



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

**FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS
NATURALES RENOVABLES
Carrera de Ingeniería Agronómica**

Tema

**Aislamientos e identificación de morfotipos de
hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en tres
zonas riparias del cantón Loja enfocados a la
producción de bioinoculantes**

Tesis previa a la
obtención del título de
Ingeniero Agrónomo

1859

Autor:
Christian Andres Lalangui Zhingre.

Directora:
Narcisa Urgiles Gómez *Ph. D.*

Loja-Ecuador

2018

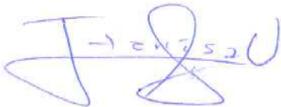
CERTIFICACIÓN

En mi condición de directora de tesis certifico que el señor Christian Andres Lalangui Zhingre, egresado de la carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional de Loja, ha desarrollado el proyecto de tesis titulado: **“Aislamientos e identificación de morfotipos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en tres zonas riparias del cantón Loja enfocados a la producción de bioinoculantes”** el mismo que ha sido debidamente revisado y corregido cumpliendo con todas las normas reglamentarias vigentes y dentro del cronograma establecido.

Por tal razón, autorizo su presentación para que continúe con el proceso que corresponda.

Loja, 10 de octubre del 2018

Atentamente,



Ing. Narcisa de Jesús Urgiles *Ph.D.*

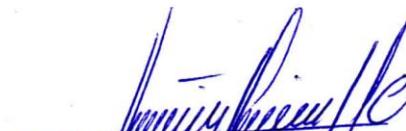
DIRECTORA DE TESIS

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TRIBUNAL

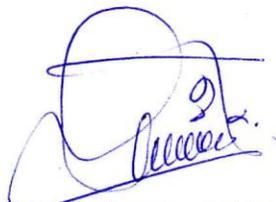
Una vez cumplida la reunión del Tribunal de calificación del Trabajo Final de Tesis: **“Aislamientos e identificación de morfotipos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en tres zonas riparias del cantón Loja enfocados a la producción de bioinoculantes”** de autoría del señor Christian Andres Lalangui Zhingre, egresado de la Carrera de Ingeniería Agronómica, se le propuso realizar algunas correcciones, mismas que ya han sido incluidas en el documento final.

En tal virtud, nos permitimos certificar que el trabajo final consolidado de investigación está acorde a los requerimientos de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables; por lo tanto, se autoriza continuar con los trámites correspondientes.

Loja, 24 de octubre del 2018

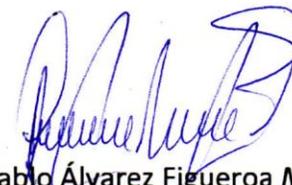


Ing. Max Encalada Córdova Ph.D.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Ing. Klever Chamba Caillagua

VOCAL DEL TRIBUNAL



Ing. Pablo Álvarez Figueroa MSc.

VOCAL DEL TRIBUNAL

AUTORÍA

Yo, Christian Andres Lalangui Zhingre, declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional - Biblioteca Virtual.

Autor: Christian Andres Lalangui Zhingre

Firma: 

Número de cédula: 1105652273

Fecha: Loja, 24 de octubre del 2018

CARTA DE AUTORIZACIÓN

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACIÓN ELÉCTRICA DEL TEXTO COMPLETO

Yo, Christian Andres Lalangui Zhingre, declaro ser autor de la tesis titulada **“Aislamientos e identificación de morfotipos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en tres zonas riparias del cantón Loja enfocados a la producción de bioinoculantes”**, como requisito para optar al grado de: INGENIERO AGRÓNOMO, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre al mundo la reproducción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las Redes de Información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja no se responsabiliza de plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 24 días del mes de octubre del 2018, firma el autor.

Firma: 

Autor: Christian Andres Lalangui Zhingre,

Número de Cédula: 1105652273

Dirección: Loja, La Argelia.

Correo electrónico: calalanguiz@unl.edu.ec

Celular: 0986952781

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de Tesis: Ing. Narcisa Urgiles Gómez *Ph. D.*

Tribunal de Grado:

PRESIDENTE: Ing. Max Encalada Córdova *Ph.D.*

VOCAL: Ing. Klever Chamba Caillagua

VOCAL: Ing. Pablo Álvarez Figueroa *MSc.*

AGRADECIMIENTO

Gracias a Dios y a la Vida por permitirme cumplir cada una de mis metas

A la Universidad Nacional de Loja centro de formación profesional, un agradecimiento especial a la *Ph.D.* Narcisa Ugiles docente investigadora de la UNL, por su apoyo y dirección del presente trabajo; así mismo al *Ph.D.* Paul Loján docente investigador de la UTPL por su colaboración en el desarrollo del trabajo investigativo.

A los señores miembros de tribunal *Ph.D.* Max encalada, *MSc.* Pablo Álvarez e Ing. Klever Chamba por su tiempo brindado en la revisión y presentación de tesis.

A cada uno de docentes, administrativos y estudiantes de la carrera de Ingeniería Agronómica de la Facultad Agropecuaria y de Recursos naturales quienes de una u otra forma recibí sus contribuciones.

A mis padres por ser el pilar fundamental en mi educación, mis guías para lograr mis objetivos.

A mis hermanos Johanna, Luis, Manuel y Doménica.

A mi mano derecha y colega Ing Estefanía Chamba Quiñonez quien estuvo siempre conmigo en apoyándome desde el inicio trabajo de campo hasta las fases final de presentación de tesis.

Christian Andres Lalangui Zhingre

DEDICATORIA

Lleno de satisfacción dedicó el presente trabajo a mis padres Rosa Zhingre y Máximo Lalangui, es por ellos el mérito alcanzado, por en enseñarme que siempre se puede seguir adelante y motivarme a ser cada día mejor con la bendición de dios.

A mis hermanos Johanna, Luis, Manuel y Doménica por ser mi motivación a salir adelante y demostrarles que el sacrificio de nuestros padres da sus frutos, gracias por verme como su ejemplo a seguir.

A Estefanía por formar parte de mi vida académica y sentimental, gracias por acompañarme durante todo este proceso.

Can algarabía

“Nacho”

Christian Andres Lalangui Zhingre

ÍNDICE GENERAL

CERTIFICACIÓN	ii
CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TRIBUNAL.....	iii
AUTORÍA	iv
CARTA DE AUTORIZACIÓN	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
DEDICATORIA	vii
ÍNDICE GENERAL.....	viii
INDICE DE FIGURAS Y TABLAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
TEMA.....	xiv
RESUMEN.....	xv
SUMMARY	xvi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Aspectos generales de los hongos micorrízicos.....	4
2.2. Clasificación de las micorrizas.....	5
2.3. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA)	5
2.4. Estructura de los HMA	6
2.4.1. Hifas	7
2.4.2. Apresorios.....	7
2.4.3. Vesículas.....	7
2.4.4. Arbúsculos	7
2.5. Taxonomía de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)	8
2.6. Descripción de los principales géneros de HMA	9
2.6.1. <i>Acaulospora</i>.....	10
2.6.2. <i>Scutellospora</i>	10
2.6.3. <i>Rhizophagus</i>	10
2.6.4. <i>Claroidoglomus</i>	11
2.6.5. <i>Glomus</i>.....	11
2.7. Funciones de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)	12

2.8. Perspectivas agronómicas de los HMA	13
2.9. Uso de HMA en cultivos hortícolas mediante inoculación	14
2.10. Mecanismos de colonización e influencia de HMA en cultivos hortícolas	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Localización	17
3.1.1. Fase de campo	17
3.1.2. Fase de laboratorio	18
3.1.3. Fase de invernadero	18
3.2. Materiales y Equipos	18
3.2.1. De campo	18
3.2.2. De laboratorio	18
3.2.3. De invernadero	19
3.2.4. De oficina	19
3.3. Metodología general	19
3.3.1. Colecta de muestras de suelo y raicillas en las zonas riparias	19
3.4. Metodología para el primer objetivo:	20
3.4.1. Aislamiento, clasificación e identificación de esporas de morfotipos de HMA	20
3.4.2. Determinación de colonización de HMA en raíces procedentes de las zonas riparias	22
3.4.3. Elección y colecta de semillas para cultivo trampa	23
3.4.4. Preparación de sustrato y establecimiento de cultivo trampa para multiplicación de HMA	24
3.4.5. Preparación del bioinóculo de HMA	25
3.5. Metodología para el segundo objetivo:	26
3.5.1. Selección de semilla y elaboración de semillero <i>S. lycopersicum</i> Mill	26
3.5.2. Preparación de sustrato para trasplante de <i>S. lycopersicum</i> Mill	26
3.5.3. Diseño experimental	26
3.5.4. Trasplante y agrotécnia de <i>S. lycopersicum</i> Mill	27
3.5.5. Aplicación de los tratamientos de bioinóculo de HMA	28
3.5.6. Evaluación de variables de crecimiento de <i>S. lycopersicum</i> Mill	29

3.5.6.1. Altura de planta.....	30
3.5.6.2. Diámetro del tallo por planta	30
3.5.6.3. Número de foliolos por planta.....	30
3.5.6.4. Incidencia de plagas y enfermedades.....	30
3.5.6.5. Número de flores por planta.....	30
3.5.6.6. Peso fresco de frutos por planta.....	30
3.5.6.7. Biomasa seca total por planta.....	31
3.5.6.8. Porcentaje de colonización de HMA en raíces de <i>S. lycopersicum</i> Mill.....	31
3.5.6.9. Análisis estadístico.....	31
IV. RESULTADOS.....	32
4.1. Morfotipos de HMA procedentes de las tres zonas riparias	32
4.1.1. Identificación de morfotipos de HMA	32
4.1.2. Colonización micorrízica de HMA en raíces de las zonas riparias.....	35
4.2. Efecto de los bioinoculantes de HMA en <i>S. lycopersicum</i> Mill.....	37
4.2.1. Altura de planta.....	37
4.2.2. Diámetro de tallo por plantas.....	38
4.2.3. Número de foliolos por planta.....	39
4.2.4. Incidencia de plagas y enfermedades.....	40
4.2.5. Número de flores por planta.....	41
4.2.6. Peso fresco de fruto por planta	42
4.2.7. Biomasa seca total por planta.....	43
4.2.8. Porcentaje de colonización de HMA en raíces de <i>S. lycopersicum</i> Mill.....	44
V. DISCUSIÓN.....	45
5.1. Morfotipos de HMA procedentes de las tres zonas Riparias	45
5.2. Efecto de los bioinoculantes de HMA en <i>S. lycopersicum</i> Mill.....	47
VI. CONCLUSIONES.....	50
VII. RECOMEDACIONES.....	51
VIII. BIBLIOGRAFÍA	52

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Clasificación y taxonomía de los HMA del Phylum Glomeromycota según Redecker et al. (2013).	9
Figura 2. Ubicación de las zonas riparias del cantón Loja.	17
Figura 3. Escala de porcentaje de micorrización en raíces según Trouvelot et al. (1986).	23
Figura 4. Preparación de sustrato para plantas trampa en el laboratorio de fisiología vegetal de la FARNR- UNL, 2018.	24
Figura 5. Cultivo trampa para multiplicación de HMA de los bioinóculo en el laboratorio de fisiología vegetal de la FARNR - UNL, 2018.	25
Figura 6. Distribución de los tratamientos de bioinóculo de HMA en <i>S. lycopersicum</i>	27
Figura 7. Aplicación de bioinóculo de HMA en <i>S. lycopersicum</i> Mill bajo invernadero en la Universidad nacional de Loja, 2018.	28
Figura 8. Porcentajes de los morfotipos de HMA por zona riparia en 100 g de suelo.	33
Figura 9. Esporas de los morfotipos de HMA procedentes de las zonas riparias: Z1, El Carmen; Z2, Mónica y Z3, Zamora Huayco del cantón Loja, 2018.	34
Figura 10. Colonización de HMA en la Z1, El Carmen: Vesículas (V), Apresorios (Apr), Hifas (HF), Z2, Mónica: (HF), y Z3, Zamora Huayco: (V) en raíces procedentes de las zonas riparias del cantón Loja, 2018.	35
Figura 11. Porcentaje de colonización de HMA en raíces procedentes de las zonas riparias del cantón Loja, 2018. Letras de significancia del test de Tukey al 0,05.	36
Figura 12. Dinámica de crecimiento en altura de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> Mill con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significación del test de Tukey al 0,05.	37
Figura 13. Dinámica de crecimiento en diámetro de las plantas de <i>S. lycopersicum</i> Mill con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significación del test de Tukey al 0,05.	38
Figura 14. Dinámica de producción de foliolos en plantas de <i>S. lycopersicum</i> Mill con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significación del test de Tukey al 0,05.	39
Figura 15. Porcentajes de incidencia de plagas y enfermedades en plantas de <i>S. lycopersicum</i> Mill con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significancia del test de Tukey al 0.05.	40
Figura 16. Curva de producción de flores en plantas de <i>S. lycopersicum</i> Mill con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significación del test de Tukey al 0,05.	41
Figura 17. Peso fresco de frutos de plantas de <i>S. lycopersicum</i> Mill a los 120 ddt con la aplicación de los bioinoculantes (coctel micorrízico). Letras de significación del test de Tukey 0,05.	42

Figura 18. Biomasa de plantas de <i>S. lycopersicum</i> Mill a los 120 ddt con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significación del test de Tukey al 0,05.	43
Figura 19. Porcentaje de colonización de HMA en raíces de <i>S. lycopersicum</i> Mill a los 120 ddt con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significación del test de Tukey al 0,05.....	44
Tabla 1. Evaluación del número de esporas/100 g de suelo en los bioinoculantes en tratamiento de las zonas riparias del cantón Loja, 2018.....	29
Tabla 2. Principales géneros de HMA en bioinoculantes de las zonas riparias del cantón Loja, 2018.....	29
Tabla 3. Resumen de la Clasificación e identificación de los morfotipos de HMA y número de esporas / 100 g suelo de las zonas riparias del cantón Loja, 2018.....	32

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Caracterización e identificación de esporas procedentes de las zonas riparias del cantón Loja	58
Anexo 2. Micorrización en raíces procedentes de las zonas riparias del cantón Loja. .	61
Anexo 3. Tablas de Test de normalidad, Análisis de la varianza y test de Tukey de indicadores evaluados en <i>S. lycopersicum</i> Mill.....	62
Anexo 4. Evidencia Fotográfica.....	71
Anexo 5. Hojas de registro de datos.....	85

**Aislamientos e identificación de morfotipos de hongos
micorrízicos arbusculares (HMA) en tres zonas riparias del
cantón Loja enfocados a la producción de bioinoculantes**

RESUMEN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son un grupo de microorganismos de gran importancia, establecen procesos simbióticos con el 80% de las plantas; el hongo permite mayor capacidad de absorción de agua y nutrientes del suelo. Los HMA se encuentran habitando todos los tipos de suelos; más aún, los de zonas riparias donde el microclima generado favorece su diversidad. En esta investigación se ha centrado el estudio en la identificación de HMA procedentes de zonas riparias El Carmen, Mónica y Zamora Huayco con el objeto de elaborar bioinoculantes para cultivos hortícolas; para ello, se colectaron muestras de suelo y raicillas de las zonas riparias, se realizó la extracción e identificación de esporas HMA y la determinación del porcentaje de micorrización, se elaboró bioinoculantes aplicando la técnica de cultivo trampa de HMA, mismos bioinoculantes que constituyeron los tratamientos a evaluar; se aplicaron cuatro tratamientos de bioinoculantes (T1, T2, T3, T4) más un testigo sin inoculación (T0) en plántulas *Solanum lycopersicum* Mill bajo invernadero con un diseño de bloques completamente al azar. Los morfotipos de HMA encontrados corresponden a los géneros *Glomus*, *Acaulospora* y *Scutellospora*. La aplicación de los bioinoculantes de HMA produjo efectos significativos en cuanto a variables de crecimiento y desarrollo del cultivo, presentando los valores mayores con respecto al tratamiento sin inoculación. Las zonas riparias del cantón Loja constituyen un potencial de diversidad de morfotipos HMA principalmente del género *Glomus* spp. El tratamiento uno (Z1, El Carmen) presentó los mejores resultados en las variables de crecimiento en *S. lycopersicum* Mill, principalmente en producción de biomasa y peso de los frutos.

Palabras Claves morfotipo, colonización micorrízica, inóculo micorrízico, producción agrícola.

SUMMARY

The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are a group of microorganisms of great importance, establishing symbiotic processes with 80% of the plants; the fungus allows greater capacity of absorption of water and nutrients from the soil. The AMF are inhabiting all soil types, even those of riparian zones where the microclimate generated favors their diversity. This research has focused on the identification of AMF from riparian zones El Carmen, Mónica and Zamora Huayco in order to develop bioinoculants for horticultural crops, for this, samples of soil and rootlets from the riparian zones were collected; the extraction and identification of AMF spores and determination of the percentage of mycorrhization were performed, bioinoculantes was elaborated applying the technique of trap culture of HMA same bioinoculantes that constituted the treatments to be evaluated, four treatments of bioinoculantes (T1, T2, T3, T4) plus a control without inoculation (T0) were applied on seedlings *Solanum lycopersicum* Mill under greenhouse with a completely randomized block design. The AMF morphotypes found correspond to the genera *Glomus*, *Acaulospora* and *Scutellospora*. The application of the HMA bioinoculantes produced significant effects as growth and development variables of the crop, presenting the highest values with respect to the treatment without inoculation. The riparian zones of the Loja canton constitute a potential of diversity of AMF morphotypes mainly of the genus *Glomus* spp. Treatment one (Z1 El Carmen) presented the best results in the growth variables in *S. lycopersicum* Mill, mainly in biomass production and fruit weight.

Keywords: Morphotype, mycorrhizal colonization, mycorrhizal inoculum, agricultural production

I. INTRODUCCIÓN

El suelo es el recurso esencial para el desarrollo económico, ambiental y social por ser el sostén físico, químico y biológico de todos los ecosistemas terrestres favoreciendo un desarrollo en equilibrio dinámico en ellos (Nakmee *et al.*, 2016). En el suelo se encuentra un sin número de microorganismos que sirven como bioindicador de la salud de los ecosistemas y agro ecosistemas. Las poblaciones microbianas presentes en el suelo juegan un papel de importancia para efecto de manejo de recurso vegetales y procesos agrícolas (Ramirez *et al.*, 2013).

Dentro de las poblaciones microbianas presentes en el suelo se encuentra un grupo selecto de microorganismos denominados hongos micorrízicos arbusculares (HMA) los cuales tienen especial importancia para los aspectos ecológicos; así como, en los procesos agrícolas y forestales (Alarcón y Ferrera, 2010).

Existe una gran diversidad de HMA presentes en todos, los suelos especialmente en suelos salinos donde existe problemas de producción vegetal. Los HMA constituyen un grupo de microorganismos de gran importancia ya que establecen procesos simbióticos con el 80% de las plantas; en dicha simbiosis las plantas se benefician en función de la actividad del micelio externo del hongo que permite mayor capacidad de absorción de agua y nutrientes del suelo (Torres *et al.*, 2017); especialmente, los HMA favorecen la transformación y disponibilidad de fósforo asimilable en el suelo, elemento requerido por las plantas en grandes cantidades y que se encuentra en bajas concentraciones en forma de fosfatos no asimilables para las plantas (Aguilera *et al.*, 2013); además, participan como agentes de bio-control al ataque de patógenos de hábito radical. A más de ello, en la simbiosis se establecen

procesos fisiológicos y bioquímicos, de modo que la planta hospedante puede presentar cambios en la morfología de la raíz; sin embargo, las respuestas varían en función del grado de dependencia de las plantas a los HMA (Rodríguez *et al.*, 2014).

Según Borstler *et al.* (2006) en el mundo podría haber 1250 especies de HMA, habitando en todos los suelos, incluyendo los de minas abandonadas, suelos agrícolas, pantanos, en hábitat acuáticos (Pérez y Vertel 2010) y en suelos de zonas riparias ubicados en las riberas de los ríos en donde el microclima formado, la humedad del suelo y la diversidad vegetal favorecen el desarrollo y diversificación de los HMA (Granados *et al.*, 2007). No obstante existe controversia de cómo cambia la diversidad de HMA en ecosistemas naturales y zonas riparias que son transformados en agro ecosistemas en respuesta a cambios en la comunidad de plantas existentes en el medio debido a la naturaleza obligada de los simbioses (Pérez *et al.*, 2012).

De acuerdo con Enríquez *et al.* (2010) en los bosques naturales y zonas riparias ecuatorianas existe una organización heterogénea, traducido en un gran número de especies vegetales conviviendo en un mismo espacio de suelo; por lo tanto, la posibilidad de encontrar asociaciones exitosas con diversas especies de HMA es alta. Así mismo en estas zonas se ha encontrado HMA en los primeros 20 centímetros del perfil del suelo especialmente de los géneros *Glomus* spp, *Scutellospora* spp, *Acaulospora* spp, *Gigaspora* spp y *Rhizophagus* ssp y están siendo utilizados en la producción de bioinóculos para la aplicación en cultivos a fin de aumentar la productividad y la resistencia a plagas; así como también, reducir el uso de fertilizantes químicos que causan contaminación en el medio ambiente por sus efectos residuales (Loján *et al.*, 2016).

Con ésta premisa la presente investigación pretende contribuir con el aislamiento e identificación de los géneros de HMA presentes en la zona riparias y utilizarlos en la producción de bioinoculantes; por ello se propuso:

Objetivo general

Identificar morfotipos de HMA en tres zonas riparias del cantón Loja que potencialmente puedan ser utilizados para incrementar la producción de cultivos hortícolas.

Objetivos específicos

Aislar e identificar morfotipos de HMA procedentes de tres zonas riparias para realizar un cóctel de cepas de hongos micorrízico para aplicarlo a plantas hortícolas.

Aplicar y evaluar el efecto de la aplicación del cóctel de inóculo de HMA en el desarrollo del cultivo de tomate, *Solanum lycopersicum* Mill.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Aspectos generales de los hongos micorrízicos

El término micorriza significa “hongo-raíz” de acuerdo con Camargo *et al.* (2012), fue propuesto por el patólogo forestal alemán Frank, al estudiar las raíces en 1877 y utilizó la denominación de micorriza para denominar a un grupo de hongos que se encuentran en los ecosistemas terrestres como: bosques, zonas riparias, agroecosistemas e incluso en hábitat acuático formando simbiosis mutualistas altamente evolucionadas determinadas por las características de la planta huésped y el hongo micorrízico, dichas simbiosis son reguladas por factores del suelo y del medio ambiente desde hace más de 480 millones años (Jaizme, 2012).

Estas asociaciones hongo-raíz son importantes para el crecimiento de las plantas, la sucesión y la rehabilitación de tierras (Siqueira y Saggin, 2001). Los hongos micorrízicos simbióticos influyen en el medio ambiente terrestre de diferentes maneras, ya sea a través de interacciones directas con los sustratos minerales u orgánicos que colonizan o indirectamente a través de interacciones con sus plantas huésped u otros organismos (Finlay, 2004). En la simbiosis, los hongos micorrízicos reciben directamente de las plantas los azúcares que precisan para desarrollarse, a cambio captan del suelo y ceden a sus hospedantes vegetales los nutrientes minerales y el agua que éstos necesitan para incrementar su crecimiento y desarrollo a fin de producir efectos positivos sobre los rendimientos de los cultivos (Honrubia, 2009).

La práctica de aplicar micorrizas es factible en los cultivos donde es habitual una fase de semillero, dado los efectos de estos hongos como biofertilizantes y bioprotectores; además,

con su utilización se puede lograr una reducción significativa en el uso de los fertilizantes minerales cuyos efectos secundarios causan degradación de suelos y contaminación ambiental por su efecto residual (Cruz *et al.*, 2012).

Las investigaciones realizadas con el uso de HMA como biofertilizante demuestran el efecto benéfico de la simbiosis, tal es el caso reportado por Ley *et al.* (2015), donde con la utilización de HMA de género *Glomus* en el cultivo de tomate se produjo casi el doble de frutos en relación con el cultivo sin inoculación con HMA. Los mismos autores mencionan que los HMA se benefician en forma diferente según la planta hospedera y ellas responden diferencialmente según la cepa que se utilice.

2.2. Clasificación de las micorrizas

En el grupo de hongos micorrízicos se pueden distinguir tres grupos fundamentales según la estructura de la micorriza formada: ectomicorrizas o formadoras de manto; ectendomicorrizas, que incluyen arbutoides y monotropoides y las endomicorrizas, caracterizadas por la colonización intracelular del hongo y que a su vez se subdividen en ericoides, orquidoides y arbusculares. Dentro de este grupo de hongos micorrízicos podemos definir de mayor importancia las endomicorrizas que se caracterizan por colonizar intracelularmente el córtex radical, no tiene manto externo; en esta subdivisión se encuentran las micorrizas versículo-arbusculares (MVA) o también conocidos como hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (Herrera *et al.*, 2015).

2.3. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

Los HMA se encuentran ampliamente extendidos por toda la superficie terrestre y establecen simbiosis con el 80 a 90% de plantas, incluyendo plantas pteridofitas y plantas

no vasculares como las briofitas. Estudios moleculares del registro fósil datan de hace 480 millones de años aproximadamente e indican que los HMA participaron en la colonización de las primeras plantas de los hábitats terrestres, son predominantes en los ecosistemas palustres y en suelos de bajas y medias latitudes con altas tasas de mineralización de materia orgánica, donde colonizan las raíces de muchas herbáceas y plantas leñosas (Martínez y Pugnaire, 2009).

Existen 200 especies de HMA descritas hasta el presente (Stürmer *et al.*, 2013). Sin embargo, evidencias recientes obtenidas con técnicas moleculares indican que las plantas son colonizadas preferencialmente por ciertas especies de HMA en base a sus efectos diferenciales sobre el crecimiento vegetal, aunque esta especificidad no es absoluta, puede influir de un modo importante, no solo en la productividad de las comunidades vegetales sino también en la diversidad de HMA, sus relaciones competitivas y funcionales en los ecosistemas naturales (Lovera y Cuenca, 2007). Según Stürmer *et al.* (2013), se ha encontrado 65 especies de HMA reportadas, lo que representa el 28% de especies, incluyendo a 32 especies recién descritas.

2.4. Estructura de los HMA

Las estructuras que forman los HMA son: esporas que llevan la información genética del hongo y controlan los procesos de la simbiosis, arbusculos y vesículas en donde se almacena sustancias de reserva para el hongo y lípidos; e hifas de diversas morfologías y funciones, que van desde la "hifa infecciosa" a "absorción" de las hifas fértiles que son las esporas. En las estructuras de los HMA, el hongo invagina la membrana de la célula vegetal sin romperla y va produciendo una estructura ramificada a la que se le denominan "arbusculos"

o bien se enrolla formando una envoltura para multiplicar el contacto entre las dos paredes celulares (Bagyaraj y Stürmer, 1995).

2.4.1. Hifas

Son estructuras filamentosas que en conjunto forman un micelio. Existen tres tipos de hifas: las intercelulares que crecen entre la pared de las células de la raíz, las intracelulares crecen dentro de la pared de las células de la raíz y las extraradicales que son de tres subtipos hifas infectivas, inician los puntos de colonización en una o varias raíces; hifas absorbentes se encargan de explorar el suelo para la extracción de nutrientes y las hifas fértiles son las que llevan las esporas (Camarena, 2012).

2.4.2. Apresorios

Son apéndices que se forman cuando una hifa hace contacto con la superficie de una célula epidérmica de la raíz, esta estructura facilita la penetración del hongo.

2.4.3. Vesículas

Se trata de órganos de paredes delgadas que almacenan lípidos y glicolípidos, se forman a partir del hinchamiento de una hifa terminal; estas vesículas pueden ser inter o intracelulares y ser encontradas tanto en el interior como en las capas externas del parénquima cortical. Las vesículas no están presentes en todos los géneros de HMA (Hernández *et al.*, 2003).

2.4.4. Arbúsculos

Minúsculas ramificaciones dicotómicas, sirven como sitio de intercambio nutrimental entre el hongo y el hospedero. De corta duración 9 a 15 días, al cabo de lo cual colapsan o son

digeridos por la célula hospedera, después de un gran período de actividad metabólica (Camarena, 2012).

2.5. Taxonomía de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

Dentro del *phylum Glomeromycota* se ha agrupado a todos los HMA conocidos que han co-evolucionado conjuntamente con sus anfitriones las plantas, quienes conquistaron el medio terrestre. La taxonomía HMA se ha basado de acuerdo a caracteres discretos de la estructura subcelular de las esporas de los hongos a mas de la aplicación de técnicas moleculares ha permitido un avance importante en los estudios concernientes a la identificación y clasificacion de estos hongos (Stürmer, 2012). Según Schüßler y Walker (2010) se ha clasificado a los HMA en 10 géneros con aproximadamente 193 especies descritas; sin embargo, la información sobre diversidad de HMA puede ser mayor.

Los estudios realizados por Redecker *et al.* (2013), han permitido establecer un sistema de clasificación taxonómica de los HMA basándose a más de los caracteres morfológicos en análisis moleculares, estableciendo relaciones de parentesco para agruparlos y realizar la construcción de árboles filogenéticos que permiten el reconocimiento de géneros y especies de un determinado género. El sistema de clasificación está establecido tal como se muestra en la Figura 1.

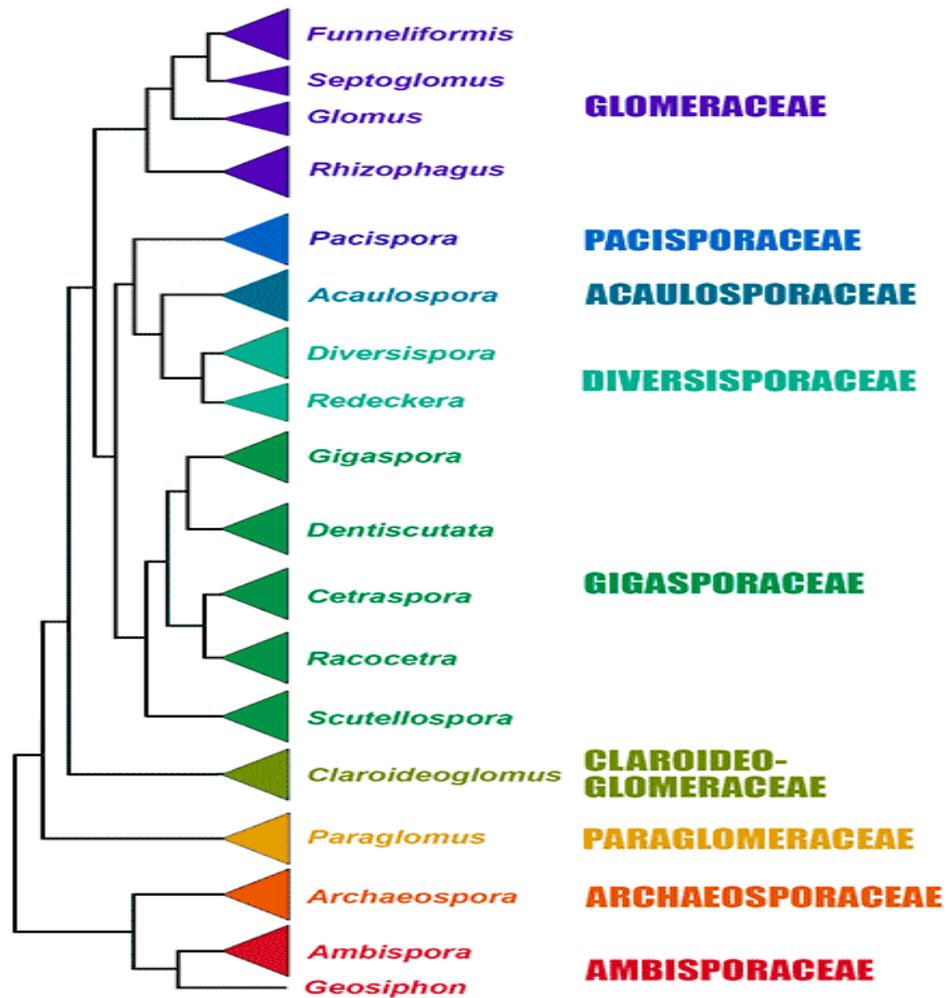


Figura 1. Clasificación y taxonomía de los HMA del *Phylum Glomeromycota* según Redecker *et al.* (2013).

2.6. Descripción de los principales géneros de HMA

La mayoría de los géneros y especies que pertenecen al *phylum Glomeromycota* han sido descritas en base a la morfología de sus esporas (color, forma y tamaño) así como en análisis moleculares, dichas características principales que han permitido establecer relaciones de parentesco de los HMA (Redecker *et al.*, 2013). Los principales géneros que se han identificado como predominantes y generalistas en todos los suelos se describen a continuación:

2.6.1. *Acaulospora*

Este género se definió originalmente por esporas llevadas lateralmente desde el cuello de un "sáculo esporífero" pre-diferenciado, el sáculo esporífero se desarrolla de manera explosiva desde la punta de una hifa, esporas de 100 a 380 μm de color rojizo amarillento y hialino de forma globosa y subglobosa. Generalmente las esporas se encuentran solitarias en el suelo o algunas veces con las raíces ó en esporocarpos que pueden alcanzar hasta varios centímetros de longitud. Especies de *Acaulospora* muestran relación genética con especies de *Entrophospora* (Stürmer *et al.*, 2013).

2.6.2. *Scutellospora*

Es genero se caracteriza por formar esporas individualmente en el suelo, subterminales a laterales de una célula suspensora bulbosa, presentan un color desde hialino, castaño anaranjado pálido a oscura de forma globosa, subglobosa a irregular de 135-320 μm , la capa externa de las esporas es frágil y hialina de más de 1 μm de espesor, fuertemente adherida a una interna frágil, hialina y laminada de 6-8 μm de espesor que reacciona con Melzer tornándose naranja pálido (Stürmer *et al.*, 2013).

2.6.3. *Rhizophagus*

En las especies de este género las esporas se forman individualmente, en racimos pequeños a grandes en un medio sólido y en raíces. Las esporas son globosas, obovadas, de forma irregular, de 40-120 μm de diámetro, de color hialino a amarillo pálido, las hifas subyacentes generalmente son únicas pero a veces dobles, rectas o acampanadas o contraídas, a veces recurvadas en el punto de inserción, de color marrón amarillento pálido y de 4-10 μm de ancho en la base de las esporas (Schüßler y Walker, 2010).

2.6.4. *Claroidoglomus*

Las especies de este género forman esporas por expansión blástica de una punta de las hifas, por lo general estas esporas constan de una pared de tres capas: una capa exterior que se desprende a medida que la espora envejece, una capa de laminado intermedia y una capa interna delgada. La hifa que subtiende la espora se diferencia a la misma velocidad y sintetiza las mismas capas componentes que se encuentran en la pared de la espora y forman un "tabique"; as especies de este género se diferencian por el tamaño de las esporas (60 a 180 μm), forma globosa o subglobosa y el color de la capa del estratificado medio (Redecker *et al.*, 2013).

2.6.5. *Glomus*

En este género sus esporas son glomoides, producidas en la superficie del suelo o cerca de ella en esporocarpos, generalmente con peridium parcial o completo o como esporas individualmente o en racimos en el suelo o sustrato; esporas individuales, esféricas, de color café, mayores a 150 μm con hifa de sostén curva, as esporas presentan tres capas las cuales se unen con la hifa de sostén (Hernández *et al.*, 2014). Las capas de la pared de la espora por lo general continua con una pared de la hifa que subtiende, la germinación de este género se da con la emergencia de una o varias hifas que atraviesan la pared de la espora (Perez *et al.*, 2011). También se pueden formar las esporas dentro de las raíces, posiblemente como un sustituto o como un reemplazo para el desarrollo de vesículas en algunas especies (Schüßler y Walker, 2010).

A este género según Medina *et al.* (2010) se lo determina como dominante en la mayoría de las poblaciones nativas, está representado por más de 100 especies (Hernández *et al.*

2003) y es posible que se encuentre en simbiosis activa en mayor proporción que los demás géneros, lo que refleja su amplia capacidad de adaptación a las condiciones edáficas y ofrece un alto potencial para su uso como biofertilizante.

2.7. Funciones de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

La asociación mutualista entre los HMA y las raíces de las plantas vasculares representa una compleja dinámica constituida por una diversidad de interacciones importantes en la nutrición de las plantas, la resistencia a condiciones de estrés y la estabilización del suelo a través de una variedad de condiciones del medio. Los HMA favorecen la absorción de macroelementos como nitrógeno (N) y fósforo (P) principalmente en suelos salinos, procesos descritos a través de varias etapas, en particular por la asimilación de dichos nutrientes no asimilables a través de la extensa red hifas de HMA que se encuentran en contacto con el suelo; transformando y acumulando nutrientes disponibles por la plantas en estructuras intercorticales llamados arbusculos en donde se produce el intercambio de los mismos en las plantas hospederas; la entrada de la hifa a la raíz se facilita por la presencia de pectinasas (Carreón. *et al.*, 2016).

Al colonizar las micorrizas porciones radiculares, los exudados que emiten ayudan a las poblaciones de bacterias benéficas a reproducirse más eficientemente, ya que ambos grupos son parte de la matriz biológica del suelo. Dentro del suelo gracias a la segregación de la glomalina, glicoproteína protectora de la hifa, se ejerce un efecto de aglutinante natural que estimula la agregación de partículas en el suelo, así como; la captación de una fracción significativa de la materia orgánica y carbono total del suelo (Cué y Torres, 2014).

En la simbiosis entre HMA y plantas, la raíz de la planta proporciona un nicho ecológico

debido a la exudación de nutrimentos orgánicos útiles para el metabolismo de los distintos hongos micorrizicos y los HMA, a la vez, participan en numerosos beneficios, como: influencia en el crecimiento radical, regulación de la actividad metabólica de la raíz e influencia en las propiedades físicas y químicas del suelo, así como de los contaminantes y protección ante patógenos de hábito radical como los nemátodos debido a la capacidad de los hongos para inducir la síntesis de enzimas relacionadas con la defensa contra dichos patógenos como: peroxidases, $\beta(1-3)$ -glucanasas, fenilalanina-amonioliasas, quitinasas y polifenoloxidasas (Alarcón *et al.*, 2013).

Estudios realizados por Faggioli *et al.* (2008) sobre el uso de los HMA en trigo demostraron que la concentración de fósforo en la raíz de trigo aumentó sin que el porcentaje de micorrización incida en el incremento de la concentración, considerando así la función benéfica de los HMA en todos los porcentajes de micorrización. Así mismo Harris *et al.* (2009), menciona que los HMA ayudan a contrarrestar el estrés hídrico, ya que la interacción permite que la planta se aclimate y continúe con la asimilación de nutrimentos en las etapas sucesivas del desarrollo.

2.8. Perspectivas agronómicas de los HMA

En la agricultura, el uso de HMA tiene un gran potencial debido a que facilitan la disponibilidad de nutrientes para las plantas como los de poca movilidad (fósforo), mayor absorción de agua debido a la extensa red de hifas que el hongo forma, resistencia a patógenos de hábito radical como nemátodos. Por lo tanto, plantas micorrizadas poseen una ventaja importante con respecto a las plantas no micorrizadas; así mismo, cualquier especie de HMA puede colonizar o formar simbiosis con cualquier planta; sin embargo, el pH, la

humedad del suelo y la disponibilidad de nutrientes influyen tanto en la micorrización en diferentes cultivos y variedades de una misma especie vegetal dando diferentes respuestas en crecimiento y desarrollo de la planta (Barrer, 2009).

2.9. Uso de HMA en cultivos hortícolas mediante inoculación

El empleo de HMA en cultivos resulta benéfico, existen varios métodos de inoculación de estos hongos a fin de garantizar el suministro adecuado de nutrientes, entre estos, el más efectivo resulta la aplicación a manera de biofertilizante que favorece el desarrollo de los cultivos; el biofertilizante es resultado de procesos tecnológicos de reproducción de HMA, que involucra a una planta hospedera en un sustrato sólido micorrizado obtenidos a partir de sustratos y raíces micorrizadas. Hoy en día la biotecnología está favoreciendo la obtención de inoculantes líquidos a partir de la suspensión de esporas en un medio líquido (Mujica, 2012) y aplicación directa al cultivo. El uso de HMA resulta factible para cualquier sistema de producción agrícola debido a las funciones que realizan una vez que se asocian con las plantas.

De acuerdo con Mujica *et al.* (2014) en el uso de inoculantes sólidos se ha obtenido resultados satisfactorios en leguminosas, maíz y en hortalizas como el tomate; por otro lado, con el uso de inoculantes líquidos de HMA de *Glomus cubense* como biofertilizante en tomate, *Solanum lycopersicum* L. se encontró una respuesta positiva independientemente de la dosis de inoculación evaluada.

2.10. Mecanismos de colonización e influencia de HMA en cultivos hortícolas

Los HMA establecen relaciones simbióticas con la mayoría de las plantas, para el caso

particular de las plantas cultivadas, como los cultivos hortícolas, la simbiosis está orientada al incremento de la biomasa de la planta, vigor e incremento de la producción debido a la mayor absorción de nutrimentos, agua, resistencia a plagas de habito radical y a otros factores bióticos y abióticos. (Abdul y Bagyaraj, 2000). El grado de intercambio entre las células corticales de la raíz del huésped y el endófito fúngico aparentemente depende en gran medida de la cantidad de superficie de intercambio y de la eficacia inherente del endófito en la adquisición de agua y nutrientes (Vierheilig *et al.*, 2005).

El inicio de la colonización de la planta y con ello la formación de la simbiosis comienza con la germinación de las esporas de resistencia en el suelo cuando las condiciones de temperatura y humedad son favorables o bien mediante el crecimiento de hifas a partir de propágulos del suelo que se encuentran cerca del sistema radical susceptible, cuando la hifa tiene contacto con la célula epidérmica o un pelo radical y produce un apresorio ligeramente engrosado, a partir del cual se desarrollan ramificaciones infectivas cortas. Posteriormente se produce la penetración de la epidermis o del pelo radical mediante la presión ejercida por la hifa en crecimiento sobre la pared celular, una vez que la hifa penetra entre las células epidérmicas, se dispersa también intercelularmente a lo largo de la corteza, alcanzando la segunda capa de células corticales (Aguilera *et al.*, 2013).

La hifa de hongo degrada la pared de la célula e invagina la membrana para ramificarse luego dicotómicamente muchas veces y formar una estructura parecida a un arbusto, denominada arbusculo, dentro de la célula. Este es el sitio donde se lleva a cabo el intercambio de nutrimentos entre ambos simbiosis. La vida media de un arbusculo en actividad es muy corta y varía entre dos y quince días, al cabo de los cuales se colapsa y

permanece rodeado por el plasmalema de la célula vegetal, siendo encapsulado por material depositado en la zona interfacial proveniente presumiblemente del hospedero (Finlay, 2004).

Estudios realizados demuestran la actividad biológica benéfica de la inoculación de micorrizas en cultivos como el tomate en donde se ha observado a los 31 días después de la germinación que el 85 % de las plantas con la aplicación del tratamiento, presentaban la colonización y simbiosis positiva de los hongos micorrízicos arbusculares (Terry y Leyva, 2006).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

La investigación se desarrolló en el cantón Loja; misma que, según la clasificación de Holdridge (1987) presenta una zona de vida de bosque seco montano bajo (bs-MB) con una temperatura media anual de 16 °C, precipitación media anual de 967,6 mm y clima templado lluvioso (mesotérmico) (Köppen, 1936).

Para dar cumplimiento a los objetivos el estudio se desarrolló en tres fases:

3.1.1. Fase de campo

Esta fase se desarrolló en las zonas riparias del cantón Loja, en las microcuencas el Carmen, Mónica y Zamora Huayco, ubicadas geográficamente a 9552735 m N y 704961 m E a 2399 msnm, 9548940 m N y 701540 m E a 2346 msnm y 9555914 m N y 703476 m E a 2233 msnm respectivamente, donde se realizó la recolección de muestras de suelo y raicillas.

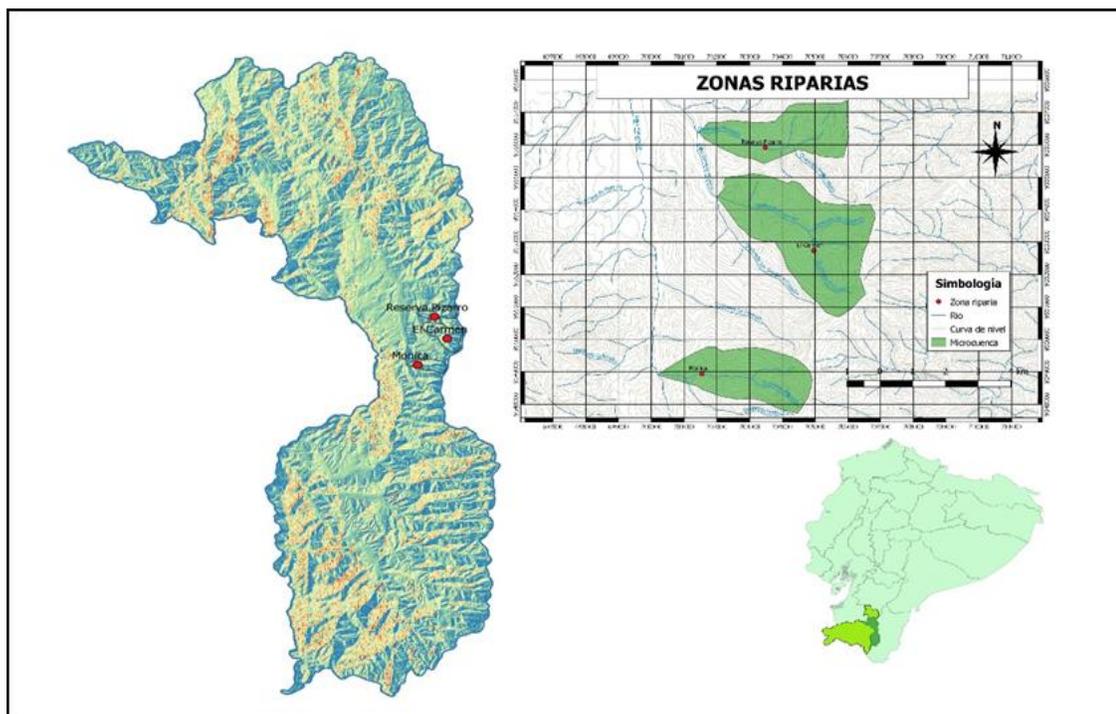


Figura 2. Ubicación de las zonas riparias del cantón Loja.

3.1.2. Fase de laboratorio

Se efectuó en el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables (FARNR) de la Universidad Nacional de Loja ubicado geográficamente a 9553731 m de latitud N y a 699462 m de longitud E, donde se realizó el aislamiento e identificación de los géneros de los HMA y el establecimiento de plantas trampa para el bioinóculo de HMA.

3.1.3. Fase de invernadero

Se llevó a cabo en el invernadero localizado en la Quinta Experimental de la Universidad Nacional de Loja, ubicado geográficamente a 9553737 m de latitud N y a 699441 m de longitud E para realizar los ensayos de inoculación de HMA en *Solanum lycopersicum* Mill

3.2. Materiales y Equipos

3.2.1. De campo

Bolsas plásticas Zipploc, trasplantadora de mano, tijera podadora, etiquetas, libreta de campo, GPS.

3.2.2. De laboratorio

Cajas de Petri, pizeta, lunas de reloj, porta y cubreobjetos, probeta, pipeta, vaso de precipitación, tubos de ensayo, gradilla, tubos Eppendorf, centrífuga, pipeta Pasteur de vidrio, tamiz, papel filtro, macetas plásticas, fundas (sunbags), ácido láctico, azul de metileno, hidróxido de potasio, agua destilada, reactivo de Melzer, Polivinil Lacto-Glicerol (PVLG), microscopio, estereomicroscopio, estufa, balanza.

3.2.3. De invernadero

Bandejas para germinación, bolsas de polietileno de 15 x 20, regaderas, vasos plásticos, probetas, trasplantadoras, bomba de mano, flexómetro, cinta de tutoraje, regla, tijera podadora, cuchilla, termohigrómetro, calibrador, balanza digital, carretillas de eléctricas para desinfectar sustrato.

3.2.4. De oficina

Computador, impresora, cámara fotográfica, papel, esferográficos, marcadores, recursos bibliográficos.

3.3. Metodología general

El presente estudio fue de tipo exploratorio descriptivo mismo que brinda información acerca de los morfotipos de HMA existentes en las zonas riparias del cantón Loja, se describe sus características morfológicas y se muestra alternativas de aprovechamiento de los HMA con la elaboración del bioinóculo de HMA (cóctel micorrízico) para cultivos hortícolas a fin de aumentar su producción.

3.3.1. Colecta de muestras de suelo y raicillas en las zonas riparias

Se realizó la recolección en tres zonas riparias del cantón Loja, recolectando 10 muestras de 250 g, las muestras fueron tomadas al azar dentro de cada zona, a cinco metros del margen de la quebrada y a 20 m de longitud paralelo a la misma, bajo la cobertura vegetal; se extrajo las muestras con una trasplantadora que fue introducida en el suelo a una profundidad de 20 cm, extrayendo así el suelo y raicillas. Posterior a ello fueron llevadas al laboratorio de fisiología vegetal; donde, se colocó cada muestra en bandejas plásticas, se eliminó piedras, raíces secas, se disgregó el suelo y se trozó las raicillas a un tamaño de dos

cm, luego se dejó en un ambiente a condiciones climáticas naturales y a oscuridad por cinco días para que pierdan el exceso de humedad.

3.4. Metodología para el primer objetivo:

Aislar e identificar morfotipos de HMA procedentes de tres zonas riparias para realizar un cóctel de cepas de hongos micorrízicos para aplicarlo a plantas hortícolas.

3.4.1. Aislamiento, clasificación e identificación de esporas de morfotipos de HMA

Para ello se realizó la extracción de esporas de HMA de suelo colectado en cada zona y se utilizó la metodología de extracción de esporas del suelo por decantación descrita por Gerdemann y Nicholson (1963) que consistió en lo siguiente:

Se pesó 100 g de suelo de las tres zonas riparias, con cinco repeticiones, las muestras de suelo fueron colocadas en vasos de precipitación y se agregó agua destilada. Se mezcló y agitó el suelo por varios minutos hasta disolver por completo la parte sólida. Se filtró la mezcla en tamices de 400, 125 y 38 μm respectivamente en orden de mayor a menor. Se recogió el contenido de los tamices de 125 y 38 μm , se colocó tres ml en tubos de ensayo con seis ml de una solución de sacarosa al 70 %, luego los mismos fueron colocados en la centrífuga a 3000 revoluciones por cinco minutos.

Se dejó reposar por varios minutos y luego se tomó el sobrenadante de los tubos y se colocó en el tamiz más pequeño (38 μm), se enjuagó con agua destilada y se almacenó nuevamente en los tubos de ensayo con agua destilada para conservar las esporas. Luego se colocó el contenido de los tubos en cajas Petri y bajo el estereoscopio se extrajo las esporas de los morfotipos de HMA con una pipeta Pasteur de vidrio, se los agrupó de acuerdo a su color,

forma, tamaño y ornamentación; contabilizando el número de esporas de cada morfotipo en los 100 gramos de suelo y se los almacenó en los tubos de ensayo.

Luego se realizó montajes de las esporas de cada zona, en portaobjetos (cinco esporas por placa), agregando una gota de reactivo de Melzer (teñidor) para dar color a las esporas y facilitar la observación de sus características principales a más se agregó una gota de Polivinil Lacto-Glicerol (PVLG) para fijar las esporas en el portaobjetos y colocar el cubreobjetos. Luego se llevó las placas (portaobjetos con esporas)al microscopio Olympus BX41, bajo el lente de 10x y se observó las estructuras de las esporas de cada morfotipo, se observó y determinó la ornamentación de la hifa de sostén, el color presentando cuando se observan al microscopio, la forma de la espora, la coloración de las capas de la espora al reaccionar con el reactivo de Melzer y se realizó la medición del diámetro mediante el programa Infinity Analyze para Windows conectado con el microscopio y se realizaron fotografías.

La determinación e identificación de los géneros de los morfotipos se basó en criterios morfológicos de las estructuras de los HMA y principalmente de las variables observadas de las esporas. Los resultados fueron comparados con las descripciones que aparecen en la Home page del International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, 2018); ésta metodología fue aplicada para las tres zonas.

3.4.2. Determinación de colonización de HMA en raíces procedentes de las zonas riparias

Se realizó la separación de raicillas del sustrato clasificándolas según su contextura como herbáceas y leñosas; se tomaron 25 segmentos de raíces de cada zona de aproximadamente un milímetro de diámetro y uno cm de largo, se lavó las raicillas recolectadas con agua destilada. Se sumergieron las raíces en hidróxido de potasio (KOH) al 10% y se colocaron en estufa a 70 °C, por dos horas las raíces herbáceas y dos horas y media las raíces leñosas posteriormente se lavó dos veces en agua normal, seguidamente se sumergieron por dos minutos en ácido clorhídrico (ClH) al 10% y las raíces tomaron un color blanco, finalmente se desechó la solución química, quedando las raíces sin fenoles para la tinción.

Para la tinción de las raíces se preparó una solución compuesta por azul de metileno al 0,05 % diluido en ácido láctico al 90 %, donde fueron introducidas las raíces aclaradas y se colocaron en estufa a 70 °C por una hora las raíces de contextura herbácea y dos horas las raíces de contextura leñosa.

Posteriormente se preparó cinco portaobjetos (placas) con algunas gotas de ácido láctico al 90 % con las raíces teñidas, bien extendidas de cada zona y cubrió con el cubre objeto. Se colocaron 5 segmentos de raíces de un cm en cada placa, cinco placas por procedencia y bajo el microscopio Olympus BX41 con el lente de magnificación de 10x conectado con el programa Infinity Analyze para Windows, se evaluó cada raíz según la metodología de Trouvelot *et al.* (1986). Con este método se asignó un porcentaje de cero a 100% de acuerdo a la presencia de las hifas, arbusculos, vesículas y coils de las micorrizas. En la Figura 3 se

muestra la escala visual utilizada para la determinación del porcentaje de colonización de los HMA en segmentos de raíces de un cm.

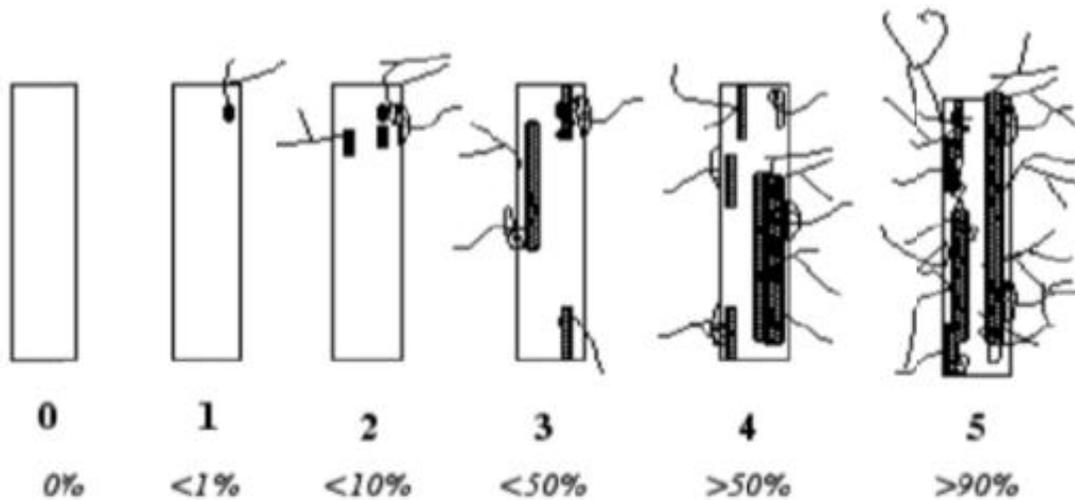


Figura 3. Escala de porcentaje de micorrización en raíces según Trouvelot *et al.* (1986).

3.4.3. Elección y colecta de semillas para cultivo trampa

El cultivo trampa es el método más común y confiable para la producción de inóculos y multiplicación de esporas de HMA. Para ello se seleccionó como planta hospedante o trampa, *Plantago lanceolata* (llantén menor o siente venas) por ser una especie de rápido crecimiento con un rizoma corto central con abundantes raicillas, características adecuadas para el hospedaje y la multiplicación de los HMA.

La recolecta de semillas de esta especie se realizó en la Quinta Experimental de la Universidad Nacional de Loja, se buscó plantas con semilla madura fisiológicamente, se tomó las espigas con semilla y se colocó en una bandeja plástica bajo luz por dos días para que las semillas caigan de la espiga.

3.4.4. Preparación de sustrato y establecimiento de cultivo trampa para multiplicación de HMA

Se tomaron las raíces cortadas de las muestras de cada zona y se las mezcló con el suelo correspondiente a la misma zona. Se colocó 2/3 de arena esterilizada en cada maceta plástica con 200 g de la mezcla anterior. A más se mezcló de 65 g de suelo y raicillas de cada zona entre sí y se efectuó el mismo procedimiento de colocación en macetas plásticas de 800 g, obteniendo así cuatro sustratos, uno de cada zona y otro de la mezcla de todas las zonas (figura 4).



Figura 4. Preparación de sustrato para plantas trampa en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la FARNR- UNL, 2018.

Foto: Autor.

Se procedió a la desinfección de las semillas de *Plantago lanceolata* (llantén) colocando 100 semillas en 20 ml hipoclorito de sodio al 5,25% durante un minuto, seguidamente fueron sembradas en las macetas con los diferentes sustratos, colocando cinco semillas por maceta y se regó con agua destilada, se estableció cinco macetas por cada sustrato, seguidamente cada maceta fue colocada en fundas (sunbag) para evitar contaminación, el ensayo se mantuvo por tres meses en el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad

Nacional de Loja y se regó las plantas una vez a la semana con agua destilada (Figura 5). Dos semanas antes de la utilización del bioinóculo de HMA, se suspendió el riego a fin de tener mayor cantidad de esporas en el suelo.



Figura 5. Cultivo trampa para multiplicación de HMA de los bioinóculo en el laboratorio de fisiología vegetal de la FARNR - UNL, 2018.

Foto: Autor.

3.4.5. Preparación del bioinóculo de HMA

Luego de los tres meses del establecimiento del cultivo trampa se procedió a preparar los bioinóculos para cada tratamiento para ello se pesó 300 g de suelo de cada maceta de cada zona y así mismo de la mezcla de todas las zonas, se cortó las raíces de *Plantago lanceolata* en segmentos de dos cm y luego se mezcló el suelo con las raíces de cada zona, quedando de esta manera preparado el coctel de inóculo para ser aplicado en *S. lycopersicum* Mill.

Además, se pesó 200 g de bioinóculo preparado de cada zona y se lo mezcló con dos litros de agua destilada. Se batió la mezcla por varios minutos y se procedió a filtrar en un nuevo recipiente, utilizando embudos con un filtro con poros de 11 micras. Se aplicó esta solución

al tratamiento que no recibe inóculo de HMA garantizando que están expuestas a los mismos microorganismos

3.5. Metodología para el segundo objetivo:

Aplicar y evaluar el efecto de la aplicación de cóctel de inóculo de HMA en el desarrollo del cultivo de tomate, Solanum lycopersicum Mill.

3.5.1. Selección de semilla y elaboración de semillero *S. lycopersicum* Mill

Se adquirió semillas de *S. lycopersicum* Mill (variedad Floradade) en una casa comercial de la ciudad en función de sus especificaciones técnicas. Posterior a ello en el invernadero empleando turba como sustrato para la germinación, se llenaron bandejas plásticas se sembró tres semillas por alveolo y se regó con agua normal.

3.5.2. Preparación de sustrato para trasplante de *S. lycopersicum* Mill

Se elaboró un sustrato en proporción 2:1 (arena: suelo agrícola) mismo que fue esterilizado a vapor en las carretillas eléctricas.

3.5.3. Diseño experimental

Para evaluar la influencia de las micorrizas en el crecimiento y desarrollo de *S. lycopersicum* Mill en invernadero, se utilizó un diseño simple al azar en arreglo factorial 5 x 3 x 12, en el cual se analizó el efecto del bioinóculo de HMA.

Factor a: tratamientos (cinco), Factor b: replicas (tres) y Factor c: plantas (12).

Como resultado de este arreglo factorial, se tuvieron cuatro tratamientos más un testigo en el experimento. Se tomó como unidad experimental cada tratamiento y se obtuvieron tres repeticiones por cada tratamiento (Figura 6).

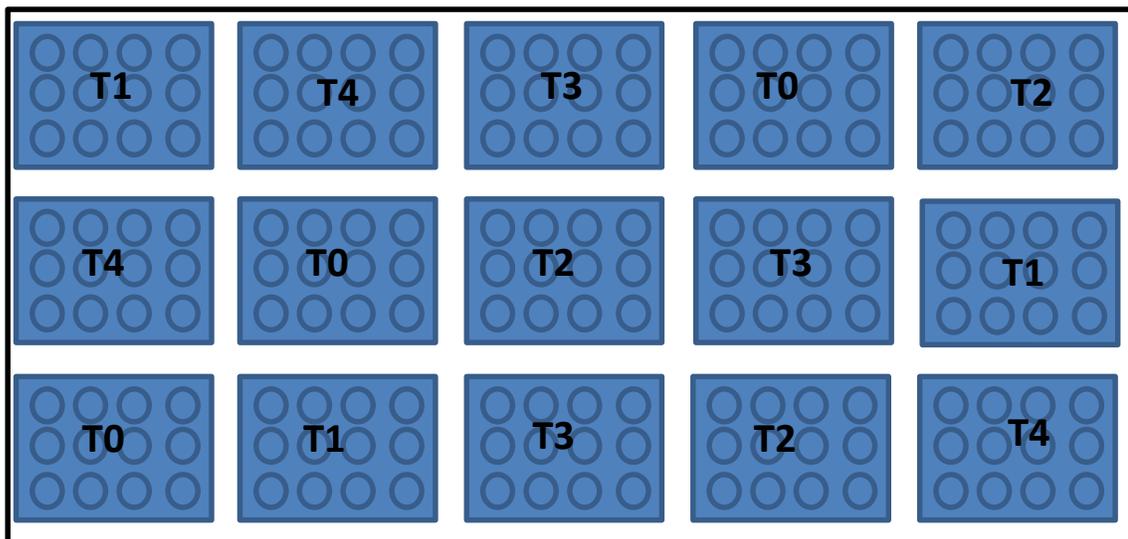


Figura 6. Distribución de los tratamientos de bioinóculo de HMA en *S. lycopersicum* Mill (var. Floradade) bajo invernadero en la Universidad Nacional de Loja, 2018.

Modelo lineal: $y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varphi_{ij}$

Donde:

μ : media general

τ_i : efecto del i-ésimo tratamiento

β_j : efecto del j-ésimo bloque

φ_{ij} : error experimental en la unidad j del tratamiento i

T0: Sin inoculación (testigo)

T1: Bioinoculante (coctel de HMA) de la zona 1

T2: Bioinoculante (coctel de HMA) de la zona 2

T3: Bioinoculante (coctel de HMA) de la zona 3

T4: Bioinoculante (coctel de HMA) de la zona 1+ zona 2+ zona 3

3.5.4. Trasplante y agrotécnia de *S. lycopersicum* Mill

Las plántulas fueron trasplantaron a los 30 días después de la siembra en semillero a bolsas plásticas de polietileno de 15 x 20 cm con el sustrato esterilizado; las bolsas plásticas con

las plantas fueron colocadas aleatoriamente dentro del invernadero y se asignó un número aleatorio a cada código de los tratamientos, con la ayuda del programa Excel (Random number). De esta manera las plántulas quedaron distribuidas aleatoriamente en cada mesa según los tratamientos aplicados, se tuvo 12 plantas por tratamiento en 3 repeticiones y 180 plantas en todo el experimento.

Se realizó limpiezas manuales de plantas arvenses; así como, el tutoraje de plantas, y el riego se hizo con regaderas con una frecuencia de tres veces por semana.

3.5.5. Aplicación de los tratamientos de bioinóculo de HMA

El inóculo de micorrizas se aplicó en el trasplante de *S. lycopersicum* Mill Para esto se realizó un hoyo en el sustrato; se sacó las plántulas cuidadosamente de la bandeja de germinación, se las limpió del sustrato para tener la raíz desnuda y se colocó la plántula en la funda aplicando a su alrededor 50 g de inóculo y se apelmazando suavemente para no dañar sus raíces.



Figura 7. Aplicación de bioinóculo de HMA en *S. lycopersicum* Mill bajo invernadero en la Universidad nacional de Loja, 2018.

Foto: Autor.

Previo a la aplicación de los bioinóculos en tratamiento se realizó la contabilización del número de esporas de HMA por 100 g de suelo (Tabla 1) y la identificación de los principales géneros de los morfotipos (Tabla 2) presentes en cada bioinóculo en tratamiento.

Tabla 1.

Evaluación del número de esporas/100 g de suelo en los bioinoculantes de HMA en tratamiento de las zonas riparias del cantón Loja, 2018.

Bioinoculante	Tratamiento	Número de esporas
Zona 1: El Carmen	T1	150
Zona 2: Mónica	T2	80
Zona 3: Zamora Huayco	T3	60
Zona 1 + Zona 2 + Zona 3	T4	90
Testigo (sin inóculo)	T0	0

Tabla 2.

Principales géneros de HMA en bioinoculantes de las zonas riparias del cantón Loja, 2018.

Bioinoculante	Tratamiento	Géneros de HMA
Zona 1: El Carmen	T1	<i>Glomus</i> ssp. <i>Acaulospora</i> ssp. <i>Scutellospora</i> ssp.
Zona 2: Mónica	T2	<i>Glomus</i> ssp. <i>Scutellospora</i> ssp.
Zona 3: Zamora Huayco	T3	<i>Glomus</i> ssp. <i>Acaulospora</i> ssp.
Zona 1 + Zona 2 + Zona 3)	T4	<i>Glomus</i> ssp. <i>Scutellospora</i> ssp. <i>Acaulospora</i> ssp.
Testigo	T0	n/s

3.5.6. Evaluación de variables de crecimiento de *S. lycopersicum* Mill

Se tomaron datos de las variables de crecimiento cada 15 días después del trasplante

(ddt), durante cuatro meses, al finalizar las evaluaciones se realizó el peso fresco del fruto, biomasa seca total y porcentaje de colonización de HMA.

3.5.6.1. Altura de planta

Para este indicador se tomó datos cada 15 ddt, se midió desde el nivel del cuello de la raíz hasta el ápice terminal de tallo utilizando un flexómetro expresado en centímetro (cm).

3.5.6.2. Diámetro del tallo por planta

Se tomó a un cm del nivel del suelo cada 15 ddt utilizando un calibrador digital expresado en milímetros (mm).

3.5.6.3. Número de folíolos por planta

Se efectuó mediante la cuantificación directa los folíolos por planta cada 15 ddt.

3.5.6.4. Incidencia de plagas y enfermedades

Para este indicador se procedió a cuantificar en número de folíolos infectados por patógenos e infestados por insectos cada 15 ddt, mediante la fórmula se estableció el porcentaje de incidencia de plagas y enfermedades.

$$In = \frac{\text{Número de folíolos infectas e infestadas}}{\text{Número total de folíolos}} * 100$$

3.5.6.5. Número de flores por planta

Se efectuó cuando se presentó el 50 % de floración (90 ddt) cada 15 días, se contabilizó directamente el total de número de flores observadas por cada planta.

3.5.6.6. Peso fresco de frutos por planta

Se tomó el peso fresco de 10 frutos por cada tratamiento de la primera cosecha (120 ddt), se coloraron frutos en la balanza digital registrando su peso en gramos.

3.5.6.7. Biomasa seca total por planta

Al término de las evaluaciones (120 ddt) se extrajó 10 plantas de cada tratamiento, se procedió a separar la parte aérea (hojas, tallos y flores) de la parte radical y se colocaron en bolsas de papel separando el material vegetativo; mismas que, fueron pesadas en la balanza de precisión y llevadas a estufa a 55 °C por cinco días hasta lograr peso seco, las muestras fueron pesadas nuevamente, y mediante fórmula tomada de Apolo (2012) se determinó la cantidad de biomasa en gramos.

$$B = \text{peso seco} * r$$

Donde

B: biomasa

r: peso seco / peso fresco

3.5.6.8. Porcentaje de colonización de HMA en raíces de *S. lycopersicum* Mill

Se evaluó el porcentaje de colonización en raíces al término de las evaluaciones (120 ddt), para ello se aplicó la misma metodología de Trouvelot *et al.* (1986). Se tomaron al azar segmentos de raíces de un mm de diámetro y un cm de largo y se prepararon cinco placas (portaobjetos) con cinco segmentos para cada tratamiento.

3.5.6.9. Análisis estadístico

Se realizó análisis de las variables de crecimiento y desarrollo del cultivo, se elaboró los supuestos de normalidad con la prueba de Shapiro-Wilks modificado, posteriormente se realizó el análisis de varianza y la discriminación de medias con el procedimiento de Tukey con una significación de 0,05 mediante el software estadístico Infostat (2016) para Windows.

IV. RESULTADOS

4.1. Morfotipos de HMA procedentes de las tres zonas riparias

4.1.1. Identificación de morfotipos de HMA

En el análisis de las muestras de suelo rizosférico de las tres zonas riparias del cantón Loja se han caracterizado e identificado tres géneros de hongos micorrízicos, mismos que corresponden a *Glomus*, *Acaulospora* y *Scutellospora*. La zona de la microcuenca el Carmen presentó mayor número de morfotipos y mayor número de esporas por 100 gramos de suelo tal como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3.

Resumen de la Clasificación e identificación de los morfotipos de HMA y número de esporas / 100 g suelo de las zonas riparias del cantón Loja, 2018.

Zonas	Géneros	Número de esporas	Esporas totales
El Carmen (*Z1)	<i>Acaulospora</i> ssp.	36	117
	<i>Glomus</i> ssp.	59	
	<i>Scutellospora</i> ssp.	22	
Mónica (Z2)	<i>Glomus</i> ssp	44	102
	<i>Scutellospora</i> ssp.	58	
Zamora Huayco (Z3)	<i>Acaulospora</i> ssp.	11	69
	<i>Glomus</i> ssp.	58	

*Z: Número de zonas

En la Figura 8, se muestra las variaciones en cuanto a la predominancia de los géneros de los morfotipos encontrados. Los morfotipos del género *Glomus* se encontraron presentes en todas las zonas en estudio con diferencias en el número de esporas/100 g suelo.

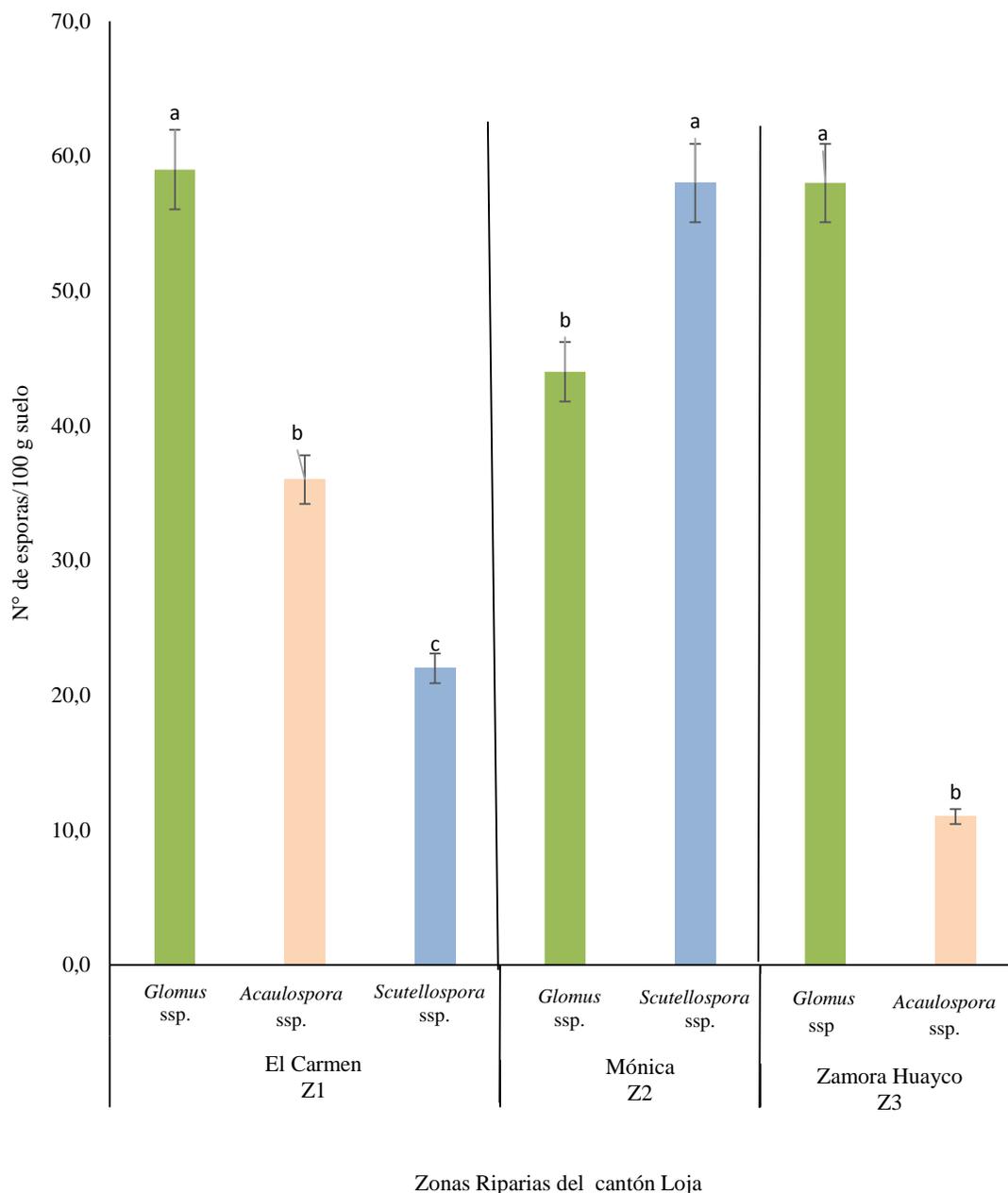


Figura 8. Porcentajes de los morfotipos de HMA por zona riparia en 100 g de suelo. Barras de error de acuerdo al test de Tukey al 0,05.

En la Figura 9 se muestran los diferentes morfotipos de esporas de HMA pertenecientes a los géneros, *Glomus*, *Acaulospora* y *Scutellospora* procedentes de las zonas riparias del cantón Loja, los morfotipos varían principalmente en cuanto a tamaño, forma y coloración.

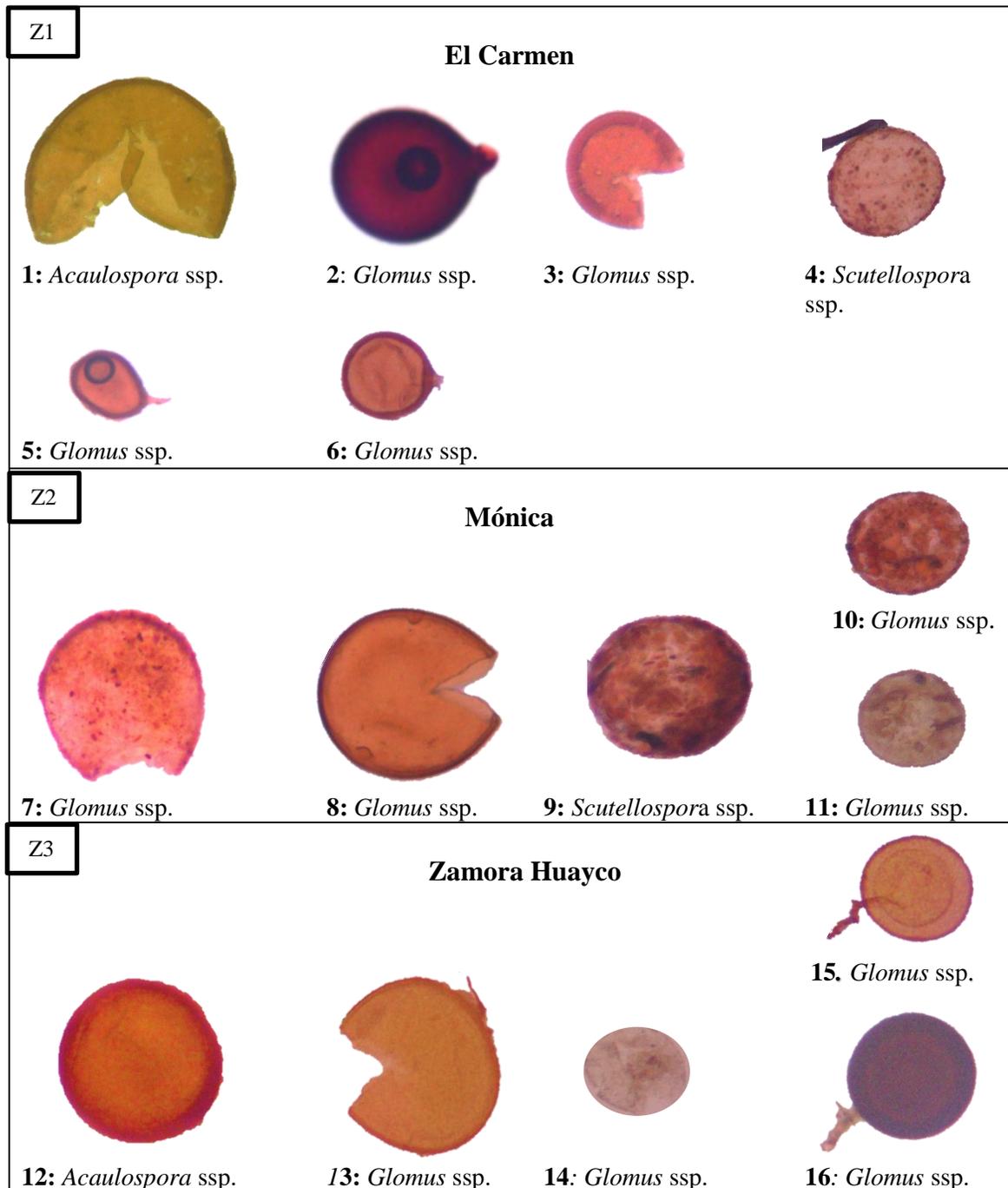


Figura 9. Esporas de los morfotipos de HMA procedentes de las zonas riparias: Z1, El Carmen; Z2, Mónica y Z3, Zamora Huayco del cantón Loja, 2018. Observadas a 10x.

Foto: Autor

4.1.2. Colonización micorrízica de HMA en raíces de las zonas riparias

Los HMA desarrollan sus estructuras dentro y entre las células radicales, dichas estructuras favorecen a las plantas que colonizan; sin embargo, el porcentaje de colonización o micorrización es diferente en cada zona. En las raíces procedentes de las zonas riparias se ha observado diferentes estructuras de los HMA tal como se muestra en la Figura 10.

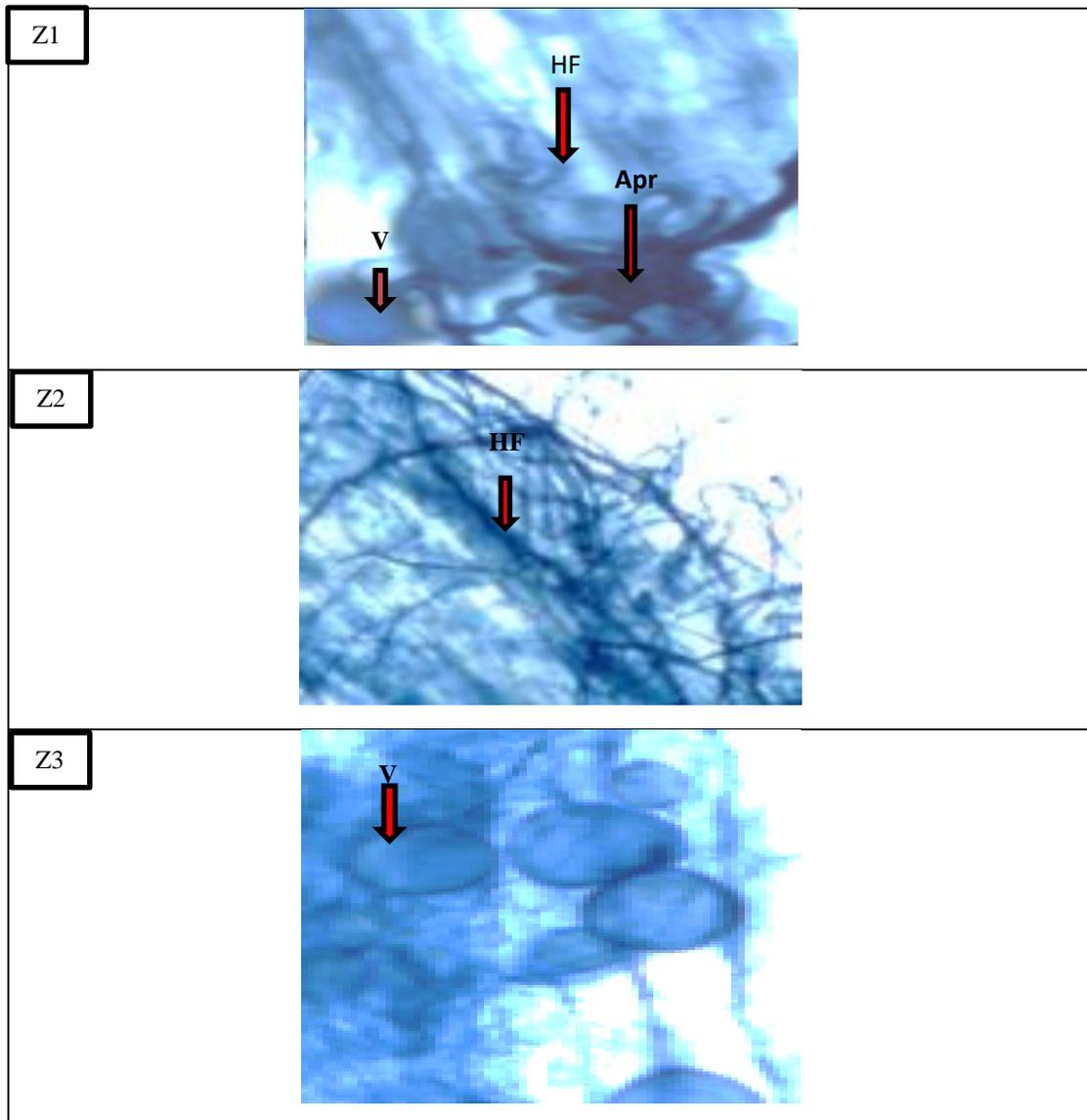


Figura 10. Colonización de HMA en la Z1, El Carmen: Vesículos (V), Apresorios (Apr), Hifas (HF), Z2, Mónica: (HF), y Z3, Zamora Huayco: (V) en raíces procedentes de las zonas riparias del cantón Loja, 2018.

Foto: Autor

La colonización de HMA en raíces de las zonas riparias presentó diferencias significativas, como se muestra en la Figura 11. Las raíces procedentes de la Z1 El Carmen presentaron mayor porcentaje de colonización micorrízica de 45,0%; mientras que, la Z2 Mónica de 34,6 % y en menor proporción de 19,2% de micorrización en raíces de la Z3 de Zamora Huayco.

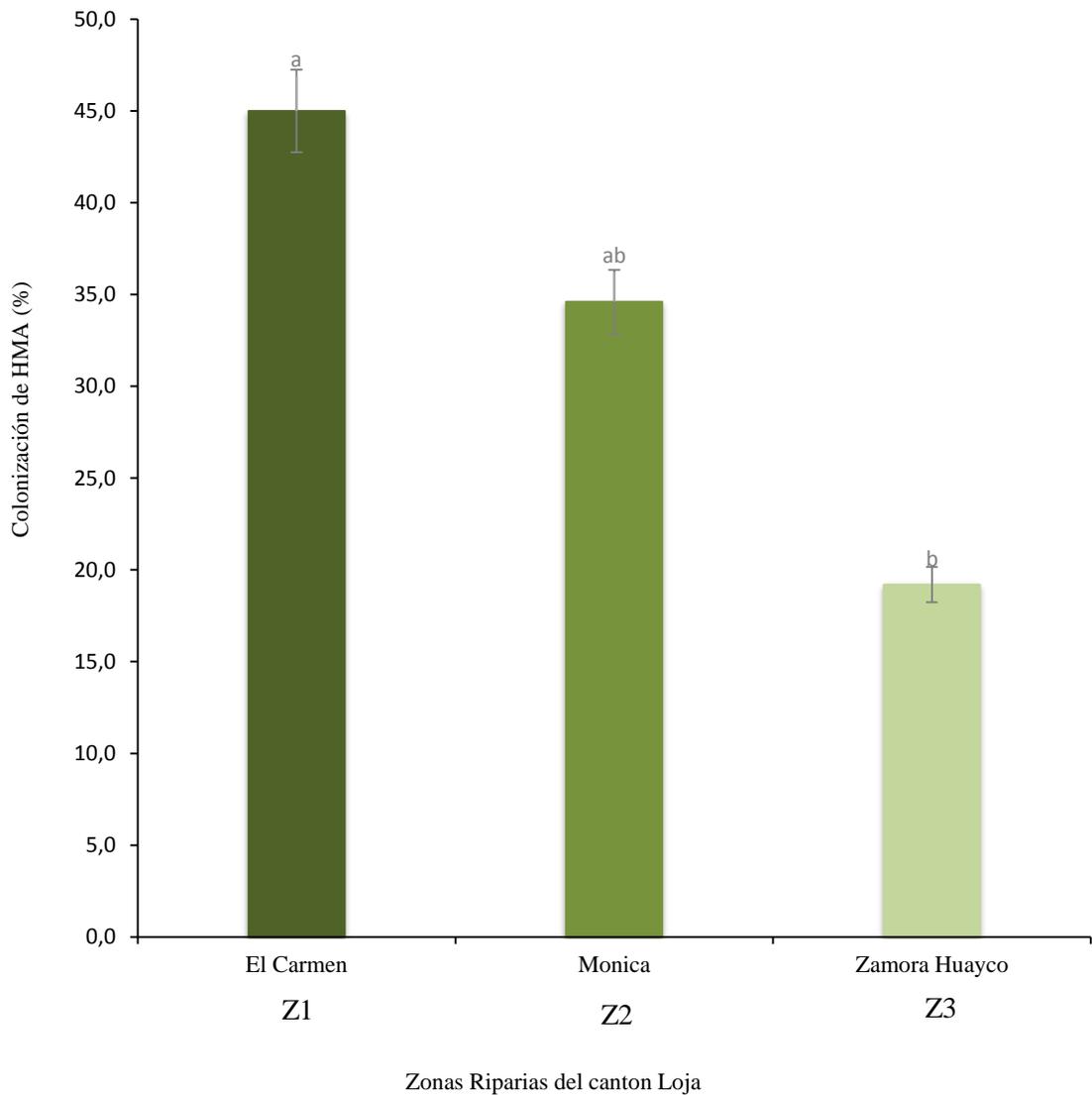


Figura 11. Porcentaje de colonización de HMA en raíces procedentes de las zonas riparias del cantón Loja, 2018. Letras de significancia del test de Tukey al 0,05.

4.2. Efecto de los bioinoculantes de HMA en *S. lycopersicum* Mill

4.2.1. Altura de planta

En la figura 12 se muestra la influencia de los tratamientos de bioinoculantes de HMA provenientes de las tres zonas riparias en estudio. En los resultados de la dinámica de crecimiento en altura de la planta de *S. lycopersicum* Mill se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, principalmente entre los tratamientos con inóculo de HMA frente a las plantas sin inoculación. Las curvas muestran un crecimiento tendencial durante toda la fase de evaluación. T1 siempre supera a los demás tratamientos alcanzando 68,2 cm; mientras que, T0 con 51,0 a las 120 ddt. Los tratamientos 3 y 4 no presentaron diferencias significativas entre sí, a los 120 ddt, pero con el T0 (sin inoculación). si se encuentra diferencias significativas lo cual se demuestra en el crecimiento.

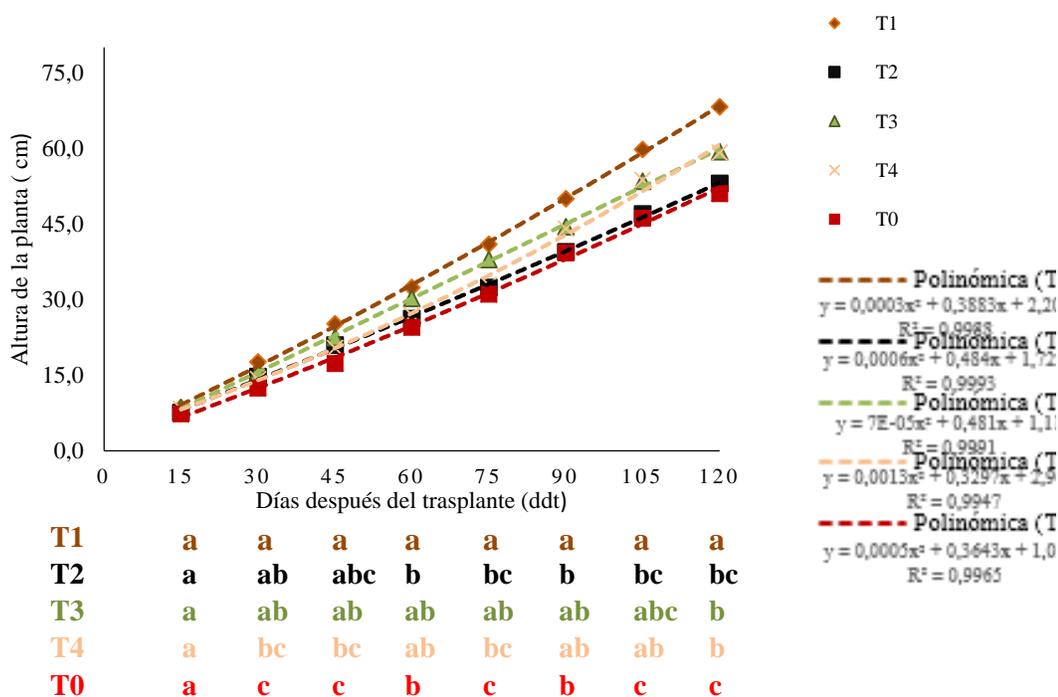


Figura 12. Dinámica de crecimiento en altura de las plantas de *S. lycopersicum* Mill con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significación del test de Tukey al 0,05.

4.2.2. Diámetro de tallo por plantas

La curva de dinámica de crecimiento en diámetro de tallo en las plantas de *S. lycopersicum* Mill presentó un sentido sigmoideo a los 120 ddt. Se presentaron diferencias significativas en toda la evaluación del ensayo y la observación principal se enfocó en los tratamientos T1 y testigo T0. El tratamiento T1 alcanzó los mayores valores en diámetro de tallo de 4,6 mm; mientras que T0 alcanzó 4,0 mm a los 120 ddt. El tratamiento T3 se diferencia de los tratamientos T2 y T4; mismos que, no presentan diferencias significativas entre sí; sin embargo, siempre superan a T0 (Figura 13).

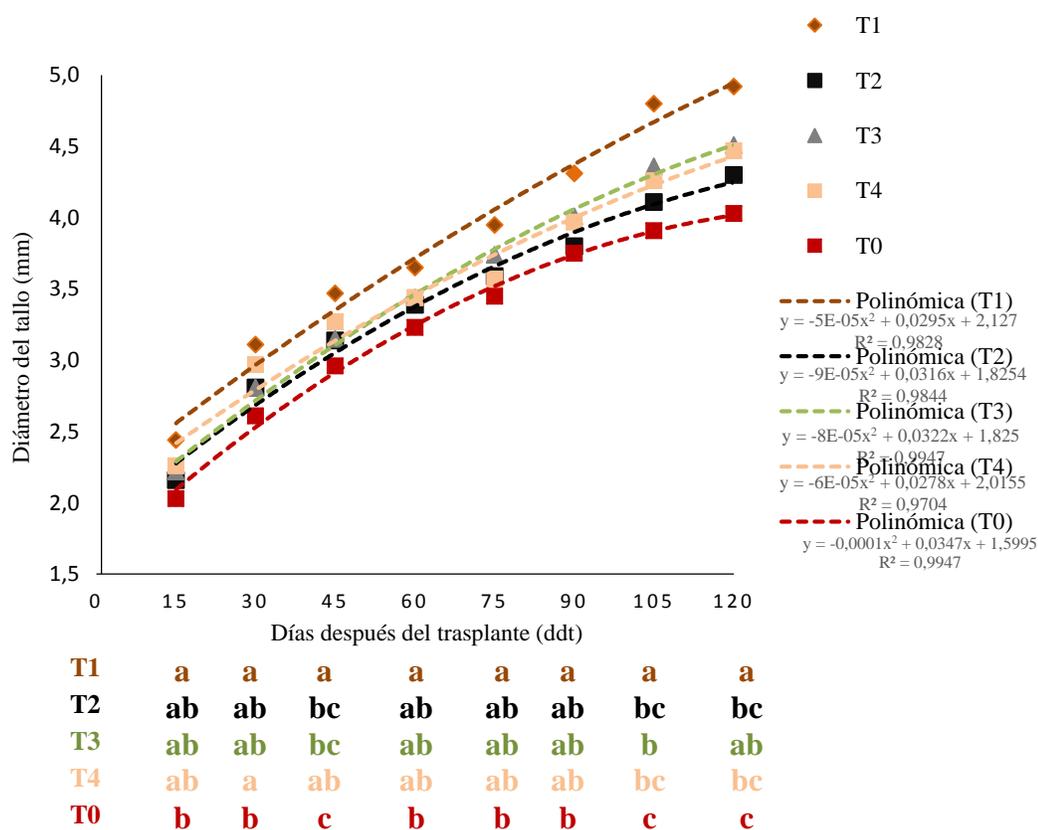


Figura 13. Dinámica de crecimiento en diámetro de las plantas de *S. lycopersicum* Mill con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significación del test de Tukey al 0,05.

4.2.3. Número de folíolos por planta

La producción de folíolos en *S. lycopersicum* Mill fue en sentido progresivo ajustándose a una distribución normal como se muestra en la Figura 14. A los 75 ddt los tratamientos T2, T3 presentaron diferencias significativas en entre sí. A partir de los 90 ddt los tratamientos T2, T3, T4 y T0 no se registraron diferencias significativas. Resultados obtenidos a los 120 ddt indican que el T1 alcanzó los mayores valores con una media de 69 folíolos por plantas diferenciándose de T0 de 55 folíolos por planta.

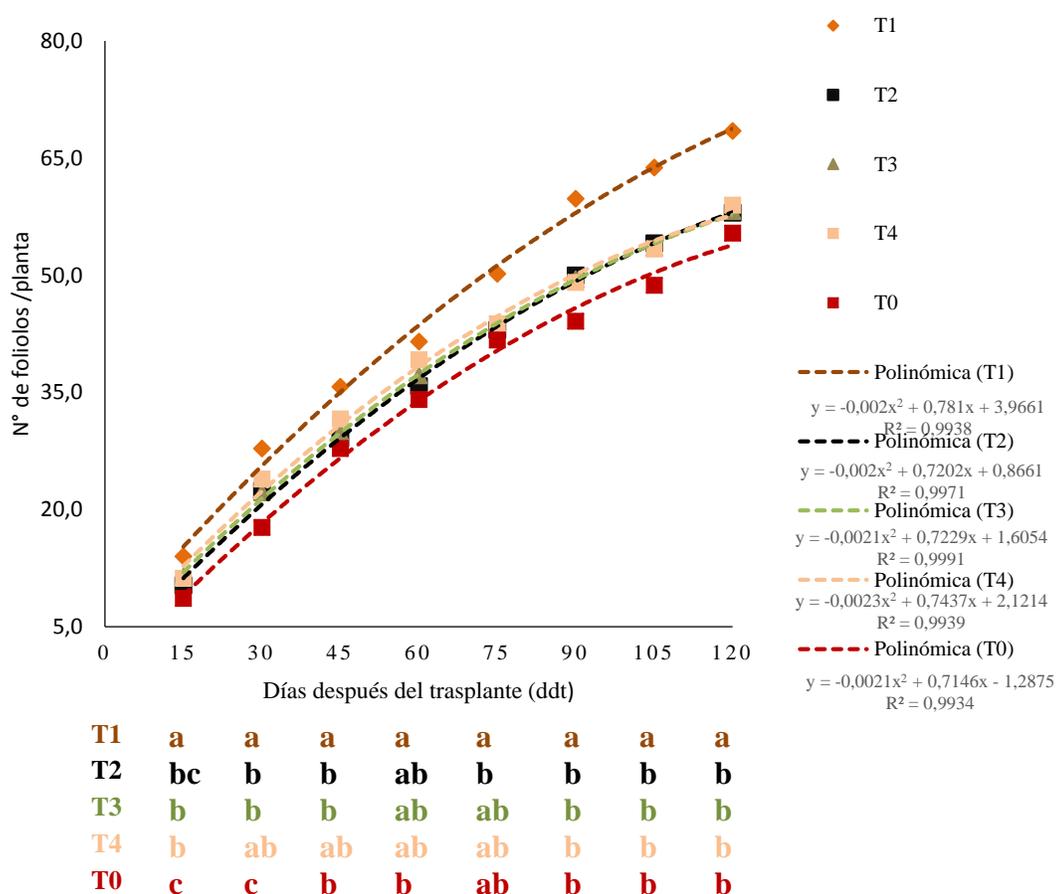


Figura 14. Dinámica de producción de folíolos en plantas de *S. lycopersicum* Mill con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significación del test de Tukey al 0,05.

4.2.4. Incidencia de plagas y enfermedades

En la Figura 15 se indica la incidencia de plagas y enfermedades en *S. lycopersicum* Mill. Observándose que las plantas no se vieron severamente afectadas durante toda la fase de evaluación. Las diferencias significativas se presentaron desde los 75 hasta los 105 ddt; pero, a los 120 ddt todos los tratamientos no registraron diferencias estadísticas.

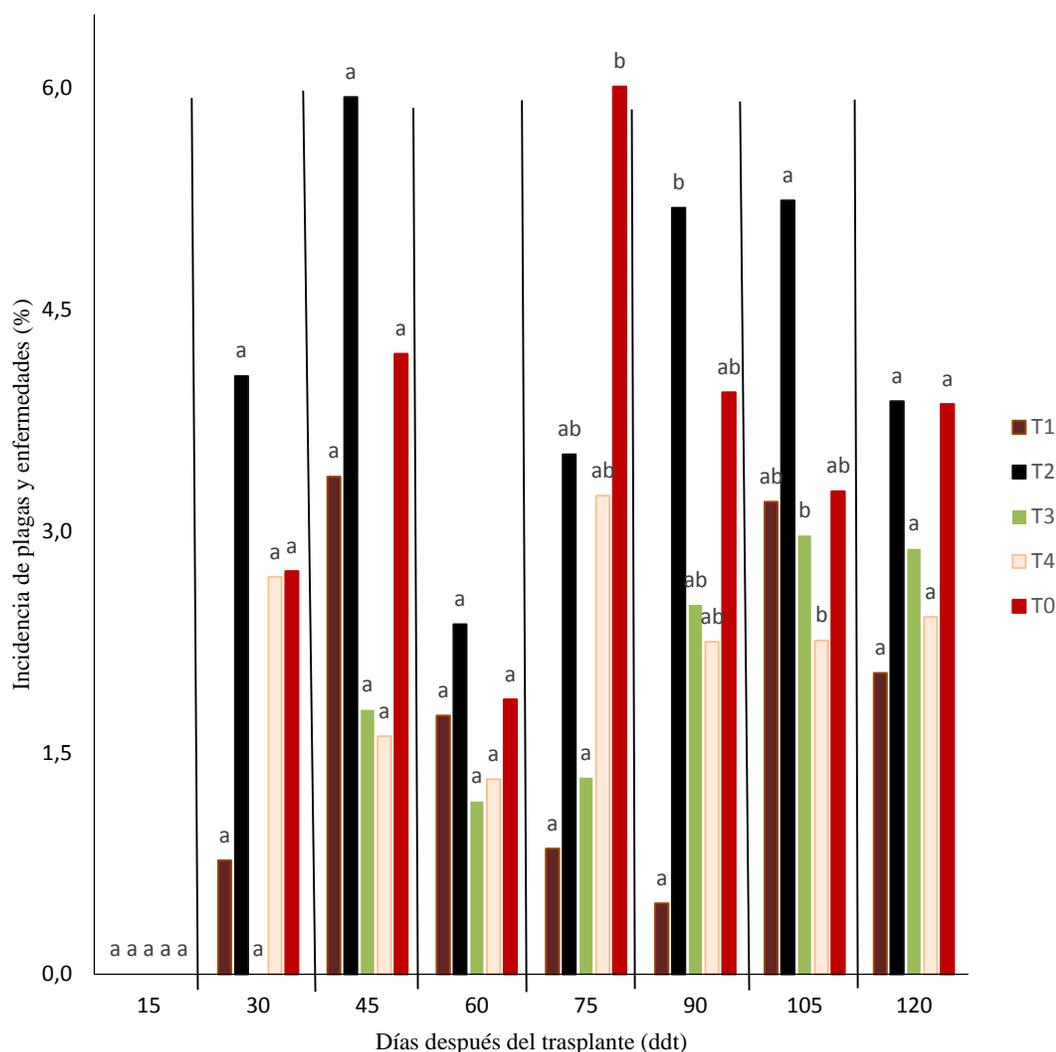
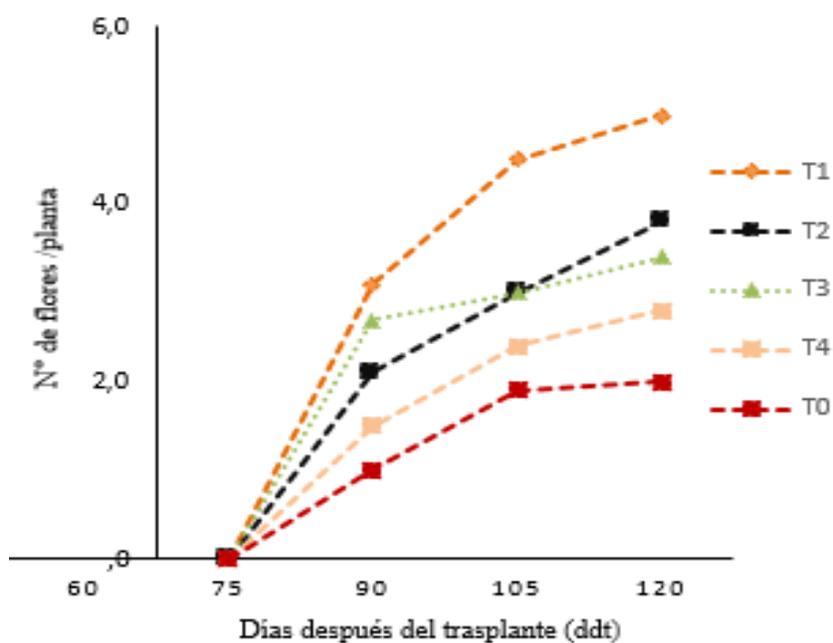


Figura 15. Porcentajes de incidencia de plagas y enfermedades en plantas de *S. lycopersicum* Mill con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significancia del test de Tukey al 0.05.

4.2.5. Número de flores por planta

Las plantas de *S. lycopersicum* presentó la primera producción de flores a partir de los 90 ddt como se indica en la Figura 16. Se observaron diferencias significativas a partir de los 105 ddt en T1 (cinco flores/plantas), T2 (cuatro flores/planta) y T0 (dos flores/planta). Los tratamientos T2, T3 y T4 no presentamos diferencias significativas a los 105 y 120 ddt, con un número de flores de tres a cuatro por planta.



T1	a	a	a
T2	a	ab	ab
T3	a	ab	ab
T4	a	ab	ab
T0	a	b	b

Figura 16. Curva de producción de flores en plantas de *S. lycopersicum* Mill con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significación del test de Tukey al 0,05.

4.2.6. Peso fresco de fruto por planta

En la Figura 17 se indica los resultados del peso fresco de *S. lycopersicum* Mill cosechados a los 120 ddt, observando que se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. El tratamiento con mayor peso de frutos se encontró en T1 (103,1 g); mientras que, en lo tratamientos T3 (78,0 g) y T4 (77,7 g) no se obtuvo diferencias significativas. Además, se recalca que el tratamiento T0 (53,9 g) presentó los valores más bajos en comparación con los tratamientos que contienen inóculo de HMA.

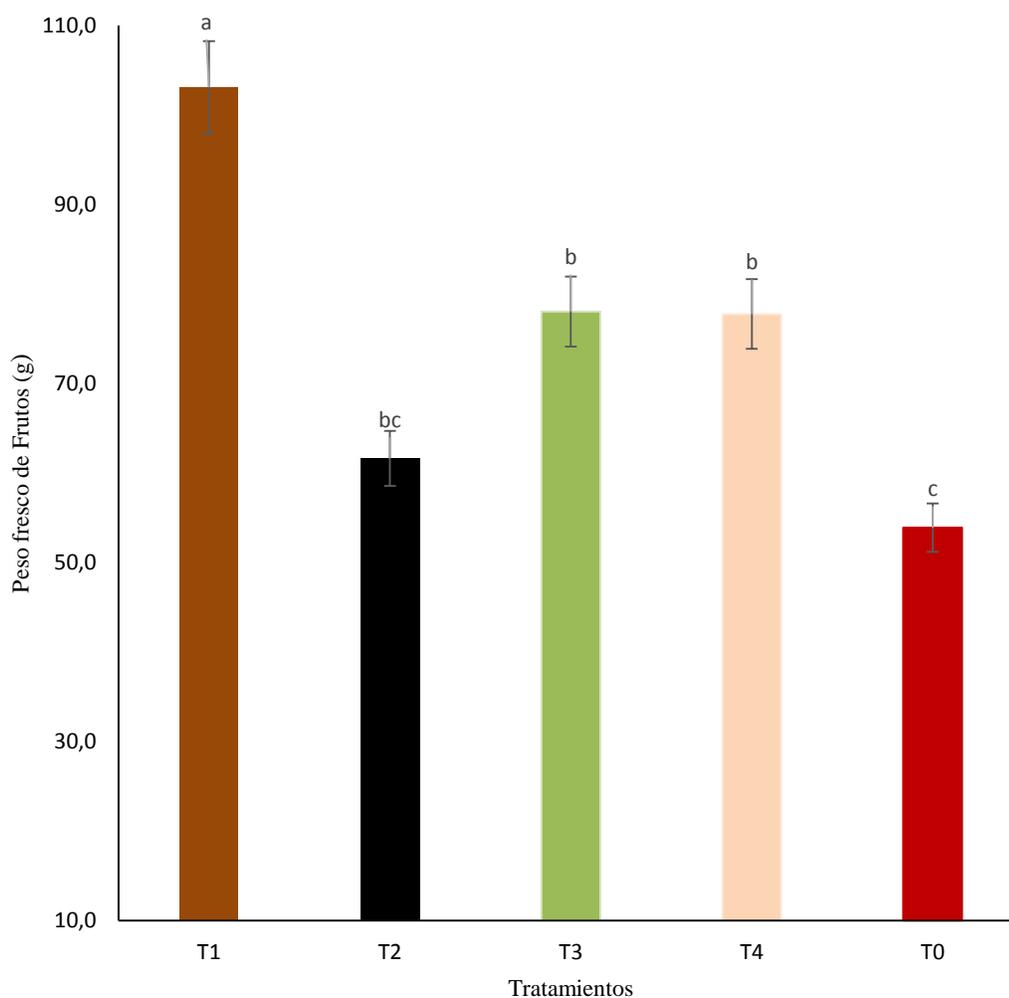


Figura 17. Peso fresco de frutos de plantas de *S. lycopersicum* Mill a los 120 ddt con la aplicación de los bioinoculantes (coctel micorrízico). Letras de significación del test de Tukey 0,05.

4.2.7. Biomasa seca total por planta

En la Figura 18 se presenta los resultados de las plantas de *S. lycopersicum* Mill registrados a los 120 ddt, los cuales indican diferencias significativas entre los tratamientos para la variable de biomasa seca total. El tratamiento T1 (0,9 g) superó la producción de biomasa frente a todos los tratamientos. T2 (0,5 g), T4 (0,5 g) y T0 (0,5 g) no presentaron diferencias significativas, recalcando que el T3 supero en producción de biomasa T0, T2 y T4.

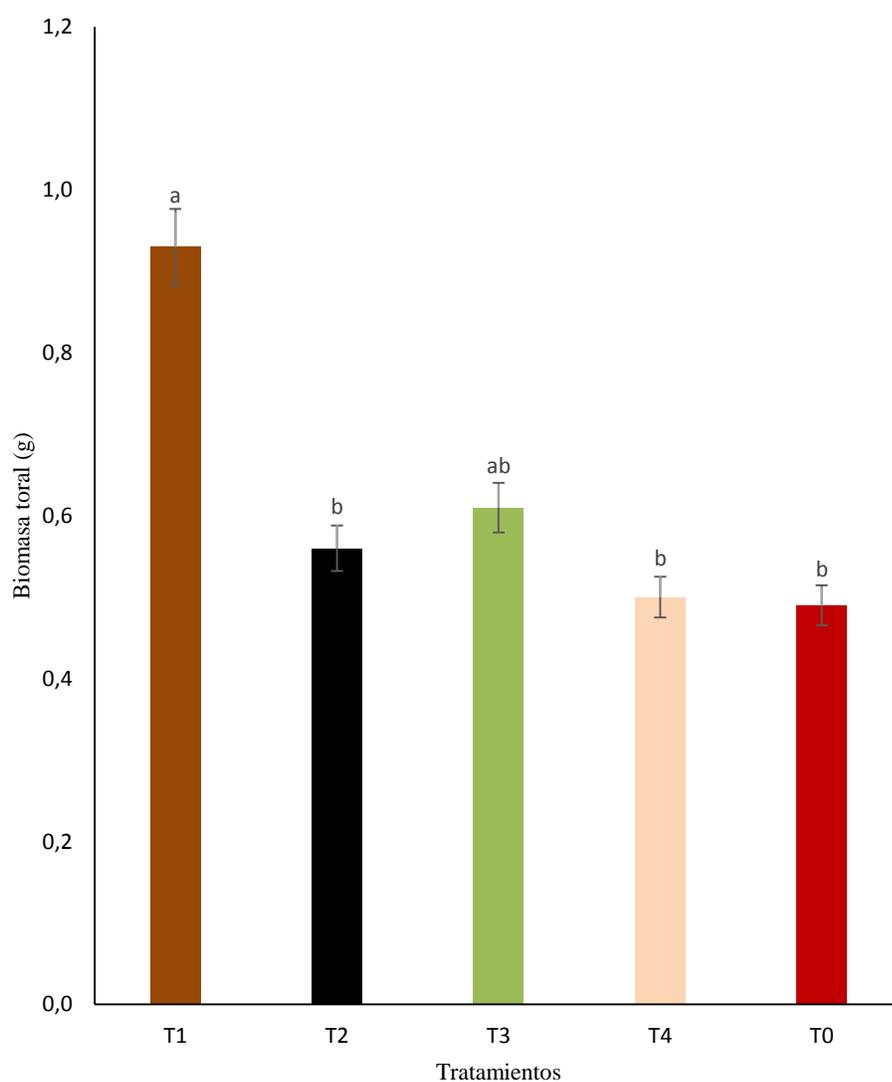


Figura 18. Biomasa de plantas de *S. lycopersicum* Mill a los 120 ddt con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significación del test de Tukey al 0,05.

4.2.8. Porcentaje de colonización de HMA en raíces de *S. lycopersicum* Mill

En la Figura 19 se presenta los porcentajes de colonización de HMA en raíces de *S. lycopersicum* Mill a los 120 ddt, los cuales presentaron diferencias significativas. El tratamiento T1 (58,3%) presentó la mayor colonización de HMA entre los demás tratamientos en evaluación. El tratamiento T4 (42,0%) superó la colonización de HMA a los tratamientos T2 (30,0%) y T3 (36,3%) y finalmente el tratamiento sin inoculación de HMA mantuvo una colonización nula.

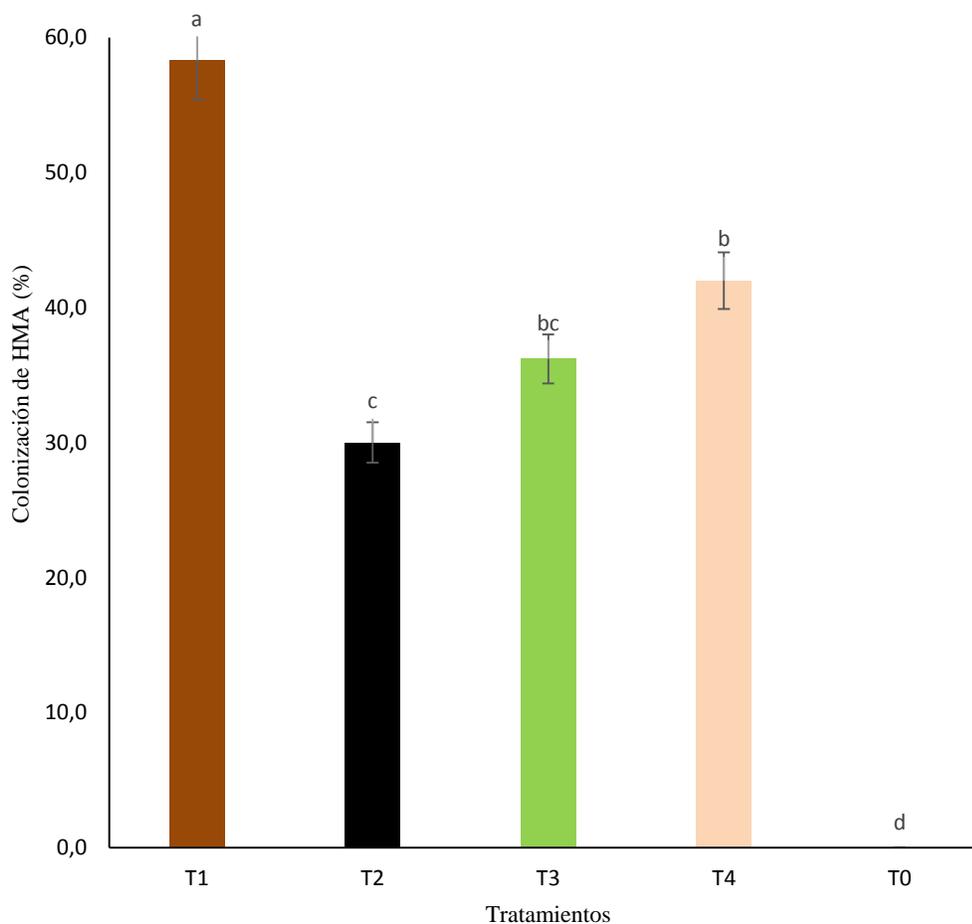


Figura 19. Porcentaje de colonización de HMA en raíces de *S. lycopersicum* Mill a los 120 ddt con la aplicación de los bioinoculantes (coctel de HMA). Letras de significación del test de Tukey al 0,05.

V. DISCUSIÓN

5.1. Morfotipos de HMA procedentes de las tres zonas Riparias

En las zonas riparias en estudio se identificó la existencia de 11 morfotipos de Hongos micorrízicos arbusculares (HMA), en Z1, El Carmen el mayor número de esporas en base a sus características corresponden al género *Glomus* (cuatro morfotipos), seguido *Acaulospora* (un morfotipo) y *Scutellospora* (un morfotipo). En Z2, Mónica, el mayor número de esporas correspondieron al género *Scutellospora* (un morfotipo); mientras que, *Glomus* (cuatro morfotipos) presentó menor número de esporas. En Z3, Zamora Huayco el mayor número de esporas correspondieron a *Glomus* (cuatro morfotipos) y *Acaulospora* (un morfotipo); ante esto Urgiles, *et al.* (2016) mencionan que en los bosques de montaña del sur de Ecuador todas las especies de árboles nativos están asociados a HMA lo cual se evidenció con los resultados encontrados. Además, existieron morfotipos que debido a su morfología no se pudo determinar y analizar debido a sus diferentes estadios en que las esporas.

Por otra parte, Pérez *et al.* (2012) en estudios de diversidad de HMA señalan la existencia de géneros dominantes o generalistas de HMA, en este caso se encontró a *Glomus* que se caracteriza como género generalista debido a su presencia en las tres zonas: El Carmen, Mónica y Zamora Huayco.

En las zonas de bosques naturales es evidente encontrar un alto número de esporas de HMA, debido a la masa rizosférica existente de diversas especies vegetales (Garzón, 2015). En el estudio se encontró un promedio de frecuencias de las tres zonas 99 esporas por 100 gramos de suelo que representa un número alto en relación a los resultados obtenidos por Salgado

et al. (2014) en suelos de uso agrícola donde obtuvo en rango de 4 a 45 esporas de HMA; por otra parte Prieto *et al.* (2012) manifiestan que el número de esporas encontradas en suelos sistemas agroforestales tradicionales ecuatorianos es mucho mayor a los suelos de uso agrícola, de acuerdo con Ruiz *et al.* (2011), la diversidad de especies de HMA y dominancia de esporas de los mismos está relacionado con propiedades químicas del suelo, el contenido de nutrientes, y la composición florística de cada sistema.

En la zona uno (Z1) se presentó mayor número de morfotipos de HMA en relación con las dos zonas más en estudio; de igual forma, el número de esporas fue mayor para el caso de *Acaulospora* y *Glomus* esto coincide con los resultados de Sangabriel *et al.* (2017) que señalan que los géneros que predominan en todos los tipos de suelos son los géneros *Glomus* y *Acaulospora*.

En la zona 2 (Z2) se identificó la predominancia del género *Scutellospora* esto se debe a la presencia de suelos con cobertura mayormente de pastizales y baja cobertura arbórea, los resultados coinciden con lo expresado por Furrázola y Ojeda (2016) que indican que entre otros géneros *Scutellospora* se encuentra asociado a gramíneas de pastizales de montaña.

Para la zona tres (Z3) el mayor número de morfotipos corresponden al género *Glomus* y el restante al género *Acaulospora*; esta zona presenta el menor número de esporas en relación a las otras dos zonas esto puede estar relacionado a que se trata de una zona que se encuentra protegida donde se está aumentando la cobertura vegetal del sitio; Urgiles *et al.* (2014) mencionan que a medida que aumentan el número de especies vegetales en un área determinada con ello crece la diversidad de HMA.

En la evaluación de la colonización de HMA en raíces procedente de las tres zonas riparias

se encontró que la Z1, El Carmen presentó mayor porcentaje de colonización; se observó en estructuras intrarradicales como hifas, vesículas y apresorios. En las raíces de Z2, Mónica el porcentaje fue menor visualizándose estructuras como hifas intercelulares y extraradicales principalmente; mientras que, para Z3 de Zamora Huayco se encontró principalmente vesículas; Alcántara *et al.* (2018) mencionan que la densidad de especies dentro de una misma zona aumenta la masa radical en el suelo lo que favorece la colonización micorrízica de HMA ya que a mayor presencia de éstas se incrementa la diversidad de géneros de HMA y por ende mejor porcentaje de colonización; de acuerdo con este criterio, en la zona riparia El Carmen se observó una gran diversidad de especies vegetales lo que incidió que se encuentre mayores porcentajes de micorrización en dichas raíces.

5.2. Efecto de los bioinoculantes de HMA en *S. lycopersicum* Mill

La respuesta de los bioinoculantes en *S. lycopersicum* Mill en relación en el tratamiento testigo (T0) fue positiva; para la variable altura de planta y diámetro de tallo, el T1 (bioinoculante de la zona El Carmen) presentó los mejores resultados; sin embargo, los tratamientos T2, T3, T4 no fueron indiferentes en el crecimiento de las plantas. En T0 (sin inoculación) existió los valores más bajos; Terry *et al.* (2018) mencionan que la aplicación de HMA favorece el desarrollo radical de las plantas y por ende facilita mayor aprovechamiento de los nutrientes y agua del suelo lo que se traduce en un adecuado desarrollo y crecimiento de la planta. Además, Ley *et al.* (2015) reportan que la aplicación de cepas de HMA son benéficas para el crecimiento en altura de las plantas. Las bases fundamentales sobre las que se establece la simbiosis micorrízica arbuscular son nutritivas. La planta suministra al hongo compuestos carbonados procedentes de la fotosíntesis,

mientras que éste aporta a la planta nutrientes minerales, especialmente aquellos menos disponibles debido a la mayor accesibilidad del micelio externo del hongo a recursos del suelo más distantes (Sánchez *et al.*, 2015).

La producción de folíolos en *S. lycopersicum* Mill. es constante y de rápido crecimiento debido a su fisiología vegetal (Josafad *et al.*, 2000). Por ello en el presente estudio se contabilizó los folíolos por planta obteniendo que el T1 superó al resto de tratamientos en la producción de folíolos, los tratamientos T2, T3, y T4 desde los 90 a 120 ddt no se diferenciaron estadísticamente y el T0 siempre presentó los menores valores, estos resultados se deben al número de esporas existentes en cada bioinóculo de HMA, Fernández *et al.* (2006), en sus resultados de aplicación de bioinoculantes de HMA menciona que, mientras mayor es el número de esporas se garantiza una mayor acción benéfica de los HMA en las plantas y esto se refleja en el incremento de la producción de órganos vegetativos como en este estudio folíolos. Los HMA garantizan mayor asimilación de nutrientes del suelo y por ende una mayor actividad metabólica de las plantas lo que favorece la producción de órganos vegetativos constantemente (Ley *et al.*, 2015).

En cuanto a la incidencia de plagas y enfermedades en *S. lycopersicum* Mill, en las fases iniciales después del trasplante no se observó diferencias en los porcentajes de ataques esto se debe a que el cultivo se mantuvo aislado de otros y en condiciones protegidas; sin embargo, con el desarrollo del cultivo a los 105 ddt ya se presentaron diferencias siendo el T0 y T2 los tratamientos con mayor incidencia de plagas y enfermedades sin constituir puntos críticos, Noval *et al.* (2017) mencionan que la colonización radical por HMA en fases tempranas del cultivo induce importantes cambios en la planta principalmente en

respuestas de defensa en la planta hospedera que permiten superar los estreses bióticos y abióticos, en este proceso se produce la inducción de respuesta de resistencia sistémica, similar a la producida ante ciertos hongos y bacterias (Pérez et al., 2015).

En la producción de flores y peso de frutos el T1 obtuvo los mejores resultados seguido de T3, T4 y T2; el tratamiento sin inoculación (T0) presentó los valores más bajos para ambas variables, esto refleja la actividad benéfica de las bioinoculantes de HMA sobre el rendimiento del cultivo, Terry *et al.* (2018) reportan que la aplicación de bioinoculantes de HMA incrementó la producción de tomate en un 30 %; así mismo, Quiñones *et al.* (2014) obtuvieron incrementos significativos en la producción de papaya con la aplicación de HMA.

Así mismo, para la cantidad de biomasa de las plantas de *S. lycopersicum* Mill, el tratamiento uno (T1) superó a todos los tratamientos más aún con respecto al T0, resultados similares reportan Mena *et al.* (2011) donde la aplicación de HMA incrementó la biomasa en maíz y sorgo; Gañan *et al.* (2011) por su parte mencionan que la acumulación de biomasa está relacionada con el porcentaje de colonización micorrízica de HMA.

La colonización de HMA en *S. lycopersicum* Mill presentó valores altos para el T1 con relación al T0 esto refleja los resultados obtenidos para las demás variables. En la evaluación los morfotipos encontrados en T1 presentan una adecuada actividad simbiótica entre el hongo y la planta, Noval *et al.* (2017) manifiesta que el tomate es una especie altamente micotrófica que facilita la simbiosis tomate-HMA y la colonización en sus raíces contribuyendo en la captación y almacenaje de nutrientes, lo que favorece al crecimiento y producción de este importante cultivo agrícola.

VI. CONCLUSIONES

- En las tres zonas riparias estudiadas se encontró morfotipos de HMA pertenecientes a los géneros *Glomus* ssp, *Acaulospora* ssp y *Scutellospora* ssp en el suelo y raíces de especies vegetales presentes en las zonas en estudio, predominando en todas las zonas de investigación morfotipos del género. *Glomus* spp.
- La zona El Carmen presenta el mayor potencial de diversidad de HMA y por ende constituye fuente para la obtención de cepas de HMA para la elaboración de bioinoculantes.
- El tratamiento uno que perteneció al bioinóculo de HMA proveniente de la zona riparias El Carmen obtuvo los mejores resultados en cuanto a las variables de crecimiento en *S. lycopersicum* Mill, principalmente en producción de biomasa y peso de los frutos.
- La aplicación de los cuatro bioinoculantes de HMA demostró una mayor colonización y por ende un mejor crecimiento y producción de *S. lycopersicum* Mill frente a las plantas sin bioinóculo.

VII. RECOMEDACIONES

- Realizar nuevos aislamientos de HMA con el fin de obtener mayor información de los mismos en zonas forestales y agrícolas.
- Realizar cultivos mono-espóricos de HMA con el fin de aislar e identificar cepas únicas de géneros y ser evaluados de forma independiente en la elaboración de bioinoculantes de hongos micorrízicos para cultivos agrícolas y especies forestales que se encuentran en zonas riparias del cantón Loja.
- Potenciar los bioinoculantes en cultivos agrícolas a campo abierto.
- Estimar costos de producción de bioinoculantes frente a fertilizantes químicos.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Abdul y Bagyaraj, D. J. (2000). Colonization of arbuscular-mycorrhizal fungi on Ri T-DNA transformed roots in synthetic medium. *Indian Journal of Experimental Biology*, 38(11), 1147–1151. ISSN: 00195189.
- Aguilera, L.; Olalde, V. y Arriaga, M. (2013). Micorrizas arbusculares. *Ciencia Ergo Sum*, 14(3), 300–304, ISSN: 1405-0269.
- Alarcón, A.; Boicet, T.; Godefroy, M.; Bacilio-jiménez, M.; Ceiro, W. y Bazán, Y. (2013). Efecto de las micorrizas arbusculares y *Meloidogyne* spp. en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Protección Vegetal*, 28(3), 219–223. ISSN: 1010-2752.
- Alarcón, A. y Ferrera, R., (2010). Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. *Biotecnología*, 23(2), p. 251, ISSN: 9799687462232.
- Alcántara, G.; Corlay, L. y Hernández, A. (2018). Colonización micorrízica arbuscular de *Bursera bipinnata* en la Sierra de Huautla, Morelos, México. *Agroecología*, 13(1), 1–10. <https://doi.org/ISSN 2236-7934>.
- Apolo, M. (2012). Germinación en laboratorio e influencia de los hongos micorrízicos y la aplicación de nutrientes en el crecimiento de dos procedencias de *Cinchona pubescens* a nivel de invernadero. (Tesis). Universidad Nacional de Loja.
- Bagyaraj, J. y Stürmer, S. (1995). Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA). pp, 217–242. Consultado 04 de agosto del 2017. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/667/cap7.pdf>.
- Barrer, S. (2009). El Uso De hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 7(1), 124–132, ISSN: 00071536.
- Borstler, B.; Renker, C.; Kahmen; Buscot, F., (2006). Species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in two mountain meadows with differing management types and levels of plants biodiversity. *Biology of fertility and Soils*, Volumen 42, pp. 286–298, ISSN: 1432-0789.
- Camarena, G. (2012). Interacción planta-hongos micorrízicos arbusculares. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales Y Del Ambiente*, 18(3), 409–421, ISSN 2007-3828.
- Camargo, S.; Montaña, N.; De la Rosa, C. y Montaña, S. (2012). Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. *Revista Digital Universitaria*, 13(7), 19. ISSN: 1067-6079.
- Carreón, Y.; Rojas, N.; Alvarado, M. y García, S. (2016). Función de los hongos micorrízicos arbusculares en la biorremediación de metales pesados, 18(2), 16–22. ISSN: 0187-3180.

- Cué, L. y Torres, A. (2014). Valoración agroecológica de las micorrizas vesículo arbusculares. *Avances*, 16(4), 349–360. ISSN: 1562-3297.
- Cruz, Y.; García, M.; León G. y Hernández M., (2012). Influencia de las micorrizas arbusculares en combinación con diferentes dosis de fertilizante mineral en algunas características morfológicas de las plántulas de tabaco. *Cultivos Tropicales*, 33(3), 23–26, ISSN: 1819-4087.
- Enríquez, G.; Núñez, G. y Paillacho, F. (2010). Evaluación de la efectividad de las micorrizas arbusculares nativas sobre el desarrollo y estado nutritivo del palmito (*Bactris gasipaes*, Kunt) en etapa de vivero. *Agrociencias Amazonía*, 5. 1–10, ISSN: 2307-9606.
- Faggioli, V.; Freytes, G. y Galarza, C. (2008). Las micorrizas en trigo y su relación con la absorción de fósforo del suelo. INTA. Consultado el 04 de agosto del 2017. Disponible en: <http://agrolluvia.com/wp-content/uploads/2010/05/Las-micorrizas-en-trigo-y-su-relacion-con-la-absorcion-de-fosforo-del-suelo.pdf>.
- Fernández, F.; Amico, M.; Fernández, K. y Providencia, I. (2006). Funcionamiento de un inoculante líquido a base del hongo micorrízico arbuscular *Glomus* sp1 (Incam-4) En Arroz (*Oryza sativa* var. J-104) en suelo salino. *Revista Inca*, 27(2), 1–7. ISSN:1819-4087.
- Finlay, R. (2004). Mycorrhizal fungi and their multifunctional roles. *Mycologist*, 18(May), 91–96, ISSN: 1474-0605.
- Furrazola, E., y Ojeda, L. (2016). Mycorrhizal colonization and species of arbuscular mycorrhizal fungi in grasses from the Cuenca Pecuaria “El Tablón”, *Ciencia Agrícola*, 50(2), 321–331, ISSN: 0034-7485.
- Gañan, L.; Bolaños, M. y Asakawa, N. (2011). Efecto de la micorrización sobre el crecimiento de plántulas de plátano en sustrato con y sin la presencia de nematodos. *Acta Agronómica*. 60(4):297 – 305, ISSN: 0120-2812.
- Garzón, L. (2015). Importancia de las micorrizas arbusculares para un uso sostenible del suelo en la Amazonia Colombiana. *Luna Azul*, (42), 217–234, ISSN: 1909-2474.
- Gerdemann, J. y Nicolson T. (1963). Spores of mycorrhizal endogone extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans Brit Mycol Soc* 46: 235-244 DOI: 10.1016/S0007-1536(63)80079-0.
- Granados, D.; Hernández, M. y López, G. (2007). Ecología de las zonas ribereñas. Chapingo. Serie Ciencias Forestales Y Del Ambiente, 12(1), 55–69, ISSN: 2007-3828.
- Harris, C.; Esqueda, M.; Valenzuela, E. y Castellanos, A. (2009). Tolerancia al estrés hídrico en la interacción planta-hongo micorrízico arbuscular: metabolismo energético y fisiología. *Fitotecnia Mexinaca*, 32(4), 265–271, ISSN: 0187-7380.

- Hernández, L.; Castillo, S.; Guadarrama, P.; Martínez, Y.; Romero, M. A. y Sánchez, I. (2003). Hongos micorrizógenos arbusculares del Pedregal de San Ángel. (UNAM, Ed.). México. ISBN: 970-32-0431-7.
- Hernández, J.; López, C. y Palma, F. (2014). Caracterización morfológica de micorriza arbuscular asociada a *Agave potatorum* Zucc. con potencial de uso agronómico. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 1(2), 82–93. ISSN: 2007-9559.
- Herrera, G.; Méndez, J. y Pineda, C. (2015). Micorrizas utilizadas en el cultivo de jitomate hidropónico. Morelia: Tecnológico Monterrey.
- Honrubia, M. (2009). Las micorrizas: una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. *Revista Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 66S1(1), 133–144, ISSN: 0211-1322.
- Holdridge, L. (1987). Ecología basada en zonas de vida. San José: Editorial IICA, pp. 216, ISBN: 9290391316.
- International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM). (2018). Species Descriptions from Reference Cultures, Agricultural Sciences Building, West Virginia University. West Virginia University. Disponible en <http://fungi.invam.wvu.edu/the-fungi/species-descriptions.html>. Consultado el 10 de julio del 2018.
- Jaizme, M. (2012). La vida en el suelo. Papel de los microorganismos en la agroecología. Agricultura en Canarias. *Conciliando tradición y ciencia*. Puerto de Cruz. ISBN: 9788461606412.
- Jasafad, S.; Mendoza, M. y Borrego, F. (2000). Evaluación de tomate (*Lycopersicon esculentum*, mill) en invernadero: criterios fenológicos y fisiológicos. *Agronomía mesoamericana* 9(1): 59-65, ISSN: 2215-3608.
- Koppen, W. (1936). Das geographische system der klimate. Berlin: Handbuch der Klimatologie, pp. 1-44.
- Ley, J.; Sánchez, J.; Ricardo, N. y Collazo, E. (2015). Efecto de cuatro especies de hongos micorrizógenos arbusculares en la producción de frutos de tomate. *Agronomía Costarricense*, 39(1), 47–59, ISSN: 0377-9424.
- Loján, P.; Senés, C.; Suárez, J.; Kromann, P.; Schüßler, A. y Declerck, S. (2016). Potato field-inoculation in Ecuador with *Rhizophagus irregularis*: no impact on growth performance and associated arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Symbiosis*, 72(1), 1 -12, ISSN: 0334-5114.
- Lovera, M. y Cuenca, G. (2007). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y potencial micorrízico del suelo de una Sabana natural y una Sabana perturbada de La Gran Sabana, Venezuela. *Interciencia*, 32(2), 108–114, ISSN: 0378-1844.

- Martínez, L. y Pugnaire, F. (2009). Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. *Ecosistemas*, 18 (2), 44 -54, ISSN: 1697-2473. DOI: 10.7818/RE.2014.18-2.00.
- Medina, L. R.; Rodríguez, Y.; Torres, Y. y Herrera C. (2010). Aislamiento e identificación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de la zona de las Caobas, Holguín. *Cultivos Tropicales*, 31(3). ISSN: 0258-5936.
- Mena, A.; Fernández, K.; Jerez, E; Olalde, V. y Serrato, R. 2011. Influence of *Glomus* hoi-like inoculation and a concentrated species of AMF on sorghum plant development submitted or not to water stress. *Cultivos Tropicales*. 32(1):11 – 17, ISSN: 0258-5936.
- Mujica, Y. (2012). Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) por dos vías diferentes en el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) *Cultivos Tropicales*, 33(4), 71–76. ISSN: 1819-4087.
- Mujica, Y.; Mena, A.; Medina, A. y Rosales, R. (2014). Respuesta de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) A LA biofertilización líquida con *Glomus cubense*. *Cultivos Tropicales*, 35(2), 21–26. ISSN: 1819-4087.
- Nakmee, P.; Techapinyawat, S. y Ngamprasit, S. (2016). Comparative potentials of native arbuscular mycorrhizal fungi to improve nutrient uptake and biomass of Sorghum bicolor Linn. *Agriculture and Natural Resources*, 50(3), 173–178.
- Noval, B.; León, O.; Martínez, N.; Pérez, E. y Délano, J. (2017). Patrón de la actividad de las β -1 , 3-glucanasas en tomate. Fase temprana de la simbiosis. *Cultivos Tropicales*, 38(3), 36–43, ISSN: 1819-4087
- Pérez, C.; Rojas, S.; y Montes, V. (2011). Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el caribe colombiano. *Rev. Colombiana Ciencia Animal*, 3(2), 366–385. ISSN: 2027-4297.
- Pérez, C. y Vertel, M. (2010). Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. *MVZ Córdoba*, 15(3), 2165–2174, ISSN: 0122-0268.
- Pérez, Y.; Álvarez, J.; Mendoza, J.; Pat, J.; Gómez, R. y Cuevas, L. (2012). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México. *Gayana Botánica*, 69(1), ISSN: 0016-5301.
- Pérez, E.; Noval, B. y Torres, W. (2015). Inducción de mecanismos de defensa en plantas de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) micorrizadas frente al ataque de *Oidiopsis taurica* (Lev.) Salm. *Cultivos Tropicales*, 36(1), 94-102, ISSN: 1819-4087.

- Prieto, O.; Belezaca, C.; Mora, W.; Garcés, F.; Sabando, F. y Cedeño, P. (2012). Identificación De Hongos Micorrízicos Arbusculares En Sistemas Agroforestales Con Cacao En El Trópico Húmedo Ecuatoriano. *Agronomía Mesoamericana*, 23(2), 233–239, ISSN: 1021-7444.
- Quiñones, E.; López, L.; Hernández, E.; Ferrera, R. y Rincón, G. (2014). Simbiosis micorrízica arbuscular y fuentes de materia orgánica en el crecimiento de carica papaya L. *Interciencia*, 39(3), 198–204, ISSN: 03781844.
- Ramírez, J.; Castañeda, D. y Morales, J. (2013). Dinámica microbial del suelo asociada a diferentes estrategias de manejo de phytophthora cinnamomi rands en aguacate. *Ceres*, 60(6), 811–819, ISSN: 0034-737X
- Redecker, D.; Schüßler, A.; Stockinger, H.; Stürmer, S.; Morton, J. y Walker, C. (2013). An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza*, 23(7), 515–531, ISSN: 09406360.
- Rodríguez, Y.; Noval, P.; Fernández, F. y Rodríguez, P. (2014). Estudio comparativo del comportamiento de seis cepas de hongos micorrízicos arbusculares en su interacción con el tomate (*Lycopersicon esculentum* M. var “Amalia”). *Ecología Aplicada*, 3(1, 2), 1726–2216.
- Ruiz, P.; Rojas, K. y Sieverding, E. (2011). La distribución geográfica de los hongos de micorriza arbuscular: una prioridad de investigación en la Amazonía peruana. *Espacio y Desarrollo*, 23, 47–63, ISSN: 1016-9148.
- Salgado, S.; Castelán, M.; Jiménez, R.; Gómez, F. y Osorio, M. (2014). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en suelos cultivados con caña de azúcar en la región de la Chontalpa, Tabasco. *Revista Mexicana de Micología*, 40(Xalapa), 8–16, ISSN: 0187-3180.
- Sánchez, M.; Baños, Y.; Hernández, Y.; Martínez, A.; Benitez, M.; Bharat, B. y Chávez, Y. (2015). Simbiosis de micorrizas arbusculares en plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) en condiciones de inundación y secano. *Acta Agronomica*, 64(3), 227–233, ISSN: 2323-0118.
- Sangabriel, W.; Trejo, C. y Soto, A. (2017). Diversidad y funcionalidad de hongos micorrízico-arbusculares en plantaciones de Carica papaya L., con diferente manejo agronómico. *Agroproductividad*, 10(9), 90–94, ISSN: 0188-7394.
- Schüßler, A. y Walker, C. (2010). The Glomeromycota A species list with new families and new genera. *Read*, (December), 57, ISSN: 1536-4828.
- Siqueira, J. y Saggin, O. (2001). Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. *Mycorrhiza*, 11(5), 245–255, ISSN: 09406360.

- Stürmer, S. (2012). A history of the taxonomy and systematics of arbuscular mycorrhizal fungi belonging to the phylum Glomeromycota. *Mycorrhiza*, 22(4), 247–258, ISSN: 09406360.
- Stürmer, S.; Stürmer, R. y Pasqualini, D. (2013). Taxonomic diversity and community structure of arbuscular mycorrhizal fungi (Phylum Glomeromycota) in three maritime sand dunes in Santa Catarina state, south Brazil. *Fungal Ecology*, 6(1), 27–36, ISSN: 17545048.
- Terry, E.; Ruiz, J. y Carillo, Y. (2018). Efecto de diferentes manejos nutricionales sobre el rendimiento y calidad de frutos de tomate. *Agronomía Mesoamericana*, 29(2), 389–401, ISSN: 2215-3608.
- Terry, E. y Leyva, A. (2006). Evaluación agrobiológica de la coinoculación micorrizas-rizobacterias en tomate. *Agronomía Costarricense*, 30(1), 65–73, ISSN: 0377-9424.
- Torres, Y.; Fors, R.; Nobre, C.; Gómez, E. y Berbara, R.. (2017). Production of native arbuscular mycorrhizal fungi inoculum under different environmental conditions. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(1), 87–94. ISSN: 1517-8382.
- Trouvelot, A.; Kough, J. y Gianinazzi, V. (1986): Evaluation of VA infection levels in root systems. Research for estimation methods having a functional significance. In: V. Gianinazzi-Pearson and S. Gianinazzi (eds.), *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. INRA Press, Paris, France, pp. 217–221. DOI: 10.1078/0944-5013-00121.
- Urgiles, N.; Haug, I.; Setaro, S. y Aguirre, N. (2016). *Introduction to Mycorrhizas in the Tropics with Emphasis on the Montane Forest in Southern Ecuador*. Universidad Nacional de Loja. Ecuador. 2016. ISBN: 978-9978-355-32-9.
- Urgiles, N.; Strauß A.; Loján Paúl, y S., A. (2014). Cultured arbuscular mycorrhizal fungi and native soil inocula improve seedling development of two pioneer trees in the Andean region. *New Forest*. ISSN: 0169-4286.
- Vierheilig, H.; Schweiger, P. y Brundrett, M. (2005). An overview of methods for the detection and observation of arbuscular mycorrhizal fungi in roots. *Physiologia Plantarum*, 125(4), 393–404, ISSN: 00319317.

ANEXOS

Anexo 1. Caracterización e identificación de esporas procedentes de las zonas riparias del cantón Loja

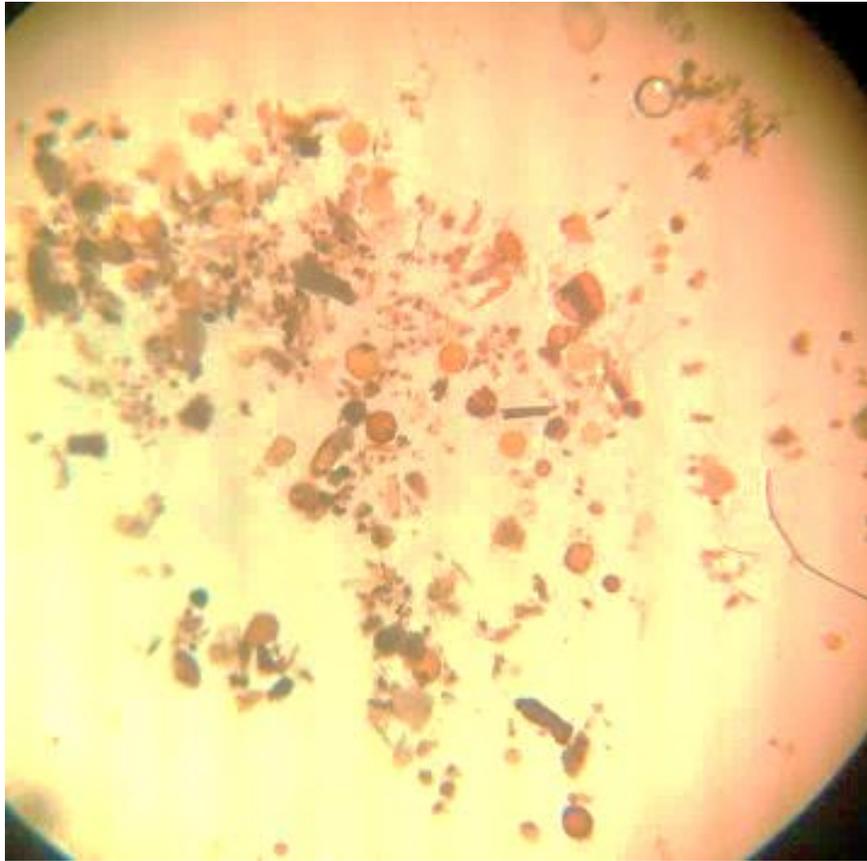


Figura 1. Extracción y visualización de esporas de HMA de muestras de suelo de las zonas riparias de cantón Loja, 2018

Foto: Autor

Tabla 1.

Aislamientos e identificación de HMA de las zonas riparias del cantón Loja

Zona	Altitud msnm	Morfortipo / Código	Color	Forma	Diámetro (μ m)	Capas	Reactivo de Melzer	Hifa de sostén	Posible genero
El Carmen (Z1)	2399	1	amarillo - naranja	redonda	161,01	3	positivo	*cenocítica	<i>Acaulospora</i> ssp
		2	amarillo castaño	globosa y subglobosa	164,26	2	positivo	**sostentora sentada	<i>Glomus</i> ssp.
		3	amarillo a castaño	globosa y subglobosa	119,91	2	positivo	cenocítica	<i>Glomus</i> ssp.
		4	hialina y castaño gris	globosa, elíptica e irregular	183,68	3	negativo	cenocítica	<i>Scutellospora</i> ssp.
		5	amarillo pálido	cónica	81,07	1	positivo	***sentada recta	<i>Glomus</i> ssp.
		6	amarillo claro	globosa	107,8	3	positivo	****de unión	<i>Glomus</i> ssp.
Mónica (Z2)	2346	7	amarillas	globosa	210,8	2	negativo	cenocítica	<i>Glomus</i> ssp.
		8	amarillo castaño a naranja café oscuro	globosa y subglobosa	208,36	3	positivo	cenocítica	<i>Glomus</i> ssp.
		9	hialinas levemente amarillas	globosa	170,93	2	positivo	de unión	<i>Scutellospora</i> ssp.
		10	amarillo claro	globosa	127	3	negativo	de unión	<i>Glomus</i> ssp.
		11	hialinas y crema pálido	globosa y subglobosa	119,85	2	negativo	cenocítica	<i>Glomus</i> ssp.

Tabla 2.

Continuación

Zamora Huayco (Z3)	2233	12	amarillo castaño a naranja café oscuro	globosa y subglobosa	196,57	3	positivo	cenocítica	<i>Acaulospora ssp</i>
		13	amarillo castaño	globosa y subglobosa	230,72	2	positivo	sostentora sentada	<i>Glomus ssp.</i>
		14	hialinas levemente amarillas	globosa	120,95	2	negativo	cenocítica séptada	<i>Glomus ssp.</i>
		15	amarillo claro	globosa	114,34	3	positivo	de unión	<i>Glomus ssp.</i>
		16	hialinas y crema palido	globosa y subglobosa	155,84	2	negativo	sostentora séptada	<i>Glomus ssp.</i>

*hifa que no presenta septos o paredes cruzadas.

** hifa ensanchada en la parte de unión con la espora con diámetro variable.

*** hifa delgada de forma cónica en la unión con la espora.

**** hifa recta de un mismo diámetro en la unión con la espora.

Anexo 2. Micorrización en raíces procedentes de las zonas riparias del cantón Loja.

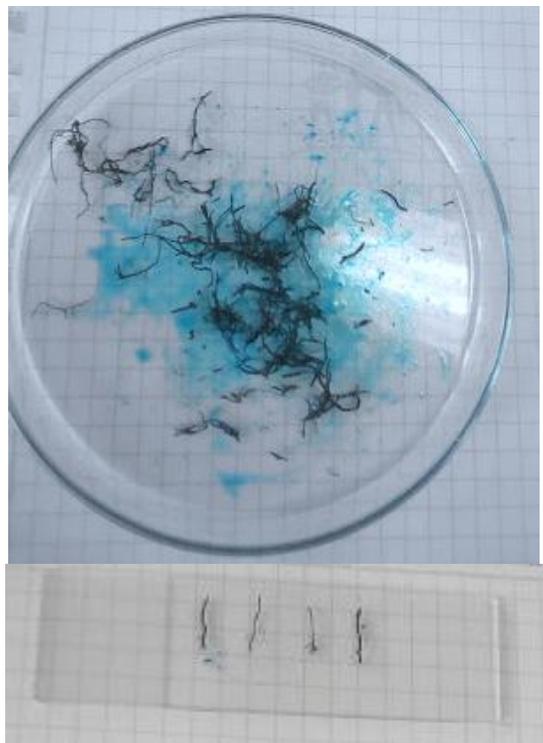


Figura 2. Tinción de raíces de las zonas riparias del cantón Loja para observación de estructuras de los HMA 2018.

Foto: Autor

Tabla. 2

Test de Tukey del porcentaje de colonización de HMA en raíces procedentes zonas riparias del cantón Loja.

Zona	Medias	n	E.E.	S.
El Carmen	45	5	4,58	a
Monica	34,6	5	4,58	a b
Zamora Huayco	19,2	5	4,58	b

Anexo 3. Tablas de test de Tukey de indicadores evaluados en *S. lycopersicum* Mill

Tabla 3.

Test de Tukey para altura de planta de *S. lycopersicum* Mill a los 15 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T3	8,56	10	0,32	a
T1	8,53	10	0,32	a
T4	8,32	10	0,32	a
T2	7,58	10	0,32	a
T0	7,3	10	0,32	a

Tabla 4.

Test de Tukey para altura de planta de *S. lycopersicum* Mill a los 30 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	17,61	10	0,73	a
T3	15,55	10	0,73	a b
T2	14,7	10	0,73	a b c
T4	14,23	10	0,73	b c
T0	12,45	10	0,73	c

Tabla 5.

Test de Tukey para altura de planta de *S. lycopersicum* Mill a los 45 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	25,16	10	1,11	a
T3	22,5	10	1,11	a b
T2	20,99	10	1,11	a b c
T4	20,38	10	1,11	b c
T0	17,27	10	1,11	c

Tabla 6.

Test de Tukey para altura de planta de *S. lycopersicum* Mill a los 60 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	32,38	10	1,46	a
T3	30,21	10	1,46	a b
T4	26,93	10	1,46	a b
T2	26,2	10	1,46	b
T0	24,47	10	1,46	b

Tabla 7.Test de Tukey para altura de planta de *S. lycopersicum* Mill a los 75 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	40,96	10	1,55	a
T3	37,91	10	1,55	a b
T4	32,88	10	1,55	b c
T2	32,38	10	1,55	b c
T0	31,08	10	1,55	c

Tabla 8.Test de Tukey para altura de planta de *S. lycopersicum* Mill a los 90 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	49,96	10	1,63	a
T3	44,43	10	1,63	a b
T4	44,08	10	1,63	a b
T2	39,45	10	1,63	b
T0	39,24	10	1,63	b

Tabla 9.Test de Tukey para altura de planta de *S. lycopersicum* Mill a los 105 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	59,74	10	1,83	A
T4	53,71	10	1,83	A B
T3	53,47	10	1,83	A B C
T2	46,98	10	1,83	B C
T0	46,14	10	1,83	C

Tabla 10.Test de Tukey para altura de planta de *S. lycopersicum* Mill los 120 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	68,23	10	1,82	a
T3	59,31	10	1,82	b
T4	59,14	10	1,82	b
T2	52,99	10	1,82	b c
T0	51,02	10	1,82	c

Tabla 11.Test de Tukey para diámetro de tallo de *S. lycopersicum* Mill a los 15 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	2,44	10	0,07	a
T4	2,26	10	0,07	a b

T3	2,22	10	0,07	a b
T2	2,16	10	0,07	a b
T0	2,03	10	0,07	b

Tabla 12.

Test de Tukey para diámetro de tallo de *S. lycopersicum* Mill a los 30 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	3,11	10	0,07	a
T4	2,97	10	0,07	a
T3	2,81	10	0,07	a b
T2	2,81	10	0,07	a b
T0	2,61	10	0,07	b

Tabla 13.

Test de Tukey para diámetro de tallo de *S. lycopersicum* Mill a los 45 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	3,47	10	0,07	a
T4	3,27	10	0,07	a b
T3	3,15	10	0,07	b c
T2	3,14	10	0,07	b c
T0	2,96	10	0,07	c

Tabla 14.

Test de Tukey para diámetro de tallo de *S. lycopersicum* Mill a los 60 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	3,65	10	0,09	a
T3	3,44	10	0,09	a b
T4	3,44	10	0,09	a b
T2	3,39	10	0,09	a b
T0	3,23	10	0,09	b

Tabla 15.

Test de Tukey para diámetro de tallo de *S. lycopersicum* Mill a los 75 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	3,95	10	0,1	a
T3	3,74	10	0,1	a b
T2	3,59	10	0,1	a b
T4	3,57	10	0,1	a b
T0	3,45	10	0,1	b

Tabla 16.Test de Tukey para diámetro de tallo de *S. lycopersicum* Mill a los 90 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	4,31	10	0,1	a
T3	4,01	10	0,1	a b
T4	3,97	10	0,1	a b
T2	3,8	10	0,1	a b
T0	3,75	10	0,1	b

Tabla 17.Test de Tukey para diámetro de tallo de *S. lycopersicum* Mill a los 105 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	4,8	10	0,1	a
T3	4,36	10	0,1	b
T4	4,26	10	0,1	b c
T2	4,11	10	0,1	b c
T0	3,91	10	0,1	c

Tabla 18.Test de Tukey para diámetro de tallo de *S. lycopersicum* Mill a los 120 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	4,92	10	0,11	a
T3	4,51	10	0,11	a b
T4	4,47	10	0,11	b c
T2	4,3	10	0,11	b c
T0	4,03	10	0,11	c

Tabla 19.Test de Tukey para número de hojas de *S. lycopersicum* Mill a los 15 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	14	10	0,55	a
T3	11,4	10	0,55	b
T4	11,2	10	0,55	b
T2	10,3	10	0,55	b c
T0	8,6	10	0,55	c

Tabla 20.Test de Tukey para número de hojas de *S. lycopersicum* Mill a los 30 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	27,8	10	1,08	a
T4	23,9	10	1,08	a b
T2	22,4	10	1,08	b
T3	22,2	10	1,08	b
T0	17,7	10	1,08	c

Tabla 21.Test de Tukey para número de hojas de *S. lycopersicum* Mill a los 45 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	35,7	10	1,41	a
T4	31,6	10	1,41	a b
T3	29,9	10	1,41	b
T2	29,1	10	1,41	b
T0	27,8	10	1,41	b

Tabla 22.Test de Tukey para número de hojas de *S. lycopersicum* Mill a los 60 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	41,5	10	1,56	a
T4	39,2	10	1,56	a b
T3	37,2	10	1,56	a b
T2	35,8	10	1,56	a b
T0	34,1	10	1,56	b

Tabla 23.Test de Tukey para número de hojas de *S. lycopersicum* Mill a los 75 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	50,2	10	1,93	a
T3	43,8	10	1,93	a b
T4	43,8	10	1,93	a b
T0	43	10	1,93	a b
T2	41,7	10	1,93	b

Tabla 24.Test de Tukey para número de hojas de *S. lycopersicum* Mill a los 90 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	59,8	10	1,65	a
T2	50	10	1,65	b

T3	49,5	10	1,65	b
T4	49,1	10	1,65	b
T0	44,1	10	1,65	b

Tabla 25.

Test de Tukey para número de hojas de *S. lycopersicum* Mill a los 105 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	63,8	10	1,94	a
T2	54,1	10	1,94	b
T3	53,5	10	1,94	b
T4	53,4	10	1,94	b
T0	48,7	10	1,94	b

Tabla 26.

Test de Tukey para número de hojas de *S. lycopersicum* Mill a los 120 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	68,5	10	2,13	a
T4	59	10	2,13	b
T3	58,2	10	2,13	b
T2	58	10	2,13	b
T0	55,4	10	2,13	b

Tabla 27.

Test de Tukey para Incidencia de plagas y enfermedades en *S. lycopersicum* Mill a los 15 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T2	0	10	sn	a
T0	0	10		a
T4	0	10		a
T1	0	10		a
T3	0	10		a

Tabla 28.

Test de Tukey para Incidencia de plagas y enfermedades en *S. lycopersicum* Mill a los 30 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T2	4,05	10	2,03	a
T0	2,73	10	2,03	a
T4	2,69	10	2,03	a
T1	0,77	10	2,03	a
T3	0	10	2,03	a

Tabla 29.

Test de Tukey para Incidencia de plagas y enfermedades en *S. lycopersicum* Mill a los 45 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T2	5,94	10	2,16	a
T0	4,2	10	2,16	a
T1	3,37	10	2,16	a
T3	1,79	10	2,16	a
T4	1,61	10	2,16	a

Tabla 30.

Test de Tukey para Incidencia de plagas y enfermedades en *S. lycopersicum* Mill a los 60 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T2	2,37	10	1,17	a
T0	1,86	10	1,17	a
T1	1,75	10	1,17	a
T4	1,32	10	1,17	a
T3	1,17	10	1,17	a

Tabla 31.

Test de Tukey para Incidencia de plagas y enfermedades en *S. lycopersicum* Mill a los 75 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T0	6,01	10	1,15	a
T2	3,52	10	1,15	a b
T4	3,24	10	1,15	a b
T3	1,33	10	1,15	b
T1	0,85	10	1,15	b

Tabla 32.

Test de Tukey para Incidencia de plagas y enfermedades en *S. lycopersicum* Mill a los 90 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T2	5,19	10	1,07	a
T0	3,94	10	1,07	a b
T3	2,5	10	1,07	a b
T4	2,25	10	1,07	a b
T1	0,48	10	1,07	b

Tabla 33.

Test de Tukey para Incidencia de plagas y enfermedades en *S. lycopersicum* Mill a los 105 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T2	5,24	10	1,04	a
T0	3,27	10	1,04	a b
T1	3,2	10	1,04	a b
T3	2,97	10	1,04	b
T4	2,26	10	1,04	b

Tabla 34.

Test de Tukey para Incidencia de plagas y enfermedades en *S. lycopersicum* Mill a los 120 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T2	3,88	10	0,93	a
T0	3,86	10	0,93	a
T3	2,88	10	0,93	a
T4	2,42	10	0,93	a
T1	2,04	10	0,93	a

Tabla 35.

Test de Tukey para número de flores de en *S. lycopersicum* Mill a los 90 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	3,1	10	0,53	a
T3	2,7	10	0,53	a
T2	2,1	10	0,53	a
T4	1,5	10	0,53	a
T0	1	10	0,53	a

Tabla 36.

Test de Tukey para número de flores en *S. lycopersicum* Mill a los 105 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	4,5	10	0,61	a
T3	3	10	0,61	a b
T2	3	10	0,61	a b
T4	2,4	10	0,61	a b
T0	1,9	10	0,61	b

Tabla 37.

Test de Tukey para número de flores de en *S. lycopersicum* Mill a los 120 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	5	10	0,75	a

T2	3,8	10	0,75	a b
T3	3,4	10	0,75	a b
T4	2,8	10	0,75	a b
T0	2	10	0,75	b

Tabla 38.

Test de Tukey para peso de frutos de *S. lycopersicum* Mill a los 120 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	103,1	10	4,33	a
T3	78,03	10	4,33	b
T4	77,77	10	4,33	b
T2	61,64	10	4,33	b c
T0	53,91	10	4,33	c

Tabla 39.

Test de Tukey para biomasa de *S. lycopersicum* Mill a los 120 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	0,93	10	0,09	a
T3	0,61	10	0,09	a b
T2	0,56	10	0,09	b
T4	0,5	10	0,09	b
T0	0,49	10	0,09	b

Tabla 40.

Test de Tukey para para colonización de HMA en raíces de *S. lycopersicum* Mill a los 120 ddt.

Tratamiento	Medias	n	E.E.	S.
T1	58,32	5	1,89	a
T4	42	5	1,89	b
T3	36,2	5	1,89	b c
T2	30	5	1,89	c
T0	0	5	1,89	d

Anexo 4. Evidencia Fotográfica



Figura 3. Recolección de muestras de suelo de las zonas riparias del cantón Loja. Z1: el Carmen, Z2; Mónica y Z3: Zamora Huayco 2018.

Foto: Autor



Figura 4. Extracción de esporas de HMA de muestras de suelo de las zonas riparias del cantón Loja, 2018.

Foto: Autor



Figura 5. Preparación de bioinoculantes de HMA de las zonas riparias del cantón Loja, 2018.

Foto: Autor



Figura 6. Semillero de *S. lycopersicum* Mill Loja, 2018.

Foto: Autor



Figura 7. Distribución de plantas de *S. lycopersicum* Mill con los tratamientos de bioinoculantes de HMA de las zonas riparias del cantón Loja, bajo invernadero, 2018.

Foto: Autor



Figura 8. Evaluación de plantas de *S. lycopersicum* Mill con los tratamientos de bioinoculantes de HMA de las zonas riparias del cantón Loja, 2018.

Foto: Autor



Figura 9. Determinación de biomasa de plantas de *S. lycopersicum* Mill con los tratamientos de bioinoculantes de HMA de las zonas riparias del cantón Loja, 2018.

Foto: Autor



Figura 10. Plantas de *S. lycopersicum* Mill con los tratamientos de bioinoculantes de HMA de las zonas riparias del cantón Loja, bajo invernadero, 2018.

Foto: Autor

Anexo 5. Hojas de registro de datos.

Aislamientos e identificación de morfotipos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en tres zonas riparias del cantón Loja enfocados a la producción de bioinoculantes.					
Zona:	Número de esporas				
Morfotipos	r1	r2	r3	r4	r5

Figura 9. formato de registro de datos de número de esporas de HMA en suelo de las zonas riparias del cantón Loja, 2018.

Aislamientos e identificación de morfotipos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en tres zonas riparias del cantón Loja enfocados a la producción de bioinoculantes.					
Zona/tratamiento:					
	raiz 1	raiz 2	raiz 3	raiz 4	raiz 5
placa 1					
placa 2					
placa 3					
placa 4					
placa 5					

Figura 10. formato de registro de datos de porcentaje de Micorrización de HMA en raíces, 2018.

