



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE GUAYAQUIL**

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**APROVECHAMIENTO BIOTECNOLÓGICO DE LAS MICORRIZAS
ARBUSCULARES NATIVAS EN TRES FAMILIAS BOTÁNICAS
REPRESENTATIVAS DE CULTIVOS COMERCIALES**

*Trabajo de titulación previo a la obtención
del título de Ingeniera en Biotecnología*

AUTOR:

CLAUDIA MELISSA ALVARADO CANTOS

TUTOR:

MSc. JAIME ALBERTO NARANJO MORÁN

GUAYAQUIL - ECUADOR

2025

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, **Claudia Melissa Alvarado Cantos** con documento de identificación N° 0932656762; manifiesto que:

Soy la autora y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Guayaquil, 11 de febrero del año 2025

Atentamente,



Claudia Melissa Alvarado Cantos

CI: 0932656762

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, **Claudia Melissa Alvarado Cantos** con documento de identificación N° 0932656762, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo experimental: **APROVECHAMIENTO BIOTECNOLÓGICO DE LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES NATIVAS EN TRES FAMILIAS BOTÁNICAS REPRESENTATIVAS DE CULTIVOS COMERCIALES**, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero/a en Biotecnología, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 11 de febrero del año 2025

Atentamente,



Claudia Melissa Alvarado Cantos

CI: 0932656762

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, **Jaime Alberto Naranjo Morán** con documento de identificación N° 0927155226, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **APROVECHAMIENTO BIOTECNOLÓGICO DE LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES NATIVAS EN TRES FAMILIAS BOTÁNICAS REPRESENTATIVAS DE CULTIVOS COMERCIALES**, realizado por **Claudia Melissa Alvarado Cantos** con documento de identificación N° 0932656762, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 11 de febrero del año 2025

Atentamente,



Jaime Alberto Naranjo Morán

CI: 0927155226

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mis seres queridos quienes tanto me han apoyado durante todo el trayecto universitario y me brindaron su apoyo para lograr cumplir todos mis objetivos. A mi papá, que me brindó todo su apoyo y me enseñó desde pequeña a siempre seguir esforzándome y a nunca rendirme ante cualquier situación por muy difícil que parezca, me enseñó a valorar lo que tengo y a estudiar mucho para conseguir lo que uno quiere en la vida. A mi mamá, quien siempre me dio todo su apoyo incondicional, su amor y creyó en mí siempre, bendiciéndome a cada paso del camino que recorro hasta hoy en día. A mis amigos más cercanos, gracias por su amistad incondicional y por siempre estar apoyándome y dándome consejos de vida impulsándome a seguir adelante. A los docentes, quienes me han enseñado muchas cosas acerca de la biotecnología, brindándome consejos durante toda mi trayectoria universitaria. A todos ustedes, gracias por su apoyo. Esta tesis es el fruto de todas las cosas que me brindaron y por ello se la dedico a ustedes.

Agradecimientos

Agradezco a la Universidad Politécnica Salesiana por permitirme ser un buen profesional en lo que tanto me apasiona, por brindarme los equipos y el espacio físico necesario para realizar este trabajo. A mi tutor Jaime Naranjo, por darme su guía durante toda la elaboración de esta tesis y por las recomendaciones para lograr un excelente trabajo de graduación. A mis padres por todo su apoyo y amor que significó mucha importancia durante todo mi trayecto de vida. A mis amigos y compañeros de universidad, por recorrer conmigo este camino y por brindarme su apoyo. A los laboratoristas que me ayudaron con el uso de los equipos y las instalaciones del laboratorio de la universidad.

Resumen

El aumento de la demanda de alimentos genera una necesidad de incrementar la producción agrícola lo que provoca contaminación ambiental por el uso indebido de fertilizantes químicos, por lo cual se está examinando el uso de nuevas alternativas sostenibles como los biofertilizantes. Este estudio busca caracterizar los géneros de hongos micorrízicos arbusculares nativos y analizar su efectividad como posible biofertilizante. Se calculó el porcentaje de micorrización y el número de esporas en las raíces de tres familias vegetales de importancia comercial mediante el tamizaje húmedo y la tinción con azul de tripano, posteriormente se las caracterizó para ver su biodiversidad. Luego se las inoculó en plántulas de tomate según diferentes tratamientos y sustratos evaluándose la altura, número de hojas, clorofila y porcentaje de micorrización de cada una. Los resultados identificaron géneros como *Glomus sp.*, *Acaulospora sp.*, y *Septoglomus sp.* en las tres especies vegetales muestreadas, mientras que el porcentaje de micorrización más alta fue de la especie perteneciente a la familia Fabaceae con un 87,33 % y la que obtuvo el mayor número de esporas fue la especie de la familia Passifloraceae con una cantidad de 116 esporas. Los hongos micorrízicos arbusculares demostraron tener cierto efecto positivo en el crecimiento radicular del tomate por lo que se podrían usar como biofertilizantes en el sector agrícola para aumentar la masa radicular. En conclusión, esto puede brindar una alternativa efectiva y sostenible para mejorar la productividad agrícola de los campos y reducir el uso de fertilizantes químicos.

Palabras clave: HMA, tomate, agricultura sostenible, biofertilizante, tamizaje húmedo

Abstract

The increase in the demand for food generates a need to increase agricultural production, which causes environmental pollution due to the improper use of chemical fertilizers. Therefore, the use of new sustainable alternatives such as biofertilizers is being examined. This study seeks to characterize the genera of native arbuscular mycorrhizal fungi and analyze their effectiveness as a possible biofertilizer. The percentage of mycorrhization and the number of spores in the roots of three commercially important plant families were calculated by wet screening and trypan blue staining. They were then characterized to see their biodiversity. They were then inoculated into tomato seedlings according to different treatments and substrates, evaluating the height, number of leaves, chlorophyll and percentage of mycorrhization of each one. The results identified genera such as *Glomus sp.*, *Acaulospora sp.*, and *Septoglomus sp.* in the three plant species sampled, while the highest mycorrhization percentage was of the species belonging to the Fabaceae family with 87.33 % and the one that obtained the highest number of spores was the species of the Passifloraceae family with a quantity of 116 spores. Arbuscular mycorrhizal fungi demonstrated to have a certain positive effect on tomato root growth so they could be used as biofertilizers in the agricultural sector to increase root mass. In conclusion, this can provide an effective and sustainable alternative to improve agricultural productivity of fields and reduce the use of chemical fertilizers.

Keywords: AMF, tomato, sustainable agriculture, biofertilizer, wet screening

Índice de Contenido

Capítulo 1	1
Antecedentes	1
1.1. Introducción	1
1.2. Planteamiento del problema	2
1.3. Justificación.....	3
1.4. Pregunta de investigación.....	4
1.5. Objetivos	4
1.5.1. Objetivo general	4
1.5.2. Objetivos específicos.....	4
1.6. Hipótesis.....	4
Capítulo 2	5
Marco Teórico	5
2.1. Agricultura sostenible	5
2.1.1. Biofertilizantes	5
2.2. Hongos micorrízicos arbusculares	6
2.2.1. Beneficios.....	6
2.2.2. Aplicaciones en la agricultura	6
2.3. Familias Fabaceae	7
2.4. Familias Solanaceae	8
2.5. Familias Passifloraceae	8
2.6. Cultivo trampa.....	8

Capítulo 3	10
Materiales y Métodos	10
3.1. Materiales y equipo	10
3.2. Metodología	10
3.2.1. Muestreo.....	11
3.2.2. Determinación del porcentaje de micorrización.....	12
3.2.2.1. Lavado de raíces.....	12
3.2.2.2. Clarificación de raíces	13
3.2.2.3. Tinción de raíces con azul de tripano.....	13
3.2.3. Cuantificación y taxonomía de esporas.....	15
3.2.3.1. Tamizaje húmedo de esporas	15
3.2.3.2. Cuantificación y montaje de esporas.....	15
3.2.4. Diseño experimental.....	16
3.2.3.2. Análisis estadístico	18
Capítulo 4.....	19
Resultados y Discusiones	19
4.1. Porcentaje de micorrización en las muestras de raíces de tres familias vegetales	19
4.2. Clasificación morfológica y cuantificación de las esporas encontradas en tres familias vegetales	22
4.3. Evaluación de la viabilidad de los HMA como biofertilizante en plantas de tomate	26
Capítulo 5.....	29

Conclusiones y Recomendaciones	29
5.1. Conclusiones	29
5.2. Recomendaciones.....	30
Referencias Bibliográficas	31
Anexos.....	37

Índice de figuras

Figura 1. <i>Nódulos radiculares de una planta fabácea</i>	7
Figura 2. <i>Esquema metodológico del estudio de micorrizas arbusculares</i>	10
Figura 3. <i>Recolección de muestras de raíces y suelo rizosférico</i>	11
Figura 4. <i>Método de tinción de raíces con azul de tripano</i>	12
Figura 5. <i>Raíces luego del proceso de lavado</i>	13
Figura 6. <i>Cortado de raíces (a) y (b) montaje de raíces teñidas</i>	14
Figura 7. <i>Metodología para la cuantificación y taxonomía de las esporas de HMA</i>	16
Figura 8. <i>Estructuras micorrízicas en las raíces de tres familias vegetales</i>	19
Figura 9. <i>Comparación del % de micorrización de HMA en tres familias vegetales</i> ..	20
Figura 10. <i>Esporas de HMA en el suelo rizosférico de S. nigrum</i>	22
Figura 11. <i>Esporas de HMA en el suelo rizosférico de P. foetida</i>	23
Figura 12. <i>Esporas de HMA en el suelo rizosférico de M. albida</i>	24
Figura 13. <i>Experimento con plantas de tomate y medición de clorofila</i>	28

Índice de tablas

Tabla 1. *Cantidad de esporas por gramo de suelo y por ml.....* 24

Tabla 2. *Valores promedio de las variables del experimento.....*
26

Índice de Anexos

<i>Anexo 1. Tabla de materiales y equipos utilizados durante el experimento</i>	<i>37</i>
<i>Anexo 2. Tabla de materiales y equipos utilizados durante el experimento</i>	<i>38</i>
<i>Anexo 3. Pasos de las etapas del experimento</i>	<i>39</i>
<i>Anexo 4. Tabla general de datos para el crecimiento y micorrización de las plantas de tomate</i>	<i>47</i>
<i>Anexo 5. Análisis de ANOVA para medir la efectividad del experimento</i>	<i>48</i>

Capítulo 1

Antecedentes

1.1. Introducción

Actualmente, la creciente demanda de alimentos en el mundo ha causado una sobreexplotación de las tierras de cultivo provocando un desgaste de los nutrientes y una erosión de los suelos resultando en una baja productividad. En respuesta a esta problemática, se han buscado alternativas que incrementen los nutrientes del suelo y faciliten su absorción por parte de las plantas con el fin de encontrar una alternativa que a su vez sea sostenible y amigable con el medio ambiente, como lo es la agricultura sostenible, destacándose el uso de microorganismos benéficos para suelos y plantas, siendo los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) uno de los más estudiados en este contexto (Soto Sogamoso *et al.*, 2022).

Los hongos micorrízicos arbusculares juegan un papel clave en la agricultura sostenible, una alternativa sustentable para mitigar las consecuencias dejadas por el mal uso de los fertilizantes químicos y las malas prácticas agrícolas. Estos HMA establecen una relación simbiótica con las raíces de las plantas ayudándolas a atraer los nutrientes y el agua del suelo a cambio de los suministros de carbono producidos por ellas (Miranda Pérez *et al.*, 2021). Los HMA contribuyen a los servicios ecosistémicos, razón por la cual son aprovechados en el ámbito de la agricultura para mejorar la calidad de los suelos evitando su erosión y actuando como biofertilizantes (Prieto Benavides *et al.*, 2024).

Diversas investigaciones han evaluado la efectividad de las micorrizas arbusculares aplicadas como biofertilizante debido a los diversos beneficios que otorgan a las plantas. Según Quiñones-Aguilar *et al.* (2021), los consorcios de HMA nativos del lugar donde se aplicará el biofertilizante demuestran ser más efectivos que los HMA no nativos, debido a la limitada adaptación de estos últimos a distintas condiciones ambientales. Además, se ha reportado que

los HMA mejoran el rendimiento de las plantas al enriquecer los nutrientes y la actividad biológica del suelo, así como facilitar la absorción de agua y minerales por las raíces promoviendo su crecimiento (Rawaa *et al.*, 2024).

1.2. Planteamiento del problema

En Ecuador una de las fuentes de ingresos económicos es la agricultura que representa el 8% del Producto Interno Bruto (PBI) anual según el Ministerio de Agricultura y Ganadería (2019), proporcionando la mayoría de los alimentos saludables del país. La creciente demanda de alimentos genera la necesidad de incrementar la productividad de los cultivos de importancia comercial como la papa, maíz, arroz, banano, entre otros, razón por la cual se incrementó el uso de los fertilizantes químicos que aportan los nutrientes necesarios para cada cultivo permitiendo un buen crecimiento y aumentando el rendimiento del mismo. Sin embargo, su uso prolongado provoca consecuencias negativas hacia el medio ambiente (Pahalvi *et al.*, 2021).

La contaminación provocada por las diversas actividades agrícolas e industriales han sido siempre un problema que el ser humano trata de reducir y mitigar su impacto en el ecosistema. El planteamiento del uso de alternativas ecológicas para resolver el presente problema es una buena forma de aprovechar los recursos naturales y con ello ayudar en la reducción de la contaminación ambiental al mismo tiempo que se eleva la producción alimenticia, siendo el aprovechamiento biotecnológico de organismos benéficos para las plantas y el suelo como los hongos micorrízicos arbusculares una opción viable, no obstante, estos organismos no han sido estudiados a plenitud por lo que existe un limitado conocimiento sobre la diversidad y el potencial que poseen en los diversos ecosistemas.

1.3. Justificación

El rápido ritmo creciente de la población, junto con los efectos del cambio climático, ha intensificado la demanda de alimentos, por la cual se ha puesto más enfoque en alternativas para enfrentar estos problemas. En Ecuador, la producción agrícola enfrenta una disminución, debido a las largas sequías que perjudican los cultivos incrementando el uso de agroquímicos, no obstante, el uso excesivo de los mismos ha provocado la contaminación de aguas y suelos, así como la pérdida de nutrientes y la erosión de los suelos. Esta situación resalta la necesidad de implementar prácticas de agricultura sostenible que mejoren el rendimiento tanto del suelo como de los cultivos (Cuadrado Andrade, 2023).

En este contexto, el uso de HMA en la agricultura es importante puesto que brindan una mayor estabilidad a las propiedades del suelo, potencian el desarrollo de las plantas y aumentan su resistencia frente a patógenos y factores de estrés abiótico (Kuila & Ghosh, 2022).

La determinación del porcentaje de micorrización y el conteo de esporas son aspectos fundamentales en este estudio puesto que, proporcionan información sobre la relación simbiótica entre los HMA y las familias vegetales analizadas. Estos datos permiten evaluar la eficacia de la colonización por parte de los HMA, así como su compatibilidad con la planta hospedera. Además, constituye un paso esencial para la caracterización de la diversidad de especies de HMA que forman simbiosis efectivas con las familias vegetales en estudio, identificando las especies de HMA más efectiva para cada tipo de familia vegetal.

Finalmente, la comprobación de la viabilidad de las esporas de HMA contribuirá con el desarrollo de un biofertilizante micorrízico efectivo, al mejorar la productividad de los campos que asegure las esporas presentes en condiciones que les permitan adaptarse y formar asociaciones con la rizósfera que beneficie a las plantas.

1.4. Pregunta de investigación

¿La inoculación con micorrizas arbusculares nativas de tres familias botánicas representativas de cultivos comerciales afectará el crecimiento de las plantas de tomate?

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo general

Caracterizar los hongos micorrízicos arbusculares nativos en tres familias botánicas representativas de cultivos comerciales del campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana.

1.5.2. Objetivos específicos

Determinar el porcentaje de colonización micorrízica y número de esporas en la rizósfera de tres familias vegetales representativas de cultivos comerciales en el campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana.

Caracterizar la diversidad taxonómica de géneros de micorrizas arbusculares mediante manuales certificados de atributos morfológicos de las esporas.

Comprobar la viabilidad del consorcio micorrízico nativo en cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*) para la elaboración de un biofertilizante micorrízico.

1.6. Hipótesis

El consorcio micorrízico nativo de tres familias vegetales tendrá un impacto positivo en el crecimiento general de las plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*), en comparación con plantas cultivadas sin la aplicación de este.

Capítulo 2

Marco teórico

2.1. Agricultura sostenible

El término “agricultura sostenible” hace referencia a la agricultura diferente de la convencional, aquella en la que se usan productos químicos para incrementar el rendimiento de los cultivos, de manera que promueva el desarrollo sostenible entre economía, medio ambiente y sociedad (concepto propuesto por John Elkington), buscando desarrollar prácticas agrícolas que incrementen la producción mientras se protegen los recursos naturales, contribuyendo con la seguridad alimentaria al brindar alimentos más sanos y libres de químicos (Mier-Tous *et al.*, 2023).

A pesar de esto, la implementación de una agricultura sostenible se ha visto obstaculizada debido a la ambigüedad que presenta su concepto, la falta de costos de implementación, la falta de comprensión acerca de los beneficios que otorga, entre otros, lo que afecta la comprensión de este por parte de los agricultores, quienes son considerados los principales encargados de poner en práctica la agricultura sostenible (Laurett *et al.*, 2021).

2.1.1. Biofertilizantes

Los biofertilizantes emergen como una solución biotecnológica para reducir la dependencia de fertilizantes químicos y promover al mismo tiempo prácticas agrícolas más sostenibles. Estos productos contienen microorganismos cuya actividad biológica favorece el crecimiento vegetal al permitir la obtención de nutrientes del suelo hacia las plantas con mayor facilidad, para aumentar la fertilidad del suelo. Entre los microorganismos utilizados como biofertilizante se encuentran los hongos micorrízicos arbusculares también conocidos como HMA (Osvaldo Pedraza *et al.*, 2021).

2.2. Hongos micorrízicos arbusculares

Los HMA, pertenecientes al *Phylum Glomeromycota*, interactúan con la rizósfera formando estructuras especializadas llamadas micorrizas, mediante las cuales aprovechan el carbono liberado por las plantas y, a su vez, transfieren los nutrientes del suelo a las plantas. Según Osvaldo Pedraza *et al.* (2021), las comunidades de estos microorganismos tienen cierta especificidad respecto a la especie vegetal con la que establecen simbiosis, debido a los exudados radiculares y la composición química del suelo que rodea a dicha planta.

2.2.1. Beneficios

Los HMA promueven el crecimiento y desarrollo de la planta hospedante, aumentan la protección contra patógenos, limitan la absorción de metales pesados y mejoran las propiedades físico-químicas del suelo gracias a la liberación de la proteína glomalina tras la muerte de las hifas, lo que les permite aumentar la resistencia de las plantas frente a distintos tipos de estrés biótico y abiótico (Valdés *et al.*, 2020). Al poder formar grandes redes de micelio tienen un mayor acceso a los nutrientes y agua del suelo, en adición aumenta la interacción entre los microorganismos presentes en el suelo (bacterias, insectos) (Delgado Silva & Gutiérrez Montoya, 2022).

2.2.2. Aplicaciones en la agricultura

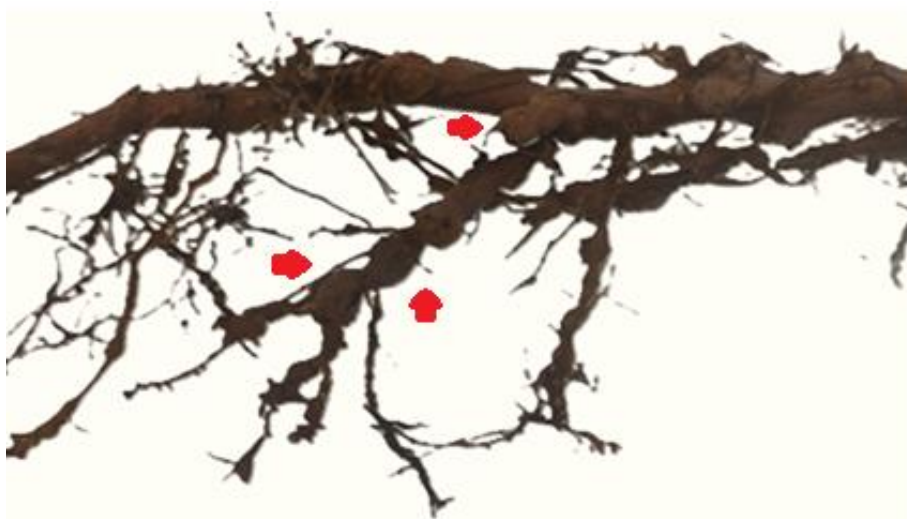
En la agricultura, los HMA tienen una alta relevancia debido a que forman relaciones simbióticas con alrededor del 90 % de las especies vegetales, incluidas las de importancia comercial, formando asociaciones con angiospermas, gimnospermas, pteridofitas y briofitas. Se ha demostrado que aumentan el volumen de las raíces de aquellas plantas micorrizadas, mejoran la movilidad de los iones como fósforo, boro, zinc y nitrógeno actuando como un

biofertilizante por lo que son ampliamente aceptadas por los agricultores (Herrera-Monroy *et al.*, 2023).

2.3. Familias Fabaceae

La familia Fabaceae es una de las más conocidas a nivel comercial por su importancia alimenticia y la tercera en diversidad vegetal desde arboles tropicales grandes hasta arbustos y trepadoras leñosas, caracterizadas por contener un fruto dehiscente conocido como legumbre y por hospedar en sus raíces bacterias fijadoras de nitrógeno que forman nódulos radicales (**Figura 1**) proveyéndoles el nitrógeno necesario para su crecimiento (Foresto, 2021). Entre las especies de interés comercial se encuentran la soja, lenteja, maní, garbanzo, arvejas, entre otras.

Figura 1. Nódulos radiculares de una planta Fabacea



Nota. Imagen de las raíces de *Mimosa albida* con nódulos radiculares.

Tomada por la autora, (2025)

Las fabáceas también pueden relacionarse con organismos como los hongos, según Valladares Samperio & Monroy Ata (2024), la simbiosis entre *Agave salmiana* y *Mimosa lacerata* con los hongos micorrízicos arbusculares mejoró el crecimiento de ambas plantas y

alcanzó un porcentaje de micorrización del 70%, demostrando que los HMA brindan beneficios para esta familia vegetal.

2.4. Familia Solanaceae

La familia Solanaceae está conformada por plantas cosmopolitas, es decir, que se distribuyen en distintos hábitats ya sean tropicales hasta templados, se han reportado más de 2800 especies mayormente comestibles. Esta familia está compuesta por árboles grandes hasta hierbas, con flores hermafroditas de distintos tamaños, secretan varios alcaloides tóxicos razón por la cual se debe tener un manejo adecuado antes de ser ingeridas, entre los cultivos más conocidos están la papa, el pimiento y los tomates (Albarracin-Gomez *et al.*, 2023).

2.5. Familia Passifloraceae

La familia Passifloraceae comprende aproximadamente 18 géneros y 700 especies que crecen en hábitats de clima tropical y templado, forman parte arbustos trepadores con zarcillos con hojas simples o compuestas palmatilobuladas, caracterizadas por poseer una corona de filamentos entre la corola de 5 pétalos y los estambres (Verçoza, 2024).

2.6. Cultivo trampa

Los beneficios otorgados por las micorrizas arbusculares son muy diversos y excelentes como alternativa de fertilización y mejoramiento de los cultivos, razón por la que se busca una manera de propagarlas. Para multiplicar las micorrizas arbusculares es necesario de plantas huéspedes conocidos como cultivos trampa debido a la característica que presentan como simbiontes obligados, es decir que necesitan de una planta huésped para completar su ciclo de vida, razón por la cual se ha dificultado su reproducción en laboratorio (Robles-González, 2024). Los factores que afectan la propagación de HMA son el tipo de planta hospedera, el sustrato

utilizado, el método de inoculación de las esporas y el tipo de cepas inoculantes utilizadas, entre las cuales el uso de cepas nativas es más eficiente puesto que se adaptan mejor a las condiciones propias del lugar de donde se obtienen y posteriormente se aplican (Gío-Trujillo *et al.*, 2024).

Capítulo 3

Materiales y Métodos

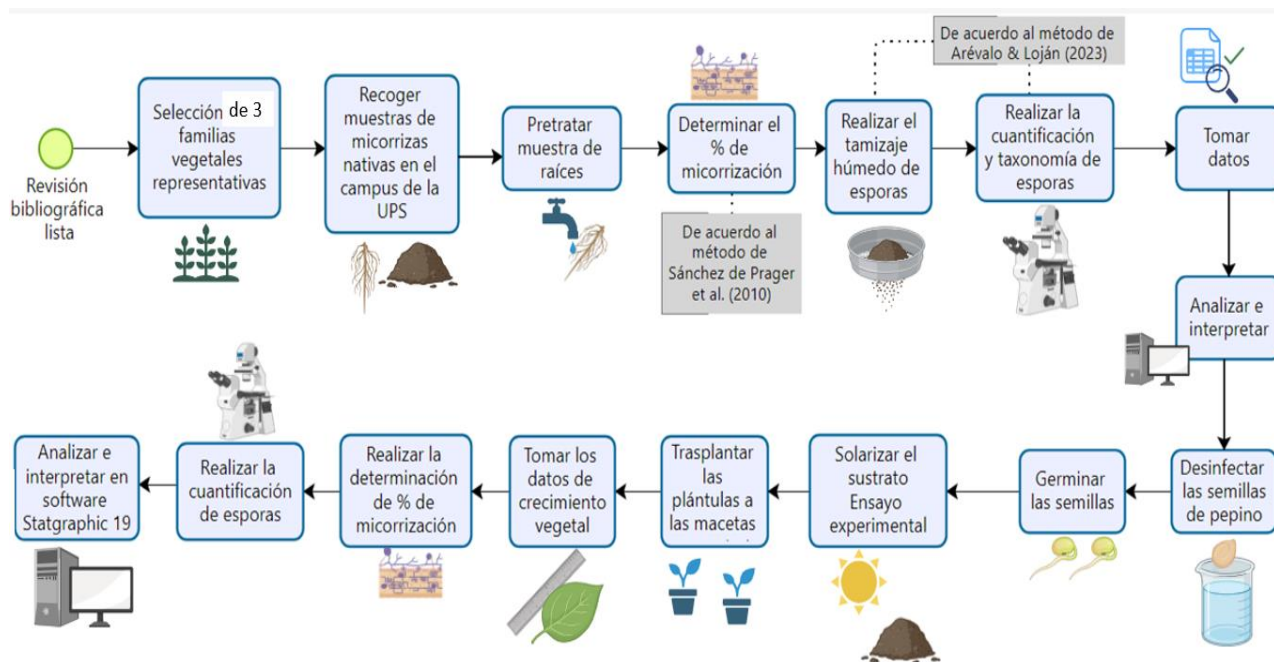
3.1. Materiales y equipos

Para la caracterización de las esporas de HMA presentes en tres familias vegetales y su porcentaje de micorrización, así como la evaluación de la efectividad de las micorrizas arbusculares en el cultivo de tomate se emplearon diversos equipos, materiales y reactivos que se enlistan en el **Anexo 1**.

3.2. Metodología

En la siguiente figura se ilustra el esquema metodológico empleado para este estudio.

Figura 2. Esquema metodológico del estudio de micorrizas arbusculares



Nota. La imagen explica la metodología empleada durante este estudio. Elaborada por la autora, (2025).

Se realizó una búsqueda bibliográfica en Google Académico, repositorios universitarios y revistas científicas con el fin de seleccionar artículos relevantes sobre el tema investigado. Los términos de búsqueda usados fueron “micorrizas arbusculares”, “HMA”, “propagación de micorrizas”, “cultivo trampa y micorrizas”. Posteriormente, se seleccionó los artículos de relevancia para el presente trabajo.

3.2.1. Muestreo

Se tomaron muestras de tres plantas pertenecientes a la familia Fabaceae, Solanaceae y Passifloraceae que se encontraron en el campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana. Se recolectaron las raíces a una profundidad de 10-15 cm y muestras de suelo rizosférico a una distancia de 5 cm de las raíces (Figura 3).

Figura 3. *Recolección de muestras de raíces y suelo rizosférico*

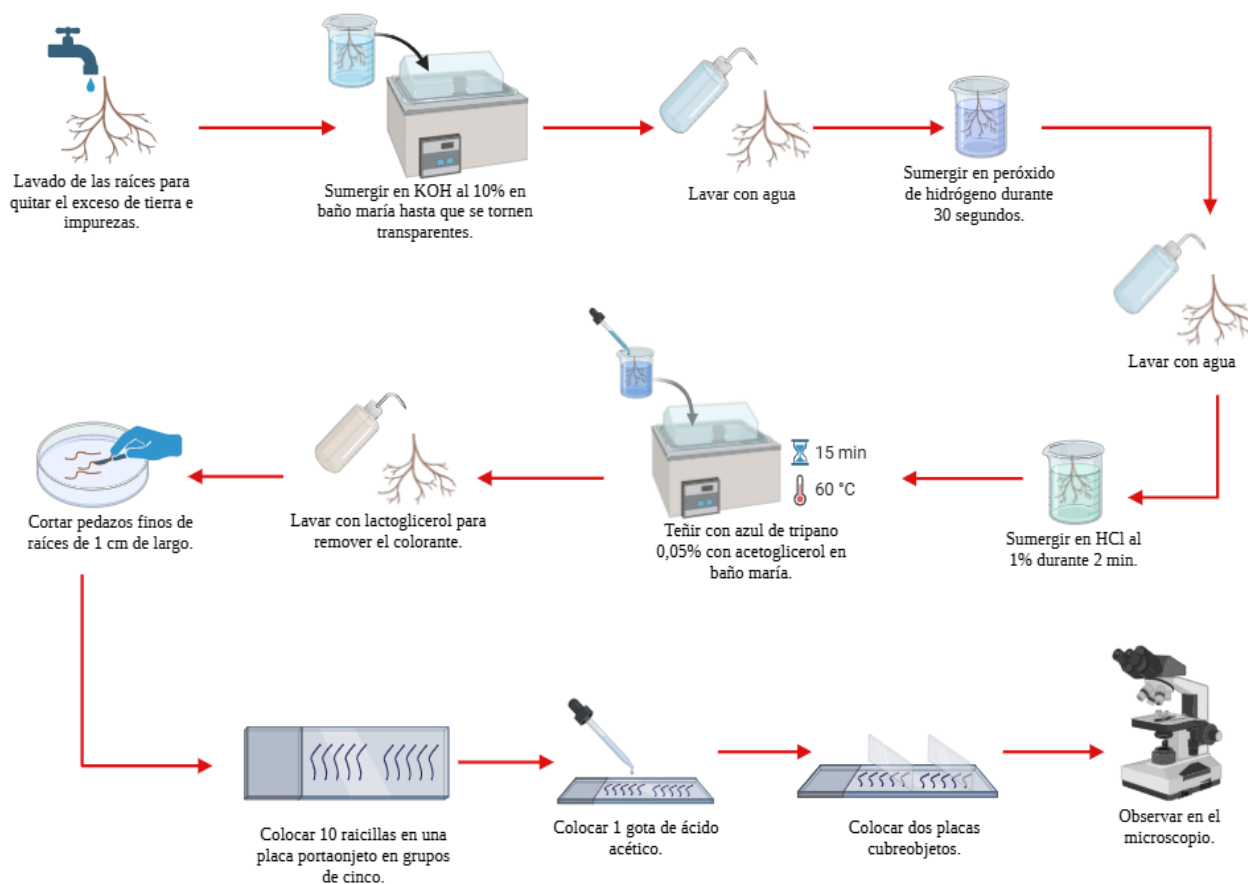


Nota. La imagen de la izquierda muestra el proceso de recolección de suelo y la imagen de la derecha muestra la recolección de raíces. Elaborada por la autora, (2025).

3.2.2. Determinación del porcentaje de micorrización

El método para evaluar el porcentaje de micorrización fue el de teñido de las raíces con azul de tripano siguiendo el método modificado de Phillips y Hayman (1970) ilustrado en la **Figura 4**. Para ello se utilizó los reactivos enlistados en el **Anexo 2**.

Figura 4. Método de tinción de raíces con azul de tripano



Nota. Elaborada por la autora, (2025).

3.2.2.1. Lavado de raíces

Se lavan con cuidado las raíces con agua para quitar todos los excesos de tierra e impurezas.

Figura 5. Raíces luego del proceso de lavado



Nota. Elaborada por la autora, (2025).

3.2.2.2. Clarificación de raíces

Se clarifican las raíces colocándolas en tubos rotulados sumergiéndolas en una solución de KOH al 10 % p/v en autoclave a 121 °C por 15 minutos, luego se lavó dicha solución con agua corriente, se blanqueó cubriendo las raíces con peróxido de hidrógeno alcalino por 30 segundos, se procedió a lavar con agua y se adicionó HCL al 1 % durante 2 min y se eliminó dicha solución sin lavar las raíces (Sánchez de Prager *et al.*, 2010).

3.2.2.3. Tinción de raíces con azul de tripano

La tinción de las raíces se realizó con azul de tripano al 0,05 % con lactoglicerol y se dejaron reposando durante 24 horas a temperatura ambiente. Después de la tinción, se lavaron con lactoglicerol para remover el exceso de colorante que dificultaría la visualización. Para realizar el montaje se cortan 10 partes de raicillas de 1 cm de largo de cada muestra con un bisturí y se las coloca en dos grupos de 5 en una placa portaobjeto (**Figura 6**), luego se coloca una gota de ácido acético y una placa cubreobjetos dando ligeros golpes para romper la capa

epidérmica de la raíz, se procedió a observar en el microscopio a 40 X la presencia de estructuras micorrízicas hifas, arbuscúlos y vesículas, se calculó el % de micorrización total con la siguiente fórmula:

$$\%micorrización\ total = \frac{Número\ de\ campos\ con\ (Hifas - Arbúsculos - Vesículas) \cdot 100}{Total\ de\ campos\ de\ observación}$$

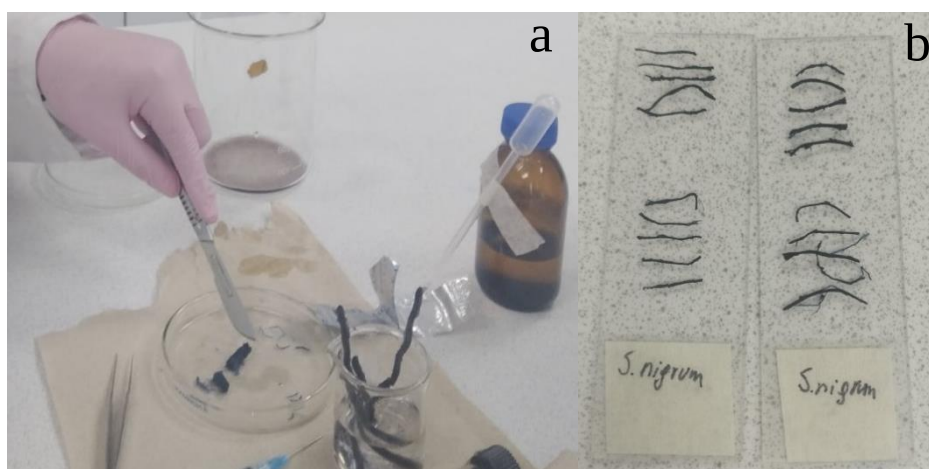
El cálculo para determinar el % de hifas, % vesículas y % arbuscúlos de las partes colonizadas por HMA fue el siguiente adaptado de Arévalo & Loján (2023) con modificaciones:

$$\%hifas = \frac{Número\ de\ campos\ con\ hifas \cdot 100}{Total\ de\ campos\ colonizados}$$

$$\%vesículas = \frac{Número\ de\ campos\ con\ vesículas) \cdot 100}{Total\ de\ campos\ colonizados}$$

$$\%arbúsculos = \frac{Número\ de\ campos\ con\ arbúsculos \cdot 100}{Total\ de\ campos\ colonizados}$$

Figura 6. Cortado de raíces (a) y (b) montaje de raíces teñidas



Nota. Elaborada por la autora, (2025).

3.2.3. Cuantificación y taxonomía de esporas

Para realizar la cuantificación de las esporas de HMA es necesario realizar un tamizaje húmedo, el proceso completo está esquematizado en la **Figura 7**.

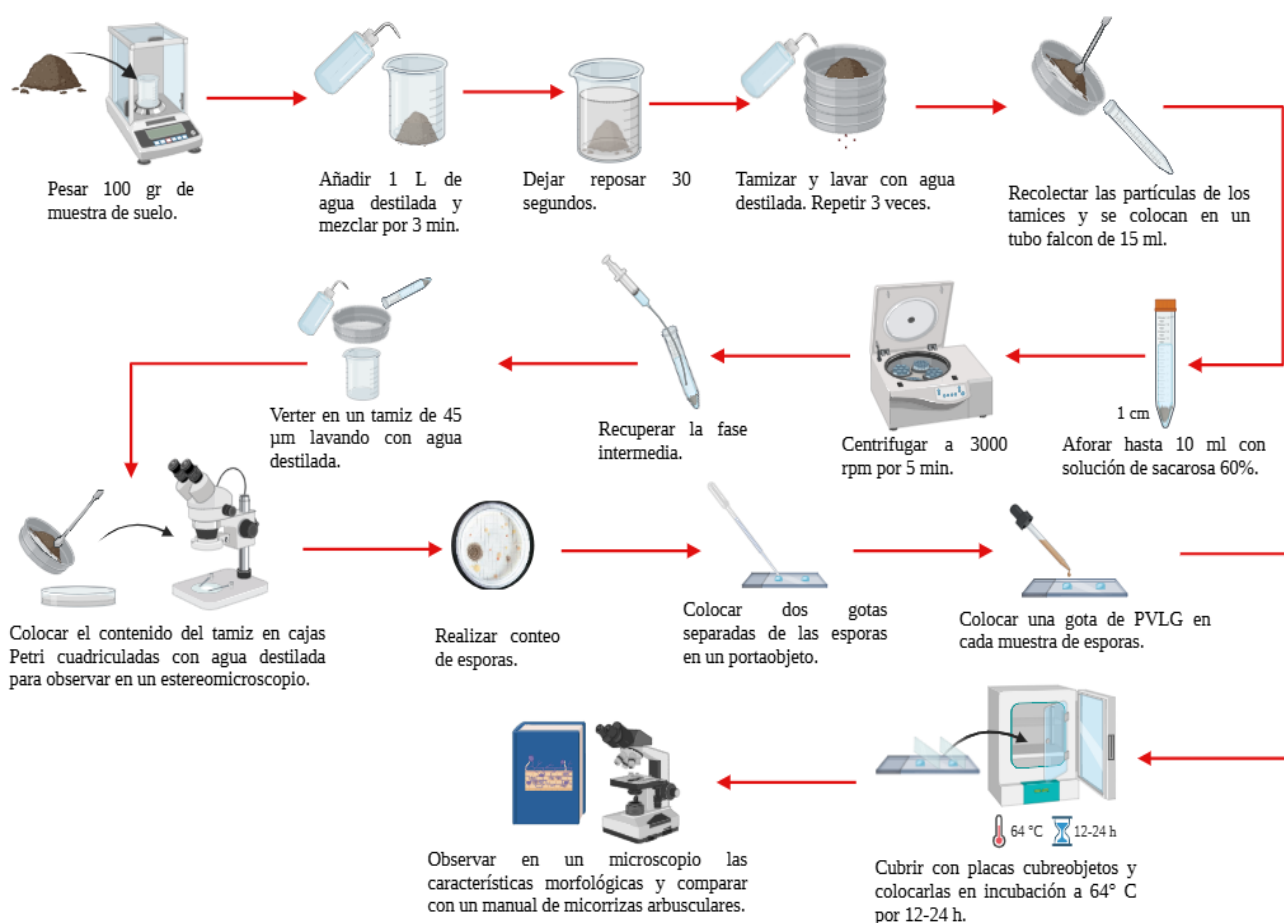
3.2.3.1. Tamizaje húmedo de esporas

Se pesa 100 g de suelo de cada muestra en vasos precipitados, luego se añade 1 L de agua destilada y se mezcla por 3 min con una varilla de vidrio, se deja reposar 30 segundos, luego se pasa por tamices de 250, 125 y 75 μm con un lavado de agua destilada, proceso que se realizó tres veces. Se recolecta las partículas que quedaron en los tamices y se colocan en un tubo falcon de 15 ml hasta llenar 1 ml, luego se afora hasta 10 ml con agua destilada y se centrifugó a 3000 rpm por 5 minutos; se quitó el exceso de sobrenadante y se agregó 10 ml de una solución de 60 % de sacarosa resuspendiendo el pellet, luego se centrifugó a las mismas condiciones y se recuperó la fase intermedia colocándola en una placa Petri para su observación en un estereomicroscopio (Arévalo & Loján, 2023).

3.2.3.2. Cuantificación y montaje de esporas

El conteo y montaje de esporas se realizó siguiendo el método de Arévalo & Loján (2023) con modificaciones. Primero, se colocó de 15 a 20 esporas en los dos extremos de una placa portaobjeto con ayuda de una aguja y bajo el estereomicroscopio, se colocó una gota de reactivo PVLG (polivinil-lactoglicerol) y una placa cubreobjetos dando ligeros golpes para aplastar las esporas para una mejor visualización, luego se dejó secar en una estufa a 60 °C por 1 hora y se procedió a observar en el microscopio a 40X., se toman fotografías para poder comparar la morfología de las esporas y poder clasificarlas siguiendo manuales de libre acceso (García *et al.*, 2000).

Figura 7. Metodología para la cuantificación y taxonomía de las esporas de HMA



Nota. Elaborada por la autora, (2025).

3.2.4. Diseño experimental

Se diseñó un experimento con 48 plantas distribuidas en 4 tratamientos, cada uno con 4 diferentes inóculos nativos. Se realizarán 3 réplicas por cada uno. Se sembró en semillero las semillas de tomate desinfectadas con NaClO 3,5% por 3 minutos, lavadas 3 veces con agua estéril en un sustrato autoclavado a 121 °C por 15 minutos. Una vez las semillas hayan germinado y posean su primera hoja verdadera, se realiza el trasplante de las plántulas a las macetas de acuerdo al tipo de tratamiento esterilizado mediante autoclave (121 °C por 15 minutos), se mezcla el inóculo micorrízico con el sustrato de acuerdo al diseño experimental. Se riega con agua corriente cada 3 días y se prepara el ácido húmico de acuerdo a la dosis

necesaria para un cultivo de tomate colocándose dicha preparación en el tratamiento correspondiente. El tiempo de experimentación es de 1 mes; se realizó las mediciones de las variables altura y número de hojas cada semana, al final del experimento se realizó la medición de clorofila y el porcentaje de micorrización. Se analizan los resultados en el programa Statgraphics 19.

A continuación, se detalla el modelo estadístico utilizado, junto con las variables dependientes e independientes y el tipo de tratamiento utilizado (**Tabla 1**).

$$y_{ijk} = \mu + t_i + \beta_j + (t\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

i=1,2,3

j=1,2,3

k=1,2,3

Donde:

i = Tratamientos (sustrato)

j = Inóculo nativo

k = Réplicas

Tratamientos:

T1: Turba 100%

T2: Arena 100%

T3: Turba:Arena 50%/50%

T4: Turba:Arena (1:1) + Ácido Húmico (AH)

Inóculo nativo:

I1: Sin HMA

I2: 75 ml de agua con esporas luego del tamizaje húmedo combinando las tres muestras de suelo

I3: 150 ml de gua con esporas

I4: 300 ml de agua con esporas

Variables dependientes

- Altura
- Número de hojas
- Clorofila
- % micorrización

Variables independientes

- Tratamientos
- Inóculo nativo

3.2.4.1. Análisis estadístico

Para determinar la eficacia de la presencia de HMA en las plantas de tomate evaluadas y la influencia del tipo de sustrato y porcentaje de micorrización en cada tratamiento se realizó un análisis ANOVA con un nivel de significancia del 95 % en el programa Statgraphics19.

Capítulo 4

Resultados y discusiones

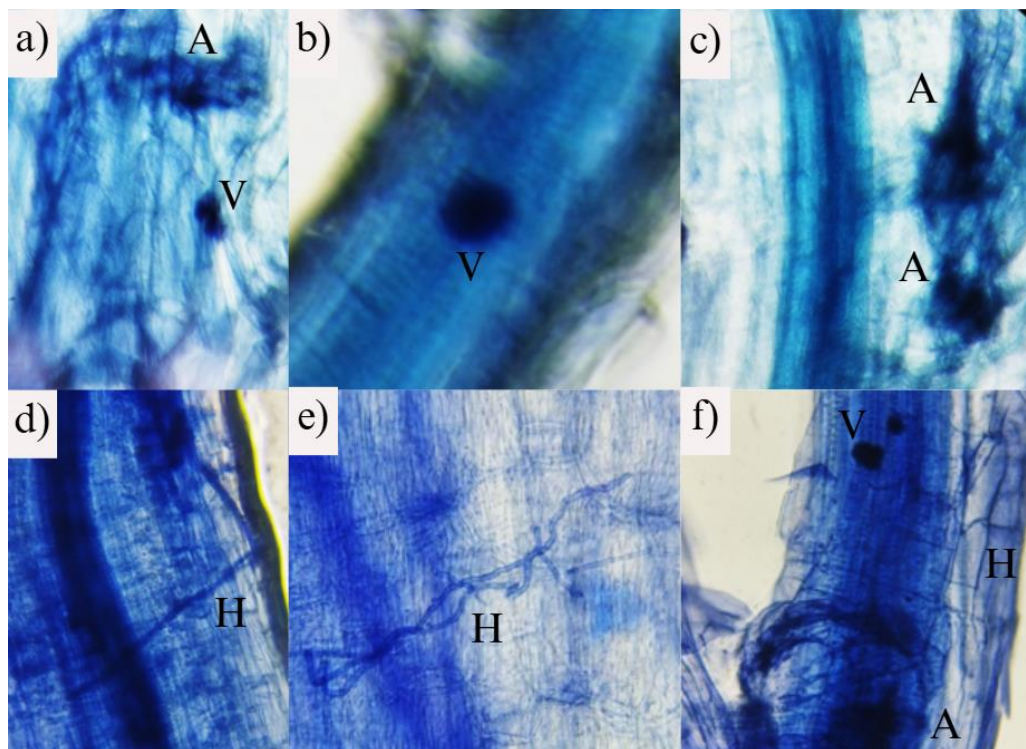
4.1. Porcentaje de micorrización en las muestras de raíces de tres familias vegetales

En las raíces de la planta *Solanum nigrum* perteneciente a la familia Solanaceae, se calculó el porcentaje de micorrización total que fue de 44,67 %, el cual se divide en % hifas = 52,24 %; % vesículas = 44,78 % y % arbuscúlos = 2,98 %, observándose en la **Figura 8**.

En las raíces de la planta *Mimosa albida* perteneciente a la familia Fabaceae, se calculó el porcentaje de micorrización total que fue de 87,33 %, el cual se divide en % hifas = 76,34 %; % vesículas = 22,90 % y % arbuscúlos = 0,76 %, observándose en la **Figura 8**.

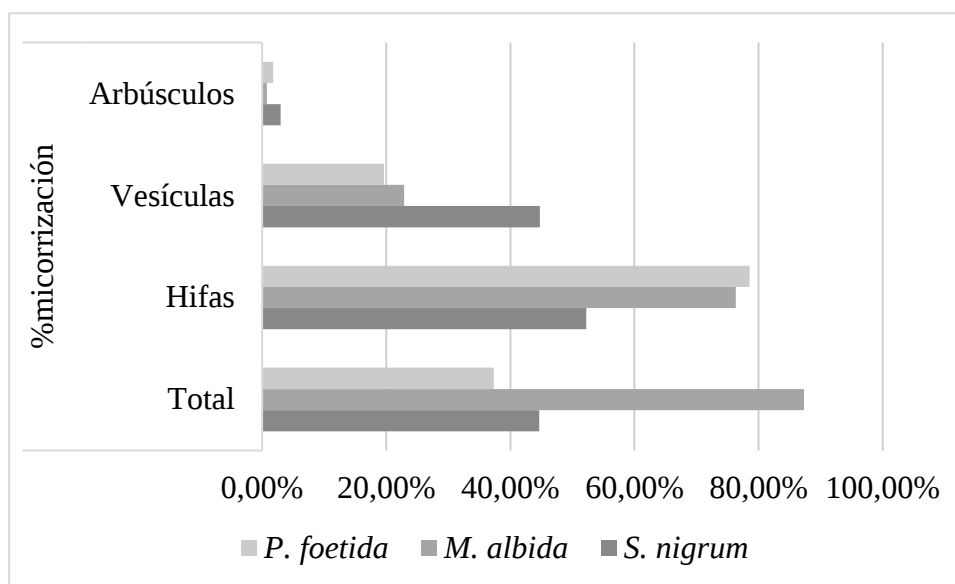
En las raíces de la planta *Passiflora foetida* perteneciente a la familia Passifloraceae, se calculó el porcentaje de micorrización total que fue de 37,33 %, el cual se divide en % hifas = 78,57 %; % vesículas = 19,64 % y % arbuscúlos = 1,79 %, observándose en la **Figura 8**.

Figura 8. Estructuras micorrízicas en las raíces de tres familias vegetales



Nota. La imagen a) y d) pertenece a la raíz de *P. foetida*: se observa la vesícula (V), el arbuscúlo (A) y la hifa (H); la b), c) y d) pertenecen a la raíz de *S. nigrum*, e) y f) pertenecen a la raíz de *M. albida*. Elaborada por la autora, (2025).

Figura 9. Comparación del % de micorrización de HMA en tres familias vegetales



Nota. Elaborada por la autora, (2025).

De acuerdo a la Figura 9, se observa que *M. albida* obtuvo un mayor porcentaje de micorrización total en comparación con las otras dos muestras, seguido de *P. foetida* y por último *S. nigrum*, siendo las hifas las estructuras micorrízicas que más se observaron en las tres especies vegetales. Sin embargo, los arbúsculos fueron los que menos se encontraron, lo que puede deberse a que estas estructuras no sobreviven mucho tiempo en la planta y con el tiempo desaparecen con una duración de hasta 2 semanas (Padrón-Rodríguez *et al.*, 2020).

En otros trabajos se han reportado que el porcentaje de micorrización en otras plantas de la familia Solanaceae como el tomate (*Solanum lycopersicum*) en el que después de la inoculación de esporas de HMA se evidenció un % de micorrización de hifas, vesículas y arbúsculos de 48,09; 14,47 y 61,2 % respectivamente (Shafiei *et al.*, 2022). En comparación con los resultados obtenidos en el presente estudio, el porcentaje de micorrización de arbúsculos fue mayor mientras que el de vesículas fue menor, lo que podría deberse a las condiciones en

las que creció el tomate fueron diferentes a las de *S. nigrum*, así como la disponibilidad de nutrientes en el suelo, en cambio los porcentajes de hifas fueron casi parecidos.

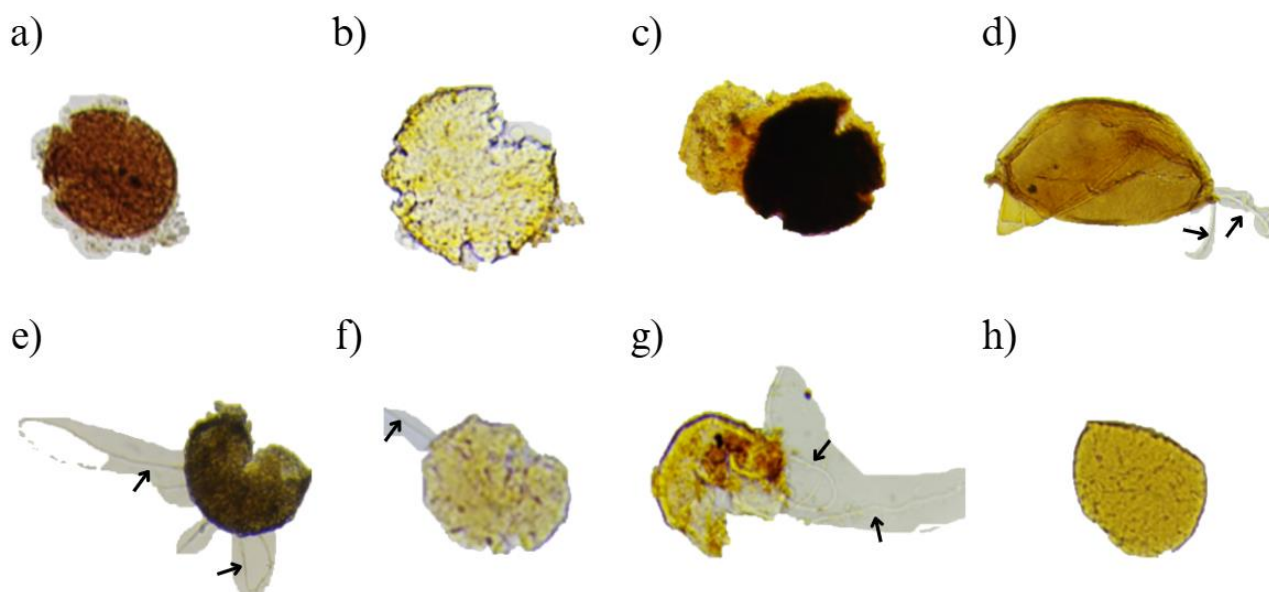
En cuanto a la familia Fabaceae, un estudio realizado por Valdiviezo-Saavedra *et al.* (2024) en *Canavalia ensiformis*, *Cajanus cajan*, *Crotalaria juncea* y *Vigna unguiculata* mostró un valor de micorrización de 55,86; 39,58; 62,44 y 71,48 % respectivamente, encontrándose que para varias especies de esta familia es diferente la formación de una simbiosis con los HMA. Al comparar los valores de ese estudio con el obtenido en la presente investigación (87,33 %) se observa que las especies de la familia Fabaceae tienen una alta capacidad de ser colonizados y formar una simbiosis con los HMA, sin embargo, para corroborar mejor estos resultados es necesario investigaciones más profundas y ensayos de colonización micorrízica de una variedad mayor de especies de la familia Fabaceae.

Por otra parte, se ha encontrado una investigación sobre la colonización micorrízica de la especie *Passiflora ligularis* (granadilla) perteneciente a la familia Passifloraceae indicando un porcentaje de micorrización de 93,6 % como el más alto en todos los ensayos realizados, lo que puede deberse a las condiciones y el tipo de tratamiento empleado durante su evaluación (Sierra-Escobar *et al.*, 2017). En el presente estudio se obtuvo un porcentaje de micorrización de 37,33 %, un valor mucho más bajo en comparación con el estudio anterior, por lo que para asegurar que esta familia vegetal posea una buena capacidad de formar simbiosis micorrízicas es necesario realizar más investigaciones sobre el tema puesto que no existe mucha información que proporcione valores de micorrización de especies vegetales de esta familia.

4.2. Clasificación morfológica y cuantificación de las esporas encontradas en tres familias vegetales

Se revisó las características pertenecientes a cada género de esporas de HMA con el fin de identificarlas correctamente, no obstante, aún hay algunas que no se han podido identificar debido a un mal montaje realizado lo que no permite visualizar las características correspondientes. De la muestra de suelo rizosférico perteneciente a la especie *S. nigrum*, se cuantificó 47 esporas por cada 100 gramos de suelo, evidenciándose 4 diferentes géneros de esporas mostradas en la **Figura 10**, de las cuales el género *Septoglomus sp.* tuvo la mayor presencia contabilizándose 14 esporas del total encontradas. Algunas esporas no pudieron identificarse debido a un incorrecto aplastamiento y montaje que dificultó la observación de las características y la forma de las mismas.

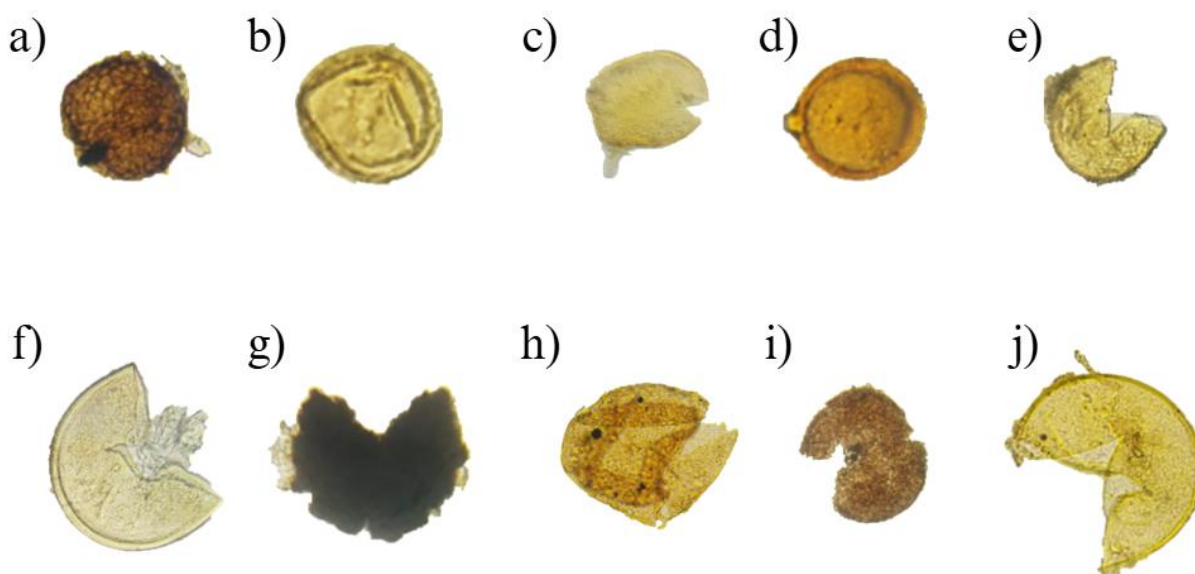
Figura 10. Esporas de HMA en el suelo rizosférico de *S. nigrum*



Nota. Los géneros de esporas encontrados fueron: *Glomus sp.* (a, b); *Septoglomus sp.* (c, f); *Gigaspora sp.* (d); *Acaulospora sp.* (h). Las esporas sin identificar (e, g) se deben a un mal manejo del montaje. Se pueden observar las hifas (↑) conectadas a las esporas (d, e, f y g). Elaborada por la autora, (2025).

En el suelo de la especie *P. foetida* se contabilizó 116 esporas en 100 gramos de suelo identificándose 4 géneros distintos: *Glomus sp.*, *Septoglomus sp.*, *Scutellospora sp.* y *Acaulospora sp.* (**Figura 11**), de los cuales el género *Glomus sp.* tuvo una mayor cantidad de esporas contabilizadas (50).

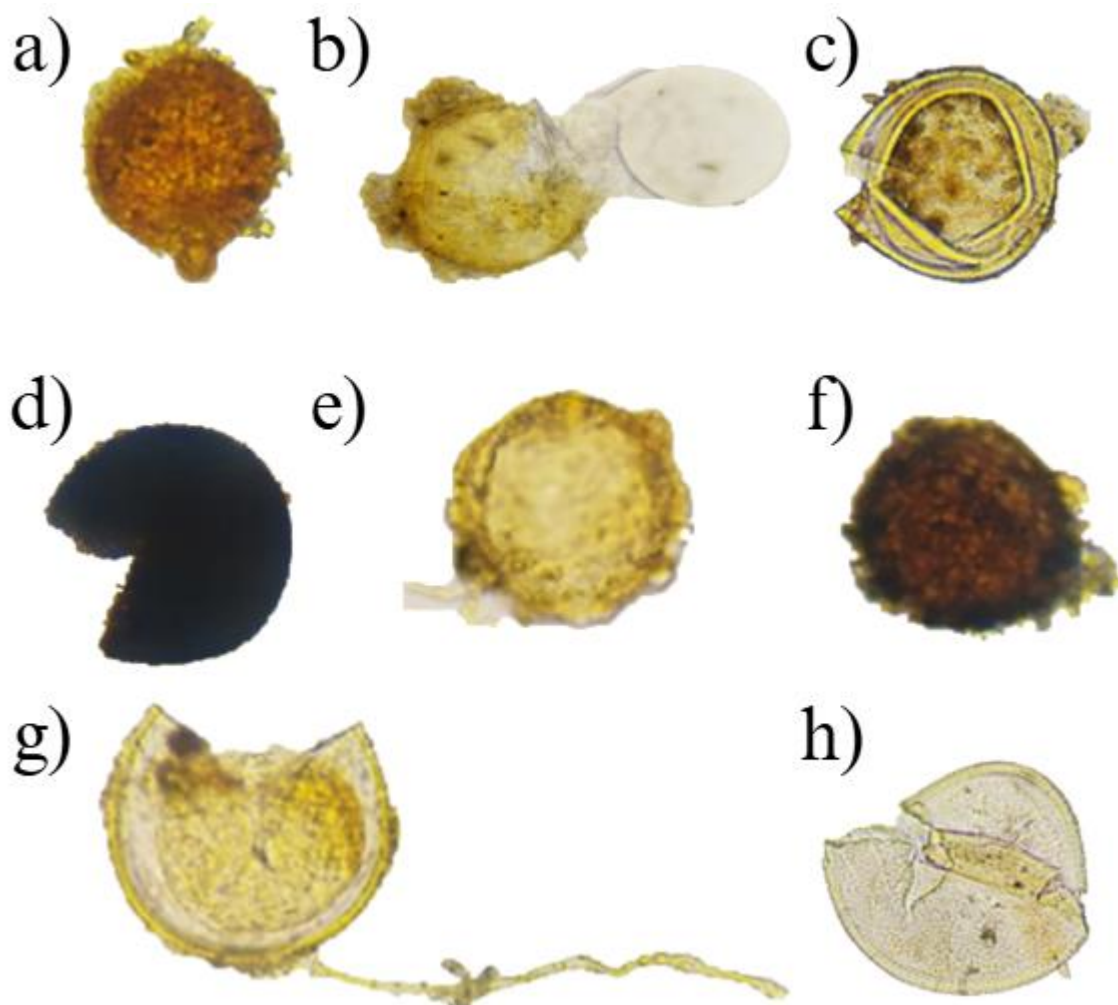
Figura 11. Esporas de HMA en el suelo rizosférico de *P. foetida*



Nota. Los géneros de esporas encontrados fueron: *Glomus sp.* (a, c, d, i); *Septoglomus sp.* (g); *Scutellospora sp.* (h); *Acaulospora sp.* (b, e, f, j). Elaborada por la autora, (2025).

En el suelo de la especie *M. albida* se contabilizó 54 esporas en 100 gramos de suelo identificándose 3 géneros distintos: *Glomus sp.*, *Septoglomus sp.* y *Acaulospora sp.* (**Figura 12**). El género con más cantidad de esporas identificadas fue *Glomus sp.* con un total de 21 esporas.

Figura 12. Esporas de HMA en el suelo rizosférico de *M. albida*



Nota. Los géneros de esporas encontrados fueron: *Glomus sp.* (a, c, e, f y g); *Septoglomus sp.* (d), *Acaulospora sp.* (b). Elaborada por la autora, (2025).

Tabla 1. Cantidad de esporas por gramo de suelo y por ml

Especie vegetal	Esporas / 100 g de suelo	Espora / g suelo	Espora / 100 ml	Espora / ml
<i>S. nigrum</i>	47	0,47	47	0,47

<i>P. foetida</i>	116	1,16	116	1,16
<i>M. albida</i>	54	0,54	54	0,54

Nota. Elaborada por la autora, (2025).

Se obtuvo una baja cantidad de esporas por gramo de suelo tanto para *S. nigrum* como para *M. albida*, mientras que *P. foetida* tiene 1,16 esporas por cada gramo de suelo. A pesar de que *M. albida* tuvo una baja cantidad de esporas su micorrización fue alta, en cambio para *P. foetida* fue lo contrario una baja micorrización y alta cantidad de esporas, lo que pudo deberse a distintas razones como una baja capacidad de formar simbiosis con HMA, una baja disponibilidad de nutrientes en el suelo o alguna relación con una bacteria que pueda estar compitiendo con los HMA por espacio en la zona radicular de la planta, sin embargo, todo esto necesita de más investigaciones que puedan corroborar estas hipótesis. Este paso permitió calcular la cantidad de esporas para los inóculos de los tratamientos empleados.

En otros estudios realizados, los géneros de esporas identificados en la familia Solanácea son *Glomus sp.*, *Acaulospora sp.* y *Rhizophagus* (Shafiei *et al.*, 2022), los géneros más encontrados en la familia Passifloraceae son *Glomus sp.*, *Cetraspora sp.*, *Septoglomus sp.* y *Sacculospora sp.* (de Almeida Dantas *et al.*, 2024), para la familia Fabaceae los géneros de esporas más comunes son *Glomus sp.*, *Acaulospora sp.*, *Septoglomus sp.* (Valdiviezo-Saavedra *et al.*, 2024). Esto nos ilustra la diversidad de géneros de HMA que hay en el campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana, sin embargo, solo se realizó la identificación de micorrizas en pequeñas porciones de suelo por lo que para una mayor certeza es necesario llevar a cabo más muestreos e investigaciones sobre las otras especies vegetales que se encuentran en el campus.

4.3. Evaluación de la viabilidad de los HMA como biofertilizante en plantas de tomate

La evaluación de la viabilidad de HMA en el cultivo de tomate consistió en la aplicación de distintos tratamientos con diferente sustrato, donde T0 se refiere al control sin la aplicación de HMA, T1 es la aplicación de 75 ml de agua con HMA, T2 es la aplicación de 150 ml de agua con HMA y T3 es la aplicación de 300 ml de agua con HMA, en cuanto a los sustratos tenemos: arena, turba arena + turba y arena + turba+ ácido húmico. La siguiente tabla (Tabla 2) muestra los resultados después del análisis de ANOVA en el programa Statgraphics19.

Tabla 2. Valores promedio de las variables del experimento

Sustrato	Tratamiento	Altura (cm)	Número de hojas	Longitud radicular (cm)	Clorofila (SPAD)	% micorrización
Arena	T0	10,67±1,095	3,33±0,433	6,19±1,467	18,57±2,763*	0±3,052
	T1	10,33±1,095	3,33±0,433	6,5±1,467	10,37±2,763	77,5±3,052
	T2	10,33±1,095	4±0,433	7,6±1,467	4,93±2,763	86,66±3,052
	T3	13±1,095	5±0,433*	8,5±1,467	7,57±2,763	90±3,052
Turba	T0	11,67±1,095	4±0,433	7,93±1,467	7,5±2,763	0±3,052
	T1	11,67±1,095	4±0,433	8,6±1,467	5,93±2,763	77±3,052
	T2	11,17±1,095	3,33±0,433	8,77±1,467	6,8±2,763	88±3,052
	T3	13,17±1,095	5±0,433*	8,7±1,467	7,3±2,763	78±3,052
Arena+Turba	T0	9,67±1,095	3±0,433	7,83±1,467	8,5±2,763	0±3,052
	T1	10,07±1,095	3,33±0,433	8,7±1,467	7±2,763	22±3,052
	T2	12,33±1,095	5±0,433*	9,57±1,467	9,67±2,763	38±3,052
	T3	12,67±1,095	5±0,433*	11,23±1,467	12,17±2,763	52±3,052
Arena+Turba +Ácido húmico	T0	13,33±1,095*	3,67±0,433	10±1,467	13,03±2,763	0±3,052
	T1	13,17±1,095	4±0,433	13,8±1,467	9,17±2,763	56±3,052
	T2	10,43±1,095	3±0,433	14,6±1,467	14,77±2,763	84±3,052
	T3	12±1,095	4,33±0,433	17,37±1,467*	9,6±2,763	92±3,052*

* Indica el máximo valor, ± indica el error estándar.

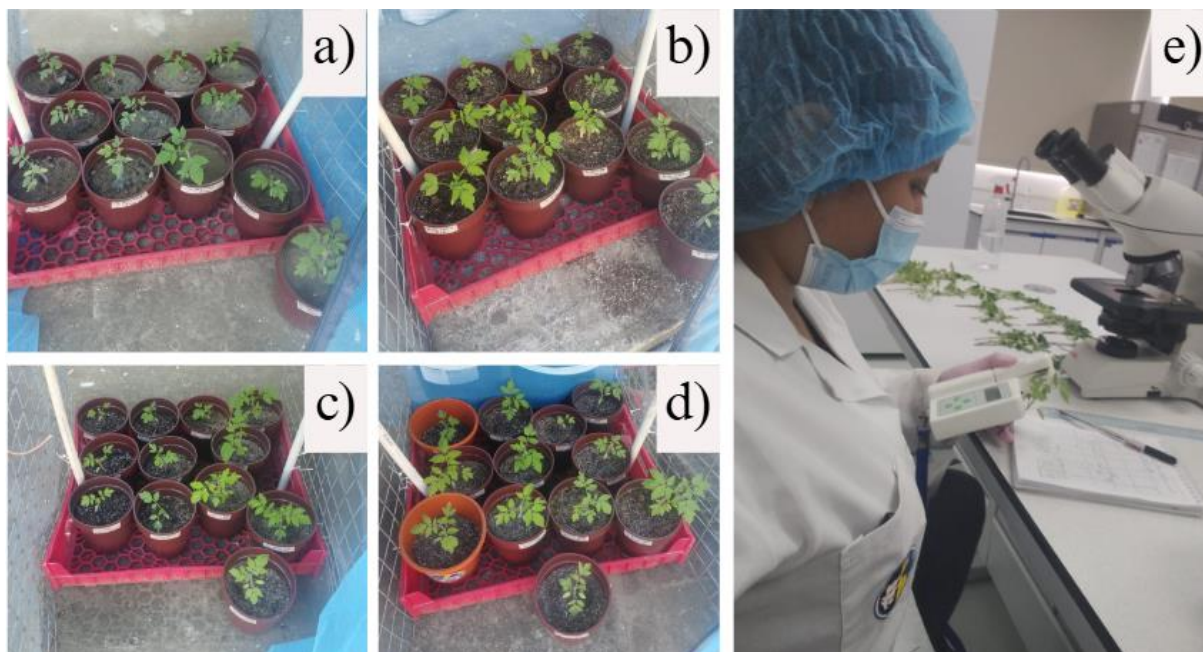
Nota. Elaborada por la autora, (2025).

Se comparó las variables dependientes altura de la planta, número de hojas, longitud radicular, clorofila y porcentaje de micorrización con las variables independientes de los tratamientos y distintos inóculos micorrízicos, la información se detalla en el **Anexo 4**. De acuerdo a lo obtenido, la interacción entre los tratamientos con el sustrato no mostró ser estadísticamente significativos para el crecimiento y desarrollo del tomate (**Anexo 5**), sin embargo, el efecto de los tratamientos fue estadísticamente significativos para la variable número de hojas ($0,0009 < p$) , longitud radicular ($0,0167 < p$) y porcentaje de micorrización, estas dos últimas también fueron afectadas por la variable de sustrato con un valor de $p < 0,0000$ en ambas lo que implica que los HMA tienen un efecto en el crecimiento de las raíces y en su micorrización más no de otras partes de las plantas, aunque se necesitaría más ensayos para corroborar esta información. Estos resultados se evidencian en la variable de longitud radicular y porcentaje de micorrización donde la mayor medida fue el sustrato A + T + H (arena : turba : ácido húmico) con el tratamiento T3 (300 ml de esporas en agua).

En otros estudios se han evidenciado que la aplicación de HMA en cultivos de tomate aumentó el crecimiento de la planta (mayor altura, biomasa seca de raíces y brotes) y el rendimiento en comparación con plantas sin HMA (Ziane *et al.*, 2021), por lo que se demuestra que los HMA si promueven el crecimiento vegetal. No se obtuvo los resultados esperados en el experimento realizado, lo que podría deberse al tiempo limitado del ensayo o a un error en la toma de datos, razón por la cual se tendrían que realizar más ensayos.

En cuanto a la variable de clorofila, según el análisis estadístico tanto el tratamiento como el sustrato no muestran un efecto significativo en los valores obtenidos de esta, sin embargo, se puede observar que el sustrato turba es el más estable de todos al tener una variación de datos menor (1,57) en comparación a los demás, observar detalles en la **tabla 2**.

Figura 13. Experimento con plantas de tomate y medición de clorofila



Nota. a) Sustrato arena, b) sustrato turba, c) sustrato arena + turba, d) sustrato arena + turba + ácido húmico, e) medición de clorofila en hojas de tomate. Elaborada por la autora, (2025).

Según un estudio realizado por Chen *et al.* (2024), la inoculación de HMA en plantas de tomate bajo estrés salino ha demostrado incrementar la producción de clorofila en las hojas en comparación con el control, pero estos datos no son significativos, es decir que aunque los HMA tienen un efecto en la clorofila aún no es suficiente para considerar que generan un cambio grande en la planta, con respecto a esta variable, lo que está en concordancia con los resultados de este estudio en relación a que la clorofila no es una variable que se vea afectada por la aplicación de HMA.

Capítulo 5

Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

El método de tinción con azul de tripano 0,05 % permitió visualizar las estructuras micorrízicas de los HMA en las raíces de tres plantas *S. nigrum*, *P. foetida* y *M. albida*, en la cual la que mayor porcentaje de micorrización tuvo fue *P. foetida* mientras que la que tuvo un valor mayor de número de esporas fue *M. albida* de la familia Fabaceae indicando que la capacidad de formar simbiosis con los HMA es superior a las otras dos familias.

La caracterización de los hongos micorrízicos arbusculares encontrados en común en las familias Fabaceae con la especie *M. albida*, Passifloraceae con la especie *P. foetida* y Solanaceae con la especie *S. nigrum* fueron de los géneros *Glomus sp.*, *Acaulospora sp.* y *Septoglomus sp.* lo que deja como evidencia que estos son los géneros más comunes de esporas de micorrizas arbusculares que se relacionan con familias de interés comercial.

El método de tamizaje húmedo y la visualización de manuales certificados de esporas de HMA permitió caracterizar las siguientes esporas en las tres familias estudiadas: en la especie *S. nigrum* se encontró esporas de los géneros *Glomus sp.*, *Septoglomus sp.*, *Gigaspora sp.* y *Acaulospora sp.*, en la especie *P. foetida* se detectó los géneros *Glomus sp.*, *Septoglomus sp.*, *Gigaspora sp.* y *Acaulospora sp.* y en la especie *M. albida* se identificó los géneros *Glomus sp.*, *Septoglomus sp.* y *Acaulospora sp.* demostrando la diversidad del suelo rizosférico alrededor de estas plantas.

La aplicación del consorcio de HMA obtenido de la mezcla de esporas de tres plantas de familia diferentes mostró efectos positivos en la longitud de las raíces incrementándolas de tamaño en comparación con la planta control (sin HMA), no obstante, no mostró efectividad en

las otras variables de altura, número de hojas y clorofila, en cuanto al porcentaje de micorrización este si se ve afectado por el tipo de sustrato y cantidad de HMA utilizado.

5.2. Recomendaciones

Se recomienda utilizar equipos de visualización como microscopios más avanzados que permitan visualizar mejor las características de las esporas (paredes, capas, si poseen adornos en sus paredes, entre otras) para una mejor caracterización de las mismas.

En el montaje de las esporas, se recomienda hacerlo debajo de un estereomicroscopio para evitar aplastar demasiado las esporas llegando a romperlas, esto permitirá un conteo más exacto y una mejor vista de las estructuras de las esporas.

Para validar el consorcio micorrízico de las tres plantas muestreadas es recomendable realizar un análisis a nivel molecular, puesto que esto permitiría asegurar la procedencia de las esporas con lo que se podría armar un banco certificado de esporas de HMA.

Es recomendable un período de prueba más largo del experimento para asegurar la correcta formación de la simbiosis entre los HMA y el sistema radicular de la planta en estudio.

Para el ensayo experimental, es preferible hacer más réplicas para tener más datos que analizar y una mayor variedad, de esta forma se asegura que las pruebas estadísticas sean más fiables.

Referencias Bibliográficas

- Albarracin-Gomez, L. D., Hortua-Gamboa, S., & Acero-Godoy, J. (2023). Efecto inhibitorio del aceite esencial de *Lippia graveolens* sobre *Fusarium oxysporum* en la familia Solanaceae. Una revisión. *Revista Tecnología en Marcha*, (36)1.
- Arévalo, Y., & Loján, P. (2023). Identificación morfológica de hongos micorrízicos arbusculares en poblaciones nativas de *Cinchona officinalis* en la provincia de Loja, Ecuador. *CEDAMAZ* Vol. 13, No. 2, 148-157.
- Chen, G., Yang, A., Wang, J., Ke, L., Chen, S., & Li, W. (2024). Effects of the synergistic treatments of arbuscular mycorrhizal fungi and trehalose on adaptability to salt stress in tomato seedling. *Microbiology Spectrum*, 12(3).
- Cuadrado Andrade, J. A. (enero de 2023). Evaluación de impacto ambiental de una actividad agrícola en Pallatanga (Ecuador). Obtenido de Universitat Politècnica de Catalunya: <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/383372/TFM-%20Jen%20evith%20Cuadrado.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Dantas, L. V., Yano-Melo, A. M., & Melo, N. F. (2024). Water availability and accessions of *Passiflora cincinnata* Mast. can shape the communities of arbuscular mycorrhizal fungi. *Rhizosphere* 31.
- Delgado Silva, H. D., & Gutiérrez Montoya, L. V. (2022). Hongos micorrizas arbusculares: la simbiosis de los múltiples beneficios. *Revista Ciencia Y Tecnología El Higo*, 12(2), 2-14. doi:<https://doi.org/10.5377/elhigo.v12i2.15196>

- Foresto, E. (2021). ¿Qué es una leguminosa y cómo se clasifican?: Una actualización para estudiantes de nivel medio y superior. *Revista de Educación en Biología* Vol. 24, N° 1, 27-38.
- García, C., Franco, M. A., Quintero, J., & Rao, I. M. (2000). Catálogo de cepas de micorrizas arbusculares. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Gío-Trujillo, J. A., Alvarado-López, C. J., Pacheco-López, N. A., Cristóbal-Alejo, J., Reyes-Ramírez, A., & Candelero-de la Cruz, J. (2024). Comportamiento de Cucurbita pepo L. var. “Grey Zucchini”, en la propagación de hongos micorrizógenos arbusculares nativos de suelos con diferente manejo. *Biotechnia*, (26).
- Herrera-Monroy, S., Herrera-Monroy, M., & Rivera-Ramírez, J. M. (2023). Systematic review on arbuscular mycorrhizal fungi and their ecological importance. *Revista Chapingo Serie Agricultura Tropical*, 3(2).
- Kuila, D., & Ghosh, S. (2022). Aspects, problems and utilization of Arbuscular Mycorrhizal (AM) application as bio-fertilizer in sustainable agriculture. *Current Research in Microbial Sciences*, (3). doi: <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100107>
- Mier-Tous, J. M., Pineda-Vides, F., Hernández-Ureche, J., Troncoso-Palacio, A., & Andrade-Perez, J. &- B. (2023). Una Revisión Preliminar de la Literatura Sobre los Retos en la Agricultura Sostenible de América Latina. *BILO* vol. 5. No. 1, 5, 95-105. doi: <https://doi.org/10.17981/bilo.5.1.2023.09>

Miranda Pérez, D., Vigil García, P. A., & Ravelo Pimentel, K. (2021). Efecto de las micorrizas arbusculares sobre la fase inicial de crecimiento de *Zea mays* L. *Avances*, 23 (3), 282-297.

Osvaldo Pedraza, R., Estrada Bonilla, G. A., & Bonilla Buitrago, R. R. (2021). Los biofertilizantes y su relación con la sostenibilidad agrícola. Bacterias promotoras de crecimiento vegetal en sistemas de agricultura sostenible, 32-45. Obtenido de <https://editorial.agrosavia.co/index.php/publicaciones/catalog/view/230/214/1449-2>

Prieto Benavides, O. O., Urdánigo Zambrano, J. P., Sánchez Loor, M. N., & Sánchez Loor, N. C. (2024). Beneficios de las micorrizas arbusculares en técnicas de fitorremediación para descontaminación de suelos en Ecuador. *PENTACIENCIAS*. Vol.6, Núm. 1, 187-202. Obtenido de <https://www.editorialalema.org/index.php/pentaciencias/article/view/980/1355>

Quiñones-Aguilar, E. E., Rincón-Enríquez, G., & López-Pérez, L. (2021). Hongos micorrízicos nativos como promotores de crecimiento en plantas de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Terra Latinoamericana*, 38(3), 541-554. doi: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.646>

Rawaa, A., Hichem, H., Labidi, S., Jeddi, F. B., Mhadhbi, H., & Naceur, D. (2024). Influence of biofertilizers on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and physiological modulations for water and fertilizers managing.

South African Journal of Botany, 174, 125-137. doi:
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.08.055>

Robles-González, K. K., Álvarez-Solís, J. D., Bertolini, V., & Pérez-Luna, Y. C. (2024). Diversidad y propagación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de un cafetal orgánico en Chiapas, México. *Revista fitotecnica mexicana*, (46)2.

Samuel, S. S., & Veeramani, A. (2021). Advantages of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) Production for the Profitability of Agriculture and Biofertilizer Industry. *Mycorrhizal Fungi - Utilization in Agriculture and Industry*. doi: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.95458>

Sánchez de Prager, M., Posada Almanza, R., Velásquez Pomar, D., & Narváez Castillo, M. (2010). Lección dos: Técnicas para observar y cuantificar la presencia de MA. En M. Sánchez de Prager, R. Posada Almanza, D. Velásquez Pomar, & M. Narváez Castillo, *Metodologías básicas para el trabajo con micorriza arbuscular y hongos formadores de micorriza arbuscular* (págs. 47-50). Palmira: Taller de Publicaciones de la División de Divulgación Académica y Cultural.

Sharma, K., Thokchom, S. D., Gupta, S., & Kapoor, R. (2023). Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Role as Biofertilizers, Technology Development, and Economics. En T. Satyanarayana, & S. K. Deshmukh, *Fungi and Fungal Products in Human Welfare and Biotechnology* (págs. 3-30). Singapur: Springer.

Obtenido

de

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362015000300004

Sierra-Escobar, J. A., Navarro Alzate, R. A., & Yepes, G. J. (2017). Efectos de la interacción de hongos micorrizo arbusculares (HMA) y *Meloidogyne javanica* en plántulas de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss). *Revista Bionatura*.

Soto Sogamoso, J. E., Pinto Lopera, J. E., & Millán Rojas, E. E. (2022). Micorrizas arbusculares y las técnicas de visión artificial para su identificación. *TecnoLógicas* vol.25 no.54. doi: <https://doi.org/10.22430/22565337.2348>

Valdés, F. E., Abarca, C., Colombo, R. P., & Silvani, V. A. (2020). Capítulo 1: Introducción y generalidades. En M. C. Nazareno Saparrat, M. F. Ruscitti, & M. C. Arango, *Micorrizas arbusculares: Biología y aplicaciones en el sector agroforestal* (págs. 11-35). La Plata: Editorial Edulp.

Valdiviezo-Saavedra, L. E., Ríos-Ruiz, W. F., Rojas García, J. C., & Sandoval-Flores, D. T. (2024). El desarrollo de leguminosas de cobertura por hongos micorrízicos arbusculares depende del grado de especificidad de los simbioses. *Manglar* 21(2), 279-286.

Valladares Samperio, K., & Monroy Ata, A. (2024). Crecimiento de plantas de *Agave salmiana* Otto y *Mimosa lacerata* Rose inoculadas con hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en condiciones de invernadero. En A. M. Ata, & S. C. Argüero, *Restauración ecológica: proyectos, estudios de*

caso y prospectivas (págs. 187-201). Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Velázquez, S., Valdés, F., & Abarca, C. (2020). Capítulo 6. Tecnología de la inoculación. En M. C. Nazareno Saparrat, M. F. Ruscitti, & M. C. Arango, *Micorrizas arbusculares: biología y aplicaciones en el sector agro-forestal* (págs. 106-114). La Plata: Editorial EDULP.

Verçoza, F. d. (2024). CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO DA FENOLOGIA REPRODUTIVA DE PASSIFLORA CUPREA L. E PASSIFLORA SUBEROSA L. (PASSIFLORACEAE) EM FLORESTA LITOR NEA DE SOLO ARENOSO DA PENÍNSULA DE VARADERO, CIDADE DE MATANZAS, CUBA. *Revista Dissertar*, (1)38, 27-34.

Viera Arroyo, W. F., Tello Torres, C. M., Martínez Salinas, A. A., Navia Santillán, D. F., Medina Rivera, L. A., Delgado Párraga, A. G., . . . Jackson, T. (2020). Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. *Journal of the Selva Andina Biosphere Vol. 8 Núm. 2*, 128-149.

Ziane, H., Hamza, N., & Meddad-Hamza, A. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi and fertilization rates optimize tomato (*Solanum lycopersicum* L.) growth and yield in a Mediterranean agroecosystem. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 20(7), 454-458.

Anexos

Anexo 1: *Tabla de materiales y equipos utilizados durante el experimento*

Materiales	Equipos
Tamiz 300 μm	Balanza analítica
Tamiz 250 μm	Balanza gramera
Tamiz 75 μm	Centrífuga para tubos falcon de 15 ml
Vasos de precipitación de 1000 ml	Estereomicroscopio
Vasos de precipitación de 100 ml	Microscopio
Varilla de vidrio	Autoclave
Cuchara/espátula de metal	
Tubos falcon de 15 ml	
Gradilla	
Cajas Petri	
Jeringas de 3 ml	
Placas portaobjetos	
Placas cubreobjetos	
Pipeta pasteur	
Bisturí	
Tubos falcon de 50 ml	
Tubos de ensayo con tapa rosca	
Pinza metálica	
Micropipeta de 10-100 μl	
Puntas de micropipeta de 10-100 μl	
Fundas para autoclavar	
Macetas	
Turba	
Arena	
Pala	
Semillas de tomate	
Semillero	
Cofia	

Guantes de nitrilo	
Bata de laboratorio	
Mascarilla	
Rotulador	
Cinta	
Tijera	
Tijera de podar	
Fundas ziclop	

Nota. Se enlistan todos los materiales y equipos usados durante todo el experimento.

Elaborada por la autora, (2025).

Anexo 2: *Tabla de reactivos empleados en la tinción de raíces*

Reactivos	Usos
Solución de HCl 1%	Para neutralizar el pH en las raíces evitando que se dañen por un exceso de alcalinidad.
Peróxido de hidrógeno 30%	Para blanquear y degradar los pigmentos en las células de las raíces para un mejor teñido.
KOH 10%	Para eliminar el color de las raíces, especialmente en aquellas para aquellas con tonalidades muy oscuras.
Ácido acético	Para la visualización de las raíces teñidas con el colorante.

Azul de tripano al 0,05% con lactoglicerol	Para teñir las estructuras micorrízicas dentro de las raíces.
Lactoglicerol	Sirve para eliminar el exceso de colorante de las raíces.

Nota. Elaborada por la autora, (2025).

Anexo 3: *Pasos de las etapas del experimento*

Descripción	Imagen
Siembra semillas en semillero.	
Salida de campo para recolección de muestras de tierra y raíces.	

Limpieza de raíces.



Clarificación de raíces.



Tinción de raíces.



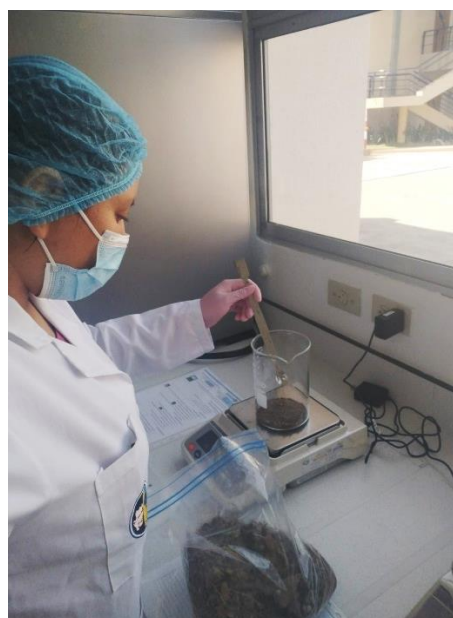
Montaje de raíces.



Observación en el microscopio de las estructuras micorrízicas.



Pesaje de 100 gr de suelo.



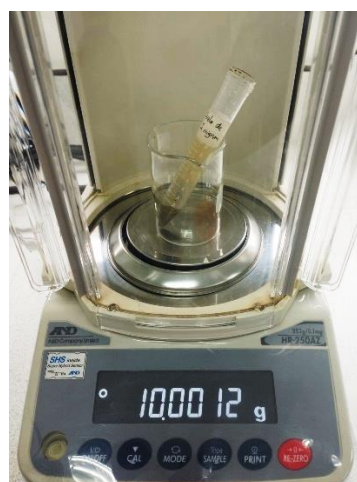
Suspensión de suelo en agua.



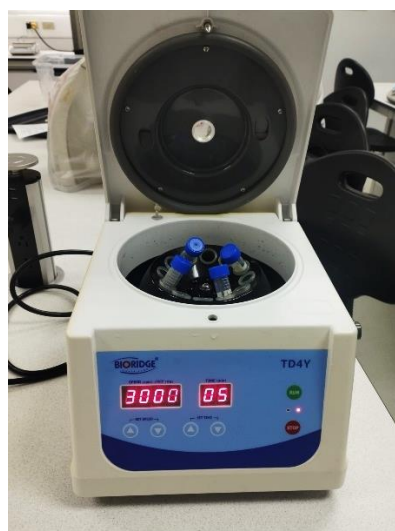
Tamizaje de suelo.



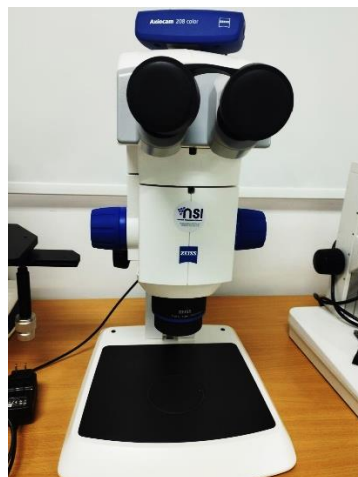
Colocación de muestra de suelo y solución de glucosa en tubo falcon.



Centrifugación de muestras de esporas.



Visualización de esporas en el estereomicroscopio.



Montaje de esporas.



Visualización de esporas en el microscopio.



Preparación de los tratamientos.



Lavado de las raíces de las plántulas de
tomate.



Siembra de las plántulas en los respectivos
tratamientos.



Medición de las variables (clorofila, altura,
número de hojas)



Nota. Elaborada por la autora, (2025).

Anexo 4: *Tabla general de datos para el crecimiento y micorrización de las plantas de tomate*

Sustrato	Tratamiento	Altura				Número de hojas				Longitud radicular	Clorofila (SPAD)	% micorrización
Arena	T0	6	7	9	10	1	2	3	4	6	34,1	0
	T0	7	8	8	10	1	2	2	3	7,56	4,3	
	T0	6	6,5	9,5	12	1	2	2	3	5	17,3	
	T1	5	6	8	9	1	2	2	3	6	5	40,5
	T1	4,5	7	9	11	1	2	3	3	8	15,4	
	T1	6	6,5	9	11	1	2	2	4	5,5	10,7	
	T2	7	8	8,4	10,5	1	2	3	5	7,3	5,1	65
	T2	6	7	8	11	1	2	2	4	9	5,3	
	T2	6	6,5	8	9,5	1	2	3	3	6,5	4,4	
	T3	5,5	7,5	10,5	14	1	2	4	5	8	7,8	73
	T3	6	6,5	8	10,5	1	1	2	4	9,5	4,1	
	T3	5,6	6,5	9,8	14,5	1	2	4	6	8	10,8	
Turba	T0	6	7,4	9,5	10,5	1	1	2	5	7	6,4	0
	T0	5	6,4	8,5	12	1	2	3	3	7,3	6,1	
	T0	4	6	8	12,5	1	2	3	4	9,5	10	
	T1	4	6,5	8	10,5	1	2	3	4	8,2	6,6	40,67
	T1	4,5	7	9,5	12	1	2	3	4	7,5	4,2	
	T1	6	8,5	10	12,5	1	2	3	4	10,1	7	
	T2	5,5	7	9,5	13	1	2	3	4	9,3	5,6	86
	T2	6	7	8,5	10,5	1	2	2	3	9,5	7,4	
	T2	7	7,5	8	10	1	2	2	3	7,5	7,4	
	T3	5,5	6,8	10,5	13	1	2	3	5	7,5	7,2	92
	T3	6,5	7,6	10,4	12	1	2	3	6	11,1	7,3	
	T3	5	7	9	14,5	1	2	4	4	7,5	7,4	
Arena+Turba	T0	5	6,4	8,5	9,5	1	1	2	3	8,2	8,5	0
	T0	5,5	7,6	9	10,5	1	2	2	3	7,5	10	
	T0	6	7	8	9	1	2	2	3	7,8	7	
	T1	4,5	5,5	7,5	10	1	1	2	3	10,5	8,2	22
	T1	4	5,8	8	10,5	1	2	3	4	9,4	7	
	T1	5	6	8	10	1	2	2	3	6,2	5,8	
	T2	4	6,5	10	14	1	2	4	6	9	9,6	38
	T2	4	5,5	9,5	16	1	2	4	5	12,5	10,1	
	T2	4	5	5,5	7	1	2	3	4	7,2	9,3	
	T3	5,5	6,5	9	13	1	2	3	4	12,5	11,1	52
	T3	5	7	8	12	1	2	3	6	11,1	11,2	
	T3	5,5	6,4	7,5	13	1	3	4	5	10,1	14,2	
Arena+Turba + Ácido Húmico	T0	6	7,5	8,5	10,5	1	2	2	3	11,5	11,3	0
	T0	6	7	8	15	1	2	3	4	9	14,3	
	T0	5	6,7	9	14,5	1	2	3	4	9,1	13,5	

T1	4,5	5,5	8,5	13	1	2	3	4	13	9,9	56
T1	4,9	6	8,5	12,5	1	2	3	4	9	9,6	
T1	5,2	7	10	14	1	2	3	4	19,4	8	
T2	4,7	6	7	8	1	1	2	2	18,3	24,7	84
T2	5	6,4	8,5	13	1	1	2	3	10,2	9,8	
T2	5,5	6,5	8,5	10,3	1	2	3	4	15,3	9,8	
T3	6	2	8	11	1	2	3	4	23,5	6,6	92
T3	6,5	8	11,5	15	1	2	4	5	14,3	8,8	
T3	6	7,5	9	10	1	2	2	4	14,3	13,4	

Nota. Las variables de altura y número de hojas fueron evaluadas cada semana, la longitud radicular, clorofila y % micorrización fueron evaluados al final del experimento. Los datos de altura y número de hojas muestran los datos tomados en 4 semanas. Elaborada por la autora, (2025).

Anexo 5: Análisis de ANOVA para medir la efectividad del experimento

Sustrato	Tratamiento	Variables	Promedio	Error estándar	Valor de P
Arena	T0	Altura (cm)	10,6667	1,09541	0,3356
		Número de hojas	3,33333	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	6,18667	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	18,5667	2,76275	0,1553
	T1	Altura (cm)	10,3333	1,09541	0,3356
		Número de hojas	3,33333	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	6,5	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	10,3667	2,76275	0,1553
	T2	Altura (cm)	10,3333	1,09541	0,3356
		Número de hojas	4	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	7,6	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	4,93333	2,76275	0,1553
	T3	Altura (cm)	13	1,09541	0,3356
		Número de hojas	5	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	8,5	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	7,56667	2,76275	0,1553

Turba	T0	Altura (cm)	11,6667	1,09541	0,3356
		Número de hojas	4	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	7,93333	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	7,5	2,76275	0,1553
	T1	Altura (cm)	11,6667	1,09541	0,3356
		Número de hojas	4	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	8,6	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	5,93333	2,76275	0,1553
	T2	Altura (cm)	11,1667	1,09541	0,3356
		Número de hojas	3,33333	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	8,76667	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	6,8	2,76275	
	T3	Altura (cm)	13,1667	1,09541	0,3356
		Número de hojas	5	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	8,7	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	7,3	2,76275	0,1553
Arena + Turba	T0	Altura (cm)	9,66667	1,09541	0,3356
		Número de hojas	3	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	7,83333	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	8,5	2,76275	0,1553
	T1	Altura (cm)	10,1667	1,09541	0,3356
		Número de hojas	3,33333	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	8,7	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	7	2,76275	0,1553
	T2	Altura (cm)	12,3333	1,09541	0,3356
		Número de hojas	5	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	9,56667	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	9,66667	2,76275	0,1553
	T3	Altura (cm)	12,6667	1,09541	0,3356
		Número de hojas	5	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	11,2333	1,46727	0,7117

Arena + Turba + Ácido húmico		Clorofila (SPAD)	12,1667	2,76275	0,1553
	T0	Altura (cm)	13,3333	1,09541	0,3356
		Número de hojas	3,66667	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	9,86667	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	13,0333	2,76275	0,1553
	T1	Altura (cm)	13,1667	1,09541	0,3356
		Número de hojas	4	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	13,8	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	9,16667	2,76275	0,1553
	T2	Altura (cm)	10,4333	1,09541	0,3356
		Número de hojas	3	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	14,6	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	14,7667	2,76275	0,1553
	T3	Altura (cm)	12	1,09541	0,3356
		Número de hojas	4,33333	0,433013	0,0736
		Longitud radicular (cm)	17,3667	1,46727	0,7117
		Clorofila (SPAD)	9,6	2,76275	0,1553

Nota. Elaborada por la autora, (2025).