis*, *Avena sativa*, *Hordeum vulgare*, *Secale cereale*, *Panicum maximun* y *Cenchrus ciliaris*, procedentes de cultivos a campo del Valle Central de Catamarca. Se realizó la cuantificación de la infección o colonización fúngica por el método de intersección de línea y de la frecuencia de aparición de estructuras fúngicas. Se observaron estructuras endomicorrícicas del tipo vesículo arbuscular; con hifas micorrícicas continuas, y algunas de ellas con lípidos en rosario en su interior y vesículas con glóbulos grasos. Además, se observaron hongos endofíticos septados oscuros. Se describe la asociación micorrícica en seis especies forrajeras cultivadas en el Valle Central de Catamarca, con la coocurrencia de micorrizas vesículo arbusculares y endófitos septados oscuros nativos.

PALABRAS CLAVE: Avena; Cebada; Centeno; Gatton panic; Buffel grass.

INTRODUCCIÓN

Las micorrizas son simbiosis entre las raíces de las plantas y determinados hongos del suelo. El término micorriza describe al conjunto conformado por las estructuras de absorción de las plantas y de los simbiosites fúngicos que las colonizan en forma característica (Sánchez de Prager, 2007; Perez *et al.*, 2010), generando una integración estructural y metabólica propia de una simbiosis. La absorción de nutrientes es afectada por estas asociaciones que además influyen sobre la sanidad vegetal, productividad y en la adaptación de las plantas a las condiciones ambientales (Sánchez de Prager, 2007).

La planta le proporciona al hongo hidratos de carbono, proteínas y lípidos, necesarios para su desarrollo, y a su vez, el hongo le permite a la planta una mejor captación de agua y nutrientes del suelo, tanto macronutrientes y micronutrientes, especialmente de aquellos pocos móviles, como el fósforo (Sánchez de Prager, 2007).

Endomicorrizas y ectomicorrizas son dos tipos de micorrizas que ocurren en la naturaleza (Sieverding, 1983; García *et al.*, 2000; Biais, 2017). Las endomicorrizas son más frecuentes en la naturaleza y se caracterizan por la colonización de las células corticales por un micosimbionte, el cual vive entre ellas y dentro de ellas, inter e intracelularmente (Montenegro Gómez *et al.*, 2017). Entre los diferentes tipos de endomicorrizas, las más extendidas dentro de las especies vegetales son las micorrizas vesículo–arbusculares (MVA) o las micorrizas arbusculares (MA) y algunas formas más específicas como las orquidoides y ericoide (Sánchez de Prager, 2007; Montenegro Gómez *et al.*, 2017).

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y los vesículo-arbusculares (HMVA) no se desarrollan en cultivos puros porque no son capaces de crecer en ausencia de una planta hospedante (Aguilar-Ulloa *et al.*, 2016), por lo que son considerados simbioses obligados, condición biológica que representa un obstáculo para propagarlos masalmente. Estos hongos se propagan utilizando plantas trampa, que, al cabo de un período de crecimiento, se colectan suelo y raíces de éstas para su empleo como inoculante de hongos endomicorrícicos (De la Rosa-Mera *et al.*, 2012). En las últimas décadas, ha cobrado importancia el estudio de estos organismos con el fin de aplicarlos al suelo como biofertilizantes con el objeto de alcanzar mayor productividad en los cultivos (Covacevich & Echeverría, 2010; Reyes Tena *et al.*, 2015; Aguilar-Ulloa *et al.*, 2016). La colonización de raíces por hongos endomicorrícicos ha sido el parámetro comúnmente utilizado como indicador rápido de la presencia de la simbiosis micorrícica (Covacevich & Echeverría, 2010).

Varias especies vegetales han sido investigadas como cultivos trampa para la producción de micorrizas, con el propósito de encontrar plantas susceptibles de ser colonizadas y permitan el rápido crecimiento de las micorrizas (Aguilar-Ulloa *et al.*, 2016). El cultivo trampa adecuado debe ser una planta de crecimiento rápido, que se adapte a las condiciones del ambiente en donde se desarrollará, debe ser colonizada fácilmente por el hongo micorrícico y producir una gran cantidad de raíces en un tiempo relativamente corto (45-60 días) (Siqueira Martins *et al.*, 2017).

La asociación que establecen los HMA no es específica, lo que permite que un mismo hongo pueda colonizar diferentes especies vegetales para generar simbiosis (Aguilar-Ulloa *et al.*, 2016). También, existe la preferencia que determinados HMA colonicen y se propaguen mejor en determinadas especies de plantas (Covacevich & Echeverría, 2010). Además, el uso de una misma especie fúngica es probable que no sea óptima para todos los cultivos. Por esta razón es conveniente evaluar los MVA en cada especie de cultivo trampa.

Debido a que las interacciones entre diferentes MVA con los microorganismos de suelo son complejas, es necesario determinar su comportamiento a campo bajo las condiciones de crecimiento particulares de cada cultivo. La utilización de MVA autóctonas es recomendable debido a su adaptación a las condiciones imperantes, evitando riesgos ecológicos asociados a la introducción de especies exóticas (Sánchez de Prager, 2007).

El objetivo fue determinar la existencia de asociaciones micorrícicas entre hongos autóctonos del suelo y cultivos forrajeros en el Valle Central de Catamarca y evaluar aspectos biológicos de las interacciones encontradas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudió la colonización de micorrícica en raíces de plantas de seis especies forrajeras que comúnmente se cultivan en la región. Las siembras se realizaron en la localidad de Miraflores, Dpto. Capayán, en el Valle Central de Catamarca, en lotes de monte nativo o con historial agrícola sin antecedentes de aplicación de hongos micorrícicos. Las especies evaluadas fueron: trébol (*Melilotus officinalis* L.), avena (*Avena sativa* L.), cebada (*Hordeum vulgare* L.), centeno (*Secale cereale* L.), gatton panic (*Panicum maximum* Jacq.) y buffel grass (*Cenchrus ciliaris* L.).

En laboratorio, las raíces de cada una de las plantas recolectadas se extrajeron y lavaron con agua corriente, se seleccionaron las más delgadas, las que se clarificaron y tiñeron siguiendo la metodología de Phillips y Hayman (1970) para determinar la colonización fúngica y la detección de estructuras micorrícicas. La tinción se realizó con solución de triple colorante de Gueguén, que permite teñir simultáneamente en los hongos a las proteínas de azul, el almidón de violeta, grasas de rojo (Sarasola & Rocca, 1975) y el glicógeno en caoba (Verna & Herrero, 1952).

En cada ejemplar, se cuantificó el porcentaje de colonización fúngica por MVA y los porcentajes de contenido de arbuscúlos (A) y de vesículas (V), por el método de intersección de línea de Giovannetti y Mosse (1980) y se calculó la frecuencia de aparición de A y de V (Covacevich *et al.*, 2001). Para cada ejemplar se tomaron 15 segmentos de las raíces coloreadas que se distribuyeron al azar sobre un portaobjeto cuadrulado y mediante observación microscópica (10x y 40x) se registró la presencia- ausencia de estructuras micorrícicas (A y V) en las intersecciones horizontales y verticales entre raíces y líneas de la cuadrícula. De cada especie se realizaron tres repeticiones, cuantificándose al menos 100 intersecciones por preparado para calcular luego la frecuencia de infección micorrícica según Giovannetti y Mosse (1980).

$$MGiovannetti (\%) = N^{\circ} SI \times 100 / N^{\circ} SO$$

Donde:

SI: número de segmentos infectados (hifas + arbuscúlos + vesículas) y

SO: número de segmentos observados totales (hifas + arbuscúlos + vesículas + sin infección).

También, se registró el porcentaje de hifas de endófitos septados oscuros (ESO) y porcentaje de microesclerocios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las seis especies forrajeras analizadas se observaron estructuras típicas de los hongos endomicorrícicos del tipo MVA (hifas, arbuscúlos y vesículas) (Figuras 23 y 24), como así también, hongos ESO (con hifas tabicadas, melanizadas y con numerosos microesclerocios) (Figura 25). En todas las especies se presentaron hifas continuas finas y gruesas, algunas de ellas con lípidos en rosario en su interior con crecimiento intracelular e intercelular.

En trébol se observaron arbuscúlos distribuidos a lo largo de la corteza, los que están involucrados en la transferencia bidireccional de nutrientes (Smith & Read, 1997). También se observaron numerosas vesículas de morfología diversa (esféricas, ovaladas, ahusadas), por lo que se infiere que las raíces están colonizadas por varias especies o géneros de HMVA nativos. Se observaron vesículas con coloraciones celestes (sáculo) y rojas (glóbulos uni o múltiples); estas estructuras se encuentran relacionadas con el

almacenamiento de carbono en forma de lípidos y ácidos grasos. Por esta razón, se definen las vesículas como órganos de reserva del simbiote fúngico (Sieverding, 1983).

Se determinó un alto nivel de colonización fúngica en las seis forrajeras, obteniéndose los más altos valores de colonización micorrícica (CM) en raíces de trébol y cebada (Tabla 4). La más alta frecuencia de aparición de arbusculos (FAA) se observó en trébol, mientras que en avena se determinó la menor cantidad de arbusculos. También se observó en trébol la mayor frecuencia de aparición de vesículas (FAV), con valores promedios del 20% (Tabla 4). Estos resultados coinciden con las afirmaciones de Covacevich y Echeverría (2010) que indican que existe la preferencia de que determinados HMA colonizan y se propagan mejor en determinadas especies de plantas.

Además, en todas las especies forrajeras analizadas se observaron otro tipo de hifas: tabicadas, melanizadas y con numerosos microesclerocios del tipo de hongos ESO (Peterson *et al.*, 2004). En raíces de trébol, cebada y centeno se determinaron valores similares de FAM de ESO (entre el 15 al 13%) (Tabla 4).

Tabla 4. Colonización fúngica en especies forrajeras del Valle Central de Catamarca.

Especie	Hongos Micorrícicos			Hongos ESO
	CM ¹ (%)	FAA ² (%)	FAV ³ (%)	FAM ⁴ (%)
<i>Trébol</i>	89	47	20	15
<i>Cebada</i>	89	17	15	15
<i>Centeno</i>	83	27,7	16	13
<i>Buffel grass</i>	76,5	20	8	2
<i>Gatton panic</i>	75,8	32	9,8	1,7
<i>Avena</i>	75	10	12	4

¹(CM): Colonización micorrícica. ²(FAA) Frecuencia de aparición de arbusculos.

³(FAV): Frecuencia de aparición de vesículas. ⁴(FAM): Frecuencia de aparición de microesclerocios de hongos septados oscuros.

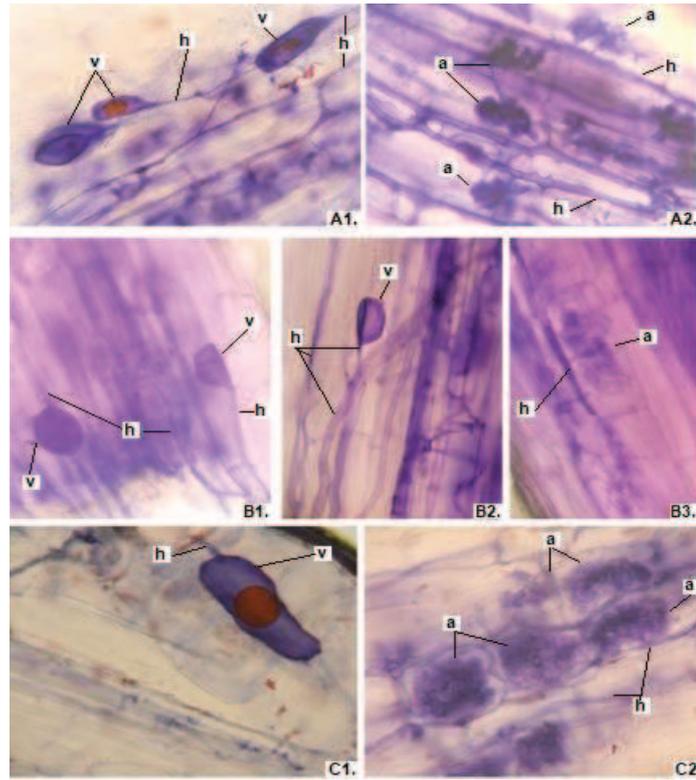


Figura 23. Microfotografías de estructuras de micorrizas en raíces de especies forrajeras. (A: Trébol; B: Cebada; C: Centeno). (a: Arbúsculo; h: hifa; v: Vesícula).

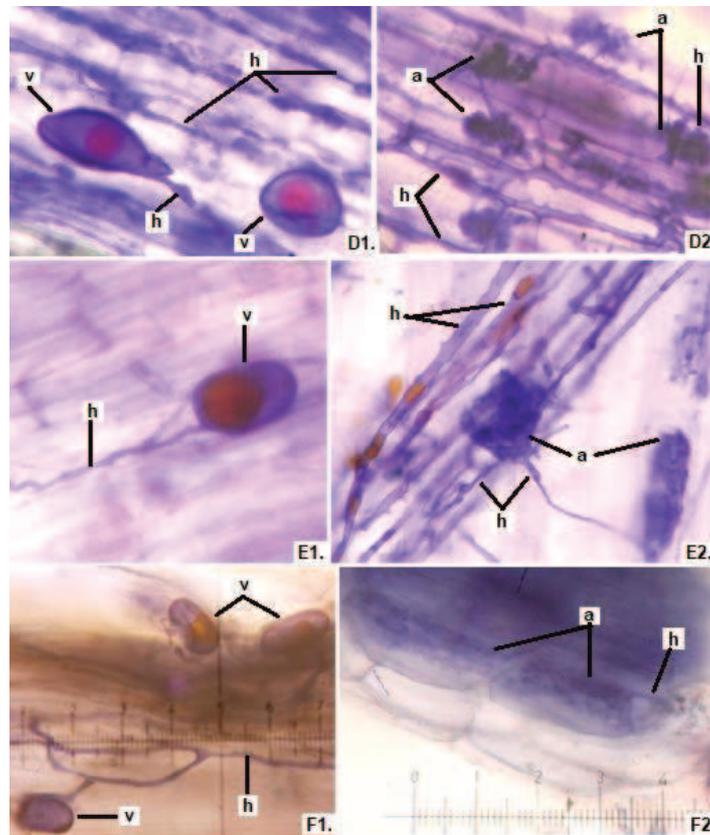


Figura 24. Microfotografías de estructuras de micorrizas en raíces de especies forrajeras. (D: Avena; E: Buffel Grass y F: Gatton Panic). (a: Arbúsculo; h: hifa; v: Vesícula).

En las raíces de todas las plantas estudiadas estuvieron simultáneamente colonizadas por ambos endófitos, hifas de MVA y de ESO, detectándose también la presencia de vesículas, arbuscúlos típicos de micorrizas VA y de microesclerocios de ESO. Esto también fue observado en diversos grupos de plantas, incluyendo helechos, mono y dicotiledóneas que se encuentran simultáneamente colonizados por MVA y ESO (Urcelay *et al.*, 2005; Lugo *et al.*, 2011; Lizárraga *et al.*, 2015; Di Barbaro *et al.*, 2017).

Por lo tanto, en todas las especies forrajeras estudiadas se desarrollaron MVA y otras estructuras fúngicas, esta coincidencia se justifica porque todos estos cultivos se realizaron en lotes contiguos de idénticas características de suelo y condiciones medioambientales, y porque la colonización fúngica se desarrolló a partir de la microflora nativa, con capacidad de asociarse y generar MVA, lo cual es acorde con lo expresado por Aguilar-Ulloa *et al.* (2016) donde explican que un mismo hongo pueda colonizar diferentes especies vegetales para generar simbiosis.

Estos hongos formadores de micorrizas pueden considerarse como potenciales constituyentes de biofertilizantes. Díaz Franco *et al.* (2019) lograron la reducción de la fertilización inorgánica a través de la inoculación de HMA en el cultivo de sorgo. La mayor rentabilidad de la producción de sorgo obtenida, permite considerar la inclusión de HMA una práctica viable que promueva mayor rentabilidad, así como la conservación agroecológica de los sistemas de producción.

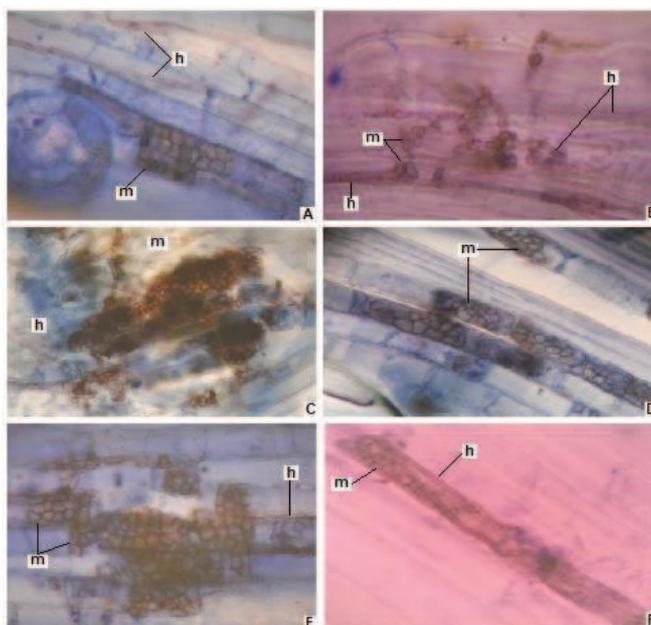


Figura 25. Microfotografías de estructuras de hongos septados oscuros en raíces de especies forrajeras. (A: Trébol; B: Cebada; C: Centeno; D: Avena; E: Buffel Grass y F: Gatton Panic). (m: Microesclerocios; h: hifa). (Aumento: 40x).

CONCLUSIONES

En este estudio se describe la asociación micorrícica en seis especies forrajeras cultivadas en el Valle Central de Catamarca y la co-ocurrencia de micorrizas vesículo arbusculares y endófitos septados oscuros nativos.

Se obtuvieron altos niveles de colonización micorrícica en todas las especies forrajeras evaluadas. Destacamos la aptitud del cultivo de trébol como especie trampa debido a que son colonizadas fácilmente por hongos micorrícicos y generan un rápido crecimiento de micorrizas.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar-Ulloa W.; Arce-Acuña P.; Galiano-Murillo F.; Torres-Cruz T. (2016). Aislamiento de esporas y evaluación de métodos de inoculación en la producción de micorrizas en cultivos trampa. *Tecnol. en Marcha. Ed. Esp. Biocontrol.* :5-14.
- Biaus A.J. (2017). Evaluación de la aplicación de nematicidas y hongos micorrícicos arbusculares sobre un cultivo de berenjena infestado con *Nacobbus aberrans*. Trabajo Final. Fac. de Cs. Agr. y Forestales. Univ. Nac. de La Plata. :50p.
- Covacevich F.; Echeverría H.E. (2010). Indicadores para seleccionar inóculos de hongos micorrícicos arbusculares eficientes en suelos moderadamente ácidos. *CI. Suelo (Argentina)* 28(1):9-22.
- Covacevich F.; Echeverría H.E.; Aguirrezabal L.A.N. (2001). Comparación de dos técnicas de cuantificación de infección micorrícica. *Cienc. del Suelo.* 19(2):155-158.
- De la Rosa-Mera C.; Ferrera-Cerrato R.; Alarcón A.; Sánchez-Colín M.; Franco-Ramírez A. (2012). Aislamiento de consorcios de hongos micorrícicos arbusculares de plantas medicinales y su efecto en el crecimiento de vinca (*Catharanthus roseus*). *Rev. Chilena de Historia Nat.* 85:187-198.
- Díaz Franco A.; Espinosa Ramírez M.; Ortiz Cháirez F.E. (2019). Reducción de la fertilización inorgánica mediante micorriza arbuscular en sorgo. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 35(3):683-692.
- Di Barbaro G.; Andrada H.; González Basso V.; Alurralde A.; Del Valle E.; Brandran C. (2017). Micorrizas arbusculares y hongos septados oscuros nativos en topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) en Catamarca, Argentina. *Rev. Cienc. Agri.* (<http://dx.doi.org/10.22267/rcia.173402.75>).

- García C.; Franco M.; Quintero J.; Rao I. (2000). Catálogo de cepas de micorrizas arbusculares. CIAT. Cali, Colombia. :78p.
- Giovannetti M.; Mosse B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular infection in roots. *New Phytol.* (<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x>).
- Lizarraga S.V.; Ruiz A.I.; Salazar S.M.; Díaz Ricci J.C.; Albornoz P.L. (2015). Micorrizas vesículo-arbusculares, endófitos septados oscuros y anatomía radical en *Fragaria ananassa* var. Camino Real (Rosaceae), en la provincia de Tucumán, Argentina. *Rev. Agron. Noroeste Argent.* 35(1):11-17.
- Lugo M.A.; Giordano P.G.; Urcelay C.; Crespo E.M. (2011). Colonización radical por endófitos fúngicos en *Trithrinax campestris* (Arecaceae) de ecosistemas semiáridos del centro de Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 46(3-4):213-222.
- Montenegro Gómez S.; Barrera Berdugo S.; Valencia C.M. (2017). Bioprospección de hongos micorrízicos arbusculares como alternativa para el fortalecimiento del cultivo de aguacate (*Persea americana* Miller) en Colombia. *Rev. Inv. Agr. & Amb.* 8. :13p.
- Perez C.A.; Rojas S.J.; Fuentes C.J. (2010). Determinación de un modelo logístico para evaluación in situ de la colonización de micorrizas en pasto *Dichanthium aristatum* (L.). *Rev. Colombiana Cienc. Anim.* 2(1):73-84.
- Peterson R.L.; Massicote H.B.; Melville L.H. (2004). Dark septate fungal endophytes. In P.B. CAVERS (ed.), *Mycorrhizas: Anatomy and cell biology*. NRC. Ottawa. :145-153.
- Phillips J.M.; Hayman D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* ([https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)).
- Reyes-Tena A.; López-Pérez I.; Quiñones-Aguilar E.E.; Rincón-Enríquez G. (2015). Evaluación de consorcios micorrízicos arbusculares en el crecimiento vegetal de plantas de maíz, chile y frijol. *Biológicas, Univ. Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.* 17(2):35-42.
- Sánchez de Prager M. (2007). Las micorrizas: estrategia compartida para colonizar el suelo. Capítulo 4. Las Endomicorrizas: Expresión bioedáfica de importancia en el trópico. *Univ. Nac. de Colombia. Fac. de Cs. Agropecuarias.* :115-175.

- Sarasola A.; Rocca M. (1975). Fitopatología. Curso moderno. Tomo IV. Fisiogénicas – Práctica en Fitopatología. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. :191-192.
- Sieverding E. (1983). Proyecto Micorriza. Centro Internacional de Agricultura Tropical Cali. Colombia. :121p.
- Smith S.E.; Read D.J. (1997). Chapter 2. The development of infection and anatomy of vesicular-arbuscular mycorrhizas. In “Mycorrhizal symbiosis”. 2nd ed. Academic Press, London. :32-63.
- Siqueira Martins R.M.; Melloni R.; Guimarães Pereira Melloni E. (2017). Crescimento micelial de fungos micorrízicos arbusculares e formação de micorriza em solo contaminado por cádmio. Rev. Sci. Agr. Versão SA. 18(3):48-60.
- Urcelay C.; Tecco P.A.; Chiarini F. (2005). Micorrizas arbusculares del tipo ‘Arum’ y ‘Paris’ y endófitos radicales septados oscuros en *Miconia ioneura* y *Tibouchina paratropica* (Melastomataceae). Bol. Soc. Argent. Bot. 40(3-4):151-155.
- Verna L.C.; Herrero F.J. (1952). Micología. Morfología, biología, experimentación. El Ateneo. Buenos Aires. :209-210.

CAPÍTULO 6.

**“Evaluación del efecto de *Azospirillum brasilense*
y hongos micorrícicos nativos en
topinambur y yacón”**

Evaluación del efecto de *Azospirillum brasilense* y hongos micorrícicos del suelo en topinambur y yacón cultivados en Catamarca, Argentina

RESUMEN

Con la finalidad de evaluar el efecto de *Azospirillum brasilense* y hongos micorrícicos del suelo sobre la nutrición de los cultivos de topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) y yacón (*Smallanthus sonchifolius* [(Poeppig & Endlicher) H. Robinson]), se realizaron determinaciones de parámetros agronómicos y el estado sanitario de las plantas, bajo condiciones de invernáculo y a campo. Los ensayos se efectuaron, en el momento de la implantación del cultivo: se inocularon las “semillas” con *A. brasilense* y con hongos micorrícicos nativos, generando cuatro tratamientos por cultivo incluyendo el testigo y la coinoculación del consorcio de los microorganismos en estudio (T0: testigo o control sin inocular; T1: inoculación con *A. brasilense* nativo; T2: inoculación con hongos micorrícicos nativos y T3: inoculación conjunta con *A. brasilense* y hongos micorrícicos nativos. Los resultados indican que la coinoculación con *A. brasilense* y con hongos micorrícicos nativos, incrementaron significativamente el crecimiento de las plantas en altura, área foliar, biomasa, materia seca y rendimientos, tanto en la producción en invernáculo como en campo. Se determinó que la aplicación de los microorganismos seleccionados tiene un efecto promotor del crecimiento de las plantas, incrementando el crecimiento y la productividad de los cultivos de topinambur de yacón.

PALABRAS CLAVE: Interacciones; *Helianthus tuberosus*; *Smallanthus sonchifolius*.

INTRODUCCIÓN

Helianthus tuberosus L., conocido vulgarmente como topinambur, pertenece a la familia botánica Asteracea, y son cuatro los principales usos: hortícola, forrajero, extracción de inulina y producción de etanol (Rebora, 2008; Bach *et al.*, 2015; Iburguren, 2015).

El topinambur podría considerarse un alimento funcional debido a su alto contenido de inulina (Bach *et al.*, 2013). La inulina es considerada una fibra biológica, cuya

ingestión confiere varias ventajas para la salud: disminuye el nivel de colesterol en sangre, promueve la actividad de bifidobacterias a nivel intestinal, reduce el azúcar en sangre (Yuan *et al.*, 2013; Ibareuren, 2015, Okada *et al.*, 2017). Es poco digerida por los humanos y por lo tanto tiene potencial para ser usada en formulaciones de alimentos de bajas calorías (Ritsema & Smeekens, 2003; Tessaro, 2014). Las cadenas de inulina largas pueden usarse para reemplazar grasa en alimentos, ya que simulan su textura. Esto es utilizado en la elaboración de lácteos bajas calorías (Davidson & Maki, 1999). La inulina actúa como prebiótico, favoreciendo el desarrollo de bacterias benéficas en el colon. La harina de topinambur no tiene gluten, lo que la hace apta para celíacos y, además, tiene valor energético reducido. Ibareuren *et al.* (2019) valoraron el potencial del topinambur como alimento, y observaron que los alimentos formulados con distintas proporciones de topinambur son muy aceptados por potenciales consumidores, y constituyen una alternativa saludable a la alimentación habitual debido a su alto contenido de inulina y a los beneficios que ésta aporta a la salud humana.

Los tubérculos de topinambur, además de poseer nutrientes y fibras beneficiosas, también contienen bajos niveles de varios contaminantes químicos (residuos de insecticidas; organofosforados, organoclorados, carbamatos y piretroides), metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y mercurio) y sustancias tóxicas naturales (nitrito, nitro, cianuro, etc.). Estos niveles son más bajos que los estipulados para alimentos destinados al consumo humano por el Ministerio de Salud Pública de Tailandia, por lo cual no pueden causar algún problema de salud y se consideran alimentos saludables para los consumidores (Judprasong *et al.*, 2018).

El topinambur es un excelente forraje de doble producción, forraje verde y tubérculos. Los tubérculos son utilizados como reserva energética para el invierno y usado comúnmente en la alimentación porcina, por lo cual al topinambur es llamado también “papa chanchera” (Bauer & Laso, 1974).

Numerosos trabajos señalan el potencial del topinambur para producir bioetanol (Parameswarab, 1999; Berenji & Sikora, 2001, Kays & Nottingham, 2008; Lima Verde Leal *et al.*, 2008; Rebora, 2008; Leslio *et al.*, 2009). Tiene ventajas sobre otros cultivos, principalmente por su alto rendimiento de biomasa (Lelio *et al.*, 2009). La producción de etanol puede realizarse tanto a partir de la parte aérea como de los tubérculos (Parameswaran, 1995; Baker *et al.*, 1990).

Sin embargo, se están investigando otros usos. Por considerarse al topinambur una maleza altamente invasiva en los sistemas de cultivo europeos, se investigó el potencial alelopático de *H. tuberosus*, y se descubrió la capacidad inhibitoria de sus extractos sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de malezas y de cultivos, por lo que ha cobrado gran interés la implementación de programas integrados de manejo de malezas, considerando la capacidad supresora del topinambur y sus residuos para el manejo de malezas en el campo (Tesio *et al.*, 2011; 2012). También, se investigó el uso de extractos de hojas topinambur para su uso potencial en la mejora de la conservación de frutas y verduras en el almacenamiento. Los resultados obtenidos implican que las hojas de topinambur podrían ser una potencial agente antimicrobiano y fuente de fungicidas naturales (Chen *et al.*, 2013). Willscher *et al.* (2017) determinaron que *H. tuberosus* es una adecuada planta para la fitorremediación de sitios contaminados con metales pesados. Por otra parte, Klímek *et al.* (2016), investigaron la viabilidad de los residuos de topinambur (*H. tuberosus*) y de otros cultivos agrícolas para ser utilizados como materias primas alternativas para tableros, y por sus características físicas y mecánicas, determinaron que son adecuados para ser utilizados en la producción de muebles, ya que cumplen con la norma europea de condiciones de uso.

El yacón (*S. sonchifolius* [(Poeppig & Endlicher) H. Robinson]) de la familia botánica Asteraceae es una planta de tubérculos que se originó en los Andes (Fernández *et al.*, 2006). Fue domesticada hace siglos por las culturas preincaicas cuyo hábitat original son las tierras altas de los Andes, desde el sur de Colombia hasta el norte de Argentina, en las provincias de Jujuy y Salta, entre los 800 y 2.800 msnm, en climas templados montañosos (Manrique *et al.*, 2005).

En contraste con otros cultivos de raíces, que almacenan los carbohidratos en forma de almidón, el yacón acumula los carbohidratos como inulina y fructooligosacáridos (FOS), polímeros de fructosa, los cuales no pueden ser hidrolizados por el organismo humano y atraviesan el tracto digestivo sin ser metabolizados, no elevan el nivel de glucosa en sangre, proporcionando calorías inferiores al de la sacarosa, excelentes para las dietas hipocalóricas y dietas para diabéticos (Fernández *et al.*, 2006) y su consumo está asociado a otras propiedades como la reducción del colesterol y de triglicéridos; mejora la absorción de calcio, fortalece el sistema inmunológico, previene y reduce el riesgo de cáncer de colon, previene el estreñimiento, y restaura la flora intestinal (Manrique *et al.*, 2005; Santana & Cardoso, 2008; Muñoz Jáuregui, 2010). Por lo que, en

la actualidad el consumo de yacón está asociado con la prevención de enfermedades crónicas (dislipidemias y resistencia a la insulina), cáncer de colon ya que reconstituye la microflora benéfica del colon, mejora la asimilación de calcio, corrige el estreñimiento, reduce el colesterol sanguíneo y se incluyen los efectos prebióticos, antidiabéticos, antioxidantes y antimicrobianos, entre otras propiedades (Geyer *et al.*, 2008; Genta *et al.*, 2009). Son, un alimento ideal para diabéticos y para personas que desean bajar de peso ya que su consumo no eleva la concentración de glucosa en la sangre y aporta muy pocas calorías a la dieta. Estas propiedades están fuertemente asociadas a los compuestos fenólicos y a los fructooligosacáridos (FOS) y está comprobado que estos compuestos tienen efectos beneficiosos en la nutrición y en la salud. La raíz reservante de yacón posee un sabor dulce agradable, se consume usualmente después de un período de secado al sol. Este procedimiento incrementa el dulzor de las raíces y éstas están listas cuando la piel empieza a arrugarse (Manrique *et al.*, 2005; Santana & Cardoso, 2008).

La importancia del yacón (*S. sonchifolius*), radica en la presencia de componentes bioactivos presentes principalmente en el tubérculo y hojas de la planta que ha despertado gran interés por su contenido de FOS y compuestos fenólicos con propiedades beneficiosas para la salud. Contiene FOS (50–70% de su peso seco) y, por lo tanto, se considera un prebiótico y recientes estudios han sugerido que la alimentación con yacón previene y controla la diabetes por la disminución de glucosa en sangre (Satoh *et al.*, 2013). Además, el consumo de tubérculos de *S. sonchifolius* es cada vez más popular en la dieta japonesa por su bajo valor calórico y el alto contenido de fibra.

En Perú, el yacón es un cultivo tradicional, es parte de la biodiversidad alimentaria y medicinal y se utiliza allí tanto las raíces como las hojas, por sus propiedades antioxidantes, hipoglucemiantes y antibacterianas. Por estas características, su uso como alimento funcional y/o nutracéutico es popular y promisorio (Arnao *et al.*, 2011). Se lo comercializa en estado fresco y o en forma de jugos, jarabes, cápsulas y te en cajas con sobres filtrantes.

Por todo lo anteriormente tratado se considera valioso incrementar la producción de topinambur y yacón mediante la incorporación de tecnologías de cultivo más productivas y rentables tales como el uso de biofertilizantes, que a su vez permite disminuir los costos de producción y reducir el uso de agroquímicos.

Los biofertilizantes pueden contener uno o varios microorganismos seleccionados, que pueden ser aplicados a la semilla o al suelo con el fin de incrementar su densidad y su asociación al sistema radical de la planta para favorecer su nutrición. Esto mejora el desarrollo vegetal y productivo de la planta. Entre los microorganismos más utilizados por su potencial contribución al desarrollo de las plantas se encuentran la rizobacteria *A. brasilense* y el hongo micorrícico arbuscular *Glomus intraradices* (Mrosk *et al.*, 2009).

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de *A. brasilense* y hongos micorrícicos nativos del suelo sobre la nutrición del cultivo de topinambur (*H. tuberosus* L.) y de yacón (*S. sonchifolius* [(Poeppig & Endlicher) H. Robinson]), por determinación de parámetros agronómicos y el estado sanitario de las plantas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Bioensayos para determinar interacciones entre *A. brasilense*, hongos micorrícicos en los cultivos de topinambur y yacón.

Se realizaron bioensayos en invernáculo y en campo. Los tratamientos efectuados sobre topinambur y yacón fueron:

- T0: Testigo o control (sin inocular).
- T1: Inoculación con *A. brasilense*.
- T2: Inoculación con hongos micorrícicos nativos.
- T3: Inoculación conjunta con *A. brasilense* y hongos micorrícicos nativos.

Los tratamientos inoculados consistieron en aplicar los microorganismos seleccionados a los tubérculos de topinambur y a los propágulos de yacón, por inmersión de los mismos en el inoculante en el momento previo a la implantación. Mientras que los tubérculos y propágulos de los tratamientos testigos se colocaron en agua corriente estéril.

Para las plantaciones se usaron tubérculos de topinambur (*H. tuberosus*) de aproximadamente 10 g de peso, y propágulos de yacón (*S. sonchifolius*) de alrededor de 30 gramos.

Se utilizó la cepa nativa Pi 8 de *A. brasilense*, aislada de la endorrizósfera de pimiento pimentonero (*Capsicum annum* var. *trompa de elefante*) cultivado en la Provincia de Catamarca, cuya identificación se realizó bioquímica y molecularmente

(Tarrand *et al.*, 1978; Döbereiner *et al.*, 1995; Caballero Mellado, 2002). La concentración utilizada de *A. brasilense* para las inoculaciones fue de 5×10^7 azospirilos. mL⁻¹ cuantificadas en cámara de Neubauer (Manacorda *et al.*, 2007).

El inóculo de hongos micorrícicos nativos de la provincia fue constituido por raicillas de *Melilotus officinalis* L., *Avena sativa* L., *Hordeum vulgare* L., *Secale cereale* L., *Panicum maximum* Jacq. y *Cenchrus ciliaris* L. colonizadas por éstos. El porcentaje de colonización micorrícica de las raíces utilizadas como inóculo fue de 81,38%, estimada mediante el método de intersecciones en línea y observación microscópica de raíces de Sieverding (1983) y Mc Gonigle *et al.* (1990).

En cada fecha de evaluación se registraron los siguientes datos: altura de plantas; cantidad de tallos; índice de área foliar (IAF) (Lal & Subba Rao, 1951), peso fresco (PF), seco (PS) y %MS de tallos, hojas, raíces, propágulos, tubérculos y planta completa; cantidad de tubérculos por planta; peso promedio y rendimiento de tubérculos.

Con los datos de peso seco (PS) y peso fresco (PF) se calculó el % de materia seca ($\% \text{MS} = \text{PS} \times 100 / \text{PF}$), tanto para tallos, tubérculos, raíces y demás partes de planta.

Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante análisis de varianza (ANAVA) y las medias fueron comparadas mediante Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) de Fisher a un nivel de significancia de 0,05 empleando el programa estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2018).

1. Bioensayos en invernáculo

Por cultivo se realizaron seis bioensayos en invernáculo, tres con suelo estéril y tres con suelo sin esterilizar. Se utilizaron contenedores de 5 litros y suelo procedente de la zona agrícola del Valle Central de la Provincia de Catamarca (arena: 73,85; arcilla: 8%; limo: 18,2 %; pH:7,5; M.O.: 5,72%). Se instaló un sistema de riego por goteo para regar los cultivos de topinambur y de yacón.

1.1. Bioensayos en invernáculo con suelo estéril: En laboratorio, se realizó la esterilización del suelo tamizado en autoclave con vapor saturado a presión (20 minutos a 0,5 atm. de presión).

1.2. Bioensayos en invernáculo con suelo sin esterilizar: Se llenaron los contenedores con el mismo volumen de suelo tamizado, se regó con igual cantidad de

agua y luego de la implantación de los distintos tratamientos, se rotuló y se agregó una capa de perlita estéril para evitar la contaminación y transferencia de inóculos microbianos entre las macetas. Posteriormente se trasladaron los contenedores al invernáculo y se efectuaron evaluaciones periódicas del crecimiento vegetal.

El diseño experimental fue completamente aleatorizado con 15 repeticiones por tratamiento.

2. Bioensayos en campo

Por cada cultivo se realizaron dos tipos de bioensayos; en uno de ellos se efectuaron evaluaciones periódicas del crecimiento vegetal en diferentes etapas fenológicas de los cultivos de topinambur y yacón, mientras que, en el otro tipo de bioensayo, se evaluaron las plantas en el momento de cosecha, en la fase fenológica de entrega y madurez comercial de los cultivos con tubérculos maduros.

Los bioensayos se realizaron en diferentes localidades del Valle Central de la Provincia de Catamarca a ($28^{\circ}28'07''\text{LS } 65^{\circ}46'60''\text{LO}$).

El diseño experimental empleado fue bloques al azar con tres repeticiones por tratamiento. Cada repetición correspondió a una parcela de 3 m x 3m con 25 plantas (unidades experimentales), en 5 líneas de cultivo distanciadas a 70 cm.

2.1. Bioensayo en campo con evaluación al final del ciclo de los cultivos: Al final del ciclo del cultivo se evaluaron 15 plantas ubicadas en la parte central de la parcela de cada tratamiento. En topinambur la cosecha se realizó a los 7 meses después de la implantación, mientras que en yacón se realizó a los 10 meses de cultivo.

2.2. Bioensayos en campo con evaluación periódica del ciclo de los cultivos: En cada colecta se tomaron 3 plantas de cada tratamiento y repetición. En uno de los experimentos de topinambur las colectas se realizaron a los 118, 125, 139, 146, 153 y 180 días después de la implantación, y en otro experimento a los 147, 172, 192 y 222 días de la siembra. Mientras, en el ensayo de yacón las colectas se realizaron a los 35, 64, 114, 160 y 215 días después de la implantación.

RESULTADOS

1. Bioensayos en invernáculo

1.1. Bioensayos en invernáculo con suelo estéril:

1.1.1. Experimentos con evaluación al final del ciclo de los cultivos:

Las plantaciones de topinambur se efectuaron en invierno (Experimento I) y en primavera (Experimento II), mientras que los dos experimentos de yacón se plantaron a finales del verano. La extracción y evaluación de las plantas se realizó a los 7 meses de su plantación.

Altura de plantas: Se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Las plantas de topinambur y yacón inoculadas con el consorcio *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3) presentaron mayor altura durante todo el ciclo del cultivo (Tablas 5 y 6). Sin embargo, para ambos cultivos se registraron magnitudes muy por debajo a las observadas en campo, debido al espacio limitado donde se desarrollan las raíces por los contenedores, y por consiguiente limitaciones de agua y nutrientes, lo que disminuye su crecimiento.

Cantidad de tallos: En plantas de los experimentos de topinambur y de yacón, procedentes de los tratamientos inoculados (T1, T2 y T3) se observaron similares cantidades de tallos aéreos, registrándose diferencias con significancia estadística con respecto al tratamiento testigo (T0), duplicando en promedio al número de tallos de las plantas testigo (Tablas 5 y 6). Mientras, que sólo en el experimento II de yacón, las plantas presentaron cantidades similares de tallos, sin registrarse diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para esta variable (Tabla 6).

Porcentaje de materia seca de tallos aéreos: En ambos cultivos, se obtuvieron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con mayores porcentajes de materia seca de tallos en las plantas inoculadas con el consorcio microbiano (T3) (Tablas 5 y 6). Además, los mayores valores de peso fresco de tallos se observaron en las plantas inoculadas (T1, T2 y T3), registrándose diferencias estadísticamente significativas con respecto a las plantas testigo, semejante comportamiento se presentó con el peso seco de los tallos de los distintos tratamientos (Tablas 5 y 6).

El contenido de materia seca se utiliza para conocer el rendimiento industrial de un producto. Se determina desecando el material en estudio hasta llegar a un peso constante, situación en la que se considera que perdió el contenido de agua libre (Ibarguren, 2015).

Tabla 5. Comparación de parámetros agronómicos de 7 meses de producción en *Invernáculo con suelo estéril* de topinambur (número, peso fresco, peso seco, porcentaje de materia seca y altura de tallos). (Experimento I: plantación en invierno; Experimento II: plantación en primavera).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.+Mico.</i>
Topinambur Experimento I	Nro.	2,00±1,05 a	4,60±1,43 b	4,80±1,69 b	3,60±1,07 b
	PF (g)	32,73±5,22 a	44,80±12,09ab	45,70±13,04 b	42,81±20,29ab
	PS (g)	8,15±1,24 a	13,31±3,40 b	13,11±3,73 b	14,36±6,67 b
	MS (%)	24,94±0,25 a	29,84±0,62 c	28,69±0,17 b	33,73±0,86 d
	Altura.(cm)	43,10±5,38 a	57,90±7,89 b	57,30±7,65 b	70,00±3,30 c
Topinambur Experimento II	Nro.	2,00±1,05 a	4,70±1,34 bc	4,90±1,60 c	3,60±1,07 b
	PF (g)	32,53±5,33 a	44,70±12,04 ab	45,50±12,96 b	43,11±20,55 ab
	PS (g)	8,32±1,36 a	12,84±3,49 b	12,63±3,61 b	13,58±6,36 b
	MS (%)	25,58±0,04 a	28,72±0,30 c	27,77±0,28 b	31,67±0,54 d
	Altura.(cm)	43,00±5,46 a	58,50±7,88 b	58,20±6,75 b	70,70±3,16 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P<0,05$.

Tabla 6. Comparación de parámetros agronómicos de 7 meses de producción en *Invernáculo con suelo estéril* de yacón (número, peso fresco, peso seco, porcentaje de materia seca y altura de tallos). (Experimento I y II: plantación en verano).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.+Mico.</i>
Yacón Experimento I	Nro.	1,33±0,52 a	1,50±0,55 a	1,83±0,75 ab	2,33±0,82 b
	PF (g)	53,73±6,57 a	73,37±4,33 c	63,68±7,22 b	96,53±9,68 d
	PS (g)	9,76±1,19 a	13,52±0,80 c	11,75±1,35 b	18,37±1,84 d
	MS (%)	18,16±0,08 a	18,42±0,03 b	18,45±0,05 b	19,03±0,03 c
	Altura.(cm)	54,67±3,88 a	76,67±4,84 c	67,50±5,01 b	93,67±6,86 d
Yacón Experimento II	Nro.	1,50±0,53 a	1,80±0,63 a	2,00±0,82 a	2,10±0,74 a
	PF (g)	55,05±5,41 a	69,82±6,57 c	62,01±6,42 b	90,21±8,09 d
	PS (g)	27,10±5,37 a	41,44±7,94 b	38,80±8,54 b	40,60±12,42 b
	MS (%)	49,55±9,90 a	59,81±12,92 bc	63,53±17,41 c	65,71±16,20 c
	Altura.(cm)	59,00±4,16 a	73,40±5,95 c	66,00±4,81 b	91,40±6,77 d

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P<0,05$.

Número de tubérculos por planta: En ambos cultivos, la mayor cantidad de tubérculos se observó en los tratamientos inoculados (Tablas 7 y 8), sin embargo, solo en topinambur se registraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos T3 y T0 (Tabla 7). La cantidad máxima de tubérculos por planta cultivada en macetas están muy por debajo a las obtenidas en los experimentos a campo.

Peso de tubérculos por planta: Los mayores pesos de tubérculos por planta de topinambur y de yacón se registraron en los tratamientos con la inoculación del consorcio de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3), donde se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas con los tratamientos testigos (T0) (Tablas 7 y 8).

Porcentaje de materia seca de los tubérculos: Se determinó un mayor porcentaje de materia seca en los tubérculos de topinambur y de yacón, procedentes de los tratamientos inoculados, con diferencias estadísticas significativas con respecto a los controles (T0) (Tablas 7 y 8). Sin embargo, lo opuesto se observó en el experimento II de yacón, en el cual los tubérculos procedentes del tratamiento testigo presentaron un mayor porcentaje de materia seca (Tabla 8).

Peso promedio de los tubérculos: En ambos cultivos, los tubérculos de mayor peso promedio se observaron en los tratamientos inoculados, registrándose diferencias estadísticas significativas con respecto al tratamiento testigo (T0) (Tablas 7 y 8). Sin embargo, los tubérculos de topinambur procedentes del tratamiento T3, fueron muy pequeños de 3,7 g promedio, con un rango de variación de peso promedio de tubérculos 1,5 a 6 g (Tabla 7). Estos microtubérculos podrían emplearse como “semilla” ya que lograron la maduración fisiológica y pueden generar una nueva planta.

Rendimiento (kg de tubérculos por ha⁻¹ o t.ha⁻¹): En topinambur y yacón, los mayores rendimientos se lograron con la inoculación del consorcio microbiano de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3) (Tabla 7). Estimándose rendimientos promedio muy inferiores a los obtenidos en los ensayos de campo y a los obtenidos en yacón por Kamp *et al.*, (2019 c) en condiciones de invernáculo.

Tabla 7. Comparación de parámetros agronómicos de 7 meses de producción en *Invernáculo con suelo estéril* de topinambur (número, peso fresco, peso seco, porcentaje de materia seca, peso promedio y rendimiento de tubérculos). (Experimento I: plantación en invierno; Experimento II: plantación en primavera).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.</i> +Mico.
Topinambur Experimento I	Nro.	2,30±1,2 a	3,60±2,7 ab	3,40±1,5 ab	4,90±1,8 b
	PF (g)	3,97±1,9 a	13,87±17,3 ab	7,13±3,8 a	20,10±15,1 b
	PS (g)	0,78±0,3 a	3,30±3,9 bc	1,79±0,8 ab	5,09±3,5 c
	MS (%)	19,46±0,3 a	27,34±7,1 b	26,58±4,2 b	27,00±3,2 b
	PM (g)	1,88±0,5 a	3,20±2,0 ab	2,12±0,6 a	3,71±2,1 b
	Rdto.(Kg.ha ⁻¹)	81,02±38,9 a	283,06±354 ab	145,51±77,7 a	410,24±308,1 b
Topinambur Experimento II	Nro.	2,30±1,2 a	3,60±2,7 ab	3,30±1,6 ab	4,90±1,8 b
	PF (g)	3,88±1,8 a	14,52±18,9 ab	6,83±4,0 a	20,08±15,1 b
	PS (g)	0,76±0,3 a	3,30±3,9 bc	1,53±0,8 ab	5,02±3,5 c
	MS (%)	19,50±0,3 a	24,15±1,7 b	22,64±0,7 b	26,18±2,7 c
	PM (g)	1,83±0,5 a	3,19±2,3 ab	2,10±0,6 a	3,70±2,2 b
	Rdto.(Kg.ha ⁻¹)	79,18±38,1 a	296,32±387 ab	139,39±82,7 a	409,83±308,6 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 8. Comparación de parámetros agronómicos de 7 meses de producción en *Invernáculo con suelo estéril* de yacón (número, peso fresco, peso seco, porcentaje de materia seca, peso promedio y rendimiento de tubérculos). (Experimento I y II: plantación en verano).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.</i> +Mico.
Yacón: Experimento I	Nro.	1,50±0,55 a	1,67±0,52 a	1,67±0,52 a	1,67±0,52 a
	PF (g)	26,35±6,47 a	78,20±27,29 b	97,28±25,61 bc	135,12±64,79 c
	PS (g)	5,48±1,33 a	16,78±5,76 b	20,87±5,52 bc	29,40±14,09 c
	MS (%)	20,82±0,17 a	21,50±0,22 b	21,45±0,08 b	21,76±0,05 c
	PM (g)	20,50±10,65 a	49,82±17,08ab	67,87±38,47 b	87,36±45,77 b
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	0,537±0,132 a	1,595±0,556 b	1,985±0,522 bc	2,757±1,322 c
Yacón: Experimento II	Nro.	1,40±0,52 a	1,50±0,53 a	1,80±0,63 a	1,70±0,48 a
	PF (g)	29,21±8,73 a	67,88±25,40 b	92,01±20,38 bc	119,56±53,11 c
	PS (g)	0,29±0,11 a	0,33±0,12 a	0,40±0,14 a	0,39±0,11 a
	MS (%)	1,09±0,61 b	0,52±0,20 a	0,47±0,21 a	0,36±0,14 a
	PM (g)	23,26±9,06 a	48,09±16,34 b	60,38±33,47 bc	75,81±38,59 c
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	0,596±0,178 a	1,385±0,518 b	1,877±0,415 bc	2,439±1,083 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Índice de Área Foliar (IAF): En ambos cultivos, los mayores IAF se obtuvieron en los tratamientos inoculados, registrándose diferencias estadísticas significativas a favor de los inoculados en comparación al testigo, en tres experimentos (Tablas 9 y 10).

Porcentaje de materia seca de hojas: En topinambur y yacón, se registraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (Tablas 9 y 10). Los mayores valores se observaron en los tratamientos de inoculación con el consorcio microbiano de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3). La mayor producción de masa foliar se observó en las plantas inoculadas. Sin embargo, en topinambur no se observaron diferencias con significancia estadística, mientras que en yacón si (Tablas 9 y 10). Estos resultados indican que, en las plantas inoculadas, principalmente con el consorcio microbiano (T3), hubo una mayor traslocación de nutrientes y una mayor producción de fotosintatos.

Porcentaje de materia seca de raíces: Se registraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos para esta variable en ambos cultivos (Tablas 9 y 10). Con los tratamientos inoculados T1 y T3 se lograron los mayores valores de materia seca. Además, los mayores valores de masa fresca y seca de raíces se observaron en los tratamientos inoculados, en magnitudes muy superiores a los testigos, con diferencias estadísticas significativas. Resultados que evidencian la actividad promotora del crecimiento de las raíces de los microorganismos en estudio.

Tabla 9. Comparación de parámetros agronómicos de 7 meses de producción en *Invernáculo con suelo estéril* de topinambur (índice de área foliar, peso fresco, peso seco y porcentaje de materia seca de hojas y raíces). (Experimento I: plantación en invierno; Experimento II: plantación en primavera).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.+Mico.</i>
Topinambur Experimento I	<i>IAF</i> (cm ²)	1829,63±291,7a	2504,46±675,7ab	2553,93±729,4b	2393,16±1135,1ab
	<i>PF</i> _{hoja} (g)	34,97±4,39 a	45,16±11,50 a	47,28±15,35 a	43,07±23,40 a
	<i>PS</i> _{hoja} (g)	8,62±1,08 a	13,19±3,27 b	13,57±4,41 b	14,27±7,57 b
	<i>MS</i> _{hoja} (%)	24,66±0,31 a	29,29±0,98 c	28,70±0,23 b	33,41±0,67 d
	<i>PF</i> _{raíz} (g)	23,16±3,52 a	30,99±9,23 b	34,14±5,79 b	32,95±12,29 b
	<i>PS</i> _{raíz} (g)	3,77±0,58 a	6,14±1,67 b	6,33±1,07 b	6,78±2,37 b
	<i>MS</i> _{raíz} (%)	16,29±0,21 a	20,15±1,63 c	18,56±0,29 b	20,80±0,92 c
Topinambur Experimento II	<i>IAF</i> (cm ²)	1943,66±268,3 a	2513,29±632,5 a	2631,80±851,9 a	2418,82±1319,6 a
	<i>PF</i> _{hoja} (g)	34,77±4,80 a	44,96±11,31 a	47,08±15,24 a	43,27±23,61 a
	<i>PS</i> _{hoja} (g)	9,14±1,27 a	12,88±3,07 ab	13,48±4,32 b	14,52±7,67 b
	<i>MS</i> _{hoja} (%)	26,29±0,13 a	28,75±0,64 b	28,66±0,36 b	33,92±0,81 c
	<i>PF</i> _{raíz} (g)	24,16±2,27 a	30,40±8,86 b	33,94±5,78 b	33,45±12,71 b
	<i>PS</i> _{raíz} (g)	4,25±0,48 a	7,33±2,08 b	7,21±2,41 b	8,50±3,12 b
	<i>MS</i> _{raíz} (%)	17,56±0,52 a	24,21±0,70 c	21,10±5,80 b	25,63±0,89 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 10. Comparación de los parámetros agronómicos de 7 meses de producción en *Invernáculo con suelo estéril* de yacón (índice de área foliar, peso fresco, peso seco y porcentaje de materia seca de hojas y raíces). (Experimento I y II: plantación en verano).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.+Mico.</i>
Yacón: Experimento I	<i>IAF</i> (cm ²)	2515,83±343,1 a	3436,67±210,3 b	3055,00±345,4 b	4498,33±375,4 c
	<i>PF</i> _{hoja} (g)	50,32±6,86 a	68,73±11,50 b	61,10±6,91 b	89,97±7,51 c
	<i>PS</i> _{hoja} (g)	8,72±1,19 a	12,17±0,75 b	10,82±1,23 b	16,22±1,37 c
	<i>MS</i> _{hoja} (%)	17,32±0,03 a	17,70±0,03 b	17,70±0,03 b	18,02±0,05 c
	<i>PF</i> _{raíz} (g)	68,32±24,68 a	66,97±19,76 a	82,42±19,96 a	75,18±14,02 a
	<i>PS</i> _{raíz} (g)	13,12±4,73 a	13,35±3,95 a	16,50±3,97 a	15,57±2,91 a
	<i>MS</i> _{raíz} (%)	19,21±0,06 a	19,93±0,06 b	20,03±0,06 c	20,70±0,06 d
	<i>PF</i> _{prop.} (g)	127,97±8,27 a	201,40±20,02 b	195,28±48,69 b	188,63±42,91 b
	<i>PS</i> _{prop.} (g)	27,13±1,73 a	43,72±4,37b	42,42±10,58 b	41,48±9,44 b
	<i>MS</i> _{prop.} (%)	21,20±0,04 a	21,70±0,02 b	21,72±0,02 b	21,99±0,02 c
Yacón: Experimento II	<i>IAF</i> (cm ²)	2630,50±303,8 a	3275,50±331,2 c	2959,00±314,0b	4320,00±399,5 d
	<i>PF</i> _{hoja} (g)	52,61±6,08 a	65,51±6,62 c	59,18±6,28 b	86,40±7,99 d
	<i>PS</i> _{hoja} (g)	9,10±1,05 a	11,33±1,15 c	10,21±1,08 b	14,95±1,39 d
	<i>MS</i> _{hoja} (%)	17,30±0,04 b	17,29±0,05 ab	17,25±0,04 a	17,30±0,04 b
	<i>PF</i> _{raíz} (g)	55,96±29,05 a	74,20±18,47 ab	78,45±23,40 b	82,98±15,26 b
	<i>PS</i> _{raíz} (g)	10,72±5,57 a	16,47±4,10 b	16,64±4,96 b	19,80±3,45 b
	<i>MS</i> _{raíz} (%)	19,15±0,07 a	22,20±0,04 c	21,21±0,05 b	23,92±0,91 d
	<i>PF</i> _{prop.} (g)	148,91±29,41 a	211,41±40,53 b	195,94±43,12 b	200,97±61,50 b
	<i>PS</i> _{prop.} (g)	31,55±6,23 a	52,42±10,05 b	48,88±11,03 b	52,23±15,98 b
	<i>MS</i> _{prop.} (%)	21,19±0,02 a	24,80±0,01 b	24,92±0,38 b	25,99±0,02 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Porcentaje de materia seca de propágulos: En el cultivo de yacón se lograron los mayores valores con la coinoculación microbiana (T3), donde se registraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos para esta variable (Tabla 10). Los propágulos más pequeños se encontraron en los tratamientos testigos (T0).

La evaluación de la planta completa durante el desarrollo de los cultivos en macetas mostró un mayor crecimiento de las plantas inoculadas, observándose diferencias estadísticamente significativas con respecto a las plantas testigo (Tablas 11 y 12). En relación, al porcentaje de materia seca se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos del cultivo de topinambur, donde el mayor porcentaje se obtuvo con la coinoculación del consorcio microbiano de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3), mientras que en yacón los porcentajes de materia seca obtenidos en los diferentes tratamientos fueron similares (Tabla 12).

Tabla 11. Comparación de parámetros agronómicos de 7 meses de producción en *Invernáculo con suelo estéril* de topinambur (peso fresco, peso seco y porcentaje de masa seca de plantas enteras). (Experimento I: plantación en invierno; Experimento II: plantación en primavera).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.</i> +Mico.
Topi. Exp. I	PF (g)	94,83±11,70 a	134,82±33,48 b	134,24±29,67 b	138,93±42,94 b
	PS (g)	21,33±2,62 a	35,83±8,43 b	34,80±8,28 b	40,50±13,45 b
	MS (%)	22,49±0,26 a	26,64±0,60 c	25,80±0,78 b	29,03±1,45 d
Topi. Exp II	PF (g)	95,34±11,03 a	134,58±32,05 b	127,38±27,17 b	139,91±43,73 b
	PS (g)	22,47±2,78 a	36,40±8,36 b	34,84±8,58 b	41,62±13,84 b
	MS (%)	23,55±0,26 a	27,08±0,47 b	27,48±5,14 bc	29,63±1,26 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 12. Comparación de los parámetros agronómicos en *Invernáculo con suelo estéril* de yacón (peso fresco, peso seco y porcentaje de masa seca de plantas enteras). (Experimento I y II: plantación en verano).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.</i> +Mico.
Yacón Exp. I	PF (g)	326,68±35,27 a	488,67±59,16 b	499,77±57,60 b	585,43±91,44 c
	PS (g)	64,22±6,93 a	99,42±12,22 b	102,18±12,19 b	120,85±19,59 c
	MS (%)	19,66±0,06 a	20,34±0,06 b	20,44±0,11 b	20,63±0,15 c
Yacón Exp. II	PF (g)	335,87±39,27 a	482,52±57,93 b	487,59±58,00 b	560,46±76,19 c
	PS (g)	47,24±8,22 a	69,58±9,16 bc	66,07±12,05 b	75,72±12,12 c
	MS (%)	14,00±0,93 a	14,46±1,36 a	13,48±1,31 a	13,56±1,55 a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

La aplicación del consorcio microbiano en los cultivos de topinambur y de yacón ocasionaron un mejor comportamiento vegetativo y mayor producción de tubérculos en condiciones de invernáculo y a partir de suelo estéril.

1.1.2. Experimentos con evaluación durante el ciclo de los cultivos:

La plantación del cultivo de topinambur se efectuó en invierno y se realizaron evaluaciones periódicas, a los 34, 41, 47 y 54 días de la implantación, mientras que en yacón las evaluaciones se llevaron a cabo a los 37, 64, 114, 161 y 217 días después de su implantación.

Altura de plantas: Las plantas de topinambur y yacón inoculadas con *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3) presentaron mayor altura (Tablas 13 y 14). Sin embargo, se registraron magnitudes muy por debajo a las observadas en estos cultivos a campo. Sin embargo, se obtuvieron plantas de yacón de mayor altura a las informadas por Giampaoli *et al.* (2014) en condiciones similares de cultivo.

Cantidad de tallos: En plantas de topinambur y yacón inoculadas, fundamentalmente, con la bacteria *A. brasilense* y con hongos micorrícicos nativos (T3) se observó el mayor número de tallos aéreos, registrándose diferencias con significancia estadística con respecto al tratamiento testigo (T0) en algunos momentos de su ciclo (Tablas 13 y 14).

Porcentaje de materia seca de tallos aéreos: Los mayores porcentajes de materia seca de tallos de topinambur y yacón se obtuvieron, de las plantas inoculadas con el consorcio conformado microbiano (T3), determinándose diferencias estadísticas significativas con respecto a los tratamientos testigo.

En ambos cultivos, los mayores valores de peso fresco (PF) de tallos se observaron en las plantas inoculadas (T1, T2 y T3) en distintos momentos de evaluación, estableciéndose diferencias estadísticamente significativas con respecto a las plantas testigo, semejante comportamiento se presentó con el peso seco (PS) de tallos (Tablas 13 y 14).

Tabla 13. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (altura, número, peso fresco, peso seco y materia seca de tallos) producidos en *Invernáculo con suelo estéril*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de topinambur			
		34	41	47	54
Testigo	Altura(cm)	20,67±3,21 a	27,00±1,00 a	32,00±1,00 a	33,50±1,50 a
	Nro.	1,00±0,00 a	2,00±0,00 a	2,00±1,00 a	2,50±0,50 b
	PF (g)	10,37±2,25 a	17,87±1,99 a	25,05±0,85 a	30,00±1,60 a
	PS (g)	2,57±0,50 a	4,40±0,44 a	6,10±0,20 a	7,35±0,45 a
	MS (%)	24,86±0,97 a	24,65±0,44 a	24,35±0,03 a	14,49±0,19 a
Azospirillum	Altura(cm)	23,33±2,08 ab	28,33±1,53 ab	35,00±1,00 b	37,50±0,50 b
	Nro.	1,00±0,00 a	1,67±0,58 a	2,50±0,50 a	1,00±0,00 a
	PF (g)	20,07±0,42 bc	20,97±5,30 a	27,25±5,65 a	30,45±0,25 a
	PS (g)	6,23±0,12 b	6,30±1,59 a	7,55±1,55 a	8,40±0,10 a
	MS (%)	31,06±0,16 ab	30,06±0,50 c	27,71±0,06 b	27,59±0,10 b
Micorrizas	Altura(cm)	25,33±1,53 b	31,33±2,08 b	36,50±0,50 b	37,50±1,50 b
	Nro.	1,00±0,00 a	2,00±1,00 a	2,50±0,50 a	2,00±0,00 b
	PF (g)	17,83±3,96 b	23,07±3,42 a	40,65±7,05 b	45,55±3,65 b
	PS (g)	5,30±1,15 ab	6,33±0,97 a	12,20±2,10 b	13,60±1,10 c
	MS (%)	29,74±0,16 ab	27,44±0,15 b	30,02±1,00 c	29,86±0,02 c
Azosp. +Mico.	Altura(cm)	26,67±1,53 b	29,00±2,65 ab	36,50±1,50 b	40,00±1,00 c
	Nro.	1,67±0,58 b	2,33±0,58 a	2,00±0,00 a	2,50±0,50 b
	PF (g)	26,47±5,46 c	20,77±3,17 a	33,10±2,80 ab	31,80±0,80 a
	PS (g)	9,63±3,40 c	6,43±1,01 a	10,30±0,90 b	9,85±0,25 b
	MS (%)	36,04±8,74 b	30,97±0,13 d	31,11±0,09 d	30,97±0,01 d

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P<0,05$.

Tabla 14. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (altura, número, peso fresco, peso seco y materia seca de tallos) producidos en *Invernáculo con suelo estéril*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		37	64	114	161	217
Testigo	Altura (cm)	3,33±0,58a	12,67±2,08 a	25,0±1,0 a	45,33±3,21a	61,67±4,93a
	Nro.	2,33±0,58a	2,33±0,58 a	3,33±0,58a	4,00±1,0 a	4,00±2,65a
	PF (g)	0,53±0,23a	1,10±0,44 a	3,35±0,51a	26,10±2,71a	35,47±1,29a
	PS (g)	0,08±0,02a	0,20±0,07 a	0,61±0,09a	4,76±0,5 a	6,46±0,23a
	MS (%)	16,08±3,13a	18,78±1,06a	18,22±0,06a	18,22±0,02 a	18,21±0,02a
Azospirillum	Altura (cm)	7,83±0,76b	18,67±2,08b	30,67±1,15b	60,50±7,09 b	84,00±5,29b
	Nro.	2,33±1,15a	2,33±1,15a	2,67±0,58a	5,00±1,0 a	4,00±1,0 a
	PF (g)	1,00±0,17b	1,73±0,4ab	17,03±5,94b	42,33±4,51 c	49,33±2,52b
	PS (g)	0,20±0,04b	0,35±0,08b	3,44±1,2 b	8,55±0,91 c	9,97±0,5 b
	MS (%)	19,78±0,38b	20,00±0,0ab	20,18±0,01b	20,20±0,01 b	20,20±0,01b
Micorrizas	Altura (cm)	6,50±1,50b	20,67±1,53b	34,83±1,61c	61,00±2,0 b	81,33±5,13b
	Nro.	2,33±0,58a	1,67±0,58a	3,00±1,0 a	3,00±1,0 a	4,33±0,58a
	PF (g)	1,00±0,26b	1,83±0,31b	12,50±1,18b	36,33±2,52 b	53,67±0,58c
	PS (g)	0,20±0,06b	0,38±0,08b	2,52±0,24b	7,34±0,51 b	10,84±0,12c
	MS (%)	19,63±0,64b	20,48±0,82b	20,19±0,03b	20,20±0,01 b	20,19±0,01b
Azosp. +Mico.	Altura (cm)	6,67±1,15b	20,33±1,04b	36,67±0,58c	64,83±1,26 b	82,00±4,36b
	Nro.	1,67±0,58a	2,33±0,58a	3,00±0,0 a	3,67±1,53 a	2,00±1,0 a
	PF (g)	0,97±0,06b	2,00±0,1 b	13,17±0,81b	40,33±2,08bc	54,67±1,53 c
	PS (g)	0,20±0,01b	0,44±0,03b	2,92±0,07b	8,55±0,44 c	12,14±0,31 d
	MS (%)	21,10±0,1 b	22,16±0,2 c	22,18±0,03c	21,20±0,02 c	22,20±0,06 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P<0,05$.

Índice de Área Foliar (IAF): A lo largo del ciclo de los cultivos de topinambur y yacón, en las plantas inoculadas se obtuvieron las mayores áreas foliares, determinándose diferencias con significancia estadística con respecto a las testigos (Tablas 15 y 16).

Tabla 15. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (índice de área foliar, peso fresco, peso seco y materia seca de hojas) producidos en *Invernáculo con suelo estéril*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de topinambur			
		34	41	47	54
Testigo	IAF(cm ²)	521,74±46,9 a	1015,53±109,9a	1431,06±16,8 a	1819,57±69,9 a
	PF (g)	9,33±0,84 a	18,17±1,97 a	25,60±0,30 a	32,55±1,25 a
	PS (g)	2,23±0,23 a	5,63±0,59 a	7,90±0,00 a	8,00±0,30 a
	MS (%)	23,91±0,34 a	31,02±0,13 d	30,86±0,36 c	24,58±0,02 a
Azospirillum	IAF(cm ²)	1257,8±206,9b	1369,57±258,2a	1576,40±301,9ab	1922,98±44,7 a
	PF (g)	22,50±3,70 b	24,50±4,62 a	28,20±5,40 ab	34,40±0,80 b
	PS (g)	7,03±1,22 a	6,73±1,29 a	7,80±1,50 a	9,50±0,20 b
	MS (%)	31,23±0,36 a	27,47±0,15 b	27,66±0,02 a	27,62±0,06 b
Micorrizas	IAF(cm ²)	1350,9±315,6b	1412,42±252 a	2364,60±357,8c	2736,34±287,9b
	PF (g)	24,17±5,64 b	25,27±4,51 a	42,30±6,40 c	48,95±5,15 b
	PS (g)	7,23±1,69 a	7,60±1,35 a	12,65±1,95 b	14,65±1,55 d
	MS (%)	29,93±0,03 a	30,08±0,05 c	29,90±0,09 b	29,93±0,02 c
Azosp. +Mico.	IAF(cm ²)	2168,9±355,9c	1339,75±310,4a	2012,42±162,1bc	1978,9±11,2 a
	PF (g)	38,80±6,37 c	23,97±5,55 a	36,00±2,90 bc	35,40±0,20 a
	PS (g)	6,97±5,61 a	5,87±1,40 a	11,20±0,90 b	11,05±0,05 c
	MS (%)	18,95±15,72 a	24,45±0,18 a	31,11±0,01 c	31,21±0,04 d

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 16. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (índice de área foliar, peso fresco, peso seco y materia seca de hojas) producidos en *Invernáculo con suelo estéril*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		37	64	114	161	217
Testigo	IAF(cm ²)	5,0±5,0 a	35,0±17,3 a	523,3±117,2a	1255,0±92,6 a	2415±384,4a
	PF (g)	0,30±0,1 a	0,70±0,35 a	10,47±2,34 a	25,10±1,85 a	48,30±7,69 a
	PS (g)	0,05±0,02a	0,12±0,06 a	1,81±0,41 a	4,85±0,36 a	8,43±1,20 a
	MS (%)	16,39±1,3a	17,8±0,49 a	17,32±0,04 a	19,32±0,01 b	17,49±0,36 a
Azospirillum	IAF(cm ²)	25,0±5,0 b	70,0±27,84b	738,3±40,7 b	1818,3±154,1bc	3271,7±276 ab
	PF (g)	0,50±0,1 b	1,40±0,56 b	14,77±0,81 b	36,37±3,08 bc	65,43±5,52ab
	PS (g)	0,10±0,02b	0,28±0,11 b	3,14±0,17 b	7,01±0,59 b	13,30±1,15 b
	MS (%)	20,0±0,0 b	20,0±0,0 b	21,29±0,03 b	19,29±0,03 b	20,32±0,05 b
Micorrizas	IAF(cm ²)	28,3±5,8 b	81,7±15,3 b	891,7±75,2 c	61,00±2,0 b	3686,7±380 b
	PF (g)	0,57±0,12b	1,63±0,31 b	17,83±1,50 c	3,00±1,0 b	73,73±7,6 b
	PS (g)	0,12±0,02b	0,32±0,06 b	3,80±0,32 c	36,33±2,52 c	15,0±1,5 bc
	MS (%)	20,7±1,2 b	19,63±0,32 b	21,31±0,03 b	7,34±0,51 c	20,35±0,05 b
Azosp. +Mico.	IAF(cm ²)	28,3±2,9 b	90,0±5,0 b	960,0±39,7 c	2045,0±87,2 c	3903,3±816,5b
	PF (g)	0,57±0,06b	1,80±0,1 b	19,20±0,79 c	40,90±1,74 c	78,07±16,33b
	PS (g)	0,12±0,02b	0,39±0,02 b	3,32±0,15bc	7,07±0,32 bc	18,22±3,83 c
	MS (%)	20,6±0,9 b	21,67±0,09 c	17,27±0,06 a	17,28±0,06 a	23,34±0,03 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Porcentaje de materia seca de hojas: En ambos cultivos, se registraron diferencias significativas entre los tratamientos. Por lo general, los mayores porcentajes se observaron en los tratamientos de inoculación con el consorcio microbiano (T3), variando este comportamiento en el transcurso de los experimentos, de esta variable como de sus asociadas (PF y PS), siendo más estables en el cultivo de yacón (Tablas 15 y 16).

Número de tubérculos por planta: En todas las variables relacionadas a la producción de tubérculos de topinambur y yacón, se obtuvieron los mejores resultados con la inoculación microbiana, registrándose diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos de coinoculación (T3) en comparación a los testigos (T0), fundamentalmente (Tablas 17 y 18). Se observó que plantas de topinambur inoculadas iniciaron la tuberización 7 días antes que las testigos.

Tabla 17. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco, materia seca, cantidad, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en *Invernáculo con suelo estéril*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de topinambur			
		34	41	47	54
Testigo	PF (g)	0,00±0,00 a	1,69±0,64 a	2,25±0,97 a	2,99±0,56 b
	PS (g)	0,00±0,00 a	0,33±0,13 a	0,44±0,19 a	0,58±0,11 a
	MS (%)	0,00±0,00 a	19,64±0,17 a	19,41±0,11 a	19,42±0,08 a
	Nro.	0,00±0,00 a	1,00±0,00 a	2,00±1,00 a	1,50±0,50 a
	P.Medio (g)	0,00±0,00 a	1,69±0,64ab	1,16±0,11 a	2,06±0,34 b
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	0,00±0,00 a	34,56±13,00a	45,82±19,69a	60,92±11,33b
Azospirillum	PF (g)	1,70±1,07 ab	2,63±0,96 a	2,22±0,46 a	4,03±0,26 c
	PS (g)	0,39±0,25 ab	0,61±0,22 a	0,52±0,11 a	1,00±0,11 b
	MS (%)	22,72±0,45 c	23,08±0,12 c	23,26±0,04 c	24,68±1,05 c
	Nro.	1,67±0,58 b	2,00±1,00ab	1,50±0,50 a	3,00±0,00 b
	P.Medio (g)	1,01±0,44 b	1,39±0,27 a	1,52±0,22ab	1,34±0,09 a
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	34,63±21,87ab	53,61±19,59a	45,20±9,29 a	82,14±5,20 c
Micorrizas	PF (g)	3,04±1,11 b	3,17±1,10 a	2,35±0,22 a	2,06±0,28 a
	PS (g)	0,64±0,23 b	0,67±0,23 a	0,50±0,05 a	0,43±0,06 a
	MS (%)	20,97±0,12 b	21,05±0,02 b	21,11±0,02 b	20,91±0,12 b
	Nro.	1,67±0,58 b	1,67±0,58ab	1,50±0,50 a	1,00±0,00 a
	P.Medio (g)	1,85±0,36 c	1,94±0,36ab	1,66±0,43 b	2,06±0,28 b
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	61,97±22,60b	64,63±22,36a	47,86±4,39 a	41,94±5,61 a
Azosp. +Mico.	PF (g)	2,77±1,35 b	5,50±1,16 b	4,13±1,11 b	3,92±0,04 c
	PS (g)	0,70±0,35 b	1,41±0,30 b	1,06±0,29 b	1,08±0,03 b
	MS (%)	25,24±0,19 d	25,56±0,03 d	25,56±0,06 d	27,43±0,92 d
	Nro.	2,00±1,00 b	2,33±0,58 b	2,50±0,50 a	2,50±0,50 b
	P.Medio (g)	1,46±0,41bc	2,37±0,08 b	1,63±0,12ab	1,61±0,31ab
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	56,46±27,56b	112,31±23,65b	84,18±22,55b	80,00±0,82 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Porcentaje de materia seca de los tubérculos: El mayor porcentaje de materia seca se determinó en los tubérculos de topinambur y yacón procedentes de los tratamientos inoculados, estableciendo diferencias con significancia estadística con respecto a los testigos (T0) (Tablas 17 y 18).

Peso promedio de los tubérculos: Los tubérculos de topinambur y yacón de mayor peso promedio se observaron en los tratamientos inoculados, principalmente en T2, registrándose diferencias estadísticas significativas con respecto a los tratamientos testigo (T0) (Tablas 17 y 18).

Tabla 18. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco, materia seca, cantidad, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en *Invernáculo con suelo estéril*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de yacón			
		64	114	161	217
Testigo	PF (g)	0,00±0,00a	15,83±6,1 a	49,20±13,2 a	88,33±7,07 a
	PS (g)	0,00±0,00a	3,27±1,29 a	10,57±2,16 a	19,35±1,26 a
	MS (%)	0,00±0,00a	20,58±0,21 a	21,80±1,74 a	21,84±1,73 a
	Nro.	0,00±0,00a	1,67±0,58 b	2,33±0,58 a	2,67±1,53 a
	P.Medio (g)	0,00±0,00a	11,68±9,49 a	21,34±5,40 a	46,38±34,7 a
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	0,00±0,00a	0,323±0,124a	1,004±0,270a	1,813±0,144a
Azospirillum	PF (g)	0,00±0,00a	29,53±4,2 ab	71,43±10,3 b	123,57±19,64b
	PS (g)	0,00±0,00a	7,03±1,01 b	17,02±2,48 b	29,47±4,71 b
	MS (%)	0,00±0,00a	23,81±0,05 b	23,82±0,01 a	23,85±0,03 b
	Nro.	0,00±0,00a	1,00±0,0 a	2,33±1,15 a	2,33±0,58 a
	P.Medio (g)	0,00±0,00a	29,53±4,19 b	41,94±34,39a	55,32±17,09a
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	0,00±0,00a	0,603±0,085ab	1,458±0,211b	2,522±0,401b
Micorrizas	PF (g)	0,00±0,00a	24,20±11,1ab	78,77±9,1 b	134,67±21,87b
	PS (g)	0,00±0,00a	5,77±2,64ab	18,78±2,16 b	32,10±5,21 b
	MS (%)	0,00±0,00a	23,86±0,08 b	23,85±0,02 a	23,83±0,003b
	Nro.	0,00±0,00a	2,00±0,0 b	2,99±1,00 a	2,67±1,15 a
	P.Medio (g)	0,00±0,00a	12,1±5,55 a	49,97±32,77a	56,78±24,09a
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	0,00±0,00a	0,494±0,227ab	1,608±0,186b	2,748±0,446b
Azosp. +Mico.	PF (g)	0,00±0,00a	34,53±7,02 b	79,60±2,8 b	131,37±20,26b
	PS (g)	0,00±0,00a	7,83±1,55 b	18,17±1,66b	31,34±4,84 b
	MS (%)	0,00±0,00a	22,77±1,76 b	22,81±1,71 a	23,85±0,02 b
	Nro.	0,00±0,00a	1,33±0,58ab	2,67±0,58 a	2,67±0,58 a
	P.Medio (g)	0,00±0,00a	27,95±9,01 b	30,83±6,85 a	52,33±21,36a
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	0,00±0,00a	0,705±0,143b	1,625±0,056b	2,681±0,414b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Rendimiento (kg ó t de tubérculos por ha⁻¹): Los mayores rendimientos de tubérculos de topinambur se lograron con la coinoculación de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3), estimándose rendimientos promedio de casi 410 kg.ha⁻¹, con un máximo de 718 kg.ha⁻¹ de tubérculos de topinambur (Tabla 17). Mientras que en yacón,

los mayores rendimientos se lograron con los tratamientos T2 y T3, calculándose un promedio de 2,7 t.ha⁻¹ y un máximo de 3,1 t.ha⁻¹ de tubérculos de yacón (Tabla 18). Magnitudes muy inferiores a las obtenidas en los ensayos de campo, pero similares a las estimadas en los experimentos anteriores.

Porcentaje de materia seca de raíces: El mayor porcentaje de materia seca de raíces de topinambur y de yacón se obtuvo con el tratamiento de coinoculación microbiana (T3), mientras el menor porcentaje de materia seca de raíces se registró en las plantas testigo (T0), y con diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (Tablas 19 y 20). Resultados coincidentes a los obtenidos en el experimento anteriores.

Tabla 19. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en *Invernáculo con suelo estéril*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de topinambur			
		34	41	47	54
Testigo	PF (g)	8,83±0,81 a	12,93±0,51 a	16,45±1,05 a	24,00±4,60 ab
	PS (g)	1,16±0,07 a	1,73±0,06 a	2,20±0,10 a	3,25±0,65 a
	MS (%)	13,16±0,46 a	13,40±0,17 a	13,38±0,25 a	13,53±0,12 a
Azospirillum	PF (g)	15,30±1,90 a	14,03±3,25 a	20,50±2,00 ab	21,75±1,15 a
	PS (g)	3,37±0,42 b	3,07±0,74 b	4,55±0,45 b	4,80±0,30 b
	MS (%)	22,01±0,13 c	21,83±0,18 c	22,19±0,03 c	22,06±0,21 c
Micorrizas	PF (g)	12,80±4,97 a	17,47±1,04 a	23,55±2,95 bc	28,40±2,70 b
	PS (g)	2,17±0,81 ab	3,00±0,17 b	4,00±0,50 b	4,85±0,45 b
	MS (%)	16,97±0,20 b	17,18±0,24 b	16,99±0,046 b	17,08±0,04 b
Azosp. +Mico.	PF (g)	23,00±5,25 b	16,37±3,56 a	27,00±3,40 c	27,65±0,75 b
	PS (g)	6,37±1,46 c	4,50±0,96 c	7,45±0,95 c	7,60±0,20 c
	MS (%)	27,67±0,08 d	27,51±0,13 d	27,59±0,04 d	27,49±0,02 d

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 20. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en *Invernáculo con suelo estéril*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		37	64	114	161	217
Testigo	PF (g)	0,17±0,12 a	1,33±0,12a	10,90±2,66 a	75,33±7,60 a	108,4±48,8 a
	PS (g)	0,03±0,02 a	0,25±0,02a	2,09±0,51 a	14,45±1,46 a	20,80±9,36 a
	MS (%)	19,7±0,58 a	19,0±0,4 a	19,15±0,05 a	19,19±0,02 a	19,17±0,01 a
Azospirillum	PF (g)	0,40±0,17ab	4,80±1,71b	31,50±9,07 b	99,67±26,9 a	160,4±40,07ab
	PS (g)	0,09±0,04ab	1,01±0,37b	7,01±2,02 b	22,10±5,99 a	35,62±8,88 b
	MS (%)	21,3±1,20 b	21,1±0,4 b	22,24±0,04bc	22,17±0,01 b	22,21±0,01 b
Micorrizas	PF (g)	0,47±0,21ab	4,73±1,59b	36,27±11,9 b	93,27±27,0 a	143,3±4,53ab
	PS (g)	0,11±0,05 b	1,00±0,33b	8,03±2,64 b	20,70±6,0 a	31,82±1,01ab
	MS (%)	22,9±0,42 c	21,2±0,2 b	22,15±0,05 b	22,19±0,02bc	22,20±0,006b
Azosp. +Mico.	PF (g)	0,63±0,15 b	7,63±2,24b	35,23±9,27 b	106,9±24,8 a	194,2±11,05b
	PS (g)	0,14±0,04 b	1,62±0,48b	7,85±2,04 b	23,75±5,52 a	43,37±2,20 b
	MS (%)	22,1±0,4 bc	21,2±0,05b	22,28±0,07 c	22,21±0,003c	22,34±0,23 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Porcentaje de materia seca de propágulos: El mayor porcentaje de materia seca de propágulos de yacón se obtuvo con la inoculación microbiana, fundamentalmente con los tratamientos T1 y T3, estableciéndose diferencias estadísticas significativas con respecto a los testigos (Tabla 21).

Tabla 21. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de propágulos) producidos en *Invernáculo con suelo estéril*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		37	64	114	161	217
Testigo	PF (g)	0,00±0,00a	0,00±0,00a	8,63±1,66 a	32,03±14,9 a	117,1±8,65 a
	PS (g)	0,00±0,00a	0,00±0,00a	1,87±0,35 a	6,82±3,20 a	24,85±1,84 a
	MS (%)	0,00±0,00a	0,00±0,00a	21,63±0,09 a	21,26±0,07 a	21,22±0,03 a
Azospirillum	PF (g)	0,00±0,00a	0,00±0,00a	18,23±4,01 b	73,33±12,4 b	182,9±16,3 b
	PS (g)	0,00±0,00a	0,00±0,00a	4,25±0,93 b	17,74±3,03 b	42,45±3,77 b
	MS (%)	0,00±0,00a	0,00±0,00a	23,32±0,07 b	24,18±0,04 b	23,21±0,01 b
Micorrizas	PF (g)	0,00±0,00a	0,00±0,00a	21,57±7,29 b	71,43±15,9 b	176,3±20,9 b
	PS (g)	0,00±0,00a	0,00±0,00a	5,00±1,68 b	17,30±3,86 b	40,88±4,83 b
	MS (%)	0,00±0,00a	0,00±0,00a	23,20±0,14 b	24,22±0,01 b	23,19±0,01 b
Azosp. +Mico.	PF (g)	0,00±0,00a	0,00±0,00a	21,33±4,53 b	88,83±17,6 b	182,2±11,7 b
	PS (g)	0,00±0,00a	0,00±0,00a	4,93±1,03 b	21,50±4,26 b	42,25±2,73 b
	MS (%)	0,00±0,00a	0,00±0,00a	23,14±0,16 b	24,20±0,01 b	23,19±0,02 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Las evaluaciones de plantas completas de topinambur y yacón, mostraron un mayor crecimiento las procedentes de los tratamientos con inoculación de los microorganismos en estudio, registrándose diferencias estadísticamente significativas con respecto a las plantas de los tratamientos testigo (Tablas 22 y 23). Estos resultados son coincidentes a los observados en los experimentos anteriores.

Tabla 22. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de planta completa) producidos en *Invernáculo con suelo estéril*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de topinambur			
		34	41	47	54
Testigo	PF (g)	28,53±3,16 a	50,66±4,15 a	69,35±1,07 a	89,54±8,01 a
	PS (g)	5,96±0,60 a	12,10±1,02 a	16,64±0,29 a	19,18±1,51 a
	MS (%)	20,91±0,30 a	23,88±0,13 a	23,99±0,04 a	21,44±0,23 a
Azospirillum	PF (g)	52,76±7,32 b	62,13±12,96 a	78,17±13,51 a	90,63±2,46 a
	PS (g)	17,02±1,83 b	16,71±3,53 ab	20,42±3,61 a	23,70±0,71 b
	MS (%)	32,85±7,33 b	26,88±0,06 c	26,11±0,10 b	26,14±0,07 b
Micorrizas	PF (g)	57,84±13,70b	68,97±9,66 a	108,85±16,19b	124,96±11,78 b
	PS (g)	15,34±3,48 b	17,60±2,62 b	29,35±4,51 b	33,53±3,16 d
	MS (%)	26,56±0,28 ab	25,50±0,22 b	26,95±0,13 c	26,83±0,0027c
Azosp. +Mico.	PF (g)	91,03±15,69 c	66,60±10,27 a	100,23±3,41 b	98,77±0,11 a
	PS (g)	23,67±4,09 c	18,21±2,81 b	30,01±1,14 b	29,58±0,03 c
	MS (%)	26,27±4,26 ab	27,34±0,05 d	29,94±0,12 d	29,94±0,01 d

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 23. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de planta completa) producidos en *Invernáculo con suelo estéril*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		37	64	114	161	217
Testigo	PF (g)	1,00±0,44 a	3,13±0,67 a	57,8±14,5 a	239,8±26,5 a	515,3±30,2 a
	PS (g)	0,18±0,08 a	0,58±0,12 a	9,64±2,56 a	41,44±2,94 a	79,88±5,65 a
	MS (%)	18,1±0,09 a	18,5±0,17 a	16,6±0,24 a	17,3±0,67 a	15,5±0,28 a
<i>Azospirillum</i>	PF (g)	1,90±0,44 b	7,93±2,62 b	129,3±9,2 b	396,5±34,6 b	764,6±27,7 b
	PS (g)	0,38±0,09 b	1,64±0,54 b	24,85±1,61 b	72,47±6,09 b	130,7±7,74 b
	MS (%)	20,1±0,11 b	20,7±0,04 b	19,23±0,54 b	18,28±0,37 b	17,1±0,55 b
Micorrizas	PF (g)	2,03±0,59 b	8,20±1,18bc	133,9±19,5 b	387,2±50,1 b	757,9±66,4 b
	PS (g)	0,41±0,12 b	1,70±0,25 b	25,15±3,8 b	72,11±8,3 b	130,6±10,7 b
	MS (%)	20,1±0,10 b	20,7±0,16 b	18,78±0,94 b	18,65±0,4 b	17,24±0,14 b
<i>Azosp.</i> +Mico.	PF (g)	2,17±0,25 b	11,4±2,04 c	144,8±15,9 b	445,4±57,6 b	822,7±15,5 b
	PS (g)	0,46±0,05 b	2,45±0,43 c	26,9±3,27 b	79,04±9,01 b	147,0±1,0 c
	MS (%)	21,3±0,05 c	21,5±0,06 c	18,6±0,93 b	17,8±0,4 ab	17,9±0,22 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Los resultados indican que la combinación de *A. brasilense* y hongos micorrícicos nativos promueven el crecimiento de plantas de topinambur y de yacón. Por lo cual, la aplicación del consorcio microbiano seleccionado en el momento de la implantación de estos cultivos tiene un efecto positivo, mejorando el crecimiento de la planta y la producción de tubérculos en condiciones de cultivo en invernáculo, iniciando la implantación en contenedores con suelo estéril.

1.2. Bioensayos en invernáculo con suelo sin esterilizar.

1.2.1. Experimentos con evaluación al final del ciclo de los cultivos:

Se efectuaron dos experimentos por cultivo. La extracción y evaluación del Experimento I del cultivo de topinambur se realizó a los 7 meses de su plantación, mientras que el Experimento II a los 3 meses. Los experimentos de yacón se colectaron y evaluaron a los 7 meses.

Altura de plantas: se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de todos los experimentos. Las plantas inoculadas con *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3) presentaron mayor altura durante todo el ciclo del cultivo (Tablas 24 y 25). Se registraron magnitudes muy por debajo a las observadas en estos cultivos a campo.

Cantidad de tallos: En los tratamientos inoculados (T1, T2 y T3) se observaron la mayor cantidad de tallos aéreos, sólo registrándose diferencias significativas con respecto al tratamiento testigo (T0) en algunos experimentos (Tablas 24 y 25).

Porcentaje de materia seca de tallos aéreos: Se obtuvieron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, los mayores porcentajes de materia seca de tallos se observaron con mayor frecuencia en los tratamientos con inoculación de hongos micorrícicos solamente (T2) (Tablas 24 y 25). Los mayores valores de peso fresco (PF) y peso seco (PS) de tallos se observaron en las plantas inoculadas (T1, T2 y T3), sin embargo, se registraron diferencias estadísticamente significativas con respecto a las plantas testigo, en tres experimentos (Tablas 24 y 25).

Tabla 24. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (número, peso fresco, peso seco, materia seca y altura de tallos) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*. (Experimento I:7 meses de plantación; Experimento II:3 meses de plantación).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.</i> +Mico.
Topinambur Experimento I	Nro.	2,00±1,05 a	5,30±2,67 c	4,90±1,60 bc	3,60±1,07 b
	PF (g)	34,84±5,84 a	44,66±17,67 a	45,49±12,97 a	42,10±21,66 a
	PS (g)	18,89±3,24 a	21,23±9,06 a	22,69±6,33 a	19,52±11,83 a
	MS (%)	54,21±1,84 b	46,47±8,39 a	50,49±6,35 ab	47,11±13,07ab
	Altura.(cm)	42,00±5,42 a	69,00±18,09 b	68,30±18,89 b	78,30±8,99 b
Topinambur Experimento II	Nro.	3,00±1,0 a	3,00±1,00 a	3,30±0,5 a	3,60±1,5 a
	PF (g)	19,00±1,0 a	21,93±0,04 ab	26,30±1,30 b	32,9±5,5 c
	PS (g)	6,8±0,5 a	7,96±0,01 ab	9,5±0,4 b	12,3±2,0 c
	MS (%)	36,1±2,5 a	36,32±0,70 a	36,1±0,1 b	37,5±0,6 a
	Altura.(cm)	64,00±4,5 a	67,00±2,00 ab	68,60±2,5 ab	72,6±2,5 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P<0,05$.

Tabla 25. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (número, peso fresco, peso seco, materia seca y altura de tallos) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*. (Experimento I y II: 7 meses de plantación).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.</i> +Mico.
Yacón Experimento I	Nro.	1,50±0,53 a	1,80±0,63 a	2,00±0,82 a	2,10±0,74 a
	PF (g)	58,34±5,33 a	75,16±5,17 c	66,20±6,83 b	95,46±7,46 d
	PS (g)	28,04±5,31 a	43,11±7,87 b	40,91±8,51 b	44,37±12,18 b
	MS (%)	48,35±9,38 a	57,80±12,66 ab	62,79±16,62 b	46,98±14,61 a
	Altura.(cm)	62,40±3,66 a	77,90±5,61 c	71,00±4,19 b	96,00±6,68 d
Yacón Experimento II	Nro.	1,33±0,52 a	1,50±0,55 a	1,83±0,75 ab	2,33±0,82 b
	PF (g)	58,22±6,73 a	77,92±4,12 c	68,47±7,31 b	98,93±6,84 d
	PS (g)	26,88±5,90 a	41,08±3,99 b	40,68±9,64 b	42,27±8,37 b
	MS (%)	46,39±9,30 a	52,83±5,39 a	60,26±17,60 b	43,10±10,36 a
	Altura.(cm)	60,00±2,37 a	80,67±4,55 c	71,83±0,52 b	98,33±6,56 d

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P<0,05$.

Número de tubérculos por planta: La cantidad de tubérculos por planta es mayor en los tratamientos inoculados, sin embargo, sólo se registraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos T3 y T0 en uno de los experimentos (Tabla 26 y 27). Se observó en ambos cultivos, que la cantidad máxima de tubérculos por plantas cultivada en macetas están muy por debajo a las obtenidas en los experimentos a campo. Se debe a las limitaciones del volumen de suelo contenido en las macetas, por lo cual las plantas tienen menor disponibilidad de nutrientes y no alcanzarían el tamaño como si se cultivase en campo.

Peso de tubérculos por planta: Los mayores pesos de tubérculos por planta de topinambur y yacón se obtuvieron en los tratamientos con la inoculación del consorcio de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3), donde se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de coinoculación microbiana (T3) y los tratamientos testigos (T0) (Tabla 26 y 27).

Porcentaje de materia seca de los tubérculos: En ambos cultivos se determinó un mayor porcentaje de materia seca en los tubérculos de los tratamientos inoculados, fundamentalmente con la coinoculación del consorcio microbiano (T3), observándose diferencias estadísticamente significativas con respecto a los controles (T0) (Tabla 26 y 27).

Peso promedio de los tubérculos: Los tubérculos de mayor tamaño, con peso promedio más alto se observaron en los tratamientos inoculados, registrándose diferencias estadísticas significativas con respecto al tratamiento testigo (T0) (Tabla 26 y 27). En topinambur se obtuvieron tubérculos muy pequeños que podrían emplearse como “semilla” ya que lograron la maduración fisiológica y pueden generar una nueva planta.

Rendimiento (kg ó t de tubérculos por ha⁻¹): En ambos cultivos, los mayores rendimientos se lograron con la inoculación del consorcio microbiano integrado por *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3) (Tabla 26 y 27). Sin embargo, se lograron rendimientos muy inferiores a los obtenidos en los ensayos de campo.

Índice de Área Foliar (IAF): En las plantas de topinambur y yacón procedentes de los tratamientos inoculados se determinaron los mayores IAF, estableciéndose diferencias estadísticamente significativas a favor de los tratamientos inoculados en comparación a los testigos (Tablas 28 y 29). Sin embargo, en sólo un experimento de topinambur no se registró la significancia estadística de los resultados de IAF.

Tabla 26. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (número, peso fresco, peso seco, materia seca, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*. (Experimento I: 7 meses de plantación; Experimento II: 3 meses de plantación).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.+Mico.</i>
Topinambur Experimento I	Nro.	2,3±1,2 a	5,1±4,6 b	3,7±2,0 ab	5,3±2,4 b
	PF (g)	4,19±2,7 a	44,48±59,7 b	30,79±41,8ab	41,76±42,3 ab
	PS (g)	0,78±0,5 a	10,24±14,0 ab	5,85±8,3 ab	9,18±10,4 ab
	MS (%)	18,71±1,1 a	24,10±14 a	18,86±2,1 a	20,95±2,5 a
	PM (g)	1,90±0,5 a	5,27±4,5 ab	5,93±6,4 ab	6,41±4,9 b
	Rdto.(Kg.ha ⁻¹)	85,45±56,4 a	907,79±1219,7b	628,28±854,1b	852,28±864,0 b
Topinambur Experimento II	Nro.	3,0±1,0 a	4,60±0,5 a	3,00±1,0 a	3,3±2,0 a
	PF (g)	7,0±1,2 a	15,7±0,3 b	8,5±2,0 a	9,5±5,7 a
	PS (g)	1,4±0,2 a	3,4±0,1 b	1,8±0,4 a	2,0±1,3 a
	MS (%)	18,6±4,8 a	18,5±6,7 b	29,9±21,1 b	41,2±53,4 a
	PM (g)	2,4±0,4 a	3,4±0,5 b	2,9±0,3 ab	2,9±0,1 ab
	Rdto.(Kg.ha ⁻¹)	143,5±25,8 a	321,0±7,1 b	173,4±40,9 a	194,5±118,0 a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 27. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (número, peso fresco, peso seco, materia seca, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*. (Experimento I y II: 7 meses de plantación).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.+Mico.</i>
Yacón Experimento I	Nro.	1,40±0,52 a	1,50±0,53 a	1,80±0,63 a	1,70±0,48 a
	PF (g)	32,01±8,83 a	73,17±25,17 b	96,66±20,01b	126,58±52,83 c
	PS (g)	6,66±1,84 a	16,32±5,61 b	21,46±4,44 b	29,09±12,14 c
	MS (%)	20,80±0,01 a	22,30±0,01 c	22,20±0,043 b	22,98±0,029d
	PM (g)	25,50±9,75 a	52,09±17,13 b	63,22±34,21bc	80,36±39,45c
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	0,653±0,18 a	1,493±0,513 b	1,973±0,408 b	2,583±1,078 c
Yacón Experimento II	Nro.	1,50±0,55 a	1,67±0,52 a	1,67±0,52 a	1,67±0,52 a
	PF (g)	32,48±11,34a	83,47±26,98 b	101,77±25,22 bc	141,82±64,58 c
	PS (g)	6,76±2,36 a	18,62±6,02 b	22,60±5,60 bc	32,58±14,84 c
	MS (%)	20,79±0,01a	22,31±0,029 c	22,20±0,033 b	22,97±0,04 d
	PM (g)	24,25±10,94 a	53,36±18,01 ab	70,76±39,18 b	91,83±46,72 b
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	0,663±0,232 a	1,704±0,551 b	2,077±0,515 bc	2,895±1,318 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Peso Fresco de hojas por planta: La mayor producción de masa foliar se observó en las plantas de topinambur y yacón provenientes de los tratamientos inoculados estableciéndose diferencias estadísticamente significativas a favor de los tratamientos inoculados en comparación a los testigos (Tablas 28 y 29). Pero, sólo en un experimento de topinambur no se registró significancia estadística.

Tabla 28. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (índice de área foliar, peso fresco, peso seco y materia seca de hojas y raíces) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*. (Experimento I: 7 meses de plantación; Experimento II: 3 meses de plantación).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.+Mico.</i>
Topinambur Experimento I	<i>IAF</i> (cm ²)	2211,99±311,72 a	2597,20±904,72 a	2860,10±1033,5a	2493,06±1335,36 a
	<i>PF</i> _{hoja} (g)	39,57±5,58 a	46,46±16,36 a	51,06±18,49 a	44,60±23,89 a
	<i>PS</i> _{hoja} (g)	20,49±3,44 a	21,65±8,78 a	28,91±12,25 a	23,07±12,73 a
	<i>MS</i> _{hoja} (%)	51,65±2,49 ab	45,37±6,48 a	57,11±14,63 b	51,26±5,07 ab
	<i>PF</i> _{raíz} (g)	27,16±3,89 a	30,19±11,31 a	31,95±9,22 a	31,13±16,00 a
	<i>PS</i> _{raíz} (g)	13,53±1,83 a	14,04±7,48 a	15,63±5,20 a	14,57±9,95 a
	<i>MS</i> _{raíz} (%)	49,91±2,62 a	41,54±15,66 a	49,33±8,28 a	42,21±16,94 a
Topinambur Experimento II	<i>IAF</i> (cm ²)	1149,6±31,7 a	1142,2±16,1 a	1727,3±176,6 b	1997,5±236,6 b
	<i>PF</i> _{hoja} (g)	20,5±0,5 a	20,4±0,2 a	30,9±3,1 b	35,7±4,2 b
	<i>PS</i> _{hoja} (g)	7,5±0,3 a	7,6±0,3 a	10,7±1,2 b	12,1±1,6 b
	<i>MS</i> _{hoja} (%)	36,4±0,8 a	37,3±0,9 b	34,6±1,0 a	33,8±0,9 a
	<i>PF</i> _{raíz} (g)	6,73±0,45 a	7,17±0,31 ab	7,43±0,4 ab	7,77±0,31 b
	<i>PS</i> _{raíz} (g)	1,83±0,16 a	2,28±0,1 b	2,27±0,07 b	2,27±0,06 b
	<i>MS</i> _{raíz} (%)	27,21±0,8 a	31,75±0,1 d	30,55±0,7 c	29,21±0,5 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 29. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (índice de área foliar, peso fresco, peso seco y materia seca de hojas, propágulos y raíces) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*. (Experimento I y II: 7 meses de plantación).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.+Mico.</i>
Yacón Experimento I	<i>IAF</i> (cm ²)	2777,00±293,02 a	3463,50±284,04 b	3299,00±291,89b	4706,50±362,94 c
	<i>PF</i> _{hoja} (g)	55,54±5,86 a	69,27±5,68 b	65,98±5,84 b	94,13±7,26 c
	<i>PS</i> _{hoja} (g)	9,61±1,01 a	12,88±1,06 b	12,21±1,08 b	17,88±1,38 c
	<i>MS</i> _{hoja} (%)	17,30±0,0047 a	18,60±0,044 c	18,50±0,0034b	18,99±0,018d
	<i>PF</i> _{rz+pr} (g)	154,08±29,19 a	220,98±39,99 b	206,63±43,01 b	219,62±60,28 b
	<i>PS</i> _{rz+pr} (g)	29,58±5,61 a	47,94±8,68 b	44,74±9,31 b	51,39±14,11 b
	<i>MS</i> _{rz+pr} (%)	19,20±0,017 a	21,69±0,02 c	21,65±0,019 b	23,40±0,013 d
Yacón Experimento II	<i>IAF</i> (cm ²)	2783,33±381,85 a	3585,0±172,08 b	3369,17±344,77 b	4845,0±325,67 c
	<i>PF</i> _{hoja} (g)	55,67±7,64 a	71,7±3,44 b	67,38±6,90 b	96,90±6,31 c
	<i>PS</i> _{hoja} (g)	9,63±1,32 a	13,34±0,64 b	12,47±1,27 b	18,42±1,2c
	<i>MS</i> _{hoja} (%)	17,30±0,01 a	18,60±0,044 c	18,51±0,047 b	19,00±0,03 d
	<i>PF</i> _{rz+pr} (g)	147,67±32,43 a	209,60±20,33 b	205,47±48,68 b	209,25±41,44 b
	<i>PS</i> _{rz+pr} (g)	28,36±6,23 a	54,49±4,41 b	44,49±10,54 b	48,97±9,69 b
	<i>MS</i> _{rz+pr} (%)	19,20±0,019 a	21,70±0,001c	21,65±0,013 b	23,40±0,028 d

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Porcentaje de materia seca de hojas: En las plantas de topinambur procedentes de los tratamientos T1 y T2 se obtuvieron los mayores porcentajes de materia seca (Tabla

30). Mientras, en el cultivo de yacón, los mayores valores de materia seca foliar se observaron en el tratamiento de coinoculación con el consorcio microbiano (T3) (Tabla 31).

Porcentaje de materia seca de raíces: Las mayores biomásas de raíces se obtuvieron en las plantas inoculadas, registrándose diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos en todos los experimentos. Con respecto al porcentaje de materia seca de raíces, solo en un experimento de topinambur no se lograron diferencias con significancia estadística (Tabla 30). En el cultivo de yacón, los mayores valores de materia seca de propágulos y raíces se observaron en el tratamiento de inoculación con el consorcio microbiano (T3) (Tabla 31). Resultados que evidencian la actividad promotora del crecimiento de raíces, de los microorganismos en estudio.

En ambos cultivos, la evaluación de la planta completa durante el desarrollo en maceta mostró un mayor crecimiento de las plantas inoculadas, observándose diferencias estadísticamente significativas con respecto a las plantas testigo en las variables porcentaje de materia seca, biomasa fresca y seca (Tablas 30 y 31).

Sin embargo, en uno de los experimentos de topinambur se determinó que el mayor porcentaje de materia seca se observó en el tratamiento testigo (T0), con diferencias estadísticamente significativas con respecto a los restantes tratamientos (Tabla 30).

En síntesis, con la aplicación del consorcio microbiano a los cultivos de topinambur y de yacón, se obtuvo un mejor comportamiento vegetativo y mayor producción de tubérculos en condiciones de cultivo en invernáculo.

Tabla 30. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y masa seca de plantas enteras) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*. (Experimento I: 7 meses de plantación; Experimento II: 3 meses de plantación).

Variable	Tratamientos				
	Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.</i> +Mico.	
Topi. Exp. I	PF (g)	105,76±14,13 a	165,80±65,66 b	153,43±35,83 b	159,59±42,55 b
	PS (g)	53,69±7,63 a	67,16±22,66ab	73,08±14,92 b	66,34±27,28ab
	MS (%)	50,73±1,30 b	41,76±10,75ab	49,69±15,14ab	40,21±9,63 a
Topi. Exp. II	PF (g)	53,33±1,29 a	65,27±0,91 a	55,47±10,5 a	86,00±12,4 b
	PS (g)	17,60±0,95 a	21,33±0,2 ab	24,37±1,67 b	28,83±4,1 c
	MS (%)	32,99±0,9 a	32,68±0,2 a	45,28±10,5 b	33,54±0,6 a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 31. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y masa seca de plantas enteras) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*. (Experimento I y II: 7 meses de plantación).

	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.+Mico.</i>
Yacón Exp. I	PF (g)	299,97±39,36 a	430,16±56,06 b	424,15±49,76 b	527,32±88,95c
	PS (g)	73,89±12,44 a	120,05±17,11 b	119,31±17,43 b	142,72±27,51 c
	MS (%)	24,55±1,20 a	27,95±2,27 b	28,15±2,91 b	27,08±2,73 b
Yacón Exp. II	PF (g)	294,03±49,39 a	430,32±56,33 b	443,08±55,60 b	546,90±81,97 c
	PS (g)	71,61±14,71 a	118,51±11,55 b	120,22±19,89 b	142,22±23,73 c
	MS (%)	24,27±1,15 a	27,73±2,66 b	27,05±1,90 b	25,98±1,69 ab

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

1.2.2. Experimentos con evaluación durante el ciclo de los cultivos:

La implantación de los cultivos se efectuó en plena primavera en macetas. Los cultivos se desarrollaron en invernáculo y se realizaron evaluaciones periódicas. En topinambur las evaluaciones se realizaron a los 34, 41, 48, 55 y 62 días después de su implantación. Mientras que en yacón a los 40, 73, 136, 171 y 192 días. La extracción de los ensayos se realizó en el momento que los cultivos entraron en un período de cese del crecimiento vegetativo, donde las plantas se secaron, se tornaron marrones y quebradizas.

Altura de plantas: Las plantas de topinambur y yacón provenientes de los tratamientos inoculados presentaron mayor altura durante todo el período de evaluación que los controles (Tablas 32 y 33). Sin embargo, en topinambur, no siempre se registraron diferencias con significancia estadística como las observadas en yacón.

Cantidad de tallos: En ambos cultivos, se observaron similares cantidades de tallos aéreos en las plantas de todos los tratamientos, sin embargo, al inicio del crecimiento se registraron diferencias estadísticamente significativas para esta variable, observándose el mayor número de tallos en las plantas inoculadas con respecto a las testigos (T0) (Tabla 32 y 33).

Porcentaje de materia seca de tallos aéreos: Durante el desarrollo del cultivo de yacón se obtuvieron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con mayores porcentajes de materia seca de tallos en las plantas inoculadas, principalmente con el consorcio microbiano (T3) (Tabla 33). Mientras en topinambur, en las últimas etapas de evaluación del cultivo, fueron disminuyendo las diferencias hasta no registrarse significancias estadísticas entre los tratamientos (Tabla 32).

Tabla 32. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (altura, número, peso fresco, peso seco y materia seca de tallos) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*.

Trat.	Variable	Días después de la implantación de topinambur				
		34	41	48	55	62
Testigo	Altura (cm)	24,67±4,1 a	28,27±2,1 a	35,00±2,0 a	39,33±3,0 a	58,00±3,0 a
	Nro.	1,67±0,5 a	3,00±0,0 a	3,33±0,5 a	2,67±0,5 a	5,33±0,5 a
	PF (g)	10,37±2,2 a	17,87±1,9 a	26,07±1,9 a	31,57±3,1 a	50,87±3,6 a
	PS (g)	3,07±0,7 a	11,10±2,1 a	14,27±1,1 a	17,77±2,1 a	26,40±1,2 a
	MS (%)	29,54±0,6 a	61,77±5,1 a	54,72±1,2 a	56,22±1,6 b	52,11±5,1 a
Azosp.	Altura (cm)	30,00±2,6ab	31,20±5,9 a	39,67±7,7ab	39,67±3,7 a	54,00±7,0 a
	Nro.	2,67±0,5ab	3,33±0,5 a	3,67±0,5 a	3,00±0,0 a	4,33±0,5 a
	PF (g)	20,07±0,4bc	20,97±5,3 a	30,77±8,3 a	32,37±3,3 a	46,77±6,9 a
	PS (g)	6,27±0,5 b	11,80±13,4a	17,03±3,9 a	17,40±2,0 a	23,80±3,1 a
	MS (%)	31,20±2,2ab	55,96±2,96a	55,80±2,4 a	53,71±0,6 a	50,97±0,7 a
Micorrizas	Altura (cm)	28,67±4,5ab	33,60±3,4 a	49,33±7,2 b	54,00±6,2 b	62,33±4,7 a
	Nro.	3,00±1,0 b	3,33±0,5 a	4,00±1,0 a	4,67±0,5 b	5,00±1,0 a
	PF (g)	17,83±3,9 b	43,50±8,6 a	43,50±8,6 b	48,17±5,8 b	55,30±4,8 a
	PS (g)	6,37±1,7 b	22,03±5,4 a	22,03±5,4 a	26,33±2,6 b	28,10±2,9 a
	MS (%)	35,41±2,2 c	50,28±2,8 a	50,28±2,8 a	54,77±1,4ab	50,76±0,9 a
Azosp. +Mico.	Altura (cm)	34,00±4,0 b	30,43±3,6 a	43,00±4,5ab	44,33±8,3ab	59,33±14,1a
	Nro.	3,67±0,5 b	3,67±0,5 a	3,33±0,5 a	4,33±0,5 b	4,00±1,0 a
	PF (g)	26,47±5,4 c	20,77±3,1 a	35,47±4,9ab	36,97±8,9 a	51,77±14,1a
	PS (g)	9,13±1,2 c	12,27±2,4 a	19,73±5,7 a	19,63±4,8 a	26,97±7,4 a
	MS (%)	34,88±2,6bc	58,78±3,2 a	55,03±9,1 a	53,08±0,4 a	52,07±1,4 a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 33. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (altura, número, materia seca, peso fresco y seco de tallos) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*.

Trat.	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		40	73	136	171	192
Testigo	Altura (cm)	3,33±0,58 a	12,67±2,08 a	25,00±1,00 a	45,33±3,21 a	61,67±4,93 a
	Nro.	2,33±0,58 a	2,33±0,58 a	2,67±0,58 a	3,00±1,00 a	2,33±0,58 a
	PF (g)	0,53±0,23 a	1,10±0,44 a	3,37±0,51 a	26,10±2,71 a	35,47±1,29 a
	PS (g)	0,10±0,04 a	0,19±0,08 a	0,61±0,10 a	4,74±0,49 a	6,45±0,23 a
	MS (%)	18,33±1,44 a	17,46±0,77 a	18,01±0,15 a	18,17±0,01 a	18,18±0,02 a
Azosp.	Altura (cm)	7,83±0,76 b	18,67±2,08 b	30,67±1,15 b	60,50±7,09b	84,00±5,29 b
	Nro.	2,00±1,00 a	2,33±1,15 a	2,67±0,58 a	3,00±1,00a	3,00±1,00 a
	PF (g)	1,00±0,17 b	1,73±0,4 ab	17,03±5,94 b	42,33±4,51c	49,33±2,52 b
	PS (g)	0,19±0,03 b	0,34±0,08 b	3,43±1,20 b	8,54±0,91c	9,96±0,51 b
	MS (%)	19,35±0,6 ab	19,40±0,15 b	20,13±0,03 b	20,17±0,01b	20,18±0,01 b
Micorrizas	Altura (cm)	6,50±1,50 b	20,67±1,53 b	34,83±1,61 c	61,00±2,00 b	81,33±5,13 b
	Nro.	2,00±0,00 a	1,67±0,58 a	3,00±1,00 a	3,00±1,00 a	3,33±1,15 a
	PF (g)	1,00±0,26 b	1,83±0,31 b	12,50±1,18 b	36,33±2,52 b	53,67±0,58 c
	PS (g)	0,19±0,05 b	0,36±0,06 b	2,51±0,24 b	7,33±0,51 b	10,56±0,43 b
	MS (%)	18,96±0,3 ab	19,67±0,29 b	20,10±0,03 b	20,17±0,01 b	19,69±0,88 b
Azosp. +Mico.	Altura (cm)	6,67±1,15 b	20,33±1,04 b	36,67±0,58 c	64,83±1,26 b	82,00±4,36 b
	Nro.	1,67±0,58 a	2,00±0,0 a	3,00±0,0 a	2,67±1,15 a	2,00±1,00 a
	PF (g)	0,97±0,06 b	2,00±0,10 b	13,17±0,31 b	40,33±2,1 bc	54,67±1,53 c
	PS (g)	0,20±0,02 b	0,43±0,03 b	2,91±0,07 b	8,55±0,44 c	12,13±0,34 c
	MS (%)	20,33±0,58 b	21,66±0,21 c	22,13±0,03 c	21,2±0,01 c	22,19±0,01 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

En ambos cultivos, los mayores valores de peso fresco (PF) y peso seco (PS) de tallos se observaron en las plantas inoculadas (T1, T2 y T3), registrándose diferencias estadísticamente significativas con respecto a las plantas testigo (Tablas 32 y 33).

Número de tubérculos por planta: En topinambur, a los 2 meses de la implantación en maceta se observó la presencia de tubérculos, mientras que en yacón a los 4 meses. En plantas de topinambur inoculadas (T1, T2 y T3) se encontró el mayor número de tubérculos, registrándose diferencias estadísticamente significativas con respecto al tratamiento control (T0) (Tablas 34). Mientras, en yacón se observó similares cantidades de tubérculos por planta (Tabla 35).

Peso de tubérculos por planta: Los mayores pesos de tubérculos por planta de topinambur y yacón se obtuvieron en los tratamientos inoculados (T1, T2 y T3), donde se observaron diferencias estadísticamente significativas en comparación a los tratamientos testigos (T0) (Tabla 34 y 35).

Tabla 34. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco, materia seca, número, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de topinambur				
		34	41	48	55	62
Testigo	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,24±0,4 a
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,06±0,1 a
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	23,19±0,0 b
	Nro.	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,33±0,5 a
	P.Medio (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,72±0,0ab
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	4,90±8,4 a
Azospirillum	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	1,71±0,7ab
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,36±0,1ab
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	21,35±1,4ab
	Nro.	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	3,33±1,1 b
	P.Medio (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,51±0,0 a
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	34,82±14,2ab
Micorrizas	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	3,36±1,3 c
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,68±0,2 c
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	20,26±0,2 a
	Nro.	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	2,33±0,5 b
	P.Medio (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	1,46±0,6 b
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	68,54±27,0c
Azosp. +Mico.	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	2,58±0,5 bc
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,54±0,1 bc
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	21,09±0,4 ab
	Nro.	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	3,33±1,5 b
	P.Medio (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,84±0,2 ab
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	52,70±11,0bc

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 35. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco, materia seca, número, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*.

Trat.	Variable	Días después de la implantación de yacón			
		73	136	171	192
Testigo	PF (g)	0,0±0,0	13,69±3,70 a	49,00±12,87a	88,44±6,89 a
	PS (g)	0,0±0,0	2,84±0,77 a	10,50±2,12 a	19,24±1,25 a
	MS (%)	0,0±0,0	20,74±0,02 a	21,71±1,65 a	21,81±1,72 a
	Nro.	0,0±0,0	1,67±0,58 a	1,67±0,58 a	2,0±1,0 a
	P.Medio (g)	0,0±0,0	9,79±6,84 a	34,20±21,40 a	53,12±28,46 a
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	0,0±0,0	0,279±0,075 a	0,999±0,262 a	1,805±0,141 a
Azosp.	PF (g)	0,0±0,0	27,78±5,72 b	71,06±10,37 b	123,3±19,67 b
	PS (g)	0,0±0,0	6,60±1,36 b	16,88±2,47 b	29,32±4,72 b
	MS (%)	0,0±0,0	23,77±0,04 b	23,76±0,07 a	23,78±0,04 b
	Nro.	0,0±0,0	1,00±0,0 a	2,0±1,0 a	2,33±0,58 a
	P.Medio (g)	0,0±0,0	27,78±5,72 b	45,71±31,76 a	55,2±17,06 a
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	0,0±0,0	0,567±0,117 b	1,450±0,212 b	2,516±0,401 b
Micorrizas	PF (g)	0,0±0,0	23,96±11,1ab	78,69±0,29 b	134,46±21,9 b
	PS (g)	0,0±0,0	5,68±2,64ab	18,68±2,19 b	32,0±5,22 b
	MS (%)	0,0±0,0	23,68±0,14 b	23,74±0,09 a	23,8±0,04 b
	Nro.	0,0±0,0	1,67±0,58 a	2,0±1,0 a	2,0±0,0 a
	P.Medio (g)	0,0±0,0	15,89±8,56ab	49,91±32,65 a	67,23±10,93 a
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	0,0±0,0	0,489±0,22ab	1,606±0,190 b	2,744±0,446 b
Azosp. +Mico.	PF (g)	0,0±0,0	34,26±6,96 b	79,3±2,66 b	131,08±20,3 b
	PS (g)	0,0±0,0	7,76±1,54 b	18,08±1,66 b	31,22±4,85 b
	MS (%)	0,0±0,0	22,73±1,70 b	22,79±1,74 a	23,82±0,01 b
	Nro.	0,0±0,0	1,33±0,58 a	2,0±1,0 a	2,67±0,58 a
	P.Medio (g)	0,0±0,0	27,74±8,99 b	49,01±29,48 a	52,23±21,37 a
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	0,0±0,0	0,699±0,142 b	1,618±0,054 b	2,675±0,415 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Porcentaje de materia seca de los tubérculos: En plantas de topinambur provenientes del tratamiento de inoculación con hongos micorrícicos (T2) se determinó el menor porcentaje de materia seca de tubérculos, mientras que en los restantes tratamientos se observaron similares valores. Por otra parte, en el cultivo de yacón, el mayor porcentaje de materia seca de tubérculos se obtuvo con la inoculación microbiana (T1, T2 y T3), observándose diferencias estadísticas significativas con respecto a los controles (T0) (Tabla 35).

Peso promedio de los tubérculos: En ambos cultivos, los tubérculos de mayor tamaño, con peso promedio más alto se observaron en los tratamientos inoculados con hongos micorrícicos (T2) y con el consorcio microbiano (T3), registrándose diferencias estadísticas significativas con respecto al tratamiento testigo (T0) (Tabla 34 y 35).

Rendimiento (kg ó t de tubérculos por ha⁻¹): Los mayores rendimientos de tubérculos de topinambur y de yacón, se lograron con la inoculación de hongos

micorrícicos (T2) y con la coinoculación con *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3), registrándose diferencias estadísticas significativas con respecto al tratamiento testigo (Tabla 34 y 35). Sin embargo, se lograron rendimientos muy inferiores a los obtenidos en los ensayos de campo.

Porcentaje de materia seca de propágulos: El mayor porcentaje de materia seca de propágulos de yacón se obtuvo con la inoculación microbiana, fundamentalmente con los tratamientos T1 y T3, estableciéndose diferencias estadísticas significativas con respecto a los controles (Tabla 36). Resultados similares al experimento en invernáculo con suelo estéril.

Tabla 36. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de propágulos) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		40	73	136	171	192
Testigo	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	8,27±1,86 a	31,91±15,2 a	116,88±8,75 a
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	1,74±0,39 a	6,73±3,17 a	24,75±1,83 a
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	21,05±0,07 a	21,11±0,09 a	21,18±0,02 a
<i>Azospirillum</i>	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	17,90±4,16 b	73,17±12,43b	182,76±16,25b
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	4,15±0,97 b	17,70±3,01 b	42,38±3,77 b
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	23,16±0,05 b	24,19±0,01 b	23,19±0,027b
Micorrizas	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	21,73±7,28 b	71,07±15,98b	175,99±20,8 b
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	4,95±1,71 b	17,19±3,87 b	40,80±4,82 b
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	22,70±0,50 b	24,18±0,01 b	23,19±0,01 b
<i>Azosp.</i> +Mico.	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	21,31±4,76 b	88,67±17,61b	181,94±11,72b
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	4,91±1,07 b	21,44±4,26 b	42,18±2,73 b
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	23,06±0,19 b	24,18±0,01 b	23,18±0,01 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Índice de Área Foliar (IAF): En esta variable se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, obteniéndose los mayores IAF en los tratamientos inoculados, fundamentalmente con el consorcio microbiano de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3) con respecto a los tratamientos testigo (T0) (Tablas 37 y 38).

Porcentaje de materia seca de hojas: La mayor producción de masa foliar se observó en las plantas inoculadas, registrándose diferencias con significancia estadística con respecto a los controles (Tabla 37 y 38). Sin embargo, en topinambur, en las últimas evaluaciones de dichas diferencias fueron disminuyendo, sin alcanzar la significancia estadística, debido al estado senescente de las plantas.

Tabla 37. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de hojas, e índice de área foliar,) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*.

Trat.	Var.	Días después de la implantación de topinambur				
		34	41	48	55	62
Testigo	PF (g)	9,90±1,3 a	19,57±2,4 a	27,93±1,9 a	35,90±2,8 a	54,07±3,7 a
	PS (g)	4,67±0,5 a	11,17±2,1 a	14,97±0,8 a	17,57±1,1 a	25,90±2,5 a
	MS (%)	47,23±1,6 a	56,77±3,7 a	53,61±0,7 a	48,97±0,9 a	47,99±4,7 a
	IAF(cm ²)	553,4±77 a	1093,8±134a	1561,5±108 a	2006,8±160 a	3022,4±210 a
Azosp.	PF (g)	25,43±2,8 b	26,27±5,5 a	33,53±8,3 a	37,53±3,1 a	52,17±6,1 a
	PS (g)	12,43±1,0 b	14,80±2,7 a	18,07±4,4 ab	19,77±3,2 a	26,97±2,9 a
	MS (%)	48,99±1,4 a	56,62±2,3 a	53,88±0,1 a	52,45±4,2 a	51,73±1,3 a
	IAF(cm ²)	1421,7±159 b	1468,3±311a	1874,5±464 a	2098,1±178 a	2916,2±345 a
Mico.	PF (g)	26,53±6,8 b	26,70±4,1 a	48,37±9,6 b	3,60±7,1 b	59,57±4,7 a
	PS (g)	11,97±1,1 b	15,43±2,0 a	25,30±5,5 b	35,87±15,8 b	29,97±1,7 a
	MS (%)	46,49±8,2 a	57,96±3,2 a	52,16±1,1 a	66,48±26,6 a	50,43±3,2 a
	IAF(cm ²)	1483,2±384 b	1492,6±230 b	2703,7±541 b	2996,3±397 b	3329,8±267 a
Azosp. +Mico.	PF (g)	41,37±5,9 c	25,30±4,9 a	40,47±6,4 ab	41,87±8,7 a	57,27±15,3 a
	PS (g)	20,23±2,9 c	14,57±3,4 a	21,83±4,0 ab	21,93±5,0 ab	29,83±8,0 a
	MS (%)	48,89±0,5 a	57,37±3,7 a	53,80±2,2 a	52,26±1,4 a	52,08±0,4 a
	IAF(cm ²)	2312,4±332 c	1414,3±277ab	2262,1±358ab	2340,4±486 a	3201,2±861 a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P<0,05$.

Tabla 38. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco y seco, materia seca de hojas e índice de área foliar) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*.

Trat.	Var.	Días después de la implantación de yacón				
		40	73	136	171	192
Testigo	PF (g)	0,30±0,05a	0,56±0,06 a	10,16±1,98 a	24,83±1,40 a	48,02±7,64 a
	PS (g)	0,03±0,01a	0,09±0,01 a	1,74±0,35 a	4,77±0,27 a	8,37±1,21 a
	MS (%)	10,86±2,19a	15,54±0,53 a	17,11±0,10 a	19,23±0,01 b	17,47±0,34 a
	IAF(cm ²)	13,33±2,89a	26,67±2,89 a	505,00±99,87 a	1238,3±70,06 a	2398,3±282,6 a
Azosp.	PF (g)	0,57±0,12b	1,41±0,40 b	14,77±0,67 b	35,72±2,43 b	65,17±5,6 ab
	PS (g)	0,09±0,02b	0,26±0,08 b	3,12±0,16 ab	6,88±0,47 b	13,20±1,13 b
	MS (%)	15,84±0,31b	18,30±0,52 b	21,14±0,09 b	19,27±0,02 b	20,26±0,01 b
	IAF(cm ²)	25,5±5,00b	68,33±20,82b	735,00±35,0 a	1785,0±122,2 b	3255,0±280 ab
Mico.	PF (g)	0,60±0,06b	1,68±0,25 b	17,57±1,04 c	35,65±2,97 b	73,46±7,81 b
	PS (g)	0,10±0,02b	0,31±0,05 bc	3,72±0,22 c	7,90±0,65 b	14,89±1,59 bc
	MS (%)	16,09±1,81b	18,26±0,40 b	21,18±0,02 a	22,15±0,13 c	20,27±0,038 b
	IAF(cm ²)	26,67±2,89b	80,0±13,23 c	875,00±50,74 b	1780,0±149,3 b	3670,0±289,7 b
Azosp. +Mico.	PF (g)	0,59±0,06b	1,83±0,06 b	18,93±0,24 c	43,61±5,56 c	77,80±15,84 b
	PS (g)	0,10±0,01b	0,38±0,02 c	3,25±0,05 b	7,53±0,96 b	18,10±3,70 c
	MS (%)	17,58±0,93b	20,76±0,43 c	17,19±0,05 b	17,26±0,004 a	23,26±0,02 c
	IAF(cm ²)	26,67±2,89b	88,33±2,89 c	943,3±12,6 ab	2178,3±277,4 c	3886,7±792,5 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P<0,05$.

Porcentaje de materia seca de raíces: En ambos cultivos y en casi todas las evaluaciones, el mayor porcentaje de materia seca de raíces se obtuvo en los tratamientos de coinoculación microbiana (T3), el menor porcentaje de materia seca se registró en las plantas testigo (T0) y con diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos

(Tabla 39 y 40). Similar comportamiento se observó, en las demás variables relacionadas (masa fresca y seca de raíces).

Tabla 39. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de topinambur				
		34	41	48	55	62
Testigo	PF (g)	9,57±1,1 a	14,97±0,8 a	18,77±1,3 a	15,67±15,7a	34,40±2,6 a
	PS (g)	3,87±0,6 a	6,97±0,1 a	9,27±0,7 a	6,17±5,9 a	17,20±1,2 a
	MS (%)	40,33±4,2 a	46,62±2,3 a	49,42±2,7ab	42,99±6,1ab	50,02±1,2ab
<i>Azospirillum</i>	PF (g)	17,50±1,3 b	16,07±3,3 a	23,00±1,9ab	37,90±28,0a	33,33±4,4 a
	PS (g)	8,13±0,7 b	8,30±1,5ab	11,30±0,7ab	19,63±14,6a	16,57±2,0 a
	MS (%)	46,44±0,9ab	53,07±15,1a	55,37±9,6ab	50,18±4,8 b	49,73±0,7 a
Micorrizas	PF (g)	14,67±4,7ab	19,13±1,2 a	27,60±4,7 b	64,20±26,5a	39,67±1,1 a
	PS (g)	7,60±2,1 b	9,20±0,8 b	11,87±1,2 b	34,03±16,7a	20,57±1,8 a
	MS (%)	52,58±9,4 b	48,03±1,4 a	43,61±6,5 a	51,41±6,9 b	51,80±3,4ab
<i>Azosp.</i> +Mico.	PF (g)	24,90±4,5 c	18,57±3,4 a	6,47±6,2ab	39,37±9,3 a	39,37±9,3 a
	PS (g)	13,33±2,8 c	8,13±1,5ab	14,30±1,7 c	21,07±5,0 a	21,07±5,0 a
	MS (%)	53,43±2,5 b	44,29±7,2 a	55,37±9,6 b	53,51±0,6 a	53,51±0,6 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 40. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		40	73	136	171	192
Testigo	PF (g)	0,14±0,05 a	1,38±0,14a	10,84±2,53a	75,13±7,6 a	108,2±48,7a
	PS (g)	0,02±0,01 a	0,21±0,03a	2,05±0,48a	14,41±1,46 a	20,75±9,3 a
	MS (%)	10,9±3,74 a	15,69±3,5 a	18,95±0,34a	19,18±0,028a	19,18±0,01a
<i>Azospirillum</i>	PF (g)	0,32±0,1ab	4,57±1,65b	31,17±9,19b	99,47±27 a	160,0±40ab
	PS (g)	0,05±0,0ab	0,96±0,35b	6,91±2,0ab	22,07±6 a	35,52±8,9 b
	MS (%)	14,02±2,65a	21,00±0,08b	22,17±0,01b	22,18±0,01b	22,19±0,04b
Micorrizas	PF (g)	0,41±0,15 b	4,42±1,66b	36,2±12,2b	93,28±27 a	143,0±4,5ab
	PS (g)	0,06±0,0 ab	0,93±0,35b	8,00±2,68b	20,66±6 a	31,76±1 ab
	MS (%)	14,72±3,51a	21,08±0,12b	22,1±0,12b	22,15±0,07b	22,21±0,02b
<i>Azosp.</i> +Mico.	PF (g)	0,52±0,10b	7,64±2,15c	34,9±9,27b	106,7±24,7a	193,9±11,1b
	PS (g)	0,10±0,06b	1,54±0,46b	7,75±2,06b	23,66±5,49a	43,04±2,5 b
	MS (%)	18,26±7,23a	20,18±1,1 b	22,2±0,03b	22,18±0,01b	22,2±0,04b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

En ambos cultivos, la evaluación de planta completa durante el desarrollo de los mismos en maceta mostró un mayor crecimiento de las plantas inoculadas, determinándose diferencias estadísticamente significativas con respecto a las plantas testigo (Tablas 41 y 42). Sin embargo, en las últimas etapas de evaluación del cultivo de topinambur, estas diferencias fueron disminuyendo sin llegar a la significancia estadística.

Tabla 41. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de planta entera) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de topinambur				
		34	41	48	55	62
Testigo	PF (g)	29,83±3,1 a	52,40±5,1a	72,77±2,6 a	95,13±12,4 a	139,57±9,4 a
	PS (g)	11,60±1,2 a	29,23±4,3a	38,50±1,9 a	49,17±6,6 a	69,56±3,8 a
	MS (%)	38,89±0,7 a	55,61±2,6a	52,89±0,8 a	51,66±0,2 a	49,95±3,5 a
Azospirillum	PF (g)	56,20±8,6 b	3,30±13,7a	87,30±18,3ab	94,50±8,4 a	133,97±17,9a
	PS (g)	26,83±1,8 b	34,90±6,0a	46,40±9,2 ab	50,00±5,7 a	67,69±8,1 a
	MS (%)	48,91±11,5a	55,63±5,0a	53,26±0,7 a	52,83±1,4 a	50,59±0,8 a
Micorrizas	PF (g)	59,03±15,2b	68,90±8,6a	119,5±22,9c	134,00±16,9 b	157,89±10,5a
	PS (g)	25,93±4,8 b	38,37±4,6a	59,20±11,6b	78,53±18,4 b	79,31±4,2 a
	MS (%)	44,49±4,3 a	55,72±0,8a	49,53±0,6 a	58,47±10,8 a	50,26±0,6 a
Azosp.+Mico.	PF (g)	92,73±15,7c	64,63±9,1a	102,4±5,2bc	108,40±19,5ab	131,12±39,1a
	PS (g)	42,70±6,7 c	34,97±7,2a	55,87±8,2 b	55,57±10,7 a	78,41±20,5a
	MS (%)	46,12±0,9 a	53,79±7,4a	54,38±5,2 a	51,19±0,7 a	61,09±15,4a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 42. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de planta completa) producidos en *Invernáculo con suelo sin esterilizar*.

Trat.	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		34	41	48	55	62
Testigo	PF (g)	0,93±0,32a	2,80±0,36 a	54,33±11,9 a	238,4±26,3 a	513,6±29,7 a
	PS (g)	0,15±0,06a	0,49±0,07 a	8,98±2,02 a	41,16±2,89 a	79,57±5,58 a
	MS (%)	15,62±0,58a	17,62±0,22 a	16,52±0,09 a	17,31±0,67 a	15,49±0,28 a
Azosp.	PF (g)	1,77±0,38b	7,67±2,4 b	126,43±9,52 b	394,8±35,8 b	763,1±27,1 b
	PS (g)	0,33±0,08b	1,56±0,5 b	24,21±1,95 b	72,07±6,26 b	130,4±7,8 b
	MS (%)	18,63±0,48b	20,3±0,1 b	19,15±0,68 b	18,26±0,36 b	17,08±0,5 b
Mico.	PF (g)	1,87±0,47b	7,83±1,3 b	132,73±20 b	385,6±49,6 b	756,4±66,4 b
	PS (g)	0,35±0,11b	1,6±0,3 b	24,87±3,89 b	71,76±8,14 b	130±10,7 b
	MS (%)	18,61±0,85b	20,4±0,2 b	18,74±0,96 b	18,63±0,42 b	17,2±0,18 b
Azosp.+Mico.	PF (g)	1,97±0,21b	11,20±2,1 c	143,5±15,9 b	447,13±59 b	821,1±15,1 b
	PS (g)	0,40±0,08b	2,36±0,42c	26,58±3,24 b	79,26±9,14 b	146,7±0,9 c
	MS (%)	20,21±1,81b	21,07±0,5 c	18,52±0,95 b	17,76±8,1 ab	17,87±0,23 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Los resultados obtenidos en los bioensayos realizados en invernáculo permiten inferir que el menor crecimiento de plantas de topinambur y yacón, registrados en los experimentos con suelo estéril pudo deberse a la anulación de actividades bioquímicas que permiten la disponibilidad de nutrientes del suelo para las plantas por la eliminación de la microflora autóctona del suelo responsables de procesos de transformación de la materia orgánica, solubilización de nutrientes y hasta de fijación biológica de nitrógeno atmosférico. Sin embargo, los resultados obtenidos no coinciden con los informados por Giampaoli *et al.* (2014), que determinaron un mayor crecimiento de plantas de yacón cultivadas en macetas con suelo estéril en invernáculo, debido a que la esterilización del suelo promovió la disponibilidad de nutrientes del suelo.

2. Bioensayos en campo

Los cultivos de topinambur y yacón se desarrollaron en sitios con suelo de clase textural franco arenoso. Estos cultivos no prosperan en suelos anegadizos donde el agua se estanca por varios días (Cosgrove *et al.*, 1991), se adaptan a distintos tipos de suelos, crecen sin mayores problemas en suelos pobres, pero se desarrollan mejor en suelos fértiles (Rebora 2008). El topinambur se adecúa a un rango relativamente amplio de pH del suelo, la producción se ve favorecida en suelos levemente alcalinos (Cosgrove *et al.*, 1991), como los que encuentran en el Valle Central de la Provincia de Catamarca.

2.1. Bioensayos en campo con evaluación al final del ciclo de los cultivos:

Los ensayos se realizaron en fincas situadas en el Dpto. Capayán, en la localidad de Miraflores (28°35'19.93"S; 65°53'44.02"O) y en el Dpto. Valle Viejo (28°28'19.52"S; 65°43'54.40"O).

Los principales indicadores de la cosecha de tubérculos de topinambur y de yacón son: amarillamiento y caída de hojas, cese de la floración e inflorescencias secas, tallos senescentes secos, amarronados y tendidos, rebrotamiento de nuevos talluelos (Cabrera, 2005) y es cuando se considera al cultivo “entregado” cuando el material aéreo se aprecia completamente seco (Rebora, 2008), por lo cual a los 7 meses de la implantación del cultivo de topinambur en Miraflores del Valle Central de la Provincia de Catamarca se realizó la cosecha. Schultheis (1999) estima que la cosecha no debiera realizarse antes de las primeras heladas, por lo cual los tubérculos pueden cosecharse en otoño. Mientras, que en yacón la cosecha se realizó a los 10 meses de su implantación en la localidad de Valle Viejo.

La evaluación se realizó en el momento de la cosecha y las variables consistentes están relacionadas a la producción de tubérculos, tales como: Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), cantidad, rendimiento y porcentaje de materia seca. Si bien otras variables de crecimiento del cultivo fueron evaluadas, por las características de la fase fenológica, no se ampliará sobre las variables más inestables (área foliar, peso fresco y seco de hojas fundamentalmente).

Altura de plantas: En topinambur y yacón, la mayor altura de plantas se observó en los tratamientos inoculados con el consorcio microbiano integrado por *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3) y con hongos micorrícicos (T2), registrándose diferencias con

significancia estadística entre los tratamientos (T2 y T3) en comparación con los testigos (T0). En el ensayo de topinambur, se alcanzaron magnitudes similares a las obtenidas en los experimentos realizados por Rebora (2008), pero muy por debajo a las logradas por Lelio *et al.* (2009). Sin embargo, estudios previos informan que las alturas de diversos cultivares de topinambur en distintos ambientes varían entre 1,18 m a 2,41m (Rebora, 2008; Lelio *et al.*, 2009). Por otra parte, investigaciones sobre el crecimiento de yacón han mostrado que las plantas pueden alcanzar los 3 metros de altura (Roque, 2009; Calle & Catacata, 2012). Mientras, en este estudio se observaron plantas de yacón con alturas promedio entre 75 cm (T0) y 120 cm (T3) a los 300 días de cultivo (Tabla 43). Estos valores son coincidentes con los informados por Cabrera (2005) y Cano Romero (2016).

Tabla 43. Comparación de altura de plantas de topinambur y yacón producidos *en campo* según tratamientos. Evaluación al final del ciclo de los cultivos.

Tratamiento	Altura (cm)	
	Topinambur	Yacón
Testigo	127,00 ± 41,06 a	75,07 ± 23,58 a
<i>Azospirillum</i>	180,87 ± 20,83 bc	79,47 ± 22,26 a
Micorrizas	161,60 ± 26,13 b	96,67 ± 10,24 b
<i>Azosp.</i> +Mico.	182,67 ± 12,87 c	120,47 ± 6,58 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Cantidad de tubérculos por planta: El número de tubérculos de topinambur por plantas de los distintos tratamientos fueron similares, sin lograr diferencias estadísticas significativas, con un valor promedio de 26 tubérculos por planta, cantidad que está por encima a la obtenida por Andrada *et al.* (2011), que estaba en el rango promedio de 12 a 19 tubérculos por plantas de topinambur cultivado también en el Dpto. Capayán. Sin embargo, la cantidad promedio de tubérculos obtenida es muy inferior a la informada por Lelio *et al.* (2009) y por Rébora *et al.* (2011). Mientras en yacón, la mayor cantidad de tubérculos se observaron en los tratamientos inoculados (T1 y T3), registrándose diferencias con significancia estadística en comparación con el testigo (T0) (Tabla 44).

Peso de tubérculos por planta: En ambos cultivos, con la coinoculación microbiana (T3) se obtuvieron plantas con mayor masa de tubérculos que con el resto de los tratamientos, logrando diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos de inoculación con el consorcio de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3) y los tratamientos testigo (T0) (Tabla 44). Sin embargo, los rendimientos de tubérculos por planta de topinambur están muy por debajo a los obtenidos en la provincia de Mendoza

con otras condiciones de cultivo (Lelio *et al.*, 2009; Rébora *et al.*, 2011). Por otra parte, se determinó que entre el 16 y el 20% del peso fresco del tubérculo de topinambur es inulina (Ibarguren *et al.*, 2019), porcentajes que pueden aumentar notablemente por métodos de extracción más eficientes (Rubel *et al.*, 2018).

Rendimiento (t de tubérculos por ha⁻¹): En los cultivos de topinambur y yacón, se lograron los mayores rendimientos con la coinoculación de los microorganismos seleccionados (T3), donde se registraron diferencias estadísticas significativas con respecto al tratamiento testigo (T0). En el ensayo de topinambur, con la coinoculación de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3), se estimaron incrementos promedios del 77% con respecto al tratamiento testigo, mientras que con la inoculación con hongos micorrícicos (T2) del 33% promedio y con la aplicación de *A. brasilense* (T1) incrementos del 27 %. Con la co-inoculación (T3) se lograron rendimientos de 9,333 t. ha⁻¹, variando desde 7,149 hasta 11,517 t. ha⁻¹ (Tabla 22). Sin embargo, los rendimientos obtenidos son muy inferiores a los informados por Lelio *et al.* (2009), Rébora *et al.* (2011) y por Rossi y Chicahuala (2017).

En yacón se observó el mayor rendimiento con la coinoculación de los microorganismos seleccionados (T3), pero en todos los tratamientos inoculados se lograron incrementos con significancia estadística con respecto al testigo (Tabla 44). En comparación con el tratamiento testigo (T0), se obtuvieron incrementos promedios del 662 % con la coinoculación (T3), de 572% promedio con la inoculación de *A. brasilense* (T1) y de 286% promedio con la inoculación de hongos micorrícicos (T2). Sin embargo, se estimaron magnitudes muy inferiores a las registradas en las regiones productoras de yacón. En Sao Paulo (Brasil) se han reportado rendimientos de hasta 100 t.ha⁻¹, el rendimiento promedio en condiciones alto andinas varía entre 20 a 40 t/ha (Manrique & Hermann, 2003; Vilhena *et al.*, 2003; Cabrera, 2005; Muñoz Jauregui, 2010). Mientras que en Alemania se informaron rendimientos de 6 a 46 t.ha⁻¹, según diferentes genotipos (Kamp *et al.*, 2019)

Porcentaje de materia seca de los tubérculos: el contenido de materia seca en tubérculos de topinambur fue similar entre los tratamientos, promediando el 21,43 %, valor coincidente a los informados anteriormente (Rebora, 2008; Rebora *et al.*, 2011; Ibarguren, 2015). No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para esta variable (Tabla 44). Sin embargo, en el cultivo de yacón se

detectaron diferencias con significancia estadísticas entre los tratamientos inoculados y los controles, registrándose los mejores resultados en T1 y T3 (Tabla 44).

Tabla 44. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur y yacón (número, peso fresco, peso seco, materia seca y rendimiento de tubérculos) producidos *en campo*. Evaluación al final del ciclo de los cultivos.

Variable	Tratamientos				
	Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.+Mico.</i>	
Topinambur	Nro.	24,73±17,26 a	28,73±12,30 a	26,93±10,04 a	23,60±5,75 a
	PF (g)	257,36±274,25a	327,31±220,19ab	342,85±165,50ab	457,36±107,02b
	PS (g)	56,31±65,77 a	73,59±54,85 a	73,87±34,06 a	95,28±22,27 a
	MS (%)	20,61±2,55 a	22,26±2,16 a	21,99±3,87 a	20,61±2,55 a
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	5,252±5,611 a	6,679±4,493 ab	6,996±3,377ab	9,333±2,184 b
Yacón	Nro.	0,6±0,91 a	2,67±1,4 b	1,67±0,9 ab	2,53±0,99 b
	PF (g)	27,79±37,75 a	186,78±94,72 b	134,36±91,3 b	218,42±97,55 b
	PS (g)	12,14±16,49 a	104,34±52,91 b	76,34±51,87 b	126,25±56,39 b
	MS (%)	17,47±22,14 a	55,87±0,00 c	41,67±26,01 b	53,95±14,92bc
	Rdto.(t.ha ⁻¹)	0,567±0,770a	3,811±1,933 c	2,190±2,271 b	4,322±2,223 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Peso promedio de tubérculos: Para esta variable se manifestaron diferencias significativas entre los tratamientos. Con las inoculaciones del consorcio microbiano (T3) se tuvieron tubérculos más pesados que en el resto de los tratamientos (Tabla 45). Sin embargo, los resultados obtenidos en topinambur están muy debajo a los logrados en experimentos realizados en la provincia de Mendoza (Lelio *et al.*, 2009; Rébora *et al.*, 2011).

Entre los tratamientos también hubo diferencias. En promedio, los tubérculos de topinambur del tratamiento de coinoculación de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3) pesaron unos 20 g y los controles 10 g, mientras que los tubérculos de yacón del T3 pesaron 91g y de T0 20g (Tabla 45). Tal diferencia es debida al efecto de la actividad microbiana sobre la nutrición de las plantas y por lo tanto en la capacidad de producir más follaje y en consecuencia mayor cantidad de “fotoasimilados” y traslocarlos desde la parte aérea a los tubérculos.

Si se analizan los tamaños de tubérculos de topinambur en T3, observamos un rango de variación que va desde 10 a 31 g. Todos estos pesos están por debajo del rango de 33 a 39 g planteado por Andrada *et al.* (2011), en un estudio donde compararon dos marcos de plantación para el mismo cultivar (Topianka) cultivado en el Valle Central de la Provincia de Catamarca. Los menores pesos pueden deberse a la cosecha temprana y por haber iniciado el cultivo con tubérculos “semilla” pequeños (10g), porque se recomiendan

tubérculos “semilla” entre 40-50g, además Duke (1983) sostiene que tubérculos “semilla” menores pueden reducir el rendimiento. En síntesis, los mayores rendimientos de tubérculos de topinambur y yacón se lograron con la inoculación del consorcio microbiano integrado por *A. brasilense* y hongos micorrícicos nativos (T3), generando la mayor producción de tubérculos y el mayor tamaño promedio de los mismos.

Tabla 45. Comparación de peso promedio, mínimo y máximo de tubérculos de topinambur y de yacón según tratamientos producidos *en campo*. Evaluación al final del ciclo de los cultivos.

Cultivo	Tratamiento	Peso promedio de tubérculo (g)	Peso mínimo de tubérculo (g)	Peso máximo de tubérculo (g)
Topinambur	Testigo	9,72 ± 3,98 a	4,61	17,07
	<i>Azospirillum</i>	11,50 ± 4,72 ab	5,64	19,05
	Micorrizas	13,71 ± 5,16 b	4,82	21,91
	<i>Azosp.</i> +Mico.	20,22 ± 5,81 c	9,81	31,70
Yacón	Testigo	20,64 ± 28,46 a	0	49,1
	<i>Azospirillum</i>	75,57 ± 29,51 bc	46,06	105,08
	Micorrizas	54,07 ± 46,73 b	7,34	100,8
	<i>Azosp.</i> +Mico.	91,30 ± 61,43 c	29,87	152,73

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Porcentaje de materia seca de tallos aéreos: En topinambur no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Sin embargo, los mayores resultados se presentaron en los tratamientos inoculados con diferencias que superaron el 10 % al tratamiento control (Tabla 46). Mientras, que en yacón se observaron diferencias con significancia estadística a favor de los tratamientos de coinoculación con los microorganismos seleccionados en estudio (T3) (Tabla 46). El alto porcentaje de materia seca de los tallos aéreos se debe al estado fenológico del cultivo en el momento de la evaluación, presentando tallos secos y quebradizos.

Tabla 46. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur y yacón (número, peso fresco, peso seco, materia seca de tallos aéreos) producidos *en campo*. Evaluación al final del ciclo.

Variable	Tratamientos				
	Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.</i> +Mico.	
Topi.	Nro.	9,0±4,16 ab	9,4±2,50 ab	10,2±2,31 a	7,6±2,47 b
	PF (g)	93,65±121,5 a	139,49±81,45 a	138,51±44,11 a	150,59±45,12 a
	PS (g)	32,15±42,22 a	46,00±36,60 a	42,61±19,48 a	43,31±7,12 a
	MS (%)	34,67 ± 41,19 a	46,90 ± 36,32 a	43,40 ± 19,29 a	44,07 ± 6,84 a
Yacón	Nro.	1,29±0,49 a	1,50±0,97 a	1,57±0,79 a	1,43±0,51 a
	PF (g)	26,03±16,15a	29,12±20,13 a	38,06±22,31ab	54,61±6,58 b
	PS (g)	14,71±9,12 a	16,45±11,37 a	21,50±12,61 ab	30,86±9,57 b
	MS (%)	30,13±29,18 a	41,43±25,86 ab	41,43±25,86 ab	56,50±0,00 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Porcentaje de materia seca de raíces: Tanto en topinambur como en yacón, fueron similares los porcentajes de MS de raíces entre los tratamientos sin registrarse diferencias con significancia estadística. En topinambur, los valores más altos se observaron en el tratamiento testigo (T0) como así también la mayor variabilidad, obteniéndose porcentajes de MS de raíces que van de 17,93 al 44,95 % (Tabla 47). Sin embargo, el mayor PF y PS de raíces de topinambur y de yacón se observaron en T3, registrándose diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento de coinoculación del consorcio microbiano de *A. brasilense* y hongos micorrícicos en comparación al testigo (T0) (Tabla 47).

Tabla 47. Comparación de parámetros agronómicos en topinambur y yacón (peso fresco, peso seco, materia seca de raíces) producidos *en campo*. Evaluación al final del ciclo de los cultivos.

Variable	Tratamientos				
	Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.</i> +Mico.	
Topi.	PF (g)	43,91±36,94 a	77,06±33,68 bc	64,86±31,11 ab	93,29±46,75 c
	PS (g)	13,79±12,71 a	20,55±10,78 b	16,33±6,52 ab	26,49±10,55 b
	MS (%)	31,44 ±13,51 a	26,43±5,96 a	26,07±4,03 a	30,96±7,23 a
Yacón	PF (g)	158,77±79,30 a	270,08±143,68b	247,05±92,06b	235,01±94,1ab
	PS (g)	32,6±16,28 a	56,27±29,93 b	51,79±19,3b	49,68±19,9 b
	MS (%)	20,53±0,28 a	20,83±0,51 a	20,96±0,34 a	21,14±0,61 a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Se observaron los mayores valores de peso fresco de los órganos subterráneos de yacón, que incluyen tubérculos, propágulos y raíces, en las plantas procedentes de los tratamientos inoculados (T1, T2 y T3), registrándose diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0,0001$) comparadas con las plantas controles (T0) (Tablas 46 al 48). Se estimaron valores de productividad muy inferiores a las registradas Sao Paulo (Brasil), en las que se obtienen rendimientos promedios de 29 t.ha⁻¹ (Vilhena *et al.*, 2003) y de 2000 a 3000 gramos de raíces por planta (Calle & Catacata, 2012) (Tabla 47).

Cantidad de propágulos: Se observó la mayor cantidad de propágulos de yacón en plantas inoculadas, registrándose diferencias estadísticamente significativas con respecto a las plantas testigo (Tabla 48). La cantidad máxima obtenida fue de 12 propágulos por planta, las cuales procedían del tratamiento de inoculación con *A. brasilense* (T1) y la cantidad promedio de 6,53 propágulos por planta. Cantidades similares a las informadas por Muñoz Jáuregui (2010), quién sostiene que se puede

obtener entre 6 a 14 propágulos siendo el enraizamiento favorecido usando reguladores de crecimiento (auxinas). Esto explica los resultados, ya que la bacteria *A. brasilense* es ampliamente conocida por su capacidad de sintetizar fitohormonas especialmente auxinas (Larraburu *et al.*, 2016).

Tabla 48. Comparación de parámetros agronómicos en yacón (peso fresco, peso seco y cantidad de propágulos) producidos *en campo*. Evaluación al final del ciclo de los cultivos.

Parte de Yacon	Variable	Tratamientos			
		Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.</i> +Mico.
Propágulos	PF (g)	33,78±55,56a	322,81±286,85b	251,27±156,6b	387,49±82,59b
	PS (g)	8,22±13,52a	80,52±71,53b	63,13±39,35b	97,85±20,86b
	Nro.	1,13±1,86 a	6,53±5,28 b	5,47±4,1 b	6 ± 2,14 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Las plantas de topinambur y yacón inoculadas con la combinación de *A. brasilense* más hongos micorrícicos (T3) fueron las que mostraron una mayor producción de biomasa fresca y seca (Tabla 49). Sin embargo, el porcentaje de materia seca obtenida en topinambur fue mayor en las plantas controles (T0), siendo estas diferencias estadísticamente significativas (Tabla 49). En cambio, la producción de MS fue superior en las plantas de yacón inoculadas con el consorcio conformado por *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3), pero al comparar con los valores obtenidos con el tratamiento inoculado con *A. brasilense* (T1) las diferencias logran significancia estadística, pero si se registraron diferencias estadísticamente significativas con las plantas de yacón de referencia (T0) en las que no se las inoculó con los microorganismos seleccionados (Tabla 49).

Tabla 49. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur y yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de plantas completas) producidos *en campo*. Evaluación al final del ciclo de los cultivos.

Variable	Tratamientos				
	Testigo	<i>Azospirillum</i>	Micorrizas	<i>Azosp.</i> +Mico.	
Topi.	PF (g)	487,06±529,59 a	676,40±399,71bc	647,97±170,93ab	812,60±156,07 c
	PS (g)	136,82±144,23 a	176,36±121,05 a	163,20±42,85 ab	203,16±34,22 b
	MS (%)	29,12 ±4,25 b	25,70 ±2,60 a	25,28 ±3,13 a	25,15 ±1,26 a
Yacón	PF (g)	454,78±277,63a	1573,35±813,30bc	1235,42±606,58b	1723,20±468,01c
	PS (g)	60,92±42,40a	251,90±121,34bc	192,06±114,94b	300,82±91,51c
	MS (%)	12,90±2,12a	16,59 ±2,27 bc	5,13 ±2,72 b	17,30 ±1,25 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

2.2. Bioensayos en campo con evaluación periódica durante el ciclo de los cultivos:

Los experimentos se realizaron en fincas del Dpto. Valle Viejo (28°28'19.52"S; 65°43'54.40"O) y de Miraflores (28°35'22"S; 65°53'45"O). Las colectas del experimento de topinambur en Valle Viejo, se realizaron a los 118, 125, 139, 146 y 153 días después de la implantación, y el experimento de Miraflores a los 147, 172, 192 y 222 días después de la implantación. Mientras, en el experimento de yacón de Valle Viejo, las colectas se efectuaron a los 35, 64, 114, 160 y 215 días después de la implantación.

Altura de plantas: Las plantas de topinambur y yacón inoculadas (T1, T2 y T3), presentaron mayor altura durante todo el ciclo del cultivo, registrándose diferencias estadísticamente significativas con respecto a los tratamientos testigos (T0) (Tablas 51 y 52). En el cultivo de topinambur de Miraflores se evaluó esta variable hasta los 192 días después de la implantación, porque posteriormente se produjo la “entrega” del cultivo donde los tallos se tornaron marrones, secos y quebradizos. Sin embargo, se registraron magnitudes similares a las obtenidas en los experimentos realizados por Reborá (2008).

Cantidad de tallos: Durante el desarrollo de los cultivos de topinambur y yacón, se observaron plantas con cantidades similares de tallos aéreos (Tablas 50, 51 y 52). Sin embargo, en la primera colecta del cultivo de topinambur, se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, donde la mayor cantidad de tallos aéreos se observaron en las plantas correspondientes al tratamiento de inoculación con el consorcio microbiano de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3) (Tablas 50). Donde el número de tallos obtenidos fue bastante mayor a los observados en experimentos previos (Réborá *et al.*, 2011).

Porcentaje de materia seca de tallos aéreos: En ambos cultivos y en casi todas las colectas no se registraron diferencias con significancia estadística entre los tratamientos (Tablas 50, 52 y 52), a excepción de la primera colecta de las plantas de topinambur de Miraflores, en la que, si se detectó diferencias estadísticas significativas, con mayores porcentajes de materia seca de tallos en las plantas inoculadas con el consorcio microbiano (T3) (Tabla 51). Los mayores valores de peso fresco de tallos se observaron en las plantas inoculadas (T1, T2 y T3), registrándose diferencias estadísticamente significativas, fundamentalmente en la fase de pleno crecimiento vegetativo (primeras colectas), momento en que los tallos son más turgentes y palatables

(Tablas 50, 51 y 52). Lo cual es importante para la producción de alimento para porcinos, quienes prefieren los tallos de topinambur en lugar de hojas.

Similar comportamiento se presentó con el peso seco de los tallos, pudiéndose alcanzar un promedio de 700 kg.ha⁻¹ de tallos secos con la aplicación de los microorganismos en estudio (T1 y T3) (Tabla 51), generando otro beneficio, dado que los tallos secos de estos cultivos son empleados en la generación de vapor y electricidad necesarios para el proceso fabricación de etanol (Lelio *et al.*, 2009), y combustible de bajo costo para el productor.

Tabla 50. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (altura, cantidad, materia seca, peso fresco y seco de tallos) producido en *campo del Departamento Valle Viejo*.

Trat.	Variable	Días después de la implantación de topinambur (Valle Viejo)				
		118	125	139	146	153
Testigo	Altura (cm)	83,33±8,02 d	153,0±11,5 b	128,3±45,6 b	112,7±12,9 b	113,7±26,1 c
	Nro.	4,67±0,58 a	9,0±1,0 a	10,0±7,55 a	12,0±1,73 a	7,67±2,52 a
	PF (g)	27,6±15,4 a	55,4±12,6 a	59,6±16,4 a	68,9±37,3 a	53,7±39,5 a
	PS (g)	11,9±6,2 a	24,7±7,9 a	22,9±10,8 a	20,5±5,3 a	19,4±12,3 a
	MS (%)	43,84±4,67 a	43,77±5,06 b	36,85±9,4 ab	36,73±19,7 a	40,99±17,1 a
Azosp.	Altura (cm)	179,0±7,2 b	192,0±3,0 a	179,7±32 ab	181,3±6,5 a	152,3±12,5 b
	Nro.	10,0±1,0 b	9,33±0,58 a	8,67±0,58 a	11,0±2,0 a	7,33±2,89 a
	PF (g)	166,9±10,6a	114,4±14 a	128,7±25 ab	129,1±11 bc	98,8±50,5 a
	PS (g)	43,2±4,7 a	36,9±1,9 a	39,4±1,20 a	37,7±4,2 bc	36,4±7,4 a
	MS (%)	25,86±1,36a	32,46±2,61 a	31,26±5,5 ab	29,14±1,63 a	40,9±14,9 a
Mico.	Altura (cm)	113,7±13,9c	176,7±4,2 ab	140,7±17 ab	158,7±11 b	161,7±10,3 b
	Nro.	6,0±1,0 a	9,33±1,53 a	9,0±3,61 a	10,0±2,0 a	7,33±0,58 a
	PF (g)	48,7±49,9a	119±9,5 a	177,8±64,9 b	102,5±10 ab	93,5±41,8 a
	PS (g)	16,2±12,4a	35,1±1,3 a	70,1±27 b	29,2±4,3 ab	32,9±7,4 a
	MS (%)	39,43±17,3a	29,58±1,46 a	39,13±1,68 b	28,36±1,75 a	39,22±17,0 a
Azosp. +Mico.	Altura (cm)	201,3±6 a	181,3±22,7 a	185,7±13,6 a	188,3±5,7 a	196,7±7,6 a
	Nro.	14,33±2,52c	10,67±2,08 a	9,33±2,08 a	10,0±1,0 a	5,67±3,51 a
	PF (g)	361,8±159 b	144,5±28,3 b	164,4±28,4 b	155,8±32,1 c	92,9±44,6 a
	PS (g)	136,2±70,6b	40±3,9 b	44,8±6 ab	43,6±6 c	33,7±8,9 a
	MS (%)	36,29±6,92a	28,09±3,10 a	27,47±3,82 a	28,36±3,94 a	40,61±13,7 a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P<0,05$.

Tabla 51. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (altura, cantidad, materia seca, peso fresco y seco de tallos) producido en *campo de Miraflores*.

Trat.	Variable	Días después de la implantación de topinambur (Miraflores)			
		147	172	192	222
Testigo	Altura (cm)	53,67±18,93 ab	51,33±19,86 a	67,67±49,05 a	-
	Nro.	6,67±4,04 a	14,33±11,85 a	11,33±8,39 a	4,33±2,08 a
	PF (g)	17,63±1,48 a	26,73±17,78 a	18,46±17,15 a	4,90±3,80 a
	PS (g)	6,35±1,72 a	16,83±17,05 a	12,07±11,45 a	3,50±2,82 a
	MS (%)	35,93±8,45 a	53,28±22,45 a	96,67±61,40 a	65,36±13,45 a
Azosp.	Altura (cm)	52,00±13,23 a	71,00±35,59ab	60,33±30,66 a	-
	Nro.	8,00±4,36 a	13,33±9,45 a	22,33±2,52 b	7,00±1,00 a
	PF (g)	31,07±5,46 b	40,34±10,43 a	34,75±26,41 a	14,83±10,13ab
	PS (g)	11,55±1,33 a	26,39±15,08 a	23,06±18,38ab	10,87±7,35 ab
	MS (%)	37,52±4,25 a	74,29±52,91 a	63,99±5,07 a	73,46±0,80 a
Mico.	Altura (cm)	82,33±18,72 bc	108,67±22,03 b	108,0±12,17 a	-
	Nro.	7,67±1,53 a	8,33±4,04 a	8,67±4,73 a	8,00±6,24 a
	PF (g)	46,44±0,53 c	76,00±22,11 a	41,96±16,41 a	21,93±10,77 b
	PS (g)	18,22±1,92 b	39,16±12,38 a	36,41±13,57ab	16,40±8,94 b
	MS (%)	39,22±3,69 ab	56,05±25,78 a	87,09±2,62 a	73,40±5,11 a
Azosp. +Mico.	Altura (cm)	86,33±12,34 c	97,33±23,01ab	109,0±7,00 a	-
	Nro.	2,67±2,08 a	16,33±10,97 a	11,67±5,51 ab	5,00±6,08 a
	PF (g)	23,48±9,60 ab	67,06±45,85 a	54,89±22,11 a	11,80±9,10 ab
	PS (g)	11,44±5,30 a	48,60±26,65 a	42,15±14,88 b	8,50±6,58 ab
	MS (%)	47,96±3,55 b	76,94±17,79 a	77,66±6,87 a	71,19±2,36 a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 52. Comparación de los parámetros agronómicos de yacón (altura, cantidad, peso fresco, peso seco y materia seca de tallos) producidos en *campo de Valle Viejo*.

Trat.	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		35	64	114	160	215
Testigo	Altura (cm)	2,83±1,04 a	11,5±1,5 a	24,33±5,9 a	47,7±1,9 a	73,0±7,2 a
	Nro.	2,33±0,58 a	2,33±0,58 a	3,33±0,58 a	4,0±1,0 a	4,0±2,65 a
	PF (g)	0,53±0,23 a	1,10±0,44 a	3,37±0,51 a	27,6±1,9 a	51,27±8,08 a
	PS (g)	0,10±0,05 a	0,22±0,11 a	0,6±0,08 a	4,98±0,4 a	9,32±1,5 a
	MS (%)	18,08±0,63 a	19,47±2,1 a	17,75±0,6 a	18,1±0,21 a	18,2±0,01 a
Azosp.	Altura (cm)	7,17±1,61 b	17,2±2,6 b	33,5±3,12 b	61,8±6,75 b	94,7±8,5 b
	Nro.	2,33±1,15 a	2,33±1,15 a	2,67±0,58 a	5,0±1,0 a	4,0±1,0 a
	PF (g)	1,0±0,17 b	1,73±0,4 ab	17,03±5,9 ab	37,9±4,1 b	67,7±4,9 b
	PS (g)	0,20±0,03 b	0,36±0,1 ab	3,62±1,26 b	8,03±0,9 b	14,4±1,1 b
	MS (%)	20,37±0,64 b	20,42±0,4 ab	21,23±0,04 b	21,2±0,01 b	21,2±0,03 b
Mico.	Altura (cm)	6,33±2,52 b	15,7±2,75 b	39,0±3,6 bc	60,0±6,2 b	101,7±7,4 b
	Nro.	2,33±0,58 a	1,67±0,58 a	3,0±1,0 a	3,0±1,0 a	4,33±0,58 a
	PF (g)	1,03±0,23 b	1,83±0,31 b	12,5±1,2 b	37,5±3,14 b	74,8±7,7b c
	PS (g)	0,20±0,05 b	0,38±0,06 b	2,65±0,25 b	7,96±0,7 b	15,9±1,6 b
	MS (%)	19,26±1,3 ab	20,56±0,1 ab	21,23±0,01 b	21,22±0,02 b	21,26±0,07 b
Azosp. +Mico.	Altura (cm)	6,17±1,04 b	17,7±1,53 b	42,2±3 c	68,2±4,3 b	104,7±12,6 b
	Nro.	1,67±0,58 a	2,33±0,58 a	3,0±0 a	3,67±1,5 a	2,67±0,58 a
	PF (g)	0,97±0,06 b	2,0±0,1 b	13,2±0,31 b	42,1±2,1 b	82,9±9,35 c
	PS (g)	0,22±0,02 b	0,44±0,03 b	3,06±0,07 b	9,8±0,5 c	19,3±2,14 c
	MS (%)	22,41±0,53 c	22,2±0,2 b	23,22±0,04 c	23,2±0,01 c	23,2±0,03 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Número de tubérculos por planta: En ambos cultivos se determinaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, donde las plantas inoculadas generaron mayor cantidad de tubérculos (Tablas 53, 54 y 55). Del experimento de Valle Viejo, la cantidad promedio de tubérculos de topinambur de plantas procedentes de los tratamientos inoculados está por encima a las observadas por Andrada *et al.* (2011), pero el número de tubérculos de las plantas testigos son similares a las obtenidas por estos investigadores. Mientras que, en el ensayo de Miraflores, la cantidad promedio de tubérculos de plantas inoculadas es coincidente a las observadas por Andrada *et al.* (2011), y la cantidad de tubérculos de las testigos estuvo muy por debajo a las informadas por estos investigadores, que desarrollaron sus experimentos en el Valle Central de la Provincia de Catamarca.

Peso de tubérculos por planta: Los mayores pesos de tubérculos por planta de topinambur y de yacón, se registraron en los tratamientos con la inoculación del consorcio microbiano de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3) y con la inoculación bacteriana (T1), donde se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de inoculación microbiana y los testigos, durante el desarrollo de los cultivos (Tablas 53, 54 y 55).

Porcentaje de materia seca de los tubérculos: En ambos cultivos se determinó un mayor porcentaje de materia seca de tubérculos procedentes de los tratamientos inoculados, principalmente con el consorcio microbiano (T3), observándose en la mayoría de las colectas diferencias estadísticas significativas con respecto a los controles (T0) (Tablas 53, 54 y 55).

Peso promedio de los tubérculos: Los tubérculos de topinambur y yacón, de mayor peso promedio se observaron en los tratamientos inoculados y fundamentalmente en las últimas colectas, registrándose diferencias estadísticas significativas en la mayoría de las colectas, con respecto al tratamiento testigo (Tablas 53, 54 y 55). En el experimento de Valle Viejo se obtuvieron a los 5 meses de cultivo, tubérculos de topinambur de 28 g promedio en T3, con un rango de variación de peso promedio de tubérculos 23,5 a 32,5 g. Mientras, en el experimento de Miraflores, en la última colecta (7,4 meses), se obtuvieron tubérculos de 34,5 g promedio en T3, con un rango de variación de peso promedio de tubérculos 31,8 a 37,2 g, pesos similares a los obtenidos por Andrada *et al.* (2011), quienes cosecharon a los 8 meses de la implantación y lograron tubérculos de 33 a 39 g, por lo que se estima que la cosecha anticipada es la razón fundamental de la menor

masa promedio de tubérculos, debido a que no se llegó con el experimento de Valle Viejo a la fase fenológica de maduración de tubérculos de topinambur que se caracteriza por la traslocación de nutrientes desde la parte aérea a los tubérculos.

Rendimiento (kg ó t de tubérculos por ha⁻¹): En la cosecha de tubérculos maduros de topinambur y yacón, los mayores rendimientos se lograron con la inoculación del consorcio microbiano de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3), momento en que se registraron diferencias estadísticas significativas en comparación a los tratamientos testigo (T0) (Tablas 53, 54 y 55). En el experimento de Valle Viejo, el mayor rendimiento promedio se estimó con la inoculación del consorcio microbiano (T3) a los 5 meses de la implantación del topinambur, logrando incrementos promedios del 76,8 % con respecto al tratamiento testigo, mientras que con la inoculación con *A. brasilense* (T1) incrementos del 37 % y con la aplicación de hongos micorrícicos (T2) del 20,8% promedio.

Tabla 53. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco y seco, materia seca, cantidad, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en *campo de Valle Viejo*.

Trat.	Variable	Días después de la implantación de topinambur (Valle Viejo)				
		118	125	139	146	153
Testigo	PF (g)	78,9±34,6 a	150,5±12,9 a	132,3±74,5 a	310,2±100,4a	357,7±252,2a
	PS (g)	16,5±8,1 a	30,5±3,3 a	27,8±15 a	55±14,6 a	71,8±50,5 a
	MS (%)	20,5±1,5 ab	20,2±0,8 a	21,3±1,2 a	18,5±4,8 a	20,1±0,1 a
	Nro.	10,7±4,2 a	28,3±9,9 a	17,3±11,2 a	19,7±5,1 a	20,7±11,1 a
	P.Medio (g)	7,3±0,5 a	5,8±1,9 a	8,3±1,9 a	15,6±2,3 a	15,9±3,9 a
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	149,2±10,5 a	117,6±39,7 a	168,6±38,5 a	318,8±45,9 a	324,5±80,7 a
Azosp.	PF (g)	472,9±2,8 b	373,4±16 d	330,5±89,5 b	442,9±382,8a	487,7±51,1 a
	PS (g)	107,5±2,6 b	78,3±1,1 c	69±20,4 b	104,1±69,6 a	101,7±10,4 a
	MS (%)	22,7±0,4 ab	21±0,6 a	20,8±0,8 a	26,1±4,8 b	20,9±0,05 b
	Nro.	43,7±6,5 b	24,0±3,6 a	22,3±1,5 a	40,3±7,6 c	22,3±2,1 a
	P.Medio (g)	11±1,6 ab	15,7±1,8 c	14,7±3,5 bc	10,9±8,9 a	21,8±0,3 ab
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	224,3±33,3ab	321,3±37,7 c	300,2±71,1bc	222,3±181 a	445,4±5,7 ab
Mico.	PF (g)	120,1±27,1 a	201,2±15,1 b	291,4±62,7 b	318,2±43,1 a	427,3±7,2 a
	PS (g)	22,9±10,4 a	53,6±10,4 b	66,6±18,9 b	65,3±10,6 a	89±1,5 a
	MS (%)	18,35±4,9 a	26,5±3,7 b	22,6±2,6 a	20,5±0,6 ab	20,8±0,01 b
	Nro.	12,7±2,5 a	23,3±3,5 a	15,7±1,5 a	25±3 ab	22,7±3,8 a
	P.Medio (g)	9,9±4,1 ab	8,7±0,7 b	18,5±3,02 c	12,9±2,9 a	19,2±3,2 a
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	203,1±84,1ab	177,3±13,9 b	377,9±61,7 c	263,3±58,1 a	392±65,5 a
Azosp+ Mico.	PF (g)	872,2±344,1c	236,9±21,4 c	260,1±16,6 b	308,5±75,4 a	505,5±157 a
	PS (g)	208,8±86,8 c	52±4,7 b	57,7±8,6 ab	68,4±12 a	109±36 a
	MS (%)	23,7±1,5 b	20,95±0,4 a	22,13±2,2 a	22,4±1,4 ab	20,1±0,1 b
	Nro.	54,7±10,6 b	39,7±2,1 b	26,3±9,9 a	31,3±4,2 bc	17,7±3,2 a
	P.Medio (g)	15,6±4,4 b	5,98±0,5 a	11,0±4,6 ab	9,8±1,2 a	28,1±4,4 b
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	318,3±89,2 b	122±10,8 a	224,8±93,2ab	199,4±24,9 a	573,9±90,3 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 54. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco y seco, materia seca, cantidad, peso promedio y rendimiento de tubérculos) producidos en *campo de Miraflores*.

Trat.	Variable	Días después de la implantación de topinambur (Miraflores)			
		147	172	192	222
Testigo	PF (g)	40,14±34,43 a	61,41±47,29 a	251,84±175,01 a	182,50±136,71 a
	PS (g)	8,03±6,88 a	12,23±9,43 a	50,36±34,99 a	36,52±27,35 a
	MS (%)	20,00±0,01 a	19,89±0,12 a	20,00±0,004 a	20,02±0,02 a
	Nro.	5,33±3,79 a	16,33±12,1 a	15,33±2,08 a	6,67±2,89 a
	P.Medio (g)	5,60±4,39 a	4,17±2,51 ab	15,58±10,27 a	27,92±24,13 a
	Rdto(kg.ha ⁻¹)	819,2±702,7 a	1253,3±965,1 a	5139,5±3571,5 a	3724,5±2790,0 a
Azosp.	PF (g)	38,70±48,08 a	55,68±33,3 a	374,18±212,51 a	320,57±237,27 ab
	PS (g)	7,89±9,81 a	11,53±7,02 a	51,01±55,66 a	64,77±45,66 ab
	MS (%)	20,34±0,10 b	20,62±0,22 b	14,48±10,83 a	20,29±0,25 b
	Nro.	6,33±6,81 a	20,33±9,07 a	26,67±2,89 a	9,67±5,86 ab
	P.Medio (g)	4,79±2,01 a	2,63±0,41 ab	14,05±8,40 a	29,04±10,23 a
	Rdto(kg.ha ⁻¹)	789,8±981,1 a	1136,4±679,5 a	7636,2±4336,8 a	6542,1±4842,2 ab
Mico.	PF (g)	71,82±57,94 a	58,01±21,13 a	416,98±66,20 a	347,93±174,93 ab
	PS (g)	14,96±12,07 a	12,10±4,37 a	88,74±14,09 a	72,49±36,44 ab
	MS (%)	20,79±0,07 c	20,88±0,10 b	21,28±0,003 a	20,83±0,0022 c
	Nro.	10,00±8,19 a	33,67±18,58 a	28,67±15,95 a	15,00±6,00 ab
	P.Medio (g)	6,73±2,13 a	1,97±0,70 a	16,55±5,55 a	22,34±4,73 a
	Rdto(kg.ha ⁻¹)	1465,8±1182,5 a	1183,9±431,1 a	8509,8±1350,9 a	7100,6±3569,9 ab
Azos+ Mico	PF (g)	106,33±42,68 a	76,55±42,61 a	338,35±75,58 a	584,0±26,09 b
	PS (g)	22,62±9,08 a	16,43±8,92 a	74,35±17,92 a	124,27±5,57 b
	MS (%)	21,27±0,003 d	21,58±0,53 c	21,91±0,55 a	21,28±0,003 d
	Nro.	13,33±6,03 a	16,33±7,57 a	26,00±6,56 a	17,00±2,0 b
	P.Medio (g)	8,40±2,16 a	4,56±0,40 b	13,14±1,27 a	34,56±2,72 a
	Rdto(kg.ha ⁻¹)	2069,9±871 a	1562,2±869,6 a	6905,1±1542,3 a	11918,3±532,41 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Con la co-inoculación (T3) se lograron rendimientos promedio de 573,94 kg.ha⁻¹, variando desde 483,6 kg.ha⁻¹ hasta 664,2 kg.ha⁻¹ (Tabla 53), magnitudes menores a las informadas por la bibliografía, lo cual se debe a la realización de una colecta muy temprana, de 3 meses antes de la cosecha tradicional. Mientras, en el experimento de Miraflores, con la co-inoculación (T3) se lograron rendimientos de superiores a los 11.000 kg.ha⁻¹ promedio, estimándose un máximo de 12.500 kg.ha⁻¹ (Tabla 54), magnitudes menores a las informadas en la bibliografía (Rebora, 2008; Lelio *et al.*, 2009; Rossi & Chicahuala, 2017). Sin embargo, *H. tuberosus* es una especie con potencial para producir energía y tiene ventajas sobre otros cultivos, principalmente su alto rendimiento de biomasa, que puede llegar a producir de 100 a 130 t de tubérculos por ha (Schorrgalindo & Guiraud, 1997). Hay antecedentes que señalan que a partir de 50 toneladas de tubérculos de topinambur pueden obtenerse 4500 l de etanol (Lelio *et al.*, 2009). Los rendimientos logrados indican que podrían obtenerse más de 1000 litros de etanol por

hectárea de cultivo de topinambur. Investigaciones realizadas en España indican que se puede obtener 1 l de etanol a partir de 12 kg de tubérculos de topinambur (Fernández, 1998). En el cultivo de yacón, el mayor rendimiento promedio se estimó con la inoculación del consorcio microbiano (T3) a lo largo de todo el ciclo del cultivo, logrando incrementos con respecto al tratamiento testigo, del 118,1% en la 3ra. colecta, en la 4ta. colecta del 61,8% y en la 5ta. colecta del 74% (Tabla 55).

Tabla 55. Comparación de los parámetros agronómicos de yacón (peso fresco y seco, materia seca, cantidad y rendimiento de tubérculos) producidos en *campo de Valle Viejo*

Trat.	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		35	64	114	160	215
Testigo	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	15,8±6,1 a	49,2±13,2 a	88,8±7,1 a
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	2,17±0,53 a	5,24±1,13 a	9,97±0,9 a
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	14,3±3,57 a	10,8±0,7 a	11,2±0,4 a
	Cantidad	0,0±0,0	0,0±0,0	1,67±0,58ab	2,33±0,58 a	2,67±1,53 a
	P.Medio (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	11,7±9,5 a	21,34±5,4 a	46,4±34,7 a
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	0,0±0,0	0,0±0,0	323,1±124,2a	1004±124,2 a	1812,9±144 a
Azosp.	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	29,5±4,2 ab	71,4±10,3 b	123,6±19,6 b
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	3,41±0,53ab	8,51±1,33 b	15,17±2,3 b
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	11,5±0,15 a	11,9±0,3 bc	12,3±0,4 b
	Cantidad	0,0±0,0	0,0±0,0	1,0±0 a	2,33±1,15 a	2,33±0,58 a
	P.Medio (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	29,5±4,2 b	41,94±34,4 a	55,3±17,1 a
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	0,0±0,0	0,0±0,0	602,7±85,5ab	1457,8±211 b	2521,8±400 b
Mico.	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	24,2±11,1ab	78,8±9,1 b	134,7±21,9 bc
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	3,16±0,79ab	8,9±0,9 b	15,56±2,5 bc
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	14,6±5,9 a	11,4±0,31ab	11,56±0,16 a
	Cantidad	0,0±0,0	0,0±0,0	2,0±0 b	2,0±1,0 a	2,67±1,15 a
	P.Medio (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	12,1±5,55 a	49,97±32,8 a	56,8±24,1 a
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	0,0±0,0	0,0±0,0	493,9±226ab	1607,5±186 b	2748±446 bc
Azosp+ Mico.	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	34,5±7,02 b	79,6±2,8 b	154,7±9,3 c
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	4,05±0,95 b	9,91±0,16 b	18,9±1,0 c
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	11,7±0,58 a	12,5±0,3 c	12,22±0,09 b
	Cantidad	0,0±0,0	0,0±0,0	1,33±0,58ab	2,67±0,58 a	2,67±0,58 a
	P.Medio (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	27,95±9,01 b	30,8±6,85 a	60,1±14,9 a
	Rdto.(kg.ha ⁻¹)	0,0±0,0	0,0±0,0	704,8±143,3b	1624,5±56,4 b	3157,1±189 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Porcentaje de materia seca de propágulos: Después de cuatro meses de la plantación de yacón, se obtuvieron propágulos y los más grandes, con los mayores valores biomasa y materia seca, se obtuvieron con la coinoculación microbiana (T3), donde se registraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos para estas variables (Tabla 56). Los propágulos más pequeños fueron los pertenecientes a los tratamientos testigos (T0).

Tabla 56. Comparación de los parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de propágulos) producidos en *campo de Valle Viejo*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		35	64	114	160	215
Testigo	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	8,63±1,66 a	32,0±14,9 a	117,1±8,6 a
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,9±0,15 a	3,75±1,8 a	12,5±0,66 a
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	10,5±0,31 a	11,6±0,2 a	10,7±0,26 a
Azospirillum	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	18,2±4,01 b	73,3±12,4 b	182,9±16,3 b
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	1,99±0,45 b	7,99±1,05 b	20,3±1,42 b
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	10,9±0,38ab	10,9±0,45 a	11,1±0,28ab
Micorrizas	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	21,6±7,3 b	71,4±15,9 b	176,3±20,9 b
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	2,46±0,82 b	8,09±1,65bc	20,1±1,58 b
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	11,4±0,52 b	11,4±0,74 a	11,5±0,51 b
Azosp. +Mico.	PF (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	21,3±4,5 b	88,8±17,6 b	197,5±4,3 b
	PS (g)	0,0±0,0	0,0±0,0	2,43±0,4 b	11,2±2,97 c	24,13±0,71 c
	MS (%)	0,0±0,0	0,0±0,0	11,5±0,6 b	12,7±0,2 b	12,2±0,09 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Peso Fresco de hojas por planta: La mayor producción de masa foliar se registró en las plantas de topinambur y yacón inoculadas, estableciéndose diferencias con el testigo con significancia estadística en la etapa fenológica de crecimiento vegetativo (Tablas 57, 58 y 59), caracterizada por la producción de hojas y tallos, calidad importante para el desarrollo y rendimiento de los cultivos.

Porcentaje de materia seca de hojas: En la mayoría de las colectas no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para esta variable (Tablas 57, 58 y 59). Sin embargo, en el experimento de topinambur de Valle Viejo, en dos colectas, los mayores porcentajes de materia seca se registraron en las plantas controles (T0), lo cual puede indicar la menor velocidad de traslocación de nutrientes y fotosintatos desde las hojas a los tubérculos, fundamentalmente.

Índice de Área Foliar (IAF): En ambos cultivos, se obtuvo los mayores IAF en los tratamientos inoculados, fundamentalmente con T3, durante el período de crecimiento vegetativo del cultivo, registrándose diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos inoculados en comparación con los tratamientos testigos (Tablas 57, 58 y 59). A medida que va evolucionando el cultivo, descendiendo la temperatura y acercándose el invierno, las hojas de las plantas de topinambur y yacón se van tornando amarillentas y caedizas, razón por la cual va disminuyendo el número de hojas y en consecuencia el IAF. La mayor producción de hojas de los tratamientos inoculados,

evidenciada por las variables evaluadas, explican la mayor producción de fotosintatos y su efecto directo sobre el crecimiento de los cultivos.

Tabla 57. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco, materia seca de hojas e índice de área foliar) producidos en *campo de Valle Viejo*.

Trat.	Var.	Días después de la implantación de topinambur (Valle Viejo)				
		118	125	139	146	153
Testigo	PF (g)	31,5±19,8 a	63,49±8,56 a	53,74±19,92 a	44,84±21,4 a	31,78±19,2 a
	PS (g)	15,7±8,7 a	26,58±14,6 a	21,25±12,4 a	22,33±10 a	16,65±9,6 a
	MS (%)	51,58±9,8 c	40,33±19,7 a	37,32±9,8 b	50,47±2,2 b	52,42±4,9 a
	IAF(cm ²)	1761±1105a	3549,3±478 a	3004,1±1114 a	2506,4±1197 a	1776,3±1074 a
Azosp.	PF (g)	197,9±2,7 b	120,95±17,8 b	113,23±2,7 b	103,7±21,7 bc	76,62±33,2 a
	PS (g)	60,77±6,8 bc	28,65±1,55 a	28,99±1,4 a	37,31±2,4 b	28,73±6,9 a
	MS (%)	30,8±3,9 ab	23,9±2,2 a	25,61±1,3 a	36,83±6,3 a	41,04±13,3 a
	IAF(cm ²)	11060±150 b	6761,2±994 b	6329,4±151 b	5798±1212 a	4283±1853 a
Mico.	PF (g)	58,47±47,4 a	101,39±8,6 b	91,89±14,9 ab	87,09±12,2 b	57,93±25,5 a
	PS (g)	32,02±33 ab	31,47±2,6 a	25,99±3 a	30,19±3,4 ab	28,58±8,1 a
	MS (%)	46,24±16 bc	31,05±0,3 a	28,45±1,5 ab	35,41±8,6 a	50,43±3,2 a
	IAF(cm ²)	3269±2650a	5668±483 b	5137±830 ab	4868,2±683 b	3238±1428 a
Azosp. +Mico.	PF (g)	339±109 c	123±14,8 b	121,6±33 b	128,7±17,7 c	81,5±48,2 a
	PS (g)	92,28±27,9 c	33,34±5,1 a	35,26±8,3 a	35,63±5,3 b	24,15±9,7 a
	MS (%)	27,39±0,92 a	27,04±1,2 a	29,2±1,3 ab	27,67±0,6 a	34,84±13,2 a
	IAF(cm ²)	18949±6103c	6874±827 b	6798,4±1844 b	7192±993 c	4554,8±2695 a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 58. Comparación de los parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco, materia seca de hojas e índice de área foliar) producidos en *campo de Miraflores*.

Trat.	Variable	Días después de la implantación (Miraflores)			
		147	172	192	222
Testigo	PF (g)	22,57±4,5 a	35,96±23,4 a	17,31±14,8 a	0,37±0,15 a
	PS (g)	9,67±2,2 a	11,22±8,6 a	14,37±12,2 a	0,37±0,06 a
	MS (%)	43,37±10,7 a	28,87±5,7 a	106,55±42,1 a	110,00±36,1b
	IAF(cm ²)	1261,5±248,6 a	2010,4±1307,4a	967,83±824,7a	20,50±8,5a
Azosp.	PF (g)	38,61±11,7 ab	50,21±44,9 a	33,28±28,2 a	1,83±0,25 b
	PS (g)	14,75±4,1 a	19,43±13,2 a	29,13±25,8 a	1,4±0,26 a
	MS (%)	38,58±5,99 a	71,16±65,5 a	83,77±6,7 a	76,29±8,3 ab
	IAF(cm ²)	2158,1±652,6ab	2806,6±2507,4a	1860,19±1576,7a	102,48±14 b
Mico.	PF (g)	44,48±17,4 b	45,22±26,9 a	14,59±9,01 a	1,67±1,4 ab
	PS (g)	18,61±8,76 a	22,47±11,36 a	14,26±8,4 a	1,50±1,39 ab
	MS (%)	40,62±5,36 a	55,57±18,3 a	99,05±3,2 a	88,89±14,3 ab
	IAF(cm ²)	2486,5±974,1b	2528±1506 a	815,59±503,8 a	93,17±80,3 ab
Azosp. +Mico.	PF (g)	19,15±6,34 a	67,32±37,9 a	35,88±17,02 a	0,63±0,5 ab
	PS (g)	10,38±2,23 b	36,34±26,7 a	34,32±16,7 a	0,32±0,2 a
	MS (%)	57,01±17,7 a	51,92±12,04 a	94,84±4,6 a	56,67±12,8 a
	IAF(cm ²)	1070,5±354,1 a	3763,4±2116,1 a	2005,71±951,5 a	35,40±25,8 ab

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 59. Comparación de los parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco, materia seca de hojas e índice de área foliar) producidos en *campo de Valle Viejo*.

Trat.	Var.	Días después de la implantación de yacón				
		35	64	114	160	215
Testigo	PF (g)	0,30±0,1 a	0,7±0,35 a	10,5±2,3 a	25,1±1,85 a	48,3±7,7 a
	PS (g)	0,03±0,01a	0,09±0,05 a	0,32±0,04 a	2,69±0,21 a	0,5±0,07 a
	MS (%)	9,8±1,04a	16,63±13,1 a	3,15±0,4 a	10,7±0,16 a	1,04±0,03 a
	IAF(cm ²)	15,0±5,0 a	35,0±17,3 a	523,3±117,2a	1255±92,6 a	2415±384,5 a
Azosp.	PF (g)	0,5±0,1 b	1,4±0,6 b	960±39,7 b	36,4±3,08 bc	65,4±5,5 b
	PS (g)	0,05±0,01b	0,21±0,05 b	4,77±0,81 b	3,85±0,28 b	7,14±0,26 b
	MS (%)	10,7±0,3ab	15,6±3,14 a	12,42±3,2 c	10,6±0,2 a	10,94±0,5 b
	IAF(cm ²)	25,0±5,0 b	70,0±27,8 b	738,3±40,7 b	1818,3±154,1bc	3271,7±276 b
Mico.	PF (g)	0,57±0,12b	1,63±0,3 b	17,8±1,5 c	35,9±3,23 b	73,7±7,6 bc
	PS (g)	0,07±0,01b	0,22±0,05 b	1,37±0,08 b	3,91±0,16 b	8,04±0,82 b
	MS (%)	11,9±1,5 b	13,37±0,7 a	7,73±0,51 b	10,9±0,6 a	10,9±0,1 b
	IAF(cm ²)	28,3±5,8 b	81,7±15,3 b	891,7±75,2 c	1797±161,6 b	3686,7±380 bc
Azosp. +Mico.	PF (g)	0,57±0,06b	1,8±0,1 b	19,2±0,8 c	40,9±1,7 c	84,7±7,9 c
	PS (g)	0,06±0,01b	0,25±0,02 b	1,5±0,06 b	4,42±0,2 c	9,38±0,8 c
	MS (%)	11,2±0,3ab	13,9±0,6 a	7,79±0,23 b	10,8±0,06 a	11,09±0,89 b
	IAF(cm ²)	28,3±2,9 b	90,0±5,0 b	960±39,7 c	2045±87,2 c	4236,7±395,7c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Porcentaje de materia seca de raíces: En ambos cultivos, la mayor producción de materia seca de raíces se obtuvo en las plantas inoculadas, registrándose en la mayoría de las colectas diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos inoculados en comparación con los testigos (Tablas 60, 61 y 62).

Tabla 60. Comparación de los parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en *campo de Valle Viejo*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de topinambur (Valle Viejo)				
		118	125	139	146	153
Testigo	PF (g)	18,11±9,1 a	40,3±3,8 a	34,42±15,7 a	40,26±5,92 a	35,92±19,8a
	PS (g)	8,19±4,1 a	8,86±1,8 a	12,36±8,7 a	12,01±3,7 a	11,24±5,15a
	MS (%)	33,09±19,9 a	21,84±2,5 a	32,85±16,8 a	29,40±4,8 a	33,52±6,2 a
Azospirillum	PF (g)	68,53±2,43ab	79,5±2,7 b	69,87±27,4ab	79,36±22 bc	30,67±9,6 a
	PS (g)	17,14±2,35 a	22,11±2,2 b	19,11±7,9 a	18,16±2,95 b	13,24±7,6 a
	MS (%)	24,95±2,6 a	27,77±1,8 b	27,15±1,7 a	23,48±3,3 a	41,04±10,4a
Micorrizas	PF (g)	21,93±15,1 a	73,87±10 b	44,18±11,4 a	47,34±10,4ab	34,84±14,2a
	PS (g)	9,22±7,53 a	16,39±3,8 b	12,99±4,5 a	11,46±1,81 a	11,78±5,7 a
	MS (%)	37,54±20,9 a	22,06±2,6 a	28,87±3,2 a	24,53±2,9 a	33,32±3,4 a
Azosp. +Mico.	PF (g)	117,2±66,4 b	104,8±14,1c	102,6±44,9 b	112,6±26,3 c	46,12±17,9a
	PS (g)	41,22±21,24b	23,51±3 c	25,16±8,6 a	27,15±2,96 c	16,37±6,7 a
	MS (%)	36,63±3,9 a	22,44±0,4 a	25,49±3,4 a	24,62±3,2 a	35,23±1,5 a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Debido a que la mayor biomasa fresca y seca de raíces se observó en los tratamientos inoculados, en magnitudes muy superiores a los testigos, resultados que evidencian la actividad promotora del crecimiento de las raíces de los microorganismos en estudio.

Tabla 61. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en *campo de Miraflores*.

Trat.	Variable	Días después de la implantación (Miraflores)			
		147	172	192	222
Testigo	PF (g)	21,06±3,9 ab	145,55±94,9 a	26,83±21,6 a	15,67±15,7 a
	PS (g)	7,51±0,9 a	12,66±5,1 a	7,75±5,1 a	6,17±5,9 a
	MS(%)	36,74±9,1 a	10,82±5,4 a	49,79±39 a	42,99±6,2 a
Azosp.	PF (g)	23,24±8,9 ab	236,33±155,3 ab	57,60±37,8 a	37,90±28,03 ab
	PS (g)	9,67±3,5 a	21,85±17,5 a	25,70±19,01 a	19,63±14,6 ab
	MS(%)	41,80±3,6 ab	18,14±24,4 a	45,05±11,45 a	50,18±4,9 a
Mico.	PF (g)	31,81±11,8 b	428,57±190,2 b	41,96±16,4 a	64,20±26,5 ab
	PS (g)	11,11±2,3 a	23,51±13,8 a	36,41±13,6 a	34,03±16,7 ab
	MS(%)	36,51±7,9 a	6,95±6,6 a	87,09±2,6 a	51,41±7 a
Azosp. +Mico.	PF (g)	13,28±6,9 a	181,92±81,15 ab	74,04±69 a	80,87±30,6 b
	PS (g)	6,48±3,2 a	29,04±13,6 a	34,00±29,45 a	43,30±20,8 ab
	MS(%)	49,10±3,6 b	17,23±6,9 a	46,92±10,65 a	52,62±6,8 a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 62. Comparación de parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de raíces) producidos en *campo de Valle Viejo*.

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		35	64	114	160	215
Testigo	PF (g)	0,17±0,12 a	1,33±0,12 a	10,9±2,66 a	75,33±7,6 a	108,5±48,8 a
	PS (g)	0,02±0,01 a	0,14±0,01 a	1,18±0,3 a	7,81±0,78 a	11,23±4,98 a
	MS (%)	9,78±1,95 a	10,83±0,3 ab	10,79±1,03a	10,37±0,09 a	10,37±0,07 a
Azospirillum	PF (g)	0,4±0,17ab	4,8±1,71 b	31,5±9,07b	99,67±27 a	160,4±40 ab
	PS (g)	0,04±0,02ab	0,51±0,18 b	3,44±0,81b	11,09±3,4 a	18,09±4 bc
	MS (%)	10,61±1,19ab	10,55±0,07 a	11,09±0,98 a	11,07±0,3 b	11,34±0,41 b
Micorrizas	PF (g)	0,47±0,21ab	4,73±1,59 b	36,3±11,9b	93,27±27 a	160±3,44ab
	PS (g)	0,05±0,02bc	0,53±0,17bc	4,18±1,31b	11,22±3,03 a	16,35±0,61ab
	MS (%)	11,41±0,82ab	11,21±0,21 b	11,57±0,44 a	12,07±0,58 c	10,22±0,26 a
Azosp. +Mico.	PF (g)	0,63±0,15 b	7,63±2,24 b	35,23±9,3 b	106,9±24,8 a	194,2±11 b
	PS (g)	0,08±0,01 c	0,83±0,21 c	4,03±1,0 b	12,48±2,76 a	22,86±1,01 c
	MS (%)	12,33±0,76 b	10,93±0,57ab	11,51±0,6 a	11,7±0,2b c	11,78±0,24 b

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Las evaluaciones de plantas completas durante el desarrollo de cada cultivo, mostraron un mayor crecimiento de las plantas inoculadas durante todo su ciclo, registrándose diferencias estadísticas significativas con respecto al testigo (Tablas 63, 64 y 65). La biomasa total de plantas de topinambur procedentes de los tratamientos de

coinoculación con el consorcio microbiano (T3), fueron significativamente apreciables, lográndose en promedio de los dos experimentos, 14.320 kg.ha⁻¹. Similar comportamiento se observó en el cultivo de yacón, que con la coinoculación del consorcio microbiano (T3) se produjeron 22.250 kg.ha⁻¹ de biomasa.

Tabla 63. Comparación de parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de planta completa) producidos en *campo de Valle Viejo*

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de topinambur (Valle Viejo)				
		118	125	139	146	153
Testigo	PF (g)	156,2±75,4 a	309,8±37,9a	280±121,1a	464,2±163,9a	479,1±305,1a
	PS (g)	50,3±26,2 a	90,6±26,4a	84,3±44 a	109,9±26,4 a	119,1±74,6 a
	MS (%)	31,7±2,6 a	28,8±5,5 a	28,9±4,3 a	24,6±3,8 a	25,3±1,2 a
Azospirillum	PF (g)	906,1±10,6 b	688,2±50,4 c	642,3±95,7 b	755,1±332,3a	693,8±124,4a
	PS (g)	228,6±5,6 a	166±6,6 b	156,5±28,6 b	197,2±61,1 b	180,1±20,9 a
	MS (%)	25,24±0,8 a	24,2±0,9 b	24,3±1,34 a	27±3 a	26,1±1,5 a
Micorrizas	PF (g)	249,1±70,4a	495,4±42,5b	605,2±50,1 b	555,1±25,6 a	613,6±77,7 a
	PS (g)	80,3±38 a	136,5±17,5b	162,3±45,3 b	136,1±7,6 ab	162,3±15,6 a
	MS (%)	31,1±6,9 a	27,5±1,2 a	26,7±6,18 a	24,52±0,8 a	26,5±1,1 a
Azosp. +Mico.	PF (g)	1690±676 c	609,2±77,7 c	648,8±119,5b	705,5±50,6 a	726±266,5a
	PS (g)	478,5±206 b	148,9±16,5b	162,9±31,4 b	174,8±3,6 b	138,6±65,8 a
	MS (%)	27,9±1,8 a	24,47±0,58a	25,1±1,55 a	24,84±1,5 a	20,5±9,2 a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 64. Comparación de los parámetros agronómicos de topinambur (peso fresco, peso seco y materia seca de planta completa) producidos en *campo de Miraflores*.

Trat.	Variable	Días después de la implantación (Miraflores)			
		147	172	192	222
Testigo	PF (g)	101,40±33,1 a	218,37±207 a	314,44±227,3 a	203,43±152,7 a
	PS (g)	31,56±11,3 a	52,94±39,9 a	84,55±62,5 a	46,55±34,9 a
	MS(%)	30,87±1,9 a	27,68±11,6 ab	26,53±1,3 ab	23,10±0,8 a
Azosp.	PF (g)	131,12±43,6 a	382,57±146,7 ab	499,80±301,4 a	375,13±272 ab
	PS (g)	43,86±12,3 ab	79,19±23,1 a	128,91±111,8 a	96,67±68,5 a
	MS(%)	33,72±2,7 a	21,21±2,7 ab	25,11±9,3 a	26,39±1,5 a
Mico.	PF (g)	194,55±64,3 a	607,80±197,6 b	523,90±71,2 a	435,13±272 ab
	PS (g)	62,90±20,2 b	97,24±39,03 a	160,50±33 a	124,42±15 ab
	MS(%)	32,43±0,7 a	16,85±8,1 a	30,57±4,3 ab	30,42±8,5 a
Azosp. +Mico.	PF (g)	162,23±64,3 a	392,85±166,6 ab	503,16±97,6 a	677,30±61,4 b
	PS (g)	50,92±18 ab	130,41±76 a	184,81±50,3 a	176,40±29,5 b
	MS(%)	31,69±3 a	32,77±8 b	36,76±6,6 b	25,93±2,2 a

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

Tabla 65. Comparación de los parámetros agronómicos de yacón (peso fresco, peso seco y materia seca de planta completa) producidos en *campo de Valle Viejo*

Tratamiento	Variable	Días después de la implantación de yacón				
		35	64	114	160	215
Testigo	PF (g)	1,0±0,44 a	3,13±0,67a	57,83±14,5 a	241,3±26,9a	531,1±24,8a
	PS (g)	0,09±0,03 a	1,38±0,39a	4,93±0,91 a	22,09±1,69 a	39,06±3,87a
	MS (%)	9,53±0,81 a	43,5±3,4 b	8,64±0,83 a	9,18±0,31 a	7,34±0,43a
<i>Azospirillum</i>	PF (g)	1,9±0,44 b	7,93±2,62b	129,3±9,2 b	392±35,2 b	782,9±21,2b
	PS (g)	0,21±0,07 b	2,52±0,62b	12,9±0,92 b	35,52±2,88 b	69,05±3,26b
	MS (%)	10,84±0,94ab	32,27±2,64a	9,97±0,17ab	9,07±0,28 a	8,82±0,2bc
Micorrizas	PF (g)	2,03±0,59 b	8,2±1,2bc	133,9±19,5 b	388,3±51,5 b	795,7±78,2b
	PS (g)	0,23±0,07 b	2,63±0,25b	13,4±1,48 b	36,26±4,6 bc	68,76±4,2 b
	MS (%)	11,54±0,13 b	32,63±6,17a	10,06±1,01ab	9,34±0,29 a	8,66±0,34b
<i>Azosp.</i> +Mico.	PF (g)	2,17±0,25 b	11,43±2,04c	144,8±15,9 b	447,2±54,8 b	911,6±15,8 c
	PS (g)	0,3±0,05 b	3,12±0,09b	15,25±2,09 b	42,69±4,3 c	84,48±1,73 c
	MS (%)	13,93±0,75 c	27,84±4,46a	10,52±0,79 b	9,56±0,23 a	9,27±0,18 c

Letras no comunes en una misma variable denotan diferencias significativas según Prueba de LSD (Mínima diferencia significativa) para $P < 0,05$.

DISCUSIÓN

Si bien los resultados obtenidos son en muchos casos inferiores a los logrados en otras partes del mundo, también son muchas las razones que pueden explicar las diferencias. Los cultivos de topinambur y yacón, tienen una buena demanda hídrica (mayores de 800mm), pero pueden sobrevivir largos períodos de sequía, siendo afectada significativamente su productividad en estas condiciones (Muñoz Jáuregui, 2010). Estas circunstancias son frecuentes en el valle central de la Provincia de Catamarca, inmerso en la región semiárida con problemas de acceso al agua de riego. Además, existe una relación directa entre el tamaño del tubérculo o del propágulo “semilla” y la productividad de la planta. En yacón, la plantación de propágulos de 50 gramos dio un promedio en rendimiento de raíz tuberosa de 2 kg/planta ó 26,6 t/ha, de 200 gramos dio 5 kg/planta ó 66,5 t/ha y de 500 gramos produjo 6 kg/planta ó 79,8 t/ha, demostrando que el peso de los propágulos tiene un gran efecto en el rendimiento de raíz tuberosa de yacón (Muñoz Jáuregui, 2010). En este trabajo, se inició las plantaciones de yacón con propágulos de 30 g promedio, esta es una de las razones principales de los bajos valores de productividad obtenidos. Se recomienda que una pieza de propágulos de 180-200 g sea utilizado para establecer cultivos de yacón para la producción de raíz tuberosa. El uso de este peso de la siembra, aumentó las coronas en peso 10 veces (Muñoz Jáuregui, 2010).

Sin embargo, los resultados obtenidos evidenciaron un incremento de las diferentes variables de producción vegetal evaluadas (altura de planta, cantidad de tubérculos y

propágulos, peso fresco y peso seco de tallos, raíces, propágulos y tubérculos) en plantas de topinambur y de yacón por efecto de la inoculación con microorganismos nativos de *A. brasilense* y hongos micorrícicos, registrándose diferencias estadísticas significativas con respecto a las plantas controles sin inoculación. Por lo que, la mayor productividad de estos cultivos se obtiene mediante la inoculación microbiana de las “semillas” (tubérculos y propágulos) en el momento de la implantación de los cultivos.

El consorcio microbiano utilizado, conformado por cepas nativas, bacteriana y fúngicas, generó los mejores resultados debido a la mayor toma de agua y nutrientes, y fundamentalmente de nitrógeno que puede incorporarse al suelo por fijación biológica nitrógeno, ya que la bacteria *A. brasilense* tiene esa capacidad, además de sintetizar auxinas y otras fitohormonas (Larraburu *et al.*, 2016). La mayor captación de agua y nutrientes, especialmente de aquellos poco móviles como el fósforo, facilitan la disponibilidad y la asimilación por las plantas (Kirk *et al.*, 2001; Selosse *et al.*, 2006; Harrison, 2005.; Wang & Qiu, 2006). Además, estos microorganismos se ubican y colonizan sitios en las raicillas, que podrían ser ocupados potencialmente por fitopatógenos (Newsham *et al.*, 1995).

La selección de microorganismos efectivos en la promoción del crecimiento de los cultivos es un gran desafío. La adaptación al medio al que son introducidos y la compatibilidad entre los microorganismos que componen los consorcios microbianos y estos con las plantas, pueden ser los factores que impidan su uso en la producción agrícola.

Este trabajo contribuye a hacer evidente el potencial de los microorganismos seleccionados como alternativa para mejorar la nutrición y productividad de los cultivos de topinambur y yacón. Estos resultados podrían sustentar la posible utilización de inoculantes microbianos en la producción de estos cultivos, lo cual evitaría o disminuiría el uso de fertilizantes químicos. También, indican que hubo un efecto directo de la inoculación microbiana sobre el crecimiento y rendimientos de los cultivos de topinambur y yacón. Además, es importante señalar que estas interacciones microbianas con raíces de topinambur y de yacón, se lograron con microorganismos nativos y que los cultivos se realizaron en lotes sin historial de producción previa de estos cultivos, sumado a que son cultivos no tradicionales en la provincia y que son producidos casi exclusivamente por un solo agricultor en la zona del Valle Central de Catamarca.

CONCLUSIONES

- Las inoculaciones de los tubérculos y propágulos “semilla” en el momento de la implantación de los cultivos de topinambur (*H. tuberosus*) y yacón (*S. sonchifolius*) con los microorganismos seleccionados generaron un efecto positivo en todas las condiciones de cultivo y variables evaluadas mejorando su desarrollo y productividad debido a la mejor y mayor nutrición.

- Se detectaron diferencias significativas en las variables evaluadas por efecto de los tratamientos aplicados a los cultivos de topinambur y yacón. La cosecha de los cultivos en la etapa fenológica de “entrega” y madurez de tubérculos junto a las variables asociadas a la producción de tubérculos (cantidad, peso fresco, peso seco, rendimiento, etc.) son las más consistentes.

- La aplicación del consorcio microbiano aumentó la potencialidad del cultivo obteniéndose los mejores resultados, se debieron a la coinoculación con el consorcio de *A. brasilense* y hongos micorrícicos (T3), lográndose incrementos del rendimiento del 77% promedio, superando ampliamente a los controles.

- La aplicación de los microorganismos en estudios, en la implantación de los cultivos de topinambur y yacón en ensayos en invernáculo y en campo, permitió el establecimiento de relaciones benéficas, asegurando la sobrevivencia, promoviendo el crecimiento de las plantas en sus primeras fases de crecimiento fundamentalmente e incrementando el rendimiento de los cultivos.

- Los inóculos microbianos utilizados en estos experimentos son especies nativas, y por su origen han generado mecanismos de adaptación más adecuados a las condiciones del entorno, por lo que se estima que esta es una de las razones por lo cual se han presentado resultados promisorios para el crecimiento de los cultivos de topinambur y yacón.

- Este estudio es pionero en la zona estudiada, por lo que se considera muy promisorio para obtener una mayor producción de topinambur e innovar con el cultivo del yacón, ambos para su aplicación con múltiples propósitos.

BIBLIOGRAFÍA

Andrada H.; Di Barbaro G.; Paz de Arias I.; Clérici S.; Eliazarian M.; Córdoba R. (2011).

Evaluación productiva del cultivo de *Helianthus tuberosus* para las condiciones agroclimáticas de Catamarca. Evaluación invernal. ReBeA. 1(2):159-160.

- Arnao I.; Seminario J.; Cisneros R.; Trabucco J. (2011). Potencial antioxidante de 10 accesiones de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, procedentes de Cajamarca – Perú. Anales de la Fac. de Medicina. (<http://dx.doi.org/10.15381/anales.v72i4.1075>).
- Bach V.; Clausen M.R.; Edelenbos M. (2015). Production of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) and Impact on Inulin and Phenolic Compounds. Chapter 12. Vegetables and root crops. Cap.12 :97-102.
- Bach V.; Jensen S.; Kidmose U.; Sorensen J.N.; Edelenbos M. (2013). The effect of culinary preparation on carbohydrate composition, texture and sensory quality of Jerusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus* L.). LWT - Food Sci. Technol. 54:165-170.
- Baker L.; Thomassin P.J.; Henning J.C. (1990). The economic competitiveness of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) as an agricultural feedstock for ethanol production for transportation fuels. Can. J. Agric. Econ. 38 (4(II)):981-990.
- Bauer H.; Laso R. (1974). El cultivo del topinambur (*Helianthus tuberosus* L.). Información técnica número 58, INTA, EEA Manfredi.
- Berenji J.; Sikora V. (2001). Variability ASd stability of tuber yield of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). Helia. 24:25-32.
- Caballero-Mellado J. (2002). El género *Azospirillum*. :177-198. In “Microbios en línea”. (E. Martínez-Romero y J. Martínez-Romero). Univ. Nac. Autónoma de México. (<http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios>).
- Cabrera M. (2005). Manual del cultivo de yacón. Experiencias de introducción y manejo técnico en el Valle de Condebamba. Cajamarca. Perú. :47p.
- Calle M.P.; Catacata A. (2012). Yacón en Jujuy Un alimento ancestral. Localidad de Bárcena – Dpto. Tumbaya – Jujuy – República Argentina. :26p.
- Cano Romero M.A. (2016). Propagación clonal del yacón [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. and Endl.) H. Robinson] y determinación de los contenidos de inulina. Tesis de Magíster en Biotecnología. Medellin. :63p.
- Chen F.; Long X.; Yu M.; Liu Z.; Liu L.; Shao H. (2013). Phenolics and antifungal activities analysis in industrial crop Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) leaves. Ind. Crops & Prod. 47:339-345.

- Cosgrove D.R.; Oelke D.A.; Doll J.D.; Davis D.W.; Undersander D.J.; Oplinger E.S. (1991). Topinambur. Alternative Field Crops Manual. Jerusalem artichoke. (<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/jerusart.html>).
- Davidson M.H.; Maki K.C. (1999). Effects of dietary inulin on serum lipids. J. Nutr. 1999. The J. of Nutrit. (<https://doi.org/10.1093/jn/129.7.1474S>).
- Di Rienzo J.A.; Casanoves F.; Balzarini M.G.; Gonzalez L.; Tablada M.; Robledo C.W. (2018). InfoStat versión 2018. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Univ. Nac. de Córdoba, Argentina. URL (<http://www.infostat.com.ar>).
- Döbereiner J.; Baldani V.L.D.; Baldani J.I. (1995). Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas ñao leguminosas. Brasília: EMBRAPA-SPI. Itaguaí, RJ: EMBRAPA-CNPAB. :11-60.
- Duke J.A. (1983). *Helianthus tuberosus* L. Handbook of energy crops. (http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke.energy/Helianthus_tuberosus.html).
- Fernández E.C.; Viehmannová I.; Lachman J.; Milella L. (2006). Yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poeppig & Endlicher) H. Robinson]: a new crop in the Central Europe. Plant Soil Environ. 52(12):564-570.
- Fernández J. (1998). Production costs of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) for ethanol production in Spanish irrigated lands. (<http://www.eeci.net/archive/biobase/B10245.html>).
- Genta S.; Cabrera C.; Habib N.; Pons J.; Manrique I.; Grau A.; Sánchez S. (2009). Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. Clinical Nutrit. 28(2):182-187.
- Geyer M.; Manrique I.; Degen L.; Beglinger C. (2008). Effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on colonic transit time in healthy volunteers. Digestion. 78(1):30-33.
- Giampaoli G.; Brandán de Weht C.I.; Enrico R.J.; Coll Aráoz M.V.; Lencina V. (2014). Efecto de la esterilización con métodos físicos en suelo, sobre la flora micorrícica y en el cultivo del yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en Horco Molle, Tucumán. Rev. agron. noroeste argent. 34(2):36-39.
- Ibarguren L.; Calderon M.; Tessaro S.; Bertona A.; Rebora C. (2019). Evaluación sensorial del topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) como alimento. RIA. INTA, Argentina. 45(2):204-210.
- Harrison M.J. (2005). Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Annu. Rev. Microbiol. (<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.58.030603.123749>).

- Ibarguren L. (2015). Efecto del momento de cosecha sobre la calidad hortícola del topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) conservado en cámara frigorífica. Tesis de maestría de Horticultura. Univ. Nac. de Cuyo. Mendoza. :87p.
- Judprasong K.; Archeepsudcharit N.; Chantapiriyapoon K.; Tanaviyutpakdee P.; Temviriyankul P. (2018). Nutrients and natural toxic substances in commonly consumed Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tuber. Food Chem. 238:173-179.
- Kamp L.; Hartung J.; Mast B.; Graeff-Hönninger S. (2019). Tuber Yield Formation and Sugar Composition of Yacon Genotypes Grown in Central Europe. Agron. (<https://doi.org/10.3390/agronomy9060301>).
- Kays S.J.; Nottingham S.F. (2008). Biology and chemistry of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). CRC Press. Taylor & Francis Group. :478 p.
- Kirk P.M.; Cannon P.F.; David J.C.; Stalpers J. (2001). Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. 9th ed. CAB International, Wallingford, UK. ([https://doi.org/10.1016/S0024-2829\(03\)00055-0](https://doi.org/10.1016/S0024-2829(03)00055-0)).
- Klímek P.; Meinschmidt P.; Wimmer R.; Plinke B.; Schirp A. (2016). Using sunflower (*Helianthus annuus* L.), topinambour (*Helianthus tuberosus* L.) and cup-plant (*Silphium perfoliatum* L.) stalks as alternative raw materials for particleboards. Ind. Crops & Prod. (<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.004>).
- Lal K.; Subba Rao M.A. (1951). Rapid Method of Leaf Area Determination. Nature. (<https://doi.org/10.1038/167072a0>).
- Larraburu E.E.; Yarte M.E.; Llorente B.E. (2016). *Azospirillum brasilense* inoculation, auxin induction and culture medium composition modify the profile of antioxidant enzymes during in vitro rhizogenesis of pink lapacho. Plant Cell Tiss Organ Cult (<https://doi.org/10.1007/s11240-016-1060-z>).
- Lelio H.; Reborá C.; Gómez L. (2009). Potencial de obtención de bioetanol a partir de topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) regado con aguas residuales urbanas. Rev. FCA UNCuyo. Tomo XLI(1):123-133.
- Lima Verde Leal M.R.; Tarántola F.; Roggiero A.; Castro D.; Barbosa Cortez L. A. (2008). Biomassa para energía. Capítulo 5: Producao de etanol em regioes semi-áridas. UNICAMP Editora. :113-131.
- Manacorda A.M.; Cuadros D.P.; Álvarez A.S. (2007). Manual Práctico de Microbiología - Tomo I: Microbiología Ambiental I. Cap. 8: Recuento de Microorganismos. :8p.

- Manrique I.; Hermann M. (2003). El potencial del yacón en la salud y la nutrición. XI Congreso Internacional de Cultivos Andinos. Cochabamba, Bolivia. :15-19.
- Manrique I.; Párraga A.; Hermann M. (2005). Yacón syrup: Principles and processing (8B). Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. :31p.
- McGonigle T.P.; Miller M.H.; Evans D.G.; Fairchild G.L.; Swan J.A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115:495-501.
- Mrosk C.; Forner S.; Hause G.; Küster H.; Kopka J.; Hause B. (2009). Composite *Medicago truncatula* plants harbouring *Agrobacterium rhizogenes*-transformed roots reveal normal mycorrhization by *Glomus intraradices*. *J. Exp. Bot.* 60(13): 3797-3807.
- Muñoz Jáuregui A.M. (2010). Monografía del yacón *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.). Perúbiodiverso. Lima, Perú. (<http://perubiodiverso.pe/assets/Monograf%C3%ADa-del-yac%C3%B3n.pdf>).
- Newsham K.K.; Fitter A.H.; Watkinson A.R. (1995). Multi-functionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. *Trends in Ecol. Evol.* 10:407-411.
- Okada N.; Kobayashi S.; Moriyama K.; Miyataka K.; Abe S.; Sato C.; Kawazoe K. (2017). *Helianthus tuberosus* (Jerusalem artichoke) tubers improve glucose tolerance and hepatic lipid profile in rats fed a high-fat diet. *Asian Pacific J. of Trop. Medic.* (<http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.03.028>).
- Parameswaran M. (1995). "Green energy" from Jerusalem artichoke. *Agric.-Sci.* 8(5):43-45.
- Rebora C. (2008). Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.): usos, cultivo y potencialidad en la región de Cuyo. *Hort. Argent.* (63):27-37.
- Rebora C.; Lelio H.; Iburguren L.; Gómez L. (2011). Efecto de la densidad de plantación sobre el rendimiento de topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) regado con aguas residuales urbanas. *Rev. FCA UNCUYO.* 43(2):83-90.
- Ritsema T.; Smeekens S. (2003). Fructans: Beneficial for Plants and Humans. *Curr. Op. Plant Biol.* ([http://dx.doi.org/10.1016/S1369-5266\(03\)00034-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1369-5266(03)00034-7)).
- Roque J. (2009). Factsheet: Datos botánicos de Yacón. *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob. Primera Edición. Lima- Perú. (<http://www.academia.edu/24861153/>)

Factsheet_Datos_bot%C3%A1nicos_de_Yac%C3%B3n._Smallanthus_sonchifolius_Poepp._H._Rob).

- Rossi R.; Chichahuala M.S. (2017). Production evaluation of topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) under different densities and fertilization in the central semiarid region of Argentina. Hort. Argent. 36(90):49-58.
- Rubel I.A.; Iraporda C.; Novosad R.; Cabrera F.A.; Genovese D.B.; Manrique G.D. (2018). Inulin rich carbohydrates extraction from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers and application of different drying methods. Food Res. Intern. (<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.041>).
- Santana I.; Cardoso M.H. (2008). Raíz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. Ciência Rural. Sta. Ma. 38(3):898-905.
- Satoh H.; Audrey Nguyen M.T.; Kudoh A.; Watanabe T. (2013). Yacon diet (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae) improves hepatic insulin resistance via reducing Trb3 expression in Zucker fa/fa rats. Nutrit. & Diabetes. 3:1-6.
- Schorr-Galindo S.; Guiraud J.P. (1997). Sugar potential of different Jerusalem Artichoke cultivars according. Bioresource Technol. 60:15-20.
- Schultheis J.R. (1999). Growing Jerusalem artichokes. NC State University. Hort. Inform. Leaflets. (<http://www.ces.ncsu.edu/depts/hort/hil/hil-1-9.html>).
- Selosse M. A.; Richard F.; He X.; Simard S.W. (2006). Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses? Trends Ecol. Evol. (<https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.07.003>).
- Sieverding E. (1983). Proyecto Micorriza. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali. Colombia. :121p.
- Tarrand J.J.; Krieg N.R.; Döbereiner J. (1978). A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. Can. J. Microbiol. 24(8):967-980.
- Tesio F.; Vidotto F.; Ferrero A. (2012). Allelopathic persistence of *Helianthus tuberosus* L. residues in the soil. Sci. Hort. (<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.12.008>).
- Tesio F.; Weston L.A.; Ferrero A. (2011). Allelochemicals identified from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) residues and their potential inhibitory activity

- in the field and laboratory. *Sci. Hort.* (<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.04.003>).
- Tessaro S.E. (2014). Alimento con alto contenido de fructanos: puré de topinambur (*Helianthus tuberosus* L.). Tesis de grado. Fac. de Cs. Agrarias. Univ. Nac. de Cuyo. Mendoza. (http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/6793/tesis-tessaro-silvina.pdf).
- Vilhena S.M.C.; Câmara F.L.A.; Piza I.M.T.; Lima G.P.P. (2003). Contenido de fructanos en raíces tuberosas de yacón (*Polymniasonchifolia*), *CYTA – J. Food.* (<https://doi.org/10.1080/11358120309487616>).
- Wang B.; Qiu Y.L. (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhizahello* (<https://link.springer.com/article/10.1007/s00572-005-0033-6>).
- Willscher S.; Jablonski L.; Fona Z.; Rahmi R.; Wittig J. (2017). Phytoremediation experiments with *Helianthus tuberosus* under different pH and heavy metal soil concentrations. *Hydrometal.* 168:153-158.
- Yuan X.; Cheng M.; Gao M.; Zhuo R.; Zhang L.; Xiao H. (2013). Cytotoxic constituents from the leaves of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) and their structure–activity relationships. *Phytochem. Lett.* 6:21-25.

CAPÍTULO 7.

“Actividad biológica de suelos cultivados con topinambur y yacón, inoculados con *Azospirillum brasilense* y hongos micorrícicos nativos”

Una parte de este capítulo será publicada en la Revista FAVE, Ciencias Agrarias. Número 19, Vol.1. Di Barbaro G., H. Andrada, E. DEL Valle, C. Brandán de Weth. 2020. Actividad biológica de suelos cultivados con topinambur inoculados con *Azospirillum brasilense* y hongos micorrícicos. Fecha recepción: 23/12/2019 - Fecha aceptación: 03/03/2020. (En prensa). (En: <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/publicaciones/index.php/FAVEAgrarias/index>).

Actividad biológica de suelos cultivados con topinambur y yacón, inoculados con *Azospirillum brasilense* y hongos micorrícicos nativos

RESUMEN

Muestras de suelo fueron colectadas en la provincia de Catamarca en lotes cultivados con topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) y con yacón (*Smallanthus sonchifolius*) al momento de implantación y cosecha durante varios ciclos agrícolas. Los tubérculos y propágulos fueron tratados con *Azospirillum brasilense*, hongos micorrícicos y con ambos microorganismos. Los tratamientos testigos fueron “semilla” sin inocular con estos microorganismos. Se determinó la Actividad Biológica Total (ABT) por Hidrólisis del Diacetato de Fluoresceína a las muestras colectadas. La ABT del suelo fue afectada por los diferentes tratamientos del cultivo, la cual elevó en los suelos estudiados, difiriendo estadísticamente con los testigos ($p < 0,0001$). También se observaron diferencias significativas entre la ABT de los suelos al inicio de los cultivos con los valores registrados a la cosecha de estos. La inoculación de tubérculos de topinambur y de propágulos de yacón con *A. brasilense* y hongos micorrícicos nativos afecta la ABT de los suelos cultivados.

PALABRAS CLAVE: *Helianthus tuberosus*, *Smallanthus sonchifolius*, Catamarca.

INTRODUCCIÓN

El suelo alberga una gran cantidad y diversidad de microorganismos responsables de la actividad biológica de éste. La calidad y cantidad de material vegetal aportado al mismo y las características climáticas afectan la abundancia microbiana, la biodiversidad y sus relaciones tróficas (Wright & Coleman, 2000). La actividad microbiana del suelo constituye una medida de importancia ecológica, puesto que por una parte representa el nivel de la actividad biológica involucrando el componente lábil de la materia orgánica y, por otra, integra los factores del medio ambiente y su influencia sobre la misma (Zagal *et al.*, 2002; WingChing-Jones & Uribe Lorío, 2016).

El reciclaje de nutrientes está influenciado por la calidad y cantidad de material vegetal que ingresa al suelo y por las características climáticas y edáficas que también afectan la abundancia microbiana, las especies involucradas y su composición trófica (Wright & Coleman, 2000; Di Ciocco *et al.*, 2014), por lo que las actividades biológicas son bioindicadores de la calidad del suelo (Alvear *et al.*, 2007; Jaurixje *et al.*, 2013).

El suelo es un recurso natural no renovable, expuesto a factores bióticos y abióticos. La actividad biológica de los suelos está regulada por numerosas enzimas y el hábitat microbiano y de las raíces de las plantas se ve afectado por las mismas (Makoi & Ndakidemi, 2008). Las enzimas proceden de organismos vivos, una vez que estos mueren, algunas resisten y conservan su actividad en el suelo por períodos prolongados. Las enzimas del suelo no solo desempeñan un papel importante en el entorno químico y bioquímico, sino que también afectan la rapidez de la disponibilidad de nutrientes a las plantas (Kannaiyan & Kumar, 2009).

Todos los procesos biológicos que tienen lugar en el suelo son reacciones enzimáticas (mineralización, inmovilización, fijación del nitrógeno, nitrificación, etc.), por lo cual se considera a la Actividad Biológica Total (ABT) como un índice de la fertilidad de los suelos (Burns, 1982; Alvear *et al.*, 2007).

Para evaluar las cualidades del suelo existen diversos parámetros físicos, químicos, biológicos o bioquímicos que actúan como indicadores de su calidad. Uno de los parámetros bioquímicos que permite evaluar la actividad biológica del suelo es la hidrólisis del diacetato de fluoresceína (FDA) (Alvear *et al.*, 2007; Perez *et al.*, 2015). Esta medida de la actividad enzimática permite inferir la actividad microbiológica en un determinado suelo (Lillo *et al.*, 2011), y a su vez, es un parámetro sensible a las prácticas de manejo del recurso (Makoi & Ndakidemi, 2008).

El FDA es degradado por numerosas enzimas, tales como proteasas, lipasas y esterases. Por lo tanto, su hidrólisis se considera como un indicador general, o de amplio espectro, de la actividad biológica del suelo (Bandick & Dick, 1999). El producto de la reacción enzimática es la fluoresceína, la cual se puede observar en un microscopio de fluorescencia, o bien, puede ser medida utilizando un espectrofotómetro (Green *et al.* 2006). Desde hace algún tiempo, se viene utilizando la hidrólisis del FDA como un indicador de la actividad microbiana global activa de los suelos sometidos a distintos tipos

de manejo, con el fin de determinar cuál sistema favorece la actividad microbiana global (Alvear *et al.*, 2007).

Los cultivos de topinambur (*H. tuberosus* L.) y yacón (*S. sonchifolius*) se remonta a épocas precolombinas y está adaptado a las condiciones ecológicas andinas, encontrándose ligado a las tradiciones de los pueblos que allí habitan (Fernández *et al.*, 2006; Mansilla *et al.*, 2010). En los últimos años ha cobrado interés por sus propiedades nutraceuticas y ser un prebiótico natural y por poseer tubérculos ricos en inulina (Nizioł-Łukaszewska *et al.*, 2010; Arnao *et al.*, 2011; Bach *et al.*, 2013; Yuan *et al.*, 2013; Satoh *et al.*, 2013; Ibarguren, 2015; Lv *et al.*, 2019). En el país existen pequeños productores de topinambur en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Mendoza, Río Negro, Chubut y San Luis, mientras el cultivo de yacón está limitada su producción a las provincias de Jujuy y Salta (Manrique *et al.*, 2005), que les han otorgado a estas especies usos hortícola y forrajero con la comercialización de tubérculos. En la provincia de Catamarca el cultivo de topinambur es limitado a fines forrajeros (Andrada *et al.*, 2012).

El objetivo de la investigación fue evaluar la actividad microbiana en suelos donde se ha cultivado topinambur y yacón, inoculado con microorganismos promotores del crecimiento de las plantas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en las localidades de Colonia del Valle y Miraflores (Valle Central de la Provincia de Catamarca) utilizándose tubérculos de topinambur (*H. tuberosus* variedad topianka) y propágulos de yacón (*S. sonchifolius*). *A. brasilense*, cepa nativa Pi8 aislada de la endorricósfera de pimiento pimentonero (*Capsicum annum* var, trompa de elefante). Cepas nativas de hongos micorrícicos se obtuvieron de especies forrajeras colonizadas que actuaron como trampas.

Por cultivo, se establecieron 4 tratamientos de inoculación microbiana de tubérculos de topinambur y de propágulos de yacón en el momento de la plantación de los cultivos. Éstos se detallan a continuación: T1: testigo sin inocular; T2: inoculación con *A. brasilense*; T3: inoculación con hongos micorrícicos (HM) y T4: co-inoculación con *A. brasilense* y HM.

Se colectaron muestras de suelo antes de realizar la plantación de cada cultivo (T0) y al momento de la cosecha. Estas últimas se colectaron de la rizósfera de las plantas con

los tratamientos establecidos. Las muestras colectadas fueron refrigeradas a 4°C y transferidas al laboratorio de Microbiología Agrícola de la Universidad Nacional de Catamarca para la determinación de la Actividad Biológica Total por hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA).

Las muestras al inicio del cultivo (T0) fueron obtenidas entre los meses de octubre y noviembre, mientras que las de las cosechas, entre mayo y julio de cada año evaluado. Las evaluaciones de esta investigación se llevaron a cabo durante 6 años consecutivos, desde el 2014 al 2019, en diferentes lotes en producción.

La actividad biológica fue determinada por el método de hidrólisis del diacetato de fluoresceína (FDA) de acuerdo con Schnürer y Roswall (1982). Brevemente, se adiciona en un Erlenmeyer, 5 g del suelo a evaluar y 20 ml de solución buffer de fosfato de potasio 60 mM (pH 7,6). Luego, se agregan 0,2 ml de solución stock de FDA (2 mg/ml de acetona) y se incuba 20 minutos con agitación (200 rpm) a 25 °C. A continuación, se interrumpe la reacción agregando 20 ml de acetona al Erlenmeyer, se filtra y se procede a la lectura en espectrofotómetro a una absorbancia de 490 nm (Figura 26).

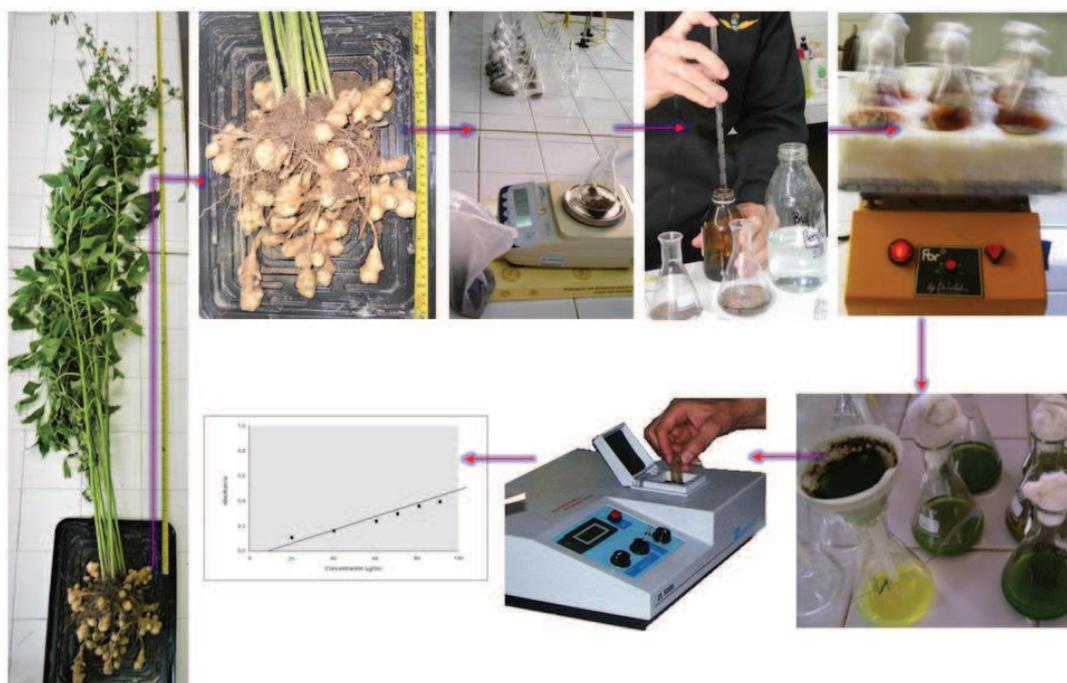


Figura 26. Análisis de actividad biológica total por hidrólisis del diacetato de fluoresceína.

Para obtener la concentración de FDA, previamente se determinó la curva patrón. Para ello, se prepararon soluciones de concentración conocida de FDA (0 µg; 100 µg; 200 µg; 300 µg y 400 µg) y se sometieron para su hidrólisis completa. En mediciones con el espectrofotómetro se obtuvo la relación entre Absorbancia (A°) y concentración ($[C]$) de FDA. Luego, los datos de absorbancia obtenidos a partir de las diferentes muestras de suelo tomadas de los cultivos fueron ajustados de acuerdo con la curva patrón.

Los resultados fueron analizados mediante análisis de varianza (ANAVA) y las medias fueron comparadas mediante Test de Tukey a un nivel de significancia de $\alpha \leq 0,05$. Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados indican que la actividad biológica de los suelos fue influenciada por la inoculación microbiana. La mayor actividad enzimática global, medida como hidrólisis de FDA, presentó diferencias estadísticas al aplicar microorganismos promotores del crecimiento vegetal (Tablas 66 y 67).

La mayor ABT por hidrólisis del FDA se registró en los suelos cultivados con topinambur y yacón inoculados con el consorcio microbiano de *A. brasilense* y hongos micorrízicos. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) entre los valores de AB del T4 con respecto a las muestras de suelo procedentes al momento de la plantación de los cultivos y a las muestras del suelo cultivado con topinambur y yacón correspondiente a los tratamientos testigo sin inoculación microbiana (T1) (Tablas 66 y 67).

El suelo cultivado con topinambur y yacón generó diferencias en cuanto a la actividad biológica, registrándose los mayores valores de AB en el momento de la cosecha, mientras que los menores valores de AB se determinaron en el momento de la implantación de los cultivos de topinambur y yacón (T0).

Al comparar los cuatro tratamientos aplicados a los cultivos de topinambur y yacón, se observaron diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos con la inoculación del consorcio microbiano (*A. brasilense* y hongos micorrízicos ó T4) y el testigo no inoculado (T1).

La mayor actividad biológica observada con la co-inoculación microbiana (T4) se explica debido a que cuando se forma la micorriza se altera la fisiología radical y los exudados que estas generan. Consecuentemente, se modifica la población microbiana circundante. Lo anterior contribuye en la nutrición de la planta al explorar un volumen de suelo mayor e incrementa la actividad microbiana (Blanco & Salas, 1997; Brundrett, 2009). Por otra parte, *Azospirillum* es un género bacteriano ampliamente conocido por su capacidad de promover el crecimiento de las plantas, debido a que produce sustancias promotoras que estimulan el crecimiento radical, lo que permite que el potencial de absorción de nutrientes y agua se eleve, beneficio clave en cultivos de zonas áridas y semiáridas (Bashan *et al.*, 2007).

En los tratamientos inoculados con *A. brasilense* (T2) y con hongos micorrícicos (T3) se obtuvieron una mayor AB que en los tratamientos sin inoculación (T1). Sin embargo, no siempre las diferencias fueron estadísticamente significativas (Tablas 66 y 67).

Por lo tanto, el mejoramiento en la calidad de la microflora de suelos agrícolas a partir de la incorporación de organismos seleccionados por sus funciones que contribuyan en el desarrollo y producción de los cultivos es una alternativa que incidiría en el logro de mejores cultivos, al mejoramiento de los rendimientos y a la fertilidad de los suelos (Caballero Mellado, 2002).

Una de las variables ambientales que más influyen en la actividad biológica del suelo es la temperatura (Rodríguez Gutiérrez, 2014), aumentando el crecimiento microbiano en el rango mesófilo (entre los 15 y 45 °C, con un óptimo entre los 30 y 40 °C), las cuales se registran básicamente en las estaciones de primavera y verano. Sin embargo, la AB de las muestras suelos obtenidas durante los meses donde se observaron las temperaturas más bajas en el Valle Central de la Provincia de Catamarca (fines de otoño e inicio de invierno) fueron mayores a las registradas durante la primavera, fundamentalmente en los tratamientos con inoculación microbiana (Tablas 66 y 67).

La AB de los suelos antes de la implantación de los cultivos de topinambur y yacón (T0) en primavera y la AB al finalizar el cultivo (T1) en el otoño/invierno son similares, a pesar de la diferencia de temperaturas en cada estación, por lo que se estima que el efecto del cultivo de topinambur y de yacón fue lo que incrementó la actividad microbiana a niveles comparables y levemente superiores a los registrados durante la primavera, antes

de iniciar la implantación (Tabla 66 y 67). Lo anterior puede deberse a las interacciones que ocurren en la rizósfera y el aumento del crecimiento de raíces que generan una mayor actividad enzimática y contenido de materia orgánica.

Tabla 66. Actividad Biológica Total por Hidrólisis del FDA en suelos cultivados con topinambur en cuatro ciclos del cultivo en la provincia de Catamarca.

Momento de evaluación	Tratamiento	FDA hidrolizado (μg) ($\mu\text{g gss}^{-1} \text{h}^{-1}$)				
		2014-2015	2015-2016	2016-2017	2017-2018	
Topinambur	Plantación	Testigo	0,052±0,009 a 0,0208±0,0036	0,025±0,005 a 0,01±0,002	0,029±0,012a 0,0116±0,0048	0,045±0,004 a 0,018±0,0016
		Testigo	0,117±0,018 b 0,0468±0,0072	0,039±0,005 b 0,0156±0,002	0,040±0,002a 0,016±0,0008	0,066±0,003 b 0,0264±0,0012
	Cosecha	Azospirillum	0,182±0,034cd 0,0728±0,0136	0,052±0,002 c 0,0208±0,0008	0,072±0,015b 0,0288±0,006	0,091±0,007 c 0,0364±0,0028
		Micorrizas	0,146±0,033bc 0,0584±0,0132	0,046±0,006bc 0,0184±0,0024	0,080±0,002b 0,032±0,0008	0,096±0,012 c 0,0384±0,0048
		Azosp. + Mico.	0,216±0,016d 0,0864±0,0064	0,054±0,006 c 0,0216±0,0024	0,099±0,017b 0,0396±0,0068	0,118±0,001 d 0,0472±0,0004

Los resultados se expresan como la media \pm su error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos llevados a cabo en el mismo ciclo agrícola según el test de Tukey ($p < 0.05$).

Tabla 67. Actividad Biológica Total por Hidrólisis del FDA en suelos cultivados con yacón en tres ciclos del cultivo en la provincia de Catamarca.

Cultivo	Momento de evaluación	Tratamiento	FDA hidrolizado (μg) ($\mu\text{g gss}^{-1} \text{h}^{-1}$)		
			2017-2018	2018-2019	2018-2019
Yacón	Plantación	Testigo	0,05±0,01 a 0,02±0,004	0,02±0,044 a 0,008±0,0176	0,02±0,036 a 0,008±0,0144
		Testigo	0,12±0,02 a 0,048±0,008	0,04±0,035 a 0,016±0,014	0,04±0,028 a 0,016±0,0112
	Cosecha	Azospirillum	0,18±0,03 ab 0,072±0,012	0,19±0,01 b 0,076±0,004	0,25±0,04 b 0,1±0,016
		Micorrizas	0,15±0,03 a 0,06±0,012	0,17±0,02 b 0,068±0,008	0,24±0,01 b 0,096±0,004
		Azosp. + Mico.	0,22±0,02 b 0,088±0,008	0,24±0,02 c 0,096±0,008	0,25±0,02 b 0,025±0,008

Los resultados se expresan como la media \pm su error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos llevados a cabo en el mismo ciclo agrícola según el test de Tukey ($p < 0.05$).

La vegetación, así como los exudados que producen algunas raíces, cambian las propiedades físicas y químicas de los suelos; en particular, la estructura, la porosidad, el pH y el potencial redox, factores que en su conjunto actúan sobre la densidad y la actividad de los microorganismos (IGAC, 1993; Sánchez de Prager, 2007). Esto explica

la mayor actividad biológica al final del cultivo a pesar de que la evaluación se realizó a finales del otoño e inicio del invierno, cuando la temperatura del suelo es baja ($< 7\text{ }^{\circ}\text{C}$) y las poblaciones microbianas disminuyen. La temperatura del suelo influye en la exudación radical lo cual afecta las condiciones de la rizósfera. Fuera del rango óptimo ($25 - 35\text{ }^{\circ}\text{C}$) se altera la permeabilidad y reduce el metabolismo y la exudación (Sánchez de Prager, 2007), alterando la actividad biológica del suelo.

Estudios realizados por Wielgosz (2010) determinaron que el topinambur tuvo un efecto positivo sobre la actividad enzimática de los suelos, fundamentalmente de la actividad de fosfatasas y deshidrogenasas. También observó diferencias estacionales significativas en la actividad de las enzimas del suelo en estudio. Además, comparó las actividades enzimáticas de los microorganismos del suelo que residen en la rizósfera de *H. tuberosus* (Wielgosz, 2010). Los valores obtenidos revelaron un efecto positivo en la actividad de las enzimas del suelo, lo cual explica los resultados observados en este trabajo. Además, señalan que, en la mayoría de los suelos, los microorganismos dominan el componente biológico de los mismos y responden rápidamente a los cambios del ambiente (Sánchez de Prager, 2007; Rivero Herrada *et al.*, 2016; Gómez Fernández *et al.*, 2017). Ellos son esenciales en las múltiples funciones del suelo, participan en casi todas las reacciones metabólicas conocidas y constituyen las fuerzas motrices del suministro de energía y nutrientes (Paolini Gómez, 2017).

CONCLUSIÓN

La inoculación microbiana con *A. brasilense* y hongos micorrícicos en topinambur y yacón, incrementa la AB de los suelos cultivados, lo cual constituye una estrategia de manejo para mejorar la fertilidad de los suelos cultivados.

BIBLIOGRAFÍA

- Adam G.; Duncan H. (2001). Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biol. Biochem.* 33:943-951.
- Alvear M.; Reyes F.; Morales A.; Arriagada C.; Reyes M. (2007). Actividad biológica y agregados estables al agua en dos tipos de formaciones vegetales de un bosque

- templado del Centro-Sur de Chile con perturbación antrópica. *Ecol. Austral.* 17:113-122.
- Andrada H.; Di Barbaro G.; Paz I.; Clérici S. (2012). Evaluación productiva del cultivo de *Helianthus tuberosus* para las condiciones agroclimáticas de Catamarca. *ReBeA.* 2(2):42-54.
- Arnao I.; Seminario J.; Cisneros R.; Trabucco J. (2011). Potencial antioxidante de 10 accesiones de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, procedentes de Cajamarca – Perú. *Anales de la Fac. de Medicina.* (<http://dx.doi.org/10.15381/anales.v72i4.1075>).
- Bach V.; Jensen S.; Kidmose U.; Sorensen J.N.; Edelenbos M. (2013). The effect of culinary preparation on carbohydrate composition, texture and sensory quality of Jerusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus* L.). *LWT - Food Sci. Technol.* 54:165-170.
- Bandick A.K.; Dick P.R. (1999). Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biol. Biochem.* 31:1471-1479.
- Bashan L.; Holguin G.; Glick B.; Bashan Y. (2007). Bacterias promotoras del crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales. En: *Microbiología Agrícola: Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, plantas-microorganismos.* (Ronald Ferrera- Cerrato, A. Alarcon y C.A. Champer). Editorial Trillas. México. Capítulo 8. :170-224.
- Blanco F.A.; Salas E.A. (1997). Micorrizas en la agricultura: Contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agron. Costarricense* 21(1):55-67.
- Brundrett M. (2009). Mycorrhizas in Natural Ecosystems. In “Advances in ecological research”. (Begon, M, Fitter, A. H. & Macfadyen, A.). Academic Press Limited. 21:171-313.
- Burns R.C. (1982). Enzyme activity in soil. Location and possible role in microbial ecology. *Soil Biol. Biochem.* 14:107-108.
- Caballero-Mellado J. (2002). El género *Azospirillum*:177-198. In “Microbios en línea”. (E. Martinez-Romero y J. Martínez-Romero). Univ. Nac. Autónoma de México. (<http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios>).
- Di Ciocco C.A.; Sandler R.V.; Falco L.B.; Coviella C.E. (2014). Actividad microbiológica de un suelo sometido a distintos usos y su relación con variables

- físico-químicas. Rev. Fac. Cs. Agrarias, Univ. Nac. de Cuyo Mendoza, Argentina. (https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/6420/cp06-diciocco.pdf).
- Di Rienzo J.A.; Casanoves F.; Balzarini M.G.; Gonzalez L.; Tablada M.; Robledo C.W. (2018). InfoStat versión 2018. Grupo InfoStat, FCA, Univ. Nac. de Córdoba, Argentina. (URL <http://www.infostat.com.ar>).
- Fernández E.C.; Viehmannová I.; Lachman J.; Milella L. (2006). Yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poeppig & Endlicher) H. Robinson]: a new crop in the Central Europe. *Plant Soil Environ.* 52(12):564-570.
- Green V.; Stott D.; Diack M. (2006). Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil sample. *Soil Biol. Biochem.* 38:693-701.
- Gómez Fernández E.J.; Delgado Romero J.A.; González Grau J.M. (2017). Actividad microbiana del suelo: temperatura y contenido hídrico. XIV Reunión de la Red Nacional de Microorganismos Extremófilos, Ourense (Vigo), REDEX 2017. 3 y 4 de noviembre de 2017 Balneario de Laias (Ourense).
- Ibarguren L. (2015). Efecto del momento de cosecha sobre la calidad hortícola del topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) conservado en cámara frigorífica. Tesis de maestría de Horticultura. Univ. Nac. de Cuyo. Mendoza. :87p.
- I.G.A.C. (1993). Aspectos ambientales para el ordenamiento territorial del occidente del departamento del Caquetá. Bogotá: INPA-IGAC.
- Jaurixje M.; Torres D.; Mendoza B.; Henríquez M.; Contreras J. (2013). Propiedades físicas y químicas del suelo y su relación con la actividad biológica bajo diferentes manejos en la zona de Quíbor, estado Lara. Univ. Centroccidental Lisandro Alvarado Barquisimeto, Venezuela. *Bioagro.* (<https://www.redalyc.org/pdf/857/85726736002.pdf>).
- Kannaiyan S.; Kumar K. (2009). Biological Fertilizers for Sustainable Rice Production. (M.K. Rai editor). Chapter 4. *Handbook of Microbial Biofertilizers.*:89-115.
- Lillo A.; Ramírez H.; Reyes F.; Ojeda N.; Alvear M. (2011). Actividad biológica del suelo de bosque templado en un transecto altitudinal, Parque Nacional Conguillío (38° S), Chile. *Bosque (Valdivia)* (<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002011000100006>).
- Lv S.; Wang R.; Xiao Y.; Li F.; Mu Y.; Lu Y.; Gao W.; Yang B.; Kou Y.; Zeng J.; Zhao C. (2019). Growth, yield formation, and inulin performance of a non-food energy

- crop, Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.), in a semi-arid area of China. Ind. Crops Prod. (<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.064>).
- Makoi J.; Ndakidemi P. (2008). Selected soil enzymes: Examples of their potential roles in the ecosystem. African J. Biotechnol. 7(3):181-191.
- Manrique I.; Párraga A.; Hermann M. (2005). Yacón syrup: Principles and processing (8B). Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. :31p.
- Mansilla R.; López C.; Flores M.; Espejo R. (2010). Estudios de la biología reproductiva en cinco accesiones de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) Robinson. Ecol. Apl. Univ. Nac. Agr. La Molina, Lima – Perú. 9(2):167-175.
- Nannipieri P.; Ascher J.; Ceccherino M.T.; Landi L.; Pietramellara G.; Renella G. (2003). Microbial diversity and soil functions. Eur. J. Soil Sci. 54(4):655-670.
- Nizioł-Łukaszewska Z.; Bujak T.; Wasilewski T.; Szmuc E. (2010). Inulin as an effectiveness and safe ingredient in cosmetics. Pol. J. Chem. Technol. (<https://doi.org/10.2478/pjct-2019-0008.44-40>).
- Paolini Gómez J.E. (2017). Actividad microbiológica y biomasa microbiana en suelos cafetaleros de los Andes venezolanos. Terra Latinoam. (<https://doi.org/10.28940/terra.v36i1.257>).
- Perez M.M.; Masseroni M.L.; Sartor P.D.; Merini L. (2015). Actividad biológica en suelos con diferentes prácticas agrícolas bajo riego en Colonia 25 de Mayo, La Pampa. Asoc. Argentina de Suelos. (https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-actividad_biologica_en_suelos_con_diferentes_practicas_agricilas_bajo_riego_en_colonia_25_de_mayo_2.pdf).
- Rivero Herrada M.; Gaibor Fernández R.R.; Mozena Leandro W.; de Brito Ferreira E.P.; Ferraresi T.M.; Reyes Pérez J.J. (2016). Evaluación de atributos biológicos de un suelo latosol bajo producción agroecológica. Centro Agríc. (<http://cagricola.uclv.edu.cu>).
- Rodríguez Gutiérrez N.M. (2014). Evaluación de la actividad microbiana global de un suelo bajo dos sistemas de manejo, orgánico y convencional. Fac. de Cs. Agron. Univ. de Chile. Santiago - Chile. (<http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/148408>).
- Sánchez de Prager M. (2007). La rizósfera: estrategia de colonización del suelo. Capítulo 3. En: Las Endomicorrizas: Expresión bioedáfica de importancia en el trópico.

- (Sánchez de Prager M. editora). Univ. Nac. de Colombia. Fac. de Cs. Agropecuarias. :84-114.
- Satoh H.; Audrey Nguyen M.T.; Kudoh A.; Watanabe T. (2013). Yacon diet (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae) improves hepatic insulin resistance via reducing Trb3 expression in Zucker fa/fa rats. *Nutrit. & Diabetes*. 3:1-6.
- Schnürer J.; Rosswall T. (1982). Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Appl. Environ Microbiol*. 43:1256-1261.
- Wielgosz E. (2010). Effect of selected plant species on enzymatic activity of soil microorganisms. *Pol. J. Soil Sci.* (http://www.pjss.org/artykuly/pjss/Polish_Journal_of_Soil_Science_2010_43_1_73.pdf).
- WingChing-Jones R.; Uribe Lorío L. (2016). Biomasa y actividad microbiana en suelos de uso ganadero y en regeneración de bosque. Cuadernos de Investigación de Costa Rica UNED. (<https://pdfs.semanticscholar.org/ee53/e2a53e0379c6c7f343c98ca1310c8a51a746.pdf>).
- Wright C.J.; Coleman D.C. (2000). Cross-site comparasion of soil microbial biomass, soil nutrient status, and nematode trophic groups. *Pedobiol*. 44:2-23.
- Yuan X.; Cheng M.; Gao M.; Zhuo R.; Zhang L.; Xiao H. (2013). Cytotoxic constituents from the leaves of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) and their structure–activity relationships. *Phytochem. Lett*. 6:21-25.
- Zagal E.; Rodríguez N.; Vidal I.; Quezada L. (2002). Actividad microbiana en un suelo de origen volcánico bajo distinto manejo agronómico. *Agric. Téc.* (<https://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072002000200012>).

DISCUSIÓN GENERAL

La finalidad principal de esta tesis fue determinar la interacción de *Azospirillum brasilense* y hongos micorrícicos sobre *Helianthus tuberosus* y *Smilax sonchifolius*, por lo cual la ejecución de este trabajo requirió de estudios con enfoque sistémico, debido al conjunto de elementos interrelacionados que afectan el crecimiento, desarrollo y producción de los cultivos de topinambur y yacón.

Azospirillum es una bacteria que habita en la endorizósfera y en el rizoplasma de las raíces, y al trabajar con cultivos no tradicionales para el lugar de estudio, puede considerarse como una de las razones por la cual no se pudo determinar si plantas de topinambur (*H. tuberosus*) y yacón (*S. sonchifolius*) cultivadas para esta investigación en el Valle Central de la Provincia de Catamarca, tienen naturalmente una simbiosis mutualista con bacterias autóctonas endorizosféricas del género *Azospirillum*. Dado que los microorganismos que se establecen en rizósfera posiblemente se han especializado en este hábitat a través de procesos coevolutivos su presencia-ausencia varía dependiendo de las especies de plantas, edad y condiciones ambientales, de la presencia de este microorganismo en plantas de la zona en estudio entre otros factores (Sánchez de Prager, 2007).

Se pudieron establecer otras interacciones que ocurren naturalmente entre plantas de topinambur (*H. tuberosus*) y yacón (*S. sonchifolius*) con bacterias endorizosféricas fijadoras libres del nitrógeno atmosférico del género *Pseudomonas*. Y mediante esta investigación, no sólo se reporta por primera vez en la provincia de Catamarca a las especies *Pseudomonas sihuiensis*, *P. alcaligenes* y *P. resinovorans*, sino también se informa por primera vez la presencia de estas especies bacterianas FLN en la endorizósfera de estos cultivos. Los antecedentes de las especies bacterianas encontradas en la endorizósfera de topinambur y de yacón están vinculadas a ambientes y procesos muy diferentes; tales como, *Pseudomonas sihuiensis* que fue aislada de suelos forestales de China (Wu *et al.*, 2014), y de suelos de sitios con historia de derrames frecuentes de petróleo en Brasil, y que fue estudiada por su capacidad de biodegradar hidrocarburos (Pereira *et al.*, 2019). *Pseudomonas alcaligenes* fue estudiada por sus capacidades antimicrobianas (Kaczorek, 2012; Widnyana *et al.*, 2013); mientras que, *Pseudomonas*

resinovorans investigada para conocer mecanismos de transcripción génica y actividad enzimática (Nojiri *et al.*, 2002; Takagi *et al.*, 2002; Nam *et al.*, 2005).

Otras de las interacciones establecidas y que ocurren naturalmente entre microorganismos del suelo y plantas de topinambur y yacón, cultivadas para esta investigación en el Valle Central de Catamarca, son las micorrizas. Son fáciles de visualizar por las modificaciones anatómicas que surgen cuando se efectúa la interacción microorganismo – planta. Dadas éstas, por la íntima unión entre determinados hongos del suelo y las raíces de las plantas de topinambur y de yacón, respectivamente. La generación de micorrizas implica el reconocimiento, interdependencia e intercambio de nutrientes y es el resultado de un alto grado de especialización nutricional, entre las plantas y los hongos micorrícicos del suelo, dando lugar a una simbiosis mutualista. Esta simbiosis va más allá del plano nutricional, con implicancias en la salud y adaptación de las plantas, el manejo y conservación de los ecosistemas y agroecosistemas (Sánchez de Prager, 2007). Esta simbiosis explica la mayor actividad biológica registrada en los suelos procedentes de los lotes cultivados con topinambur y yacón, inoculados con hongos micorrícicos nativos.

Con esta investigación, se logró describir por primera vez para Argentina, la asociación micorrícica en topinambur (*H. tuberosus* L.), y se detectó por primera vez para Catamarca, esta asociación raíz de la planta-hongo simbiótico, en yacón (*S. sonchifolius*). También, se informó la co-ocurrencia de micorrizas vesículo arbusculares y endófitos septados oscuros nativos del Valle Central de la Provincia de Catamarca en ambos cultivos.

La utilización de microorganismos promotores del crecimiento de las plantas autóctonas es recomendable debido a su adaptación a las condiciones ambientales evitando el riesgo de que no se produzcan las asociaciones mutualistas o que sean de baja eficiencia. Esta es la razón, que impulsó la búsqueda de asociaciones micorrícicas entre hongos autóctonos del suelo y cultivos forrajeros en el Valle Central de Catamarca y evaluar aspectos biológicos de las interacciones encontradas. Dado que la certeza de la presencia en forma natural o inducida de micorrizas sólo se logra con la observación microscópica, se recurrió a técnicas de tratamientos de decoloración-tinción específicas.

En este estudio se describe y cuantifica la asociación micorrícica en seis especies forrajeras cultivadas en el Valle Central de Catamarca. Al obtener altos niveles de

colonización micorrícica en todas las especies forrajeras evaluadas, indica que son colonizadas fácilmente por hongos micorrícicos nativos y generan un rápido crecimiento de micorrizas, por lo cual fueron utilizadas como plantas trampa y multiplicadoras de hongos micorrícicos. En este estudio se reporta las especies forrajeras evaluadas y se estima que son apropiadas para cultivarse como plantas trampas y multiplicadoras de hongos micorrícicos nativos.

Se tiene la certeza, que naturalmente se establecieron las interacciones encontradas entre microorganismos nativos y las plantas cultivadas de *H. tuberosus*, *S. sonchifolius*, *Melilotus officinalis*, *Avena sativa*, *Hordeum vulgare*, *Secale cereale*, *Panicum maximum* y *Cenchrus ciliaris*, debido a que no se realizaron inoculaciones microbianas y se trabajó en lotes sin historial de cultivo previo. Estos estudios permitieron obtener el conocimiento y los materiales necesarios para evaluar el efecto de la aplicación de cepas nativas de *A. brasilense* y hongos micorrícicos del suelo sobre la nutrición del cultivo de topinambur (*H. tuberosus*) y de yacón (*S. sonchifolius*). Investigación que proporcionará información sobre el uso de biotecnologías de cultivo más productivas y rentables tales como el uso de biofertilizantes, en cultivos poco conocidos y agroecosistemas muy particulares.

Los biofertilizantes han surgido como la solución para la agricultura orgánica y sostenible, ya que permiten disminuir los costos de producción y reducir el uso de agroquímicos, por lo que es importante incrementar la búsqueda con respaldo científico de microorganismos del suelo para lograr prácticas agrícolas sostenibles, por sus beneficios en la agricultura y los efectos positivos en la fertilidad de los suelos (Afanador Barajas, 2017).

Para determinar el efecto de los microorganismos seleccionados sobre los cultivos, fue necesario estudiar el crecimiento de las plantas en diferentes ámbitos (invernáculo y campo) y condiciones de cultivo (en contenedores, con y sin suelo estéril, con y sin inoculaciones microbianas). Debido a que el establecimiento de estas simbiosis mutualistas es el resultado de múltiples factores interrelacionados cuyo funcionamiento, en condiciones inducidas, están determinadas por la relación planta-microorganismos, y mediada por las condiciones del suelo y el ambiente.

En el campo es difícil tener los factores aislados de la acción entre ellos. Entonces, para mayor aproximación de lo que sucede naturalmente es necesario trabajar en ambientes controlados que permitan manipular condiciones específicas, aislamientos

microbianos y simplificar interacciones y de esta manera lograr aproximaciones para comprender el rol que desempeñan y con este conocimiento verificar su inserción en el campo en condiciones naturales (Sánchez de Prager, 2007). Razón por lo cual, se cultivaron plantas de topinambur y de yacón en contenedores con suelo estéril; esto permite que sólo se expresen las interacciones inducidas por la inoculación de los microorganismos seleccionados, porque la esterilización del suelo anula los diferentes tipos de interacciones que se pueden presentar naturalmente entre los microorganismos del suelo y la planta. Algunas de ellas pueden ser sinérgicas, otras pueden ser interacciones negativas, y es fundamental tener certezas para determinar a que se deben las respuestas que se obtienen y discriminar las que correspondan a las interacciones inducidas y a las que son producto de las interacciones que ocurren naturalmente.

Cultivar en invernáculo, además de permitir controlar las condiciones ambientales ayuda a interpretar la influencia del ambiente sobre las interacciones en estudio que se expresan en el desarrollo de los cultivos a campo.

El suelo es otro de los factores que afectan el funcionamiento de las interacciones planta-microorganismos, por lo cual, realizar el cultivo en contenedores con espacio y volumen de suelo limitado y por ende de nutrientes y agua, posibilitará discernir el efecto del suelo al comparar el crecimiento de los cultivos en contenedores versus en suelo sin barreras físicas limitantes (campo).

En todas las condiciones experimentadas, se logró determinar que la aplicación de los microorganismos en estudios, en el momento de la implantación de los cultivos de topinambur y yacón, mejoró el crecimiento de las plantas e incrementó su productividad. Por lo consiguiente, se estima que se establecieron relaciones benéficas consistentes por las interacciones inducidas con las inoculaciones con los microorganismos promotores del crecimiento vegetal nativos seleccionados. Además, los resultados sugieren que la interacción *A. brasilense* - hongos micorrícicos son compatibles y potencian la capacidad promotora del crecimiento vegetal, favoreciendo aún más la productividad de los cultivos, en comparación con las inoculaciones individuales con un solo tipo microbiano, *A. brasilense* u hongos micorrícicos.

Otro efecto de las interacciones de *A. brasilense* y hongos micorrícicos sobre *H. tuberosus* y *S. sonchifolius* ocurrió en la microflora del suelo. Debido, a que la inoculación microbiana con *A. brasilense* y hongos micorrícicos en topinambur y yacón, incrementa

la actividad biológica de los suelos cultivados, por lo que podría considerarse como una estrategia de manejo para mejorar la fertilidad de los suelos cultivados.

CONCLUSIONES GENERALES

- Se determinó la interacción de las cepas nativas de *Azospirillum brasilense* y hongos micorrícicos sobre los cultivos de topinambur (*Helianthus tuberosus*) y yacón (*Smallanthus sonchifolius*), bajo diferentes condiciones de cultivo, en invernáculo y en campo, en los que la inoculación de microorganismos nativos, fijadores libres del nitrógeno atmosférico y formadores de micorrizas, solos o combinados, incrementaron el crecimiento, desarrollo y producción de los cultivos de topinambur y yacón.

- Debido a que los microorganismos del suelo estudiados tuvieron la capacidad de promover el crecimiento de ambos cultivos, de igual familia botánica, no se puede afirmar que dicha capacidad está relacionada y condicionada con la especie vegetal hospedera, ambas introducidas.

- Recobra mayor interés la investigación de cepas nativas de *A. brasilense* y de hongos formadores de micorrizas, por su potencial biotecnológico para la formulación de inoculantes para cultivos de regiones áridas y semiáridas. Una de las razones, son las variaciones osmóticas en el suelo que pueden afectar la actividad microbiana, disminuyendo el número de bacterias inoculadas, por ejemplo. Por lo cual el uso de microorganismos tolerantes a condiciones de déficit hídrico sería beneficioso para lograr una mejor respuesta de la planta a diversos estreses. Por lo tanto, la selección de microorganismos más resistentes podría ser útil para diseñar nuevos inoculantes para ser utilizados en zonas áridas.

BIBLIOGRAFÍA

- Afanador Barajas L.N. (2017). Biofertilizantes: conceptos, beneficios y aplicación en Colombia. *Ingeci*. 2(1):65-76.
- Kaczorek E. (2012). Effect of external addition of rhamnolipids biosurfactant on the modification of Gram positive and Gram negative bacteria cell surfaces during biodegradation of hydrocarbon fuel contamination. 2012. *Pol. J. Environ. Stud.* 21(4):901-909.
- Nam J.W.; Noguchi H.; Fujimoto Z.; Mizuno H.; Ashikawa Y.; Abo M.; Fushinobu S.; Kobashi N.; Wakagi T.; Iwata K.; Yoshida T.; Habe H.; Yamane H.; Omori T.; Nojiri H. (2005). Crystal structure of the ferredoxin component of carbazole 1,9a-dioxygenase of *Pseudomonas resinovorans* strain CA10, a novel Rieske non-heme iron oxygenase system. *Proteins*. (<https://doi.org/10.1002/prot.20374>).
- Nojiri H.; Maeda K.; Sekiguchi H.; Urata M.; Shintani M.; Yoshida T.; Habe H.; Omori T. (2002). Organization and Transcriptional Characterization of Catechol Degradation Genes Involved in Carbazole Degradation by *Pseudomonas resinovorans* Strain CA10. *Biosci. Biotechnol. & Biochem.* (<https://doi.org/10.1271/bbb.66.897>).
- Pereira E.; Napp A.P.; Allebrandt S.; Barbosa R.; Reuwsaat J.; Lopes W.; Kmetzsch L.; Staats C.C.; Schrank A.; Dallegrave A.; Peralba M. do C.R.; Passaglia L.M.P.; Bento F.M.; Vainstein M.H. (2019). Biodegradation of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in seawater by autochthonous microorganisms. *Intern. Biodet. & Biodegr.* (<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104789>).
- Sánchez de Prager M. (2007). Las micorrizas: estrategia compartida para colonizar el suelo. Capítulo 4. Las Endomicorrizas: Expresión bioedáfica de importancia en el trópico. Univ. Nac. de Colombia. Fac. de Cs Agropecuarias.:115-175.
- Takagi T.; Nojiri H.; Yoshida T.; Habe H.; Omori T. (2002). Detailed comparison between the substrate specificities of two angular dioxygenases, dibenzofuran 4,4a-dioxygenase from *Terrabacter* sp. and carbazole 1,9a-dioxygenase from *Pseudomonas resinovorans*. *Biotechnol. Let.* (<https://doi.org/10.1023/A:1021325816766>).
- Widnyana I.K.; Suprpta D.N.; Sudana I.M.; Temaja I.G.R.M. (2013). *Pseudomonas alcaligenes*, Potential Antagonist Against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersicum*

the Cause of *Fusarium* Wilt Disease on Tomato. J. Biol. Agric. Healthcare. 3(7):163-169.

Wu M.; Wen J.; Chang M.; Yang G.; Zhou S. (2014). *Pseudomonas sihuiensis* sp. nov., isolated from a forest soil in South China. A. van Leeuwenhoek. (<https://doi.org/10.1007/s10482-014-0134-3>).

ANEXO

Capítulo 3

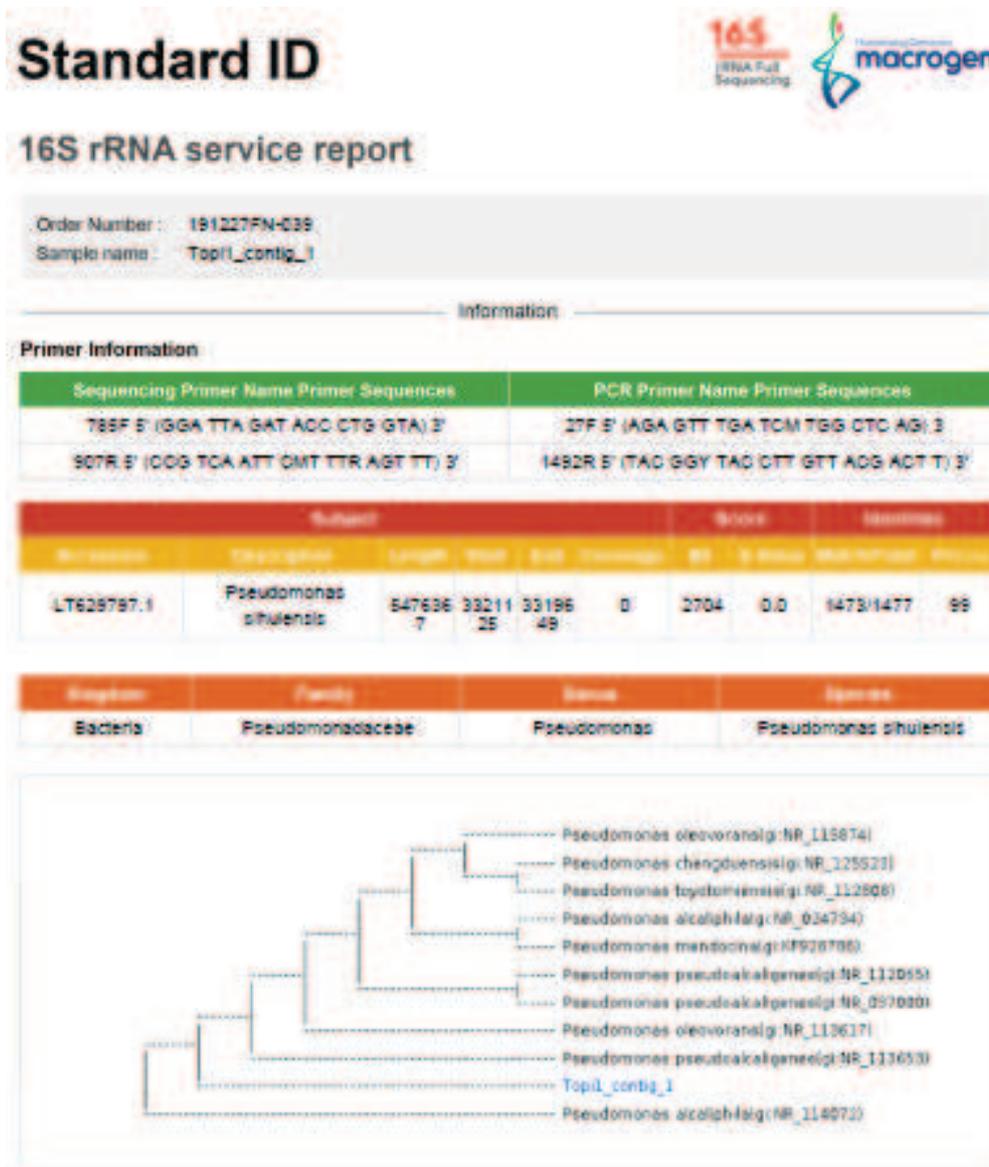


Figura 27. Análisis de genético del aislamiento Topi 1, bacteria FLN de la endorizósfera de topinambur (*Helianthus tuberosus*).

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : 191227FN-039

Sample name : Top3_contig_1

Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F	5' (GGG TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
907R	5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1492R	5' (TAC GGY TAG CTT GTT AGG ACT T) 3'

Accession	Subject				Score	E-value	Identical	Bits
	Description	Length	Start	End				
LT629797.1	<i>Pseudomonas</i> <i>sihlensis</i>	547536 7	33211 27	33196 49	0	2708	0.0	1475/1479

Regnum	Classis	Genus	Species
Bacteria	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas sihlensis</i>

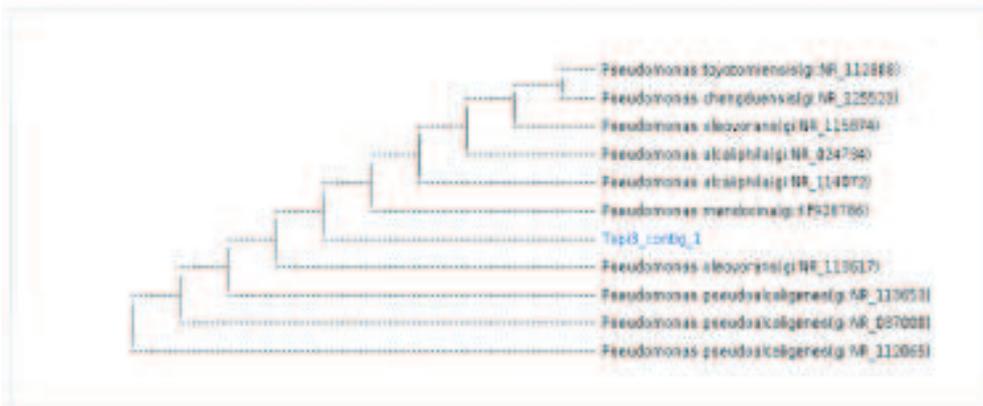


Figura 28. Análisis de genético del aislamiento Topi 3, bacteria FLN de la endorizósfera de topinambur (*Helianthus tuberosus*).

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : 200105FR-011
 Sample name : Ya3_contig_1

Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
T85F	5' (GGG TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	I7F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
S07R	5' (CCG TCA ATT GMT TTR AGT TT) 3'	I452R	5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject						Score	Identical
Accession	Description	Length	Size	End	Coverage	%	Identical/Total
NR_113646.1	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	1462	1	1460	99	2893	0.0 1459/1460 99

Kingdom	Phylum	Class	Species
Bacteria	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>

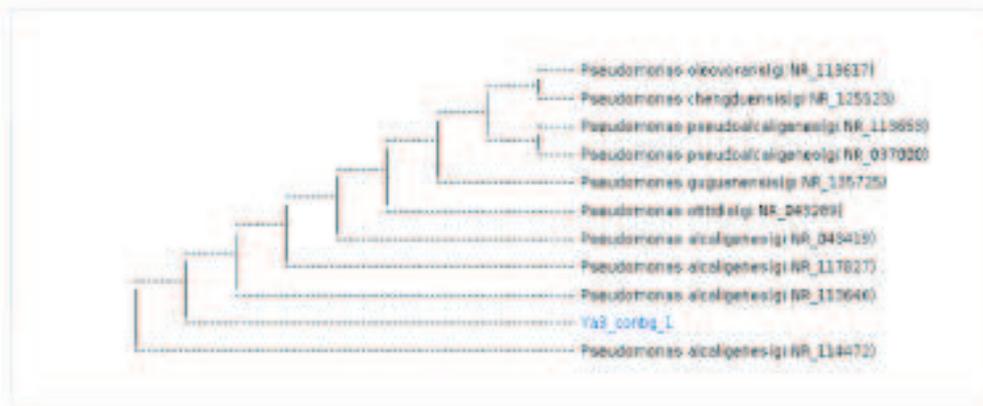


Figura 29. Análisis de genético del aislamiento Ya 3, bacteria FLN de la endorizósfera de yacón (*Smallathus sonchifolius*).

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : 191227FN-039
 Sample name : Ya11_contig_1

Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F	5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
807R	5' (COG TCA ATT GMT TTR AGT TT) 3'	1492R	5' (TAC GGY TAC CTT GTT AGG ACT T) 3'

Subject						Score		Identity	
Accession	Organism	Length	Match	End	Coverage	BI	% Ident	Max Strides	PPV
NR_112062.1	<i>Pseudomonas resinovorans</i>	1507	12	1486	97	2610	0.0	1466/1476	99

Kingdom	Phylum	Genus	Species
Bacteria	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas resinovorans</i>

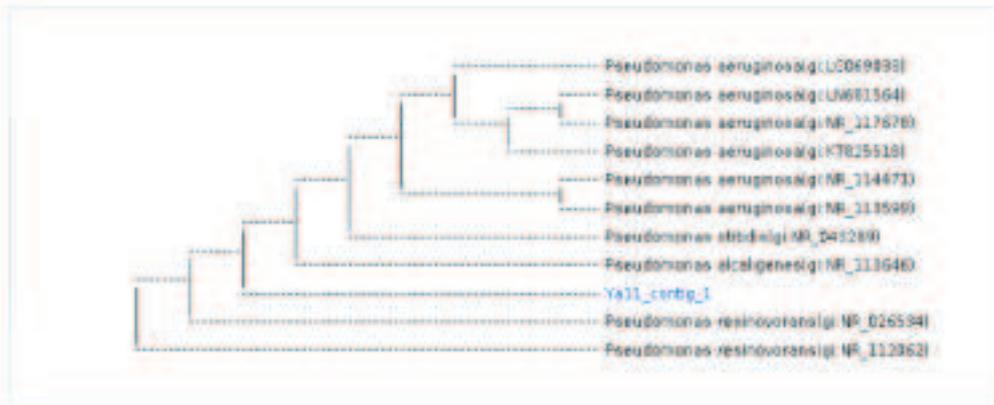


Figura 30. Análisis de genético del aislamiento Ya11, bacteria FLN de la endorizósfera de yacón (*Smallathus sonchifolius*).

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : 191227FN-039
 Sample name : YaMi_contig_1

Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
T88F	5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
S07R	5' (CGG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1492R	5' (TAC GGY TAC OTT GTT AGG AOT T) 3'

Subject					Score		E-value		Identical	
Accession	Accession	Length	Start	End	Score	E-value	Identical	Identical	Identical	Identical
LT629797.1	Pseudomonas sihuensis	547636	33211	33195	0	2713	0.0	1476/1479	99	

Kingdom	Family	Genus	Species
Bacteria	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas sihuensis

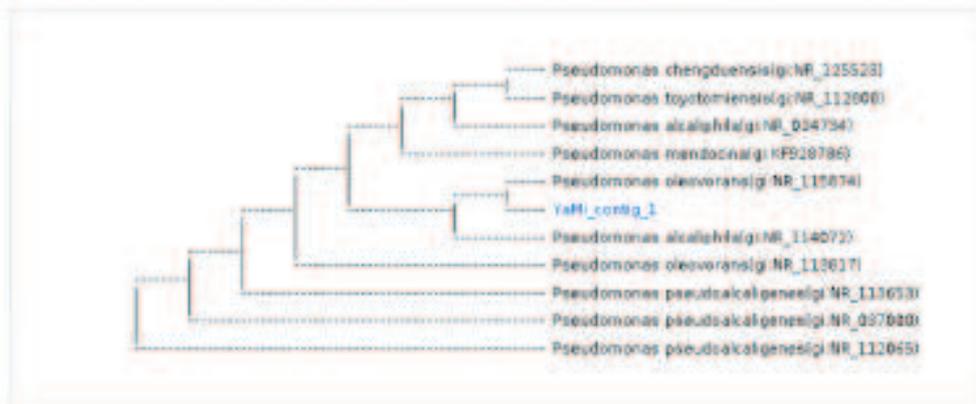


Figura 31. Análisis de genético del aislamiento YaMi, bacteria FLN de la endorizósfera de yacón (*Smallathus sonchifolius*).

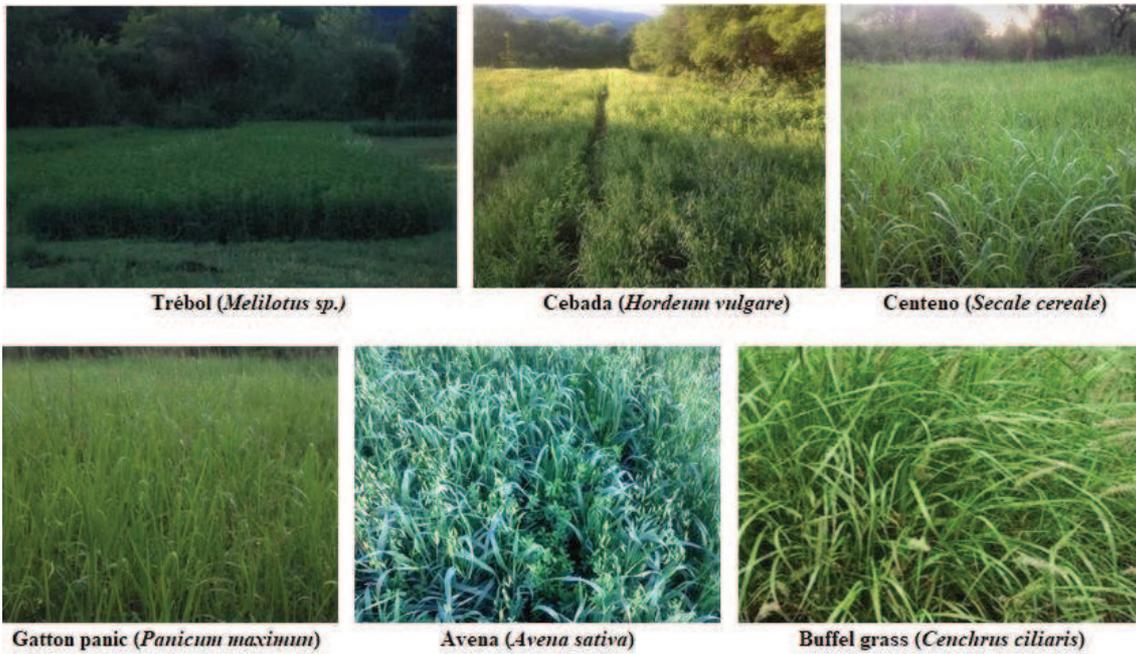


Figura 32. Cultivos trampa de hongos formadores de micorrizas.

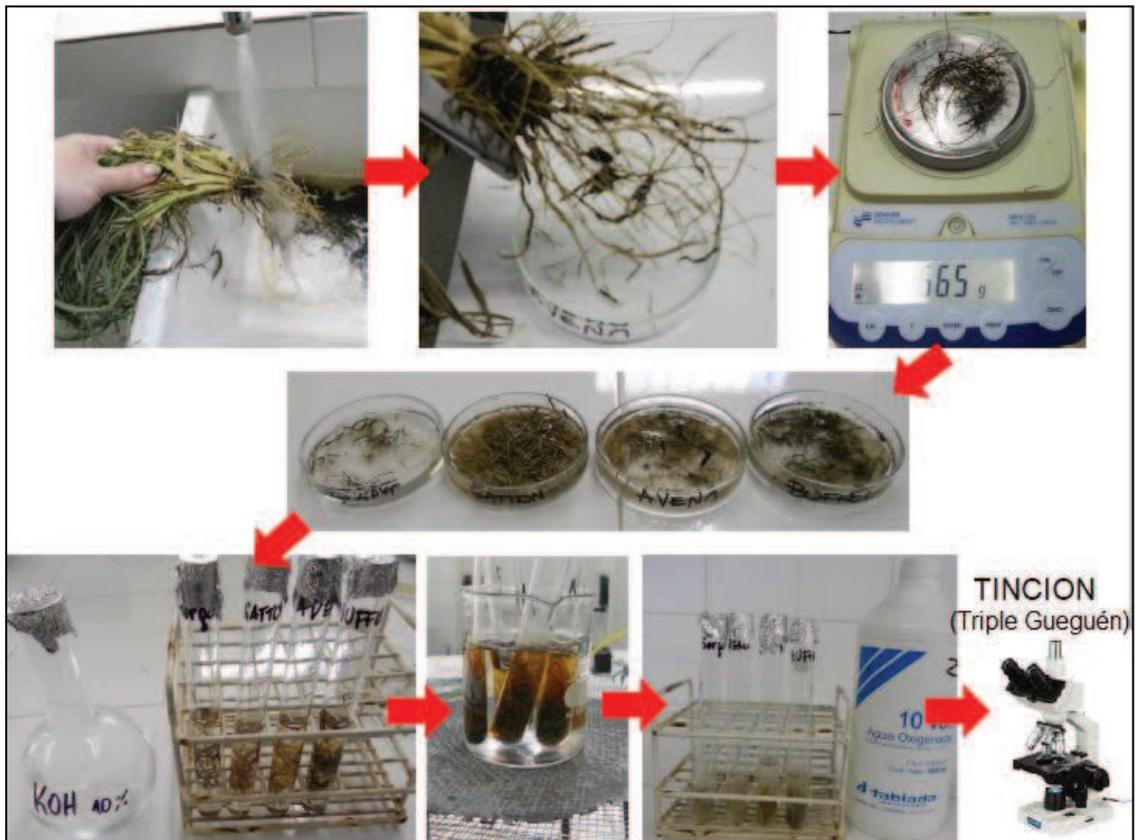


Figura 33. Técnica de clareo para la observación de estructuras de micorrizas en raíces de especies forrajeras.

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : 151222FN-122
 Sample name : FIB_config_1

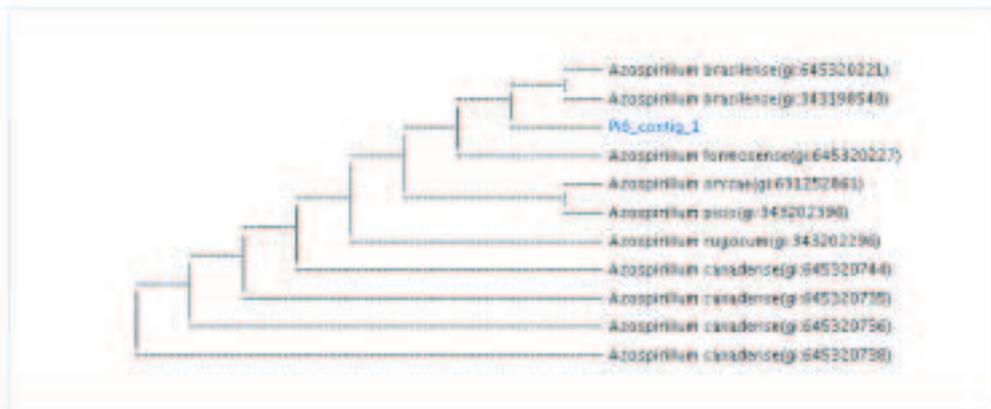
Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F	5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
807R	5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1492R	5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject					Score		Identity		
Accession	Accession	Length	Start	End	Coverage	%	3' Flank	5' Flank	
CP012917.1	Azospirillum brasilense	645064	62368	60945	0	2569	0.0	1413/1424	99

Clade	Family	Genus	Species
Bacteria	Rhodospirillaceae	Azospirillum	Azospirillum brasilense



Characterization

Figura 34. Análisis de genético de cepa Pi 8 de *Azospirillum brasilense*.

Tabla 68. Características físicas, químicas y microbiológicas de suelos de Miraflores (M N° 1 y 2) y de Valle Viejo (M N° 3 y 4).

M N°	1	2	3	4
Profundidad (cm)	0 - 40	40 - 80	0 - 40	40 - 80
Arena (%)	73,8	63,8	67,4	59,8
Arcilla (%)	8,0	10,2	8,2	8,2
Limo (%)	18,2	26,0	24,4	32,0
Clase Textural	Franco Arenoso	Franco Arenoso	Franco Arenoso	Franco Arenoso
pH (1:2,5 en agua)	7,5	8,4	8,6	8,4
Cond. Eléctrica (dS m⁻¹)	2,08	4,56	4,60	4,19
Carbono Orgánico (%)	3,32	2,91	2,80	3,29
Materia Orgánica (%)	5,72	5,01	4,83	5,68
Nitrógeno Total (%)	0,08	0,06	0,06	0,12
Fósforo (ppm)	27,43	6,03	6,03	4,98
Ca⁺⁺+Mg⁺⁺ Sol. (meq l⁻¹)	19,0	23,3	30,9	24,8
Na⁺ Soluble (meq l⁻¹)	2,55	13,47	14,50	13,19
K⁺ Soluble (meq l⁻¹)	2,14	1,54	1,07	1,91
K⁺ Intercambiable (meq 100gr⁻¹)	0,56	0,60	0,36	1,58
CIC (meq 100gr⁻¹)	3,63	4,19	7,56	7,63
Δ F	-2300	-2500	-2850	2400
RAS	0,8	3,9	3,7	3,7
FDA hidrolizado (µg)	0,052	0,023	0,019	0,012
Actividad Biológica Total	Media	Baja	Baja	Baja



Figura 35. Ensayos de topinambur (*Helianthus tuberosus*) en invernáculo.



Figura 36. Ensayos de yacón (*Smilax sonchifolius*) en invernáculo.

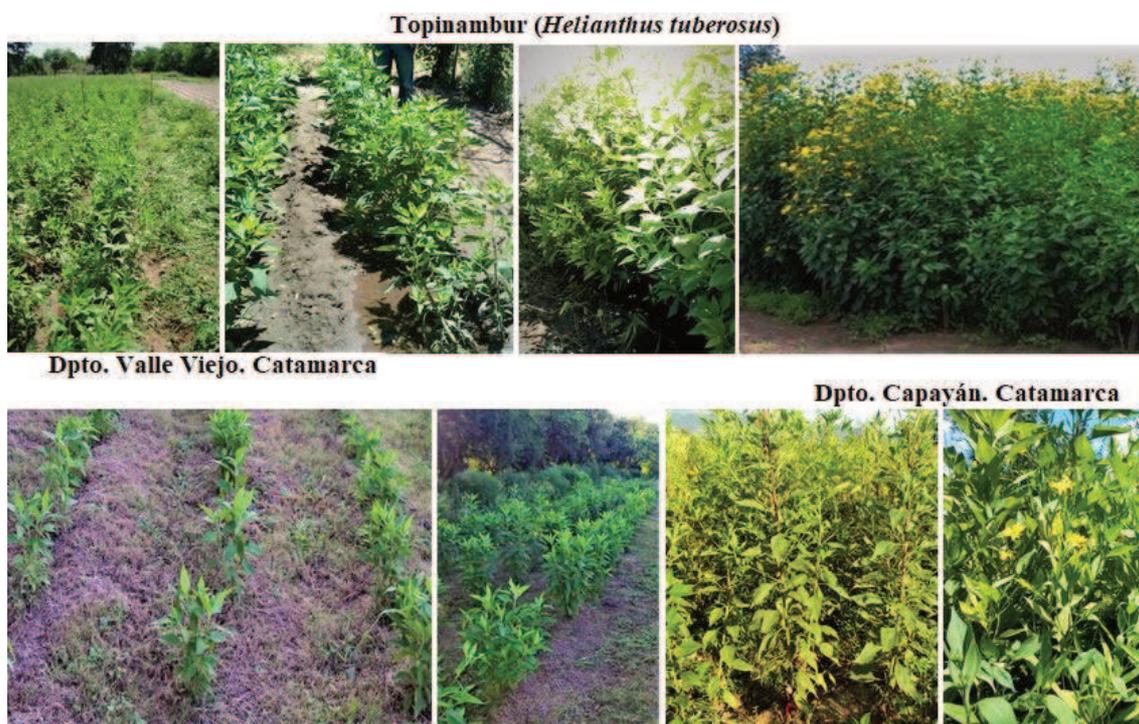


Figura 37. Ensayos de topinambur (*Helianthus tuberosus*) en campo.

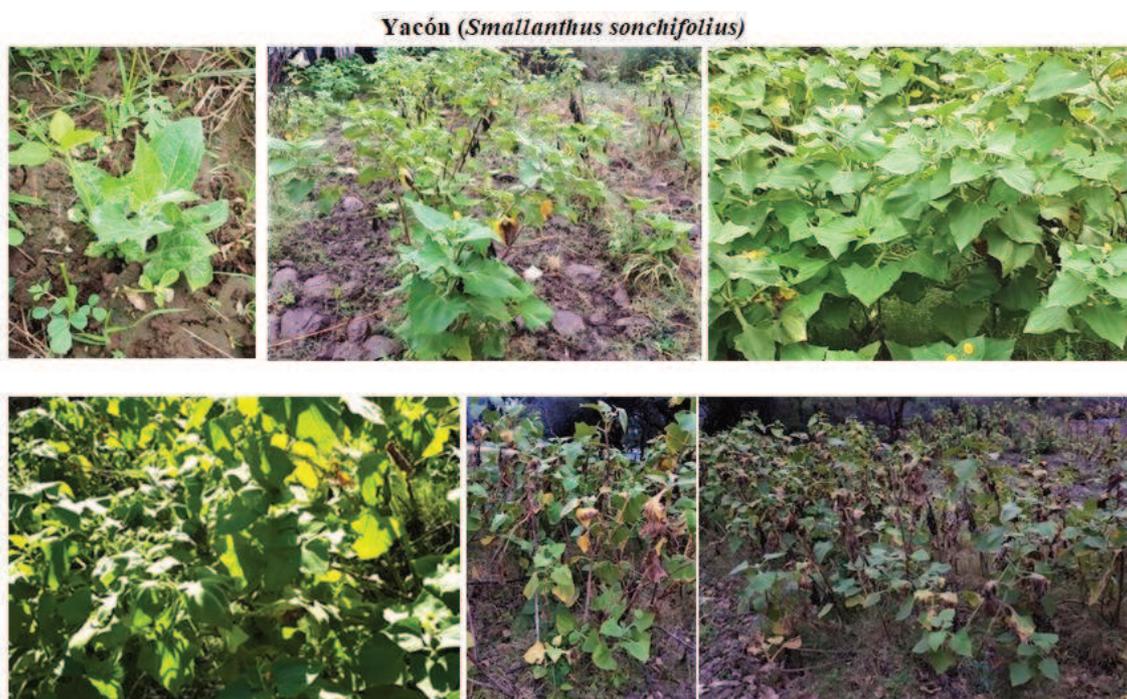


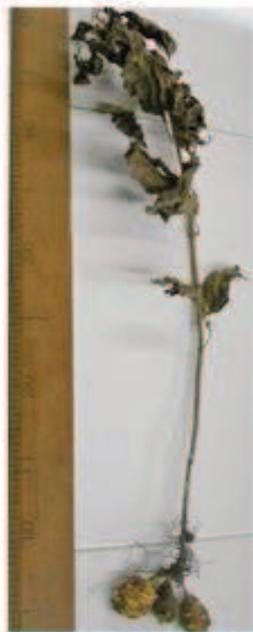
Figura 38. Ensayos de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en campo (Dpto. Valle Viejo, Catamarca).



Topinambur
(Helianthus tuberosus)



Testigo



***Azospirillum
brasiliense***



Micorrizas

***Azospirillum brasiliense*
+ Micorrizas**

Figura 39. Evaluación de ejemplares maduros de topinambur (*H. tuberosus*).

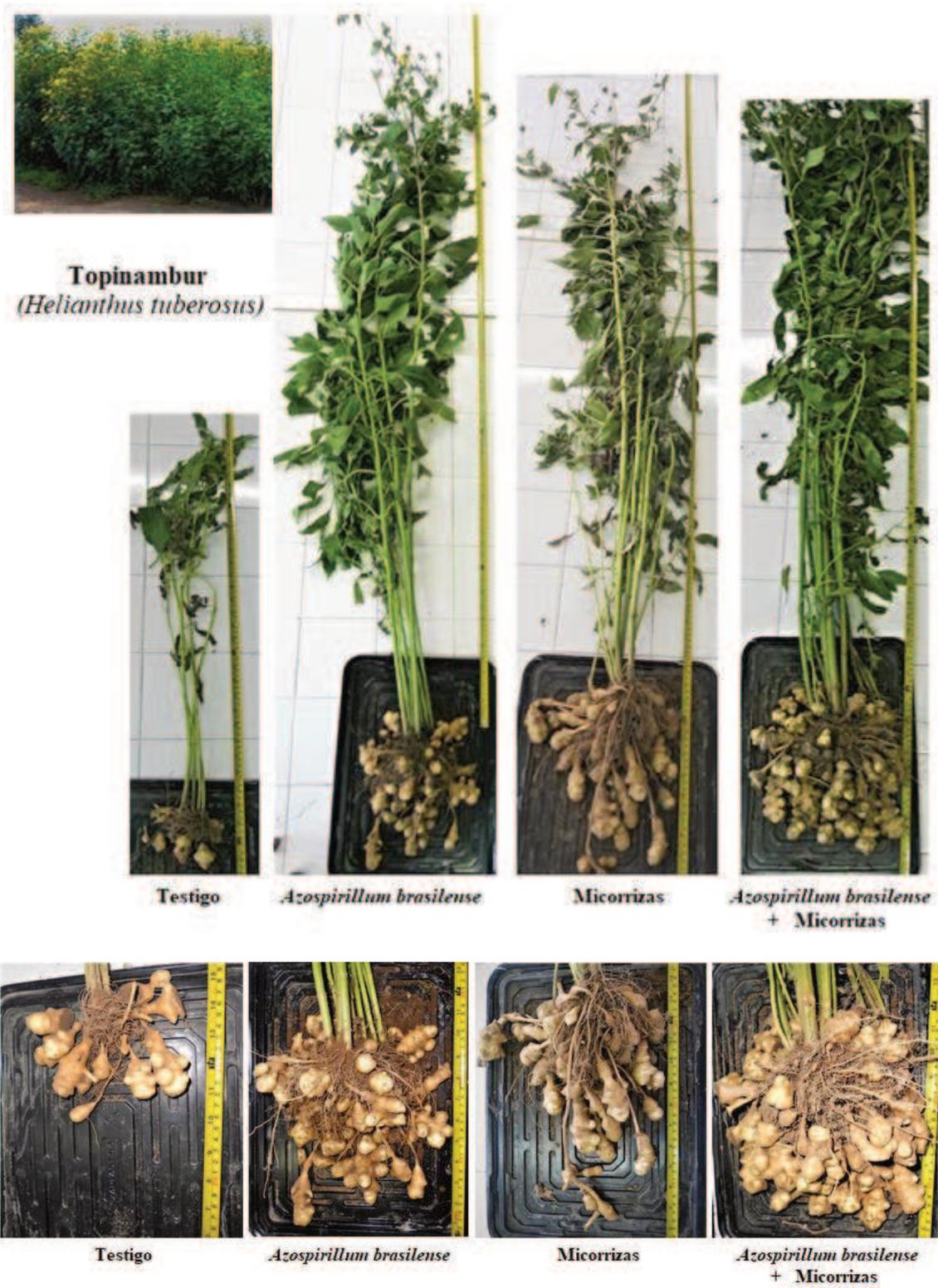


Figura 40. Evaluación de ejemplares en floración de topinambur (*H. tuberosus*).

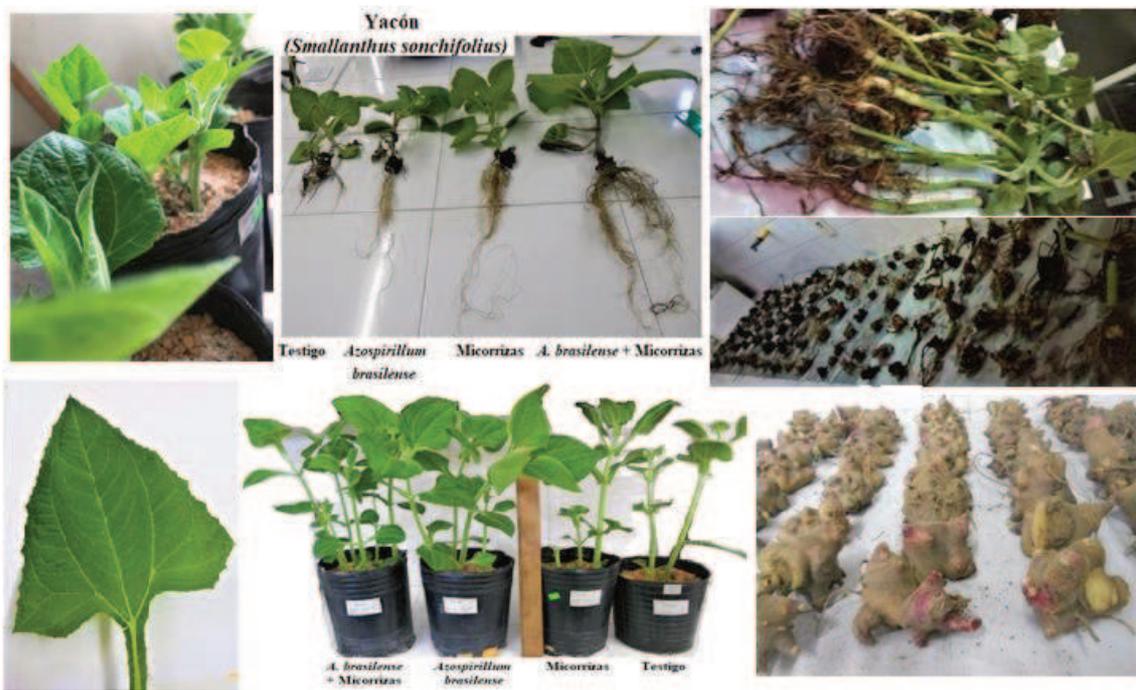


Figura 41. Ejemplares de yacón (*S. sonchifolius*) en fase de crecimiento vegetativo y propágulos.

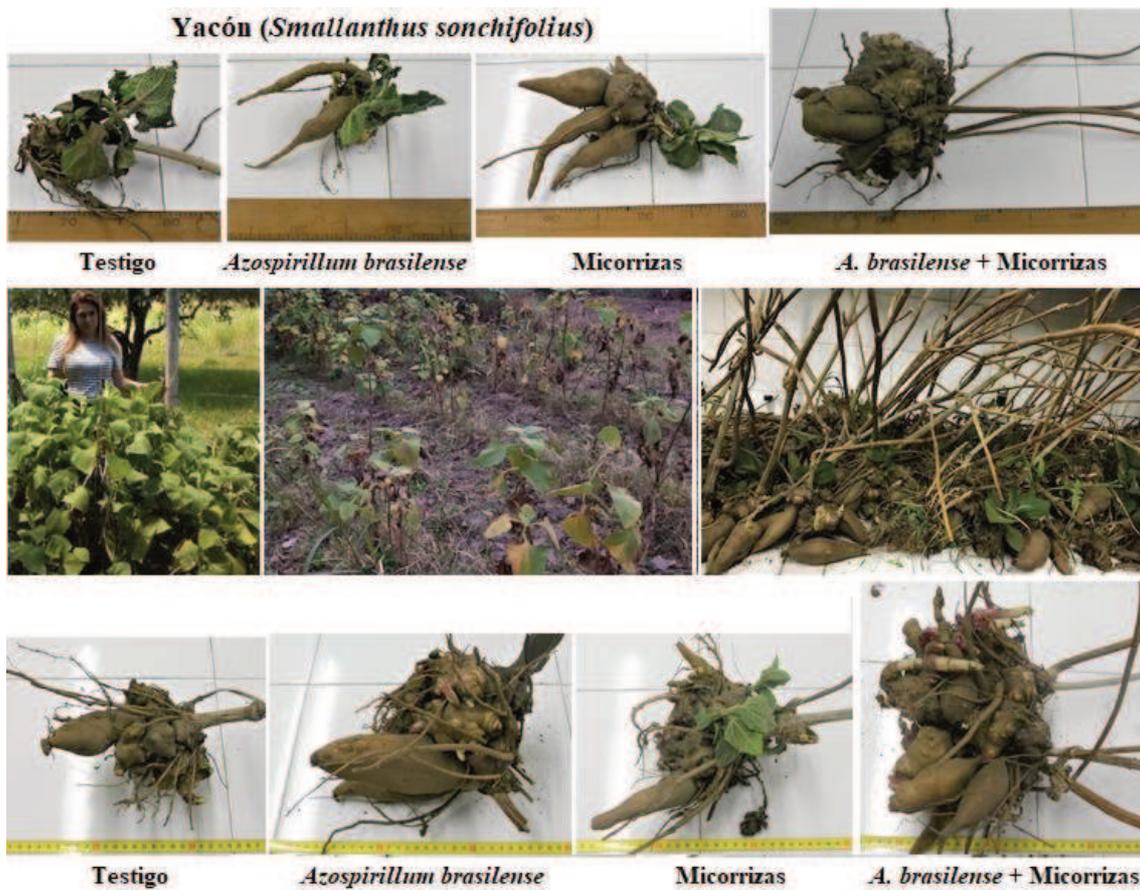


Figura 42. Ejemplares maduros de yacón (*S. sonchifolius*).

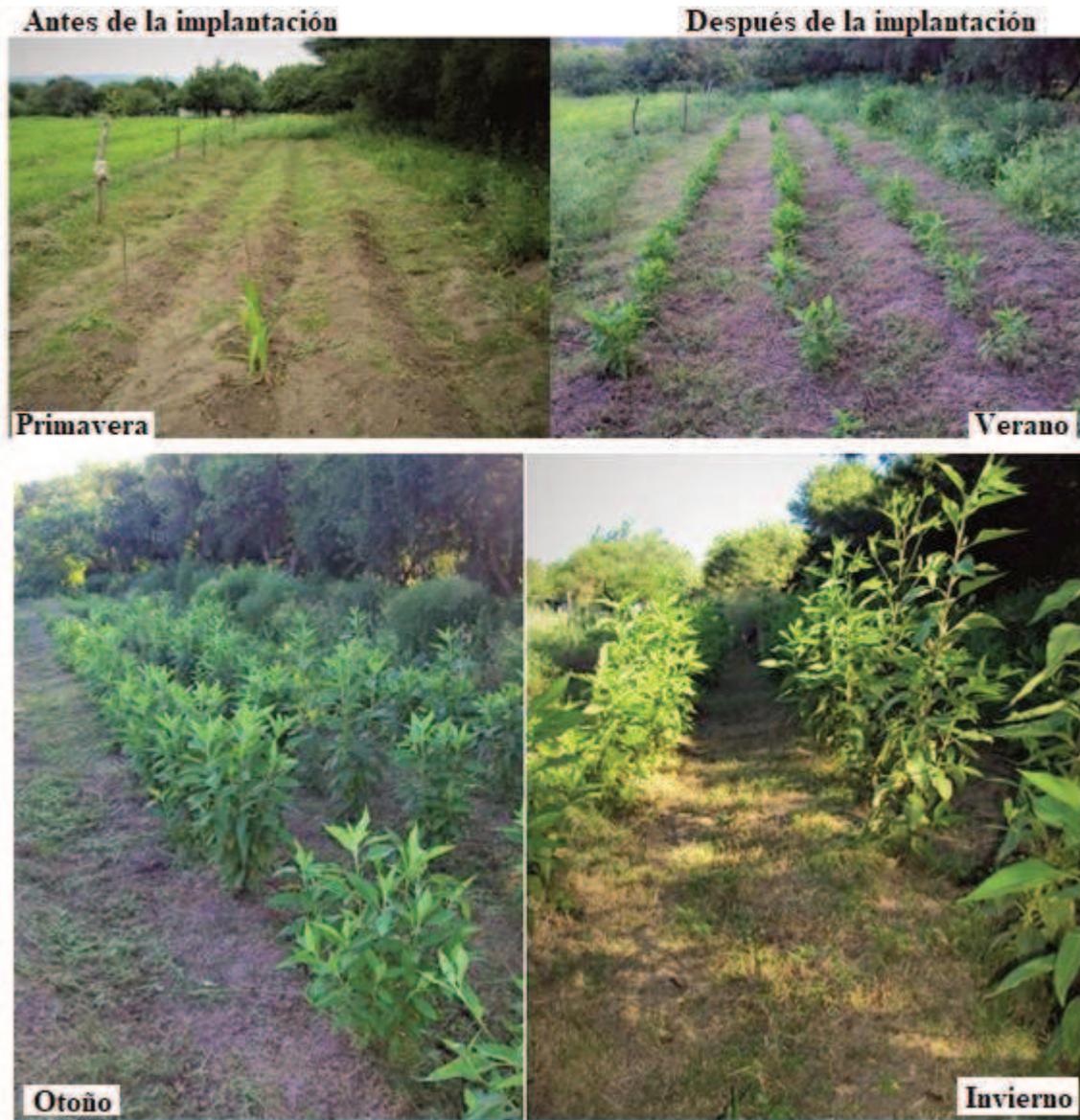


Figura 43. Lote de cultivo de topinambur (*H. tuberosus*) en la localidad de Miraflores, Dpto. Capayán, Provincia de Catamarca.

Celia de Weht

Dra. Celia I. Brandán de Weht
Director de tesis doctoral

Eleodoro E. Del Valle

Dr. Eleodoro E. Del Valle
Co-director de tesis doctoral

Gabriela Di Barbaro

Ing.Agr. Gabriela Di Barbaro
Doctorando