



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Maestría en Agroecología y Desarrollo Sostenible

Generación de bioconocimiento sobre encapsulados de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares de sistemas agroforestales asociados al café en la provincia de Loja.

Trabajo de Titulación previa a la obtención del título de Magíster en Agroecología y Desarrollo Sostenible.

AUTORA:

María de los Angeles Ochoa Tapia

DIRECTORA:

Ing. Narcisa de Jesús Urgiles Gómez, PhD.

Loja - Ecuador

2023

Certificación

Loja, 4 de julio de 2023

Ing. Narcisa de Jesús Urgiles Gómez, PhD.

DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo proceso de la elaboración del Trabajo de Titulación denominado: **Generación de bioconocimiento sobre encapsulados de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares de sistemas agroforestales asociados al café en la provincia de Loja**, previo a la obtención del título **Magister en Agroecología y Desarrollo Sostenible**, de la autoría de la estudiante **María de los Angeles Ochoa Tapia**, con **cédula de identidad Nro. 1104385230**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.



Ing. Narcisa de Jesús Urgiles Gómez, PhD.

DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Autoría

Yo, María de los Angeles Ochoa Tapia, declaro ser autora del presente Trabajo de Titulación y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Titulación, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma:

Cédula de Identidad: 1104385230

Fecha: 11 de julio de 2023.

Correo electrónico: maria.d.ochoa.t@unl.edu.ec

Celular: 0979208975

Carta de autorización por parte de la autora para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Titulación

Yo, **María de los Angeles Ochoa Tapia** declaro ser autora del Trabajo de Titulación denominado: **Generación de bioconocimiento sobre encapsulados de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares de sistemas agroforestales asociados al café en la provincia de Loja**, como requisito para optar el título de **Magíster en Agroecología y Desarrollo Sostenible**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, 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 por el plagio o copia del Trabajo de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los once días del mes de julio del dos mil veintitrés.

Firma:

Autora: María de los Angeles Ochoa Tapia

Cédula: 1104385230

Dirección: Sucre entre Celica y Gonzanamá.

Correo electrónico: maria.d.ochoa.t@unl.edu.ec

Celular: 0979208975

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Director del Trabajo de Titulación: Ing. Narcisa de Jesús Urgiles Gómez, PhD.

Dedicatoria

Este trabajo lo dedico con mucho cariño a mi esposo Vinicio y a mi hijo Nicolás. Gracias por motivarme a crecer.

María de los Angeles Ochoa Tapia

Agradecimiento

A la Universidad Nacional de Loja por ser centro de mi formación académica de pregrado y posgrado. A los docentes que me acompañaron en este proceso y de manera especial a la Dra. Narcisa Urgiles Gómez, directora del trabajo de titulación, quien impartió su conocimiento y brindó el apoyo necesario para culminar la investigación.

A los profesionales responsables del Laboratorio de Anatomía de Maderas Tropicales y Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad Agropecuaria y los Recursos Naturales Renovables, por su valiosa colaboración en el desarrollo del presente trabajo.

María de los Angeles Ochoa Tapia

Índice de contenidos

Portada.....	i
Certificación	ii
Autoría.....	iii
Carta de autorización.....	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenidos.....	vii
Índice de tablas.....	ix
Índice de figuras	x
Índice de anexos	xi
1. Título.....	1
2. Resumen.....	2
2.1. Abstract	3
3. Introducción	4
Objetivo general	7
Objetivos específicos	7
4. Marco teórico	8
4.1. Sistemas Agroforestales asociados al café.....	8
4.2. Microorganismos benéficos del suelo	8
4.3. Tipos de hongos micorrízicos	9
4.3.1. Ectomicorrizas.	9
4.3.2. Endomicorrizas	9
4.3.3. Ectoendomicorrizas.....	10
4.4. Hongos micorrízicos arbusculares	10
4.5. Taxonomía y clasificación de HMA, Glomeromycota	11
4.6. Características morfológicas de la familia Glomeromycota	12
4.7. Estructura de los hongos micorrízicos arbusculares	14
4.7.1. Esporas.	14
4.7.2. Hifas	15
4.7.3. Arbúsculos	15
4.7.4. Vesículas	15
4.8. Proceso de colonización.....	15

4.9. Simbiosis micorrízico-arbuscular.....	16
4.10. Encapsulación en alginato	17
4.10.1. Técnicas de encapsulación	17
4.10.2. Agentes encapsulantes.....	17
5. Metodología	19
5.1. Área de estudio.....	19
5.2. Materiales, equipos y reactivos	19
5.3. Metodología para identificar morfológicamente consorcios nativos de HMA como indicador de biodiversidad en sistemas agroforestales de la provincia de Loja.....	19
5.3.1. Cuantificación e identificación de esporas de HMA en el suelo.....	20
5.3.2. Determinación del porcentaje de colonización de HMA.	21
5.4. Metodología para establecer un protocolo para la elaboración de encapsulados de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares, enfocado a caficultores como alternativa agroecológica en la provincia de Loja.....	23
5.4.1. Preparación de solución de alginato.....	23
5.4.2. Encapsulación de HMA en matriz de alginato y almidón.....	23
5.4.3. Cuantificación de esporas de HMA en encapsulados	23
5.5. Análisis estadístico	24
6. Resultados	25
6.1. Identificación morfológica de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares.	25
6.2. Porcentaje de colonización de HMA en raíz	29
6.3. Cuantificación de esporas de HMA en encapsulados	31
7. Discusión.....	33
8. Conclusiones	38
9. Recomendaciones.....	39
10. Bibliografía	40
11. Anexos.....	45

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación Glomeromycota de Hongos Micorrízicos Arbusculares	12
Tabla 2. Características morfológicas de las familias Glomeromycota	12
Tabla 3. Cuantificación de esporas de morfotipos de HMA	25
Tabla 4. Características morfológicas de morfotipos de HMA en SAF.....	27
Tabla 5. Cuantificación de esporas de HMA en encapsulados	32

Índice de figuras

Figura 1. Diagrama de clases de colonización de HMA en raíces.	22
Figura 2. Caracterización morfológica de HMA en cinco sistemas agroforestales.	28
Figura 3. Cuantificación de morfotipos de HMA en 100 g ⁻¹ de suelo.	29
Figura 4. Porcentaje de colonización de HMA en raíces.	30
Figura 5. Estructuras de colonización de HMA en sistemas agroforestales.	30
Figura 6. Gráfica prueba LSD Fisher para porcentaje de colonización de HMA.	31
Figura 7. Encapsulados de HMA de sistemas agroforestales.....	32

Índice de Anexos

Anexo 1. Tabla de color Munsell para HMA	56
Anexo 2. Registro fotográfico del proceso de caracterización morfológica y elaboración de encapsulados	57
Anexo 3. Certificado de traducción	60

1. Título

Generación de bioconocimiento sobre encapsulados de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares de sistemas agroforestales asociados al café en la provincia de Loja.

2. Resumen

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son organismos del suelo que viven en simbiosis con la mayoría de plantas, facilitando la absorción de nutrientes, disminuyen el ataque de patógenos, aumentan la tolerancia de la planta a condiciones de estrés, entre otros beneficios. El sistema de producción en monocultivo limita la diversidad de HMA, es por ello que los sistemas agroforestales (SAF) son una alternativa viable que permite desde el punto de vista agroecológico, ampliar la diversidad de especies vegetales, así como la diversidad y abundancia de microorganismos del suelo. El objetivo de este trabajo fue generar bioconocimiento sobre la elaboración de encapsulados de consorcios nativos de HMA provenientes de cinco sistemas agroforestales (El Cristal, Chaguarpamba, Lozumbe, Zapotepamba y La Argelia), a través de la identificación morfológica y el establecimiento de un protocolo de encapsulación de HMA. Por lo cual se realizó el aislamiento de esporas, y seguidamente la caracterización morfológica a través de variables como: color, forma, diámetro, número de capas, presencia o ausencia de ornamentación, etc. Una vez que se caracterizaron los HMA se procedió a encapsularlos en alginato de sodio. Se identificaron cuatro géneros: *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Sclerocystis*, siendo el género *Glomus* el más abundante en los cinco sistemas agroforestales y se estableció la base de información respecto de la biodiversidad de HMA nativos en diferentes zonas en la provincia de Loja, así como el proceso de encapsulación de microorganismos que pueden ser una alternativa de bioinsumo o biofertilizante accesible para los caficultores de la provincia de Loja. Es importante que se amplie el estudio mediante la caracterización molecular de los aislados nativos de HMA, a fin de definir los géneros presentes en los diferentes SAF analizados.

Palabras claves: hongos micorrízicos, esporas, sistemas agroforestales, encapsulados, agroecología.

2.1. Abstract

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are soil organisms that live in symbiosis with the majority of plants, facilitating nutrient absorption, reduce pathogen attacks, enhance plant tolerance to stressful conditions, and provide various other benefits. The monoculture production system limits the diversity of AMF. Consequently, agroforestry systems (AFS) emerge as a viable alternative, facilitating the agroecological objective of expanding both plant species diversity and the richness and abundance of soil microorganisms. The objective of this research work was to generate bio-knowledge regarding encapsulated native consortia of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) derived from five agroforestry systems (El Cristal, Chaguarpamba, Lozumba, Zapotepamba, and La Argelia). This was accomplished through morphological identification and the establishment of an AMF encapsulation protocol. The isolation of spores served as the initial step, followed by meticulous morphological characterization involving key variable such as color, shape, diameter, number of layers, among other relevant features. Once the AMF were accurately characterized, they were subsequently encapsulated using sodium alginate. Four genera were identified: *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, and *Sclerocistys*, with the genus *Glomus* being the most abundant across all five agroforestry systems and this research work has provided a significant contribution by establishing a comprehensive database concerning the biodiversity of native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in different zones within the province of Loja. Furthermore, it has successfully elucidated the intricate process of encapsulating these microorganisms, which can serve as a viable and accessible bio-input alternative for coffee farmers in the area. It is important to expand the study by conducting molecular characterization of the isolated arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) to achieve a more precise definition of the genera present in the different agroforestry systems (AFS) analyzed.

Keywords: arbuscular mycorrhizal fungi, spores, agroforestry systems, encapsulated, agroecology.

3. Introducción

La seguridad alimentaria está enfocada en el acceso de alimentos inocuos, que satisfagan las necesidades alimentarias de la población (Salazar y Muñoz, 2019). El crecimiento demográfico, los eventos naturales extremos, el cambio climático, la deforestación y expansión de la frontera agrícola, cambio del uso de suelo y reducción de la disponibilidad de agua para la agricultura, han generado un riesgo para la provisión eficiente y oportuna de alimentos (Pérez et al., 2018).

En Sudamérica, la actividad agrícola es compleja por la diversidad de saberes ancestrales y culturales de los productores, con elevados costos de producción para incrementar la productividad, a costa de la adición de grandes cantidades de agroquímicos (Héctor-Ardisana, et al., 2020). Según Castillo et al. (2020), este fenómeno se debe a la necesidad de garantizar cultivos sanos, pero que, a la vez promueven en el sector agrícola el desarrollo de prácticas productivas insostenibles que generan impactos negativos a nivel económico, social y ambiental (Andrade y Ayaviri, 2018).

Según Masaquiza (2017) en el Ecuador el sector agrícola es uno de los ejes principales de la economía, sin embargo, las estructuras agrarias aún no alcanzan niveles que permitan crear una sinergia en los niveles económico, social y ambiental. Así mismo, Añazco-Romero et al. (2018) menciona que, en el Ecuador la mayor tasa de deforestación se dio en los años noventa; no obstante, la región andina se vio mayormente afectada, por cuanto se reemplazó la vegetación natural por cultivos agrícolas, pastos y asentamientos humanos, lo que ha generado el deterioro progresivo de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, sin considerar su lenta regeneración (Novillo-Espinoza et al., 2018).

Con base en la Ley de Soberanía Alimentaria del año 2009, en el Ecuador se han impulsado procesos de transición y conversión de sistemas de producción convencional a sistemas de producción agroecológicos (Cevallos-Suárez et al., 2020). Este último requiere de

la reducción del uso de agroquímicos y su reemplazo por técnicas o procesos ecológicos, eficientes y económicos (García-Quintana et al., 2017). Los Sistemas Agroforestales (SAF) constituyen una forma de manejo eficiente del suelo, agua, nutrientes y vegetación.

Según Celi-Delgado y Aguirre-Mendoza (2022), los sistemas agroforestales son una alternativa viable de producción, debido a que potencian el valor productivo de un cultivo de importancia económico-social como es el café, y permite desarrollar estrategias agroecológicas que favorecen la biodiversidad microbiana. El cultivo del café en los SAF contribuye a la conservación de la biodiversidad, por su estrecha relación con microorganismos benéficos como los hongos micorrízicos arbusculares, así lo describe Venegas-Sánchez et al. (2018), los cuales se asocian con más del 80 % de las plantas, mejoran la nutrición mineral y facilitan la absorción de agua de la planta hospedera (Bertolini et al., 2018).

Existe evidencia de que los Hongos Micorrízicos Arbusculares (siglas HMA) favorecen el desarrollo y rendimiento del cultivo de café en términos de crecimiento y estado nutricional de las plantas (Bertolini et al., 2020). Estos microorganismos han sido estudiados para evaluar su diversidad y abundancia en diferentes sistemas de producción y su efecto en la fisiología y rendimiento del café (Vallejos-Torres et al., 2019). Son una alternativa de manejo sostenible del suelo; no obstante, su riqueza y composición difieren de acuerdo a la diversidad florística y años transcurridos desde el establecimiento de los sistemas agroforestales (Urgiles-Gómez et al., 2021).

La actividad biológica es esencial para mantener la calidad de los suelos y la eficiencia de los sistemas agroforestales, puesto que las propiedades y dinámica de las comunidades microbianas, constituyen indicadores de calidad en un SAF (Pardo-Plaza et al., 2019); es así, que en la actualidad existe diversidad de inoculantes micorrízicos comerciales, sin embargo, la información sobre consorcios nativos y la influencia en el cultivo de café asociado a los SAF es escasa (Hernández-Acosta et al., 2021). En las últimas décadas los HMA han sido utilizados

en la producción de bioinóculos a fin de aumentar su productividad (Urgiles-Gomez et al., 2019) y reducir los daños ocasionados por problemas fitosanitarios ((Bertolini et al., 2020).

El avance tecnológico y la generación de bioconocimiento, término descrito por Samaniego-Ponce (2018) como la articulación del análisis, investigación y aprehensión del mundo a partir de la integración de todas las formas de vida y múltiples relaciones que intervienen e inciden en el conocimiento, es fundamentado en las experiencias, uso sostenible de los recursos naturales, manejo de sistemas agroforestales asociados al café y biodiversidad de microorganismos del suelo (Mera-Andrade et al., 2019), lo que ha permitido realizar el estudio amplio para determinar la eficiencia y potencial de microorganismo benéficos (MB) a través de técnicas y procedimientos de formulación de estos inoculantes como la encapsulación en alginato para que constituya una alternativa viable que permita aumentar el rendimiento de los cultivos agrícolas y de interés comercial en las diferentes zonas (Bhatia, 2020).

Generar información sobre las comunidades nativas de los hongos micorrízicos aporta a la producción sostenible de alimentos, por cuanto, según lo menciona Devia-Grimaldo et al. (2021) aumentan la absorción de agua, regulan el ciclo de nutrientes, influyen en la estructura y multifuncionalidad del suelo; además, confieren a las plantas tolerancia a la sequía, metales pesados, enfermedades y patógenos; por tal motivo, el presente estudio tuvo como objetivo generar bioconocimiento sobre encapsulados de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares de sistemas agroforestales asociados al café en la provincia de Loja, los cuales constituyan la base para impulsar el desarrollo de bioinsumos accesibles para los productores de café de la zona.

Hipótesis general

Los encapsulados presentan consorcios de diversos hongos micorrízicos arbusculares nativos en los sistemas agroforestales asociados al café de la provincia de Loja.

Objetivo general

Potenciar bioconocimiento de encapsulados de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares de sistemas agroforestales asociados al café para su uso en la provincia de Loja.

Objetivos específicos

- Identificar morfológicamente consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares como indicador de biodiversidad en sistemas agroforestales de la provincia de Loja.
- Establecer un protocolo para la elaboración de encapsulados de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares, enfocado a caficultores como alternativa agroecológica en la provincia de Loja.

4. Marco teórico

4.1. Sistemas Agroforestales asociados al café

Según Rodríguez (2004) los Sistemas Agroforestales (SAF) constituyen una técnica de uso eficiente y aprovechamiento del suelo, en los cuales se asocian diferentes especies de árboles forestales, arbustos con cultivos agrícolas o con animales en el mismo terreno, de manera simultánea o en secuencia temporal. Por los múltiples beneficios que ofrecen, los SAF son considerados como una alternativa de sustentabilidad ecológica y económicamente viable.

Los SAF café o café bajo sombra proveen múltiples servicios ecosistémicos compatibles con la conservación y restauración de los ecosistemas. Entre las funciones principales de los SAF se pueden mencionar la obtención de productos agroforestales para autoconsumo y venta; regulan el microclima; favorece procesos como la polinización y el control biológico de plagas y enfermedades; aportan con la conservación de suelo por aporte de materia orgánica; reducen la erosión del suelo; actúan como hábitat de animales y plantas; aportan con la mitigación del cambio climático por la captura de carbono en la biomasa aérea (Pinoargote, 2022).

4.2. Microorganismos benéficos del suelo

En la actualidad la población mundial ha visto la necesidad de desarrollar una “agricultura sustentable”, en la que se incorpora microorganismos benéficos (de aquí en adelante MB) como alternativa en los sistemas productivos (Viera-Arroyo, 2020). La demanda de alimentos ocasiona que la agricultura enfrente graves problemas de degradación por el modelo de cultivo intensivo y el desequilibrio en el uso de fertilizantes, generando un desbalance de nutrientes y fertilidad del suelo, baja productividad y reducción en la calidad de los alimentos (Alvarez et al., 2018).

Según Alvarez et al. (2018), los microorganismos son actores importantes en un sistema de producción, pues ayudan en el desarrollo eficiente de los sistemas agrícolas sostenibles, ya que participan en múltiples procesos como la formación de agregados, aireación,

transformación de la materia orgánica, el ciclo de nutrientes, nutrición vegetal, crecimiento y desarrollo de las plantas, Por otro lado, contribuyen en la sanidad vegetal (control de plagas y enfermedades), en la regulación del clima, humedad del suelo y ayudan en la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados (Ávila-Salem et al., 2022).

El uso de MB constituye una herramienta básica para el desarrollo de una agricultura limpia. Se han realizado muchos estudios científicos que han justificado los beneficios de los MB en distintos cultivos de seguridad alimentaria como papa, arroz, maíz, entre otros (Viera-Arroyo, 2020). Ávila-Salem et al. (2022), manifiesta que entre los principales microorganismos aplicados en la agricultura están las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) como el género *Bacillus* que ejercen su acción a través de la producción de fitohormonas, enzimas y ácidos orgánicos; HMA que desarrollan una relación simbiótica con las raíces de las plantas y hongos del género *Trichoderma*.

4.3. Tipos de hongos micorrízicos

De acuerdo a la diversidad de micorrizas, estas se clasifican en:

4.3.1. Ectomicorrizas.

Según Sandoval (2019), las ectomicorrizas se caracterizan porque desarrollan una espesa capa de micelio sobre la zona cortical de las raíces absorbentes de la planta, las hifas del hongo no penetran en el interior de las células de la raíz, si no que se ubican sobre y entre las separaciones de éstas. Este tipo de micorrización predomina en especies forestales y leñosos, como roble, eucalipto y pino. Las ectomicorrizas son relativamente poco frecuentes en la naturaleza, sólo un 3 a 5 % de las plantas establecen este tipo de simbiosis.

4.3.2. Endomicorrizas

Se caracterizan por la penetración del hongo inter e intracelularmente, la ausencia de manto y las acentuadas modificaciones anatómicas en las raíces no visibles a simple vista. Dentro de este grupo se distinguen varios subtipos: arbusculares, ericoides, orchidaceas,

ectendomicorriza, arbutoides, y los monotropoides. Los sub grupos importantes desde el punto de vista de producción agrícola y forestal son los arbusculares y vesículo-arbusculares (Sandoval, 2019).

4.3.3. Ectoendomicorrizas

Presentan las características de ectomicorrizas, con la diferencia que hay penetración intracelular. Algunos autores los clasifican como endomicorrizas, mientras que otros, basándose en la cercanía filogenética de los hongos asociados con los Ascomycota y Basidiomycota, las ubican como ectomicorrizas (Sandoval, 2019).

4.4. Hongos micorrízicos arbusculares

Etimológicamente, la palabra micorriza se ha formado del término griego *mykos* que significa hongo y del vocablo latino *rhiza* que significa raíz. El término micorriza, cuyo significado literal es hongo – raíz, se aplicó por primera vez a las asociaciones que se establecen entre plantas terrestres y determinados hongos del suelo, por el patólogo alemán Albert Bernard Frank en 1885 (Pachacama, 2011).

La micorriza es la asociación simbiótica entre las raíces de las plantas hospederas y cierto grupo de hongos naturales del suelo, la cual establece una relación mutualista, por cuanto, el hongo simbionte recibe carbohidratos de la planta y a cambio el hongo brinda a la planta varios beneficios reflejados en su crecimiento, sanidad y nutrición (Rivillas et al., 2020).

Según Mondino et al. (2019), los HMA son simbiontes obligados que colonizan espontáneamente las raíces de aproximadamente el 80 % de las plantas terrestres. Estos microorganismos incrementan el crecimiento de las plantas, por cuanto les permite aumentar su capacidad de absorber agua y nutrientes minerales como fósforo (P), zinc (Zn), manganeso (Mn) cobre (Cu), así como fortalecer los mecanismos de defensas contra organismos patógenos (FAO y Mimec, 2023).

Así mismo, las plantas generan las principales fuentes del carbono necesario para el desarrollo y la multiplicación de los HMA y estos a su vez tienen la capacidad de captar iones inmóviles de fósforo y otros elementos. La interacción del hospedero con los HMA les otorga mayor resistencia a los diferentes tipos de estrés biótico y abiótico y aumenta la productividad y el desarrollo radicular de la planta gracias a la formación de micro agregados del suelo (Moína-Quimí et al., 2018).

Una de las características más importantes que tienen los HMA, es la de extenderse más allá de la zona de raíces para desarrollar una red de micelio con la posibilidad de explorar el suelo, capturar nutrientes y agua para la planta (Rivillas et al., 2020).

4.5. Taxonomía y clasificación de HMA, Glomeromycota

Redecker et al. (2013) propusieron la clasificación taxonómica más actual para los HMA (Tabla 1), basados principalmente en la morfología de estructuras micorrízicas e identificación molecular basada en análisis moleculares de regiones que abarcan genes de ARN ribosomal: 18S (SSU), ITS1-5.8S-ITS2 (ITS) y/o 28S (LSU).

Tabla 1.

Clasificación Glomeromycota de Hongos Micorrízicos Arbusculares.

Reino	División	Clase	Orden	Familia	Género	
Fungí	Glomeromycota	Glomeromycetes	Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i>	
					<i>Funneliformis</i>	
					<i>Rhizophagus</i>	
					<i>Sclerocystis</i>	
					<i>Claroideoglomus</i>	
			Diversisporales	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>	
					<i>Scutellospora</i>	
					<i>Racocetra</i>	
					<i>Acaulosporaceae</i>	<i>Acaulospora</i>
					<i>Entrophosporaceae</i>	<i>Entrophospora</i>
			Paraglomerales	Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>	
					<i>Diversispora</i>	
					<i>Diversisporaceae</i>	<i>Otospora</i>
					<i>Redeckera</i>	
					<i>Paraglomeraceae</i>	<i>Paraglomus</i>
Archaeosporales	Geosiphonaceae	<i>Geisphon</i>				
		Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>			
			Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>		

Nota: Adaptado de Redecker et al. (2013).

4.6. Características morfológicas de la familia Glomeromycota

A continuación, en la Tabla 2, se indican las características principales de las familias Glomeromycota:

Tabla 2.

Características morfológicas de las familias Glomeromycota.

Familia	Características morfológicas
Glomeraceae	<ul style="list-style-type: none"> • Etimológicamente significa “una bola de hilo”. • Las esporas son generalmente de forma esférica y sub esférica, irregulares de 40 a 70 micrones de diámetro. • Hialino bajo el microscopio varía de amarillo, negro, amarillo-marrón a rojizo o naranja. • Forman esporocarpos laxos que contienen de 1 a 20 o más esporas, están débilmente unidos por múltiples enlaces miceliales.

Familia	Características morfológicas
	<ul style="list-style-type: none"> Las hifas de las esporas son gruesas, de 5 a 6 μm de ancho y se estrechan hacia la base de las esporas.
Claroideglomeraceae	<ul style="list-style-type: none"> Forman esporas glomoides típicas que constan de una pared de tres capas: una capa externa que se desprende que tiñe el dextrinoide en el reactivo de Melzer, una capa laminada intermedia y una capa interna delgada que une el lumen de la hifa subyacente formando un “tabique”.
Gigasporaceae	<ul style="list-style-type: none"> Forman esporas asexuales grandes generalmente $>200 \mu\text{m}$. La pared de esporas consta de una capa exterior con diferentes propiedades que distinguen las especies por ejemplo color, grosor, reacción en el reactivo de Melzer. El contenido de la espora está separado del de la célula esporógena bulbosa por un tapón o, más raramente, por un tabique.
Acaulosporaceae	<ul style="list-style-type: none"> Etimológicamente significa “esporas sin un tallo”. La espora puede ser globosa, sub globosa, entre otras, y con medidas de 100 – 400 μm de diámetro. Color: blanco, café rojizo oscuro, blanca o amarilla oliva. La pared de esporas está formada por dos grupos de paredes: el primer grupo hialina restante de la bolsa “sáculo”, luego una pared laminada; y la interna más fina y flexible de 2 μm de grosor y el segundo grupo conformada por 2 paredes denominados “germinales”, transparentes .de 2 μm de espesor La pared de esporas es de un color hialino, amarillo transparente, marrón, verde grisáceo.
Entrophosporaceae	<ul style="list-style-type: none"> Esporas de forma globosa a subglobosa y tienen una pared externa y otra interna. Las capas externas son semipersistentes y evanescentes. La pared interna es gruesa, finamente laminada y se forma de novo.
Diversisporaceae	<ul style="list-style-type: none"> Las esporas son glomoides, algunas de las cuales forman un peridio que se ramifica a partir de la hifa subyacente que puede dar lugar a pequeños grupos (2-3 esporas).
Ambisporaceae	<ul style="list-style-type: none"> Producen propágulos dimórficos de esporas glomoides y acaulosporoides. Esporas glomoides hialinas con pared de esporas bicapa e hifas subyacentes. Pueden estar formados solos o en racimos.

Familia	Características morfológicas
	<ul style="list-style-type: none"> • La pared posee varias capas, cuya pared interior es semiflexible. • Tinción débil al reactivo Melzer.
Archaeosporaceae	<ul style="list-style-type: none"> • Los arbusculos generalmente se tiñen muy débilmente. • Las hifas intrarradicales tienden a teñirse un poco menos que los arbusculos. Se extiende tanto intra (3 a 10 μm de ancho) como intercelularmente. • Las hifas extrarradicales generalmente son delgadas (2-3 μm de ancho), pero abundantes alrededor de las raíces. • La estructura subcelular consiste únicamente en una pared de esporas, de las cuales la capa más externa es continua con la pared monocapa del cuello del “sáculo esporífero”. • Las esporas no forman “paredes germinales”, las cuales son delgadas y flexibles.

Nota: Adaptado de The International Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi, 2023, link (<https://invam.ku.edu/species-descriptions>).

4.7. Estructura de los hongos micorrízicos arbusculares

Las estructuras que forman los HMA son: esporas, hifas (pueden formar agrupaciones miceliarias externas o internas, células auxiliares o apresorios), arbusculos y vesículas (Guamán, 2016).

4.7.1. Esporas

Las esporas son los medios reproductivos del hongo y al germinar producen una estructura denominada hifa (Sánchez, 2017). El tamaño puede variar entre especies (15 a 800 μm) y en la mayoría de los casos las esporas son de forma globosa (esférica) sin embargo, en algunas especies las esporas pueden ser ovaladas u oblongas. Siendo la esporulación un proceso dinámico, mientras algunas esporas se forman otras están germinando (FAO y Mimec, 2023).

El tiempo de germinación es alrededor de uno a dos meses dependiendo de la especie (Sánchez, 2017); sin embargo, se han reportado trabajos, en los que el tiempo de germinación ha sido menor.

4.7.2. Hifas

El micelio intraradical corresponde al aparato de nutrición del hongo y puede desarrollarse dentro de la pared de la célula de la raíz (intracelular) o entre la pared de la célula de la raíz (intercelular). El micelio extraradical funciona como una prolongación del sistema radicular de la planta, permitiéndole explorar un área mayor de suelo (Guamán, 2016).

4.7.3. Arbúsculos

Los arbúsculos son ramificaciones dicotómicas repetidas de una hifa por lo que poseen forma de árbol. Se ha mencionado que es ahí donde tiene lugar el intercambio de nutrientes y metabolitos entre el hongo y la planta (Cedeño, 2022). Su ciclo de vida aproximado es de 1 a 3 semanas, después de lo cual se colapsa y parte de él se reabsorbe y el resto de componentes permanecen en la célula hospedera (Pachacama, 2011).

4.7.4. Vesículas

Presentan una forma ovoide y pueden formarse inter o intracelularmente. Estas constituyen el sitio de almacenamiento de energía, en forma de lípidos y azúcares; sin embargo, algunos HMA no forman vesículas (Cedeño, 2022).

4.8. Proceso de colonización.

Según Mendoza (2021) la colonización de raíces de HMA y la densidad de esporas, son más altas durante la etapa de crecimiento de las plantas; es decir, en la época de verano; mientras que, durante la época bajas temperaturas, la densidad y colonización de hongos disminuye; no obstante, Pérez y Vertel (2010) mencionan que el proceso de colonización está determinada por condiciones de campo como: factores físico-químicas del suelo (pH, temperatura, aireación, textura y contenido de materia orgánica), condiciones climáticas (intensidad y duración de la luz, temperaturas, humedad, épocas de lluvias y épocas secas) y prácticas agronómicas.

La colonización de la raíz es acompañada del desarrollo de un micelio extraradical que incluye estructuras ramificadas, las cuales están involucradas con la absorción de nutrientes

minerales. Las esporas externas se desarrollan en algunas de las fases de reproducción, completando el ciclo de vida del hongo, así durante la fase de esporulación, se forman grandes cantidades de estos propágulos; se han estimado entre 14 000 y 38 000 por raíz en cultivos monoxénicos (Cedeño, 2022); los cuales se caracterizan por la propagación de HMA mediante el uso de raíces inoculadas para la obtención masiva de esporas y micelio (Nazareno-Saparrat et al., 2018).

4.9. Simbiosis micorrízico-arbuscular

Las micorrizas establecen una simbiosis generalmente mutualista en la raíz del hospedero, o en una estructura similar, en la cual la energía se mueve de la planta al hongo y los recursos inorgánicos del hongo a la planta. Los hongos son seres vivos heterótrofos y, por lo tanto, se benefician con los hidratos de carbono sintetizados por la planta, y estos a su vez, toman y transfieren nutrientes del suelo a la raíz (principalmente fósforo y nitrógeno) y le proveen protección contra patógenos y condiciones hídricas desfavorables (Gonzalez et al., 2018).

Según lo menciona Gonzalez et al. (2018), además del aporte que brinda los hongos en cuanto al estado nutricional y el crecimiento de su hospedante vegetal, la simbiosis micorrízica ofrece otros beneficios, entre los que se destacan: la protección ante el ataque de parásitos, hongos patógenos y nemátodos, limitación de la absorción de metales pesados como el zinc y el cadmio, aumento del área de exploración de la raíz, mejoramiento de las propiedades físico-químicas del suelo mejorando la estructura y estabilidad, reduciendo su erosión y aumentando su capacidad de retención de agua. Existen factores externos como la estacionalidad y el manejo que influyen en la propagación de los HMA y pueden afectar las simbiosis en condiciones de campo (Cedeño, 2022).

4.10. Encapsulación en alginato

La encapsulación es un proceso físico-químico mediante el cual se protegen compuestos de interés, los cuales son cubiertos con una película polimérica porosa que permite mantener su viabilidad y estabilidad (Ortiz-Romero et al., 2021). La encapsulación de microorganismos está siendo ampliamente estudiada, puesto que, la finalidad es la protección de una especie en una cápsula manteniendo su estabilidad, biodisponibilidad y conservación de los componentes bioactivos y la viabilidad de microorganismos (Martín-Morales et al., 2021).

4.10.1. Técnicas de encapsulación

Existen varios métodos empleados para la encapsulación de microorganismos entre los cuales tenemos: emulsión, desecación por atomización, liofilización y extrusión o goteo; así como diferentes materiales empleados como soporte de inmovilización (Amador-Lamus, 2021).

Encapsulación por extrusión: La técnica consiste en establecer gotas de solución de alginato que contiene el componente a encapsular al hacer pasar dicha solución por un dispositivo extrusor de velocidad y tamaño de goteo controlado. Estas gotas caen sobre un baño que incluye la fuente del ion divalente, quien induce la solidificación mediante el mecanismo de gelificación externa. Además, se debe considerar parámetros que contribuyen en su forma esférica y tamaño como la distancia de separación de la boquilla al baño, el efecto de la gravedad y la tensión superficial de la solución que induce la solidificación (Andrade y Avellán, 2020).

4.10.2. Agentes encapsulantes

Los polímeros orgánicos son los compuestos más ampliamente utilizados, puesto que almacenan temporalmente los microorganismos y los libera gradualmente. Los materiales de recubrimiento empleados en la encapsulación de microorganismos son los lípidos, polisacáridos

(almidón y sus derivados amilosa, celulosa y dextrinas maltodextrinas), extractos de plantas, proteínas como el suero lácteo y alginatos (Pacheco-Aguirre et al., 2017).

El uso de alginato ha sido objeto de varios estudios por constituirse un compuesto “amigable” para las células y/o microorganismos inmovilizados. La matriz del alginato brinda protección ante los cambios físicos-químicos y la radiación UV. Adicionalmente, este compuesto más el almidón, ofrece las condiciones adecuadas para la adherencia de los microorganismos inmovilizados, garantizando la viabilidad de la población.

5. Metodología

Para el desarrollo del presente trabajo, se llevó a cabo una investigación de tipo descriptiva con la aplicación del método deductivo partiendo de los objetivos planteados y de la información obtenida sobre la caracterización morfológica de consorcios nativos de HMA y su uso para la elaboración de encapsulados.

5.1. Área de estudio

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Fisiología Vegetal y Laboratorio de Anatomía de Maderas Tropicales de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables (FARNR) de la Universidad Nacional de Loja, ubicado en las coordenadas W 699 489, S 9° 55' 739, en los cuales se realizó el aislamiento e identificación morfológica de consorcios nativos de HMA y el establecimiento de un protocolo para la elaboración de encapsulados de HMA.

5.2. Materiales, equipos y reactivos

Cajas Petri, portaobjetos, cubreobjetos, pipeta Pasteur de vidrio, micropipeta, vasos de precipitación (250 y 500 ml), tubos de ensayo, tubos Eppendorf (1,5 y 15 ml), gradilla, tamiz (# 350, #297 y #38), papel filtro, Estereomicroscopio, centrífuga, Microscopio Olympus BX 41, estufa, balanza, reactivo Melzer, Polivinil Lacto-Glicerol (PVLG), ácido láctico, azul de metileno (0,05 %), hidróxido de potasio (10 %), ácido clorhídrico, agua destilada.

5.3. Metodología para identificar morfológicamente consorcios nativos de HMA como indicador de biodiversidad en sistemas agroforestales de la provincia de Loja.

En la Tabla 3, se describen las áreas en las cuales se colectó la fuente de inóculo en los cinco sistemas agroforestales.

Tabla 3.

Descripción de los tratamientos según las áreas de colecta de las fuentes de inóculo de HMA de la provincia de Loja, Ecuador.

Código	Tratamiento	Descripción de los tratamientos	Procedencia de las fuentes de inóculo de HMA.	Altitud (m.s.n.m)	Descripción del SAF asociado al café, Loja, Ecuador.
Cons_HMA_Mal.	T1	consorcio HMA-Malacatos	hacienda el Cristal-Malacatos	2 409	Sistema asociado con Aliso (<i>Alnus acuminata</i> Kunth) y vegetación herbácea
Cons_HMA_Cha.	T2	consorcio HMA-Chaguarpamba	Chaguarpamba	800	Sistema asociado con banano (<i>Musa paradisiaca</i> L). Guayabo (<i>Psidium guajava</i> L) y Pico-Pico (<i>Acnistus arborescens</i> L).
Cons_HMA_Loz.	T3	consorcio HMA-Lozumbe	Lozumbe	843	Sistema asociado con banano (<i>Musa paradisiaca</i> L), Guaba (<i>Inga edulis</i> Mart), Naranja (<i>Citrus x sinensis</i> L.), Porotillo (<i>Erythrina velutina</i> Willd), Fernán Sánchez (<i>Triplaris cumingiana</i> Fisher y Meyer), vegetación herbácea y arbustiva.
Cons_HMA_Zap.	T4	consorcio HMA-Quinta experimental Zapotepamba	Quinta experimental Zapotepamba de la UNL.	889	Sistema asociado con aliso (<i>Alnus acuminata</i> kunth)
Cons_HMA_Arg.	T5	consorcio HMA-Quinta experimental la Argelia	Quinta experimental la Argelia de la UNL. Loja	2 125	Sistema asociado con Aliso (<i>Alnus acuminata</i> Kunth).

Fuente: Elaboración de la autora.

5.3.1. Cuantificación e identificación de esporas de HMA en el suelo

Para la extracción de esporas de HMA se utilizó la metodología de extracción de esporas del suelo por decantación descrita por Gerdemann y Nicolson (1963). Para ello, se pesó 100 g de suelo obtenido de cinco procedencias: El Cristal, Chaguarpamba, Lozumbe, Zapotepamba y La Argelia. Este suelo se colocó en tamices de granulometría de mayor a menor (#350, #297 y #38) y se procedió a lavar. El material retenido en los tamices #297 y #38 se colocó en tubos Eppendorf de 15 ml, se añadió solución de sacarosa al 70 % y se centrifugó por 4 minutos a 2

400 revoluciones por minuto (rpm). Se dejó reposar por 15 minutos y el sobrenadante se colocó en el tamiz #38, se lavó con agua destilada para remover los restos de sacarosa. Finalmente, el líquido restante del tamiz se lo dispuso en una caja Petri y se llevó al estereomicroscopio para la cuantificación de esporas.

Para el proceso de identificación, se extrajeron las esporas de HMA con una pipeta Pasteur de vidrio y se realizó el montaje en portaobjetos, agregando una gota de reactivo Melzer para tinción de las esporas y facilitar la observación de sus características morfológicas y una gota de Polivinil Lacto-Glicerol (PVLG) para fijar las esporas, se colocó el cubreobjetos.

Las placas montadas, se observaron en el microscopio con lentes de 20x, 40x y 100x, identificándose las características y estructuras de las esporas como: color, forma, diámetro, número de capas, presencia/ausencia de ornamentación. Estos criterios fueron comparados y contrastados con las claves propuestas en INVAM “International Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi” (2018) disponible en (<http://www.invam.wvu.edu/>). La observación se realizó con el microscopio y se capturaron las imágenes de los morfotipos identificados con el programa Infinity Analyze para Windows adaptado al microscopio.

5.3.2. *Determinación del porcentaje de colonización de HMA.*

Para determinar el porcentaje de colonización radicular, se empleó la técnica de tinción de Phillips y Hayman (1970).

De cada muestra recolectada de las cinco procedencias, se tomó el sistema radicular y se lavó con abundante agua para eliminar las impurezas. Se utilizó una pinza y una tijera estéril y se cortaron fragmentos de raíces de 1 cm de largo y se colocaron en KOH al 10 % en baño maría a 60 °C durante 20 minutos. A continuación, se lavaron tres veces con agua destilada y se sumergieron en HCl al 10 % por dos minutos y nuevamente se lavaron con agua destilada. Posteriormente se tiñeron con azul de metileno al 0,05 % en ácido láctico al 90 % (60 °C durante 20 min) y se dejó reposar por 24 horas. Para la evaluación se seleccionaron 15 fragmentos de

raíz teñidos por procedencia, que fueron colocados en tres portaobjetos en grupos de 5. Las placas preparadas se analizaron al microscopio con lente de 40x y 100x.

Para determinar el porcentaje de colonización se empleó el diagrama que se muestra a continuación en la Figura 1.

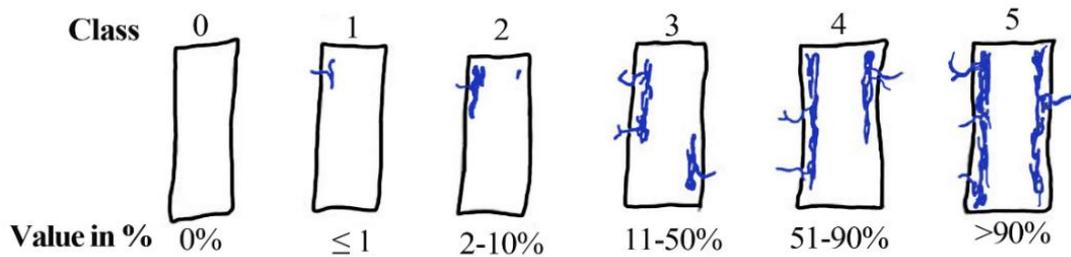


Figura 1. Diagrama de clases de colonización de HMA en raíces.

Nota. Cada fragmento de raíz se asigna a una de las siguientes clases: 0 = 0%, 1 ≤ 1%, 2 = 2-10%, 3 = 11-50%, 4 = 51-90, 5 > 90% (Trouvelot *et al.*, 1986, citado por Loján *et al.* (2017).

La frecuencia de colonización de raíces (% F) se determinó mediante la fórmula:

$$\% F = \frac{N - n_0}{N} \times 100$$

donde N es el número de fragmentos observados y n0 es el número de fragmentos sin rastros de colonización. El % de RLC (Root length colonization) final, se calculó utilizando la fórmula:

$$\% RLC = \frac{95n^5 + 70n^4 + 30n^3 + 5n^2 + n}{N}$$

donde % RLC es el porcentaje de raíz colonizada, n5, n4, n3, n2, n es respectivamente el número de fragmentos puntuados como 5, 4, 3, 2, 1 y N es el número total de fragmentos observados.

5.4. Metodología para establecer un protocolo para la elaboración de encapsulados de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares, enfocado a caficultores como alternativa agroecológica en la provincia de Loja.

5.4.1. Preparación de solución de alginato

Se preparó una solución de alginato al 2 %, para lo cual en un plato agitador y a 60 °C se colocó 200 ml de agua destilada y se adicionó gradualmente 4 g de alginato. Una vez obtenida la solución, se colocó en una botella de vidrio y se autoclavó durante 1 hora 30 min a 121 °C, hasta alcanzar la temperatura y presión requerida.

5.4.2. Encapsulación de HMA en matriz de alginato y almidón

Al alginato previamente elaborado se le adicionó: 40 g de maicena (almidón), 100 g de raíces cortadas en segmentos pequeños y 2,5 ml de ácidos húmicos. Todos los elementos se mezclaron constantemente, hasta obtener una sustancia homogénea. Para los encapsulados se colocó 1 000 ml de agua destilada en el plato agitador, y paulatinamente se agregó 11 g de CaCl₂ (cloruro de calcio) hasta que se disolvió en su totalidad.

Una vez obtenidas las soluciones de CaCl₂ y alginato (inóculo), con la ayuda de una micropipeta se tomó un volumen de 100 microlitros (µl) y gota a gota se fue colocando en la solución de CaCl₂. Este procedimiento se lo realizó hasta completar los 100 ml de inóculo preparado en matriz de alginato y almidón. Las cápsulas finalmente se colocaron sobre papel absorbente para el secado y solidificación.

5.4.3. Cuantificación de esporas de HMA en encapsulados

Para la cuantificación de HMA, se realizaron 10 repeticiones con 10 cápsulas cada una, este proceso se empleó para las cinco procedencias. En una caja se colocaron las cápsulas y se adicionó agua destilada hasta que se disuelvan en su totalidad y se llevó al estereomicroscopio para la observación y cuantificación de esporas. Finalmente se obtuvo el número promedio de esporas por cápsula.

5.5. Análisis estadístico

En el presente trabajo de investigación no se estableció diseño experimental, por cuanto es una investigación descriptiva. Se realizó un ANOVA, seguido de la prueba LSD Fisher. El nivel de significancia empleado fue de 0.05 y los análisis se realizaron mediante el software estadístico Infostat 2016.

6. Resultados

6.1. Identificación morfológica de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares

En la Tabla 4, se muestran las morfoespecies de HMA caracterizados e identificados a partir de las muestras de suelo procedentes de cinco SAF: El Cristal, Chaguarpamba, Lozumbe, Zapotepamba y La Argelia. Los SAF de Lozumbe y Zapotepamba presentaron mayor número de esporas por 100 g suelo con 197 y 151 esporas respectivamente, seguidas de El Cristal con 118 esporas, La Argelia 111 esporas y Chaguarpamba con 96 esporas cuantificadas

Tabla 4.

Cuantificación de esporas de morfoespecies de HMA 100 g suelo provenientes de cinco sistemas agroforestales.

Procedencia	Morfoespecies de HMA	Género de HMA	Nro. Esporas	Esporas Totales
El Cristal	1	<i>Glomus spp.</i>	83	118
	2	<i>Acaulospora spp.</i>	28	
	3	<i>Sclerocystis spp.</i>	1	
	4	<i>Gigaspora spp.</i>	6	
Chaguarpamba	5	<i>Glomus spp.</i>	73	96
	6	<i>Acaulospora spp.</i>	16	
	7	<i>Sclerocystis spp.</i>	3	
	8	<i>Gigaspora spp.</i>	4	
Lozumbe	9	<i>Glomus spp.</i>	142	197
	10	<i>Acaulospora spp.</i>	44	
	11	<i>Sclerocystis spp.</i>	2	
	12	<i>Gigaspora spp.</i>	9	
Zapotepamba - UNL. Paltas	13	<i>Glomus spp.</i>	137	151
	14	<i>Acaulospora spp.</i>	14	
La Argelia - UNL. Loja	15	<i>Glomus spp.</i>	111	111

Fuente: Elaboración de la autora.

En la Tabla 5, se muestran las características morfológicas de cada uno de las morfoespecies presentes en los SAF. Se identificaron cuatro géneros de HMA en las muestras procedentes de El Cristal, Chaguarpamba, Lozumbe se identificaron morfoespecies de los géneros *Glomus*, *Acaulospora*, *Sclerocystis* y *Gigaspora*; en Zapotepamba se identificaron

morfoespecies de los géneros *Glomus* y *Acaulospora*; y en La Argelia se identificó el género *Glomus*.

Tabla 5.

Características morfológicas de morfoespecies de HMA en sistemas agroforestales asociados al café.

Procedencia	Morfoespecies HMA	Color	Forma	Diámetro (µm)	Nro. de capas	Posible género
El Cristal	1	Negro	Globosa	114,17	1	<i>Glomus spp.</i>
	2	Marrón claro	Subglobosa	105,57	2	<i>Acaulospora spp.</i>
	3	Rojizo	Globosa	64,38	1	<i>Sclerocystis spp.</i>
	4	Negro	Globosa-subglobosa	197,79	1	<i>Gigaspora spp.</i>
Chaguarpamba	5	Marrón oscuro	Globosa	102,01	2	<i>Glomus spp.</i>
	6	Pardo rojizo	Globosa	125,11	2	<i>Acaulospora spp.</i>
	7	Rojizo	Globosa	51,51	1	<i>Sclerocystis spp.</i>
	8	Negro	Globosa	158,81	2	<i>Gigaspora spp.</i>
Lozumbe	9	Amarillo claro	Subglobosa	94,91	1	<i>Glomus spp.</i>
	10	Marrón claro	Globosa	89,49	1	<i>Acaulospora spp.</i>
	11	Negro	Globosa	80,07	0	<i>Sclerocystis spp.</i>
	12	Amarillo hialino	Globosa	116,73	1	<i>Gigaspora spp.</i>
Zapotepamba	13	Amarillo parduzco	Subglobosa	101,37	2	<i>Glomus spp.</i>
	14	Marrón claro	Subglobosa	108,02	2	<i>Acaulospora spp.</i>
La Argelia	15	Marrón claro	Subglobosa	83,89	2	<i>Glomus spp.</i>

Fuente: Elaboración de la autora

En la Figura 2, se presentan las morfoespecies caracterizadas morfológicamente en los SAF de El Cristal, Chaguarpamba y Lozumbe, identificándose los géneros *Glomus*, *Acaulospora*, *Sclerocystis* y *Gigaspora*. En la zona de Zapotepamba se identificaron morfoespecies del género *Glomus* y *Acaulospora*, mientras que en la zona de La Argelia se identificó el género *Glomus*. Todas las morfoespecies presentaron diferencias morfológicas de color, forma y tamaño.

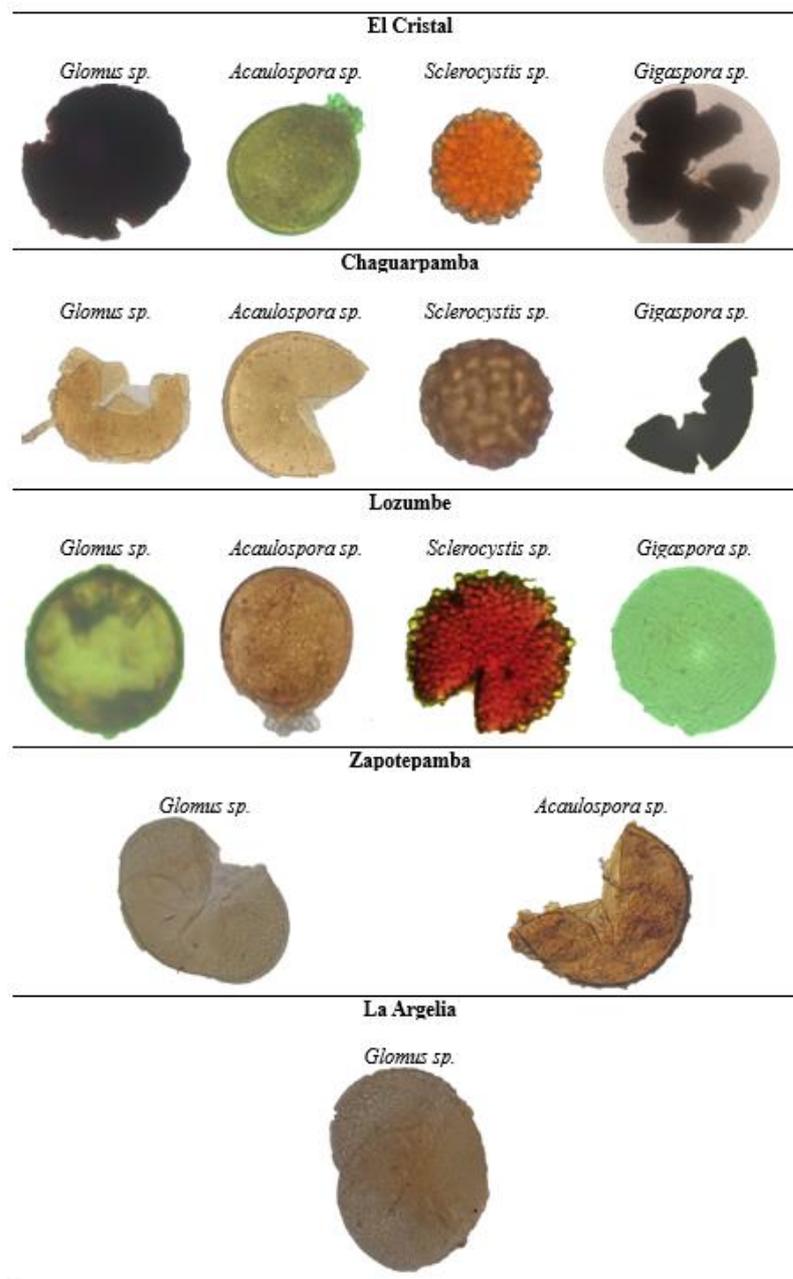


Figura 2. Caracterización morfológica de HMA (40X y 100X) en cinco sistemas agroforestales.

Fuente: Elaboración de la autora.

Contrarrestando el número de esporas identificadas y caracterizadas con la diversidad de morfoespecies presentes, se determinó que las zonas de El Cristal, Chaguarpamba y Lozumbe presentaron mayor número de morfoespecies en comparación con Zapotepamba y La Argelia, las cuales presentaron 2 y 1 morfoespecie respectivamente.

En la Figura 3 se muestra la diversidad de morfoespecies de HMA presentes en cada una de las procedencias. Se observó que el género *Glomus* al constituirse como un género cosmopolita, estuvo presente en todas las zonas de estudio; no obstante, su número por 100 g suelo difirió en cada una de ellas.

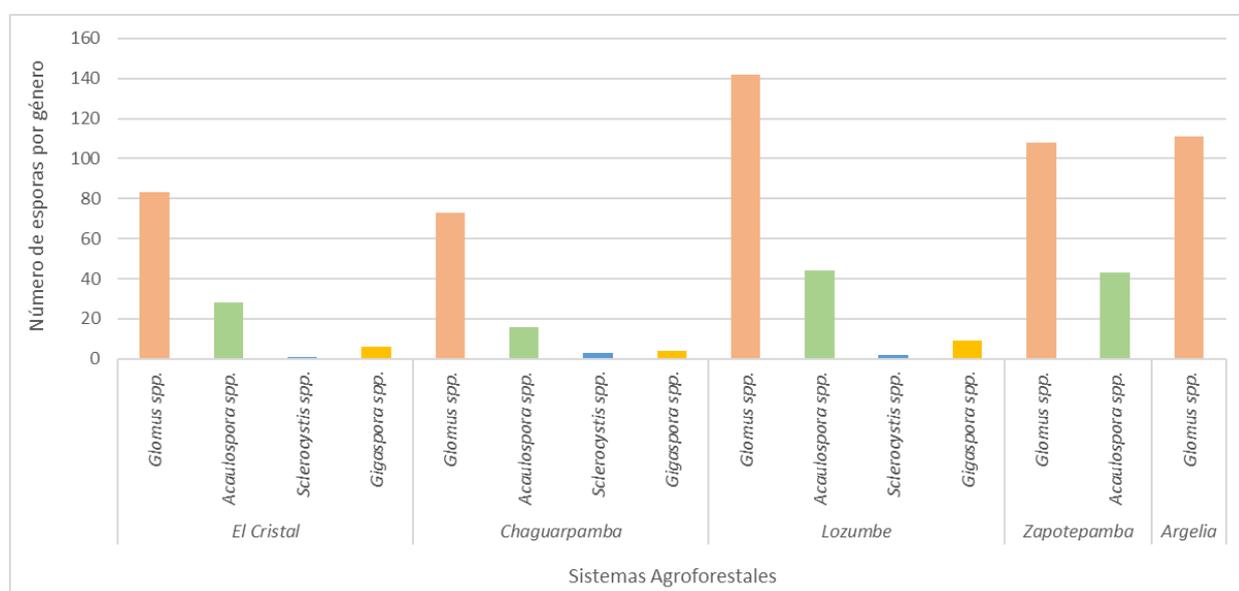


Figura 3. Cuantificación de morfoespecies de HMA en 100 g de suelo.

Si bien en la muestra de suelo de La Argelia se cuantificaron e identificaron 111 esporas por 100 g suelo, estas correspondieron únicamente a morfoespecies del género *Glomus*, por lo tanto, no se evidenció diversidad de géneros.

6.2. Porcentaje de colonización de HMA en raíz

En la Figura 4 se muestra el porcentaje de colonización en las raíces obtenidas de los cinco SAF. Se observó que las muestras de suelo de La Argelia y Lozumbe presentaron mayor porcentaje de colonización con un 19,47 % y 19,07 % respectivamente. Si bien es cierto, los SAF de El Cristal (16,73 %), Chaguarpamba (18,33 %) y Zapotepamba (17,87 %) presentaron

mayor diversidad de géneros, esto no determina su eficiencia y la capacidad de los HMA en colonizar las raíces de las plantas.

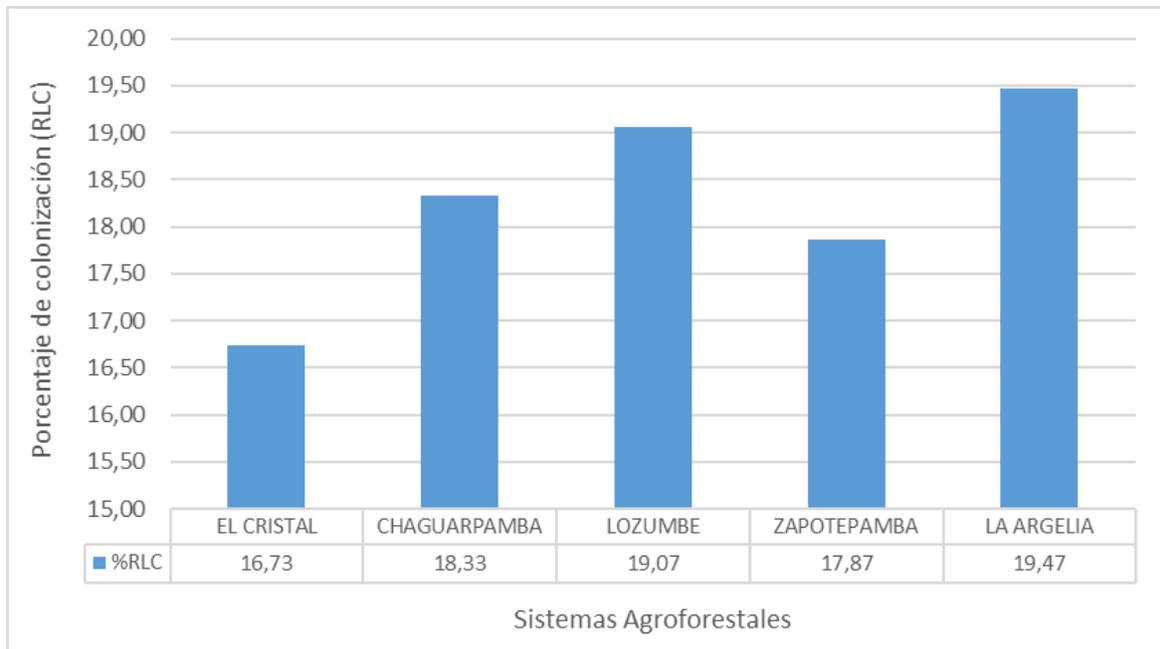


Figura 4. Porcentaje de colonización de HMA en raíces.

Las estructuras que permiten colonizar las raíces de las plantas son las hifas, vesículas, arbuscúlos; no obstante, este proceso difiere en cada una de las zonas. En la Figura 5 se muestran las estructuras de los HMA observadas.

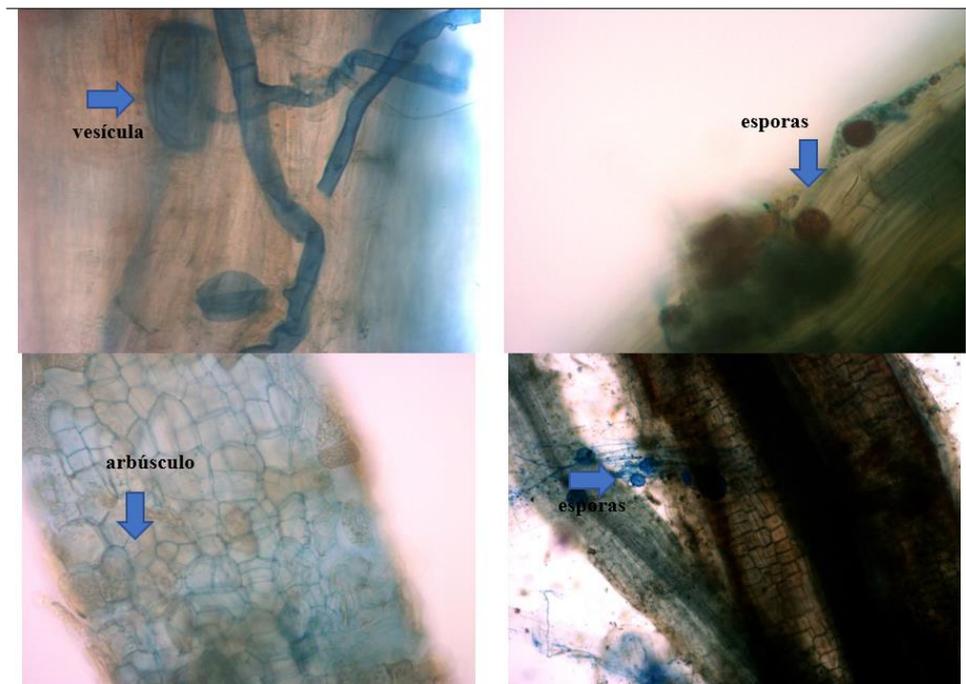


Figura 5. Estructuras de colonización de HMA (40X) en sistemas agroforestales.

Fuente: Elaboración de la autora.

Mediante prueba LSD Fisher se determinó que la colonización de HMA en los cinco sistemas agroforestales no presentaron diferencias significativas ($p>0,05$). En la Figura 6 se muestra como difiere el porcentaje de colonización entre los cinco sistemas agroforestales en comparación con el porcentaje de colonización óptimo del 100 %; no obstante, es claro que la presencia de factores climáticos y edáficos pueden inferir en la eficiencia en la colonización de los mismos.

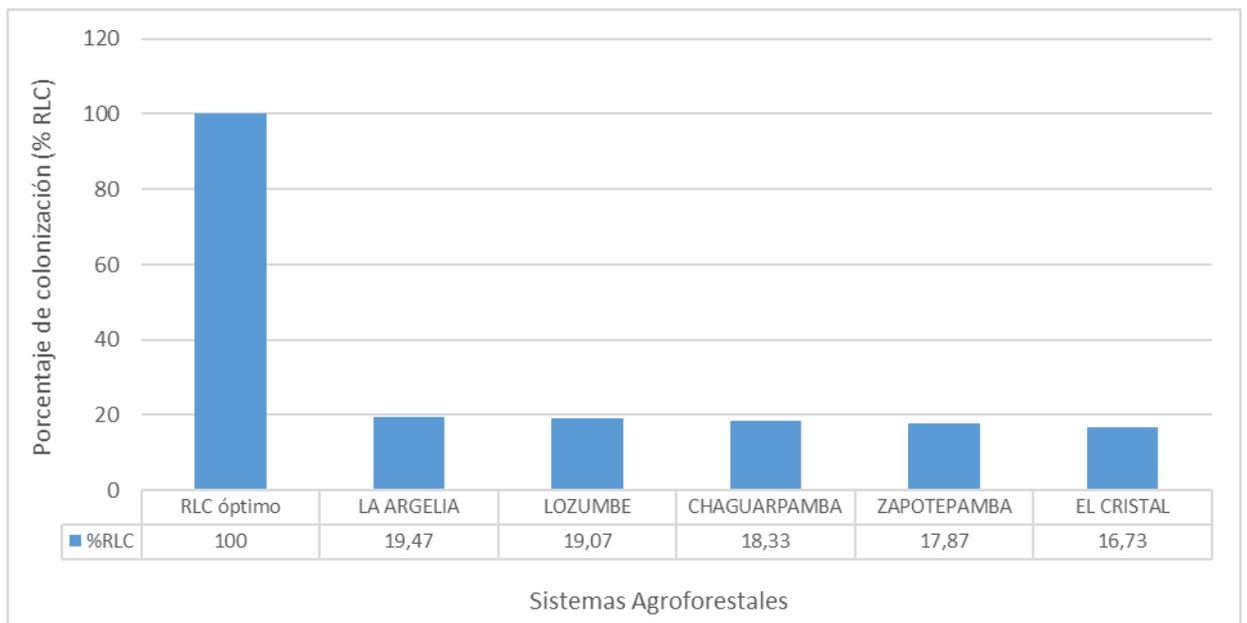


Figura 6. Porcentaje de colonización de HMA.

6.3. Cuantificación de esporas de HMA en encapsulados

La mezcla de alginato y cloruro de calcio permitió conformar encapsulados. La matriz Alginato 2 %, Ácidos húmicos al 25 %, Almidón (maicena) y CaCl_2 , después de estar en reposo a temperatura ambiente durante 24 horas mostraron una variación en su estructura física en cuanto a forma, color y tamaño.

En la Figura 7 se observan las cápsulas en la matriz de CaCl_2 , posterior a las 24 horas a temperatura ambiente y los encapsulados de HMA procedentes de los cinco sistemas agroforestales.

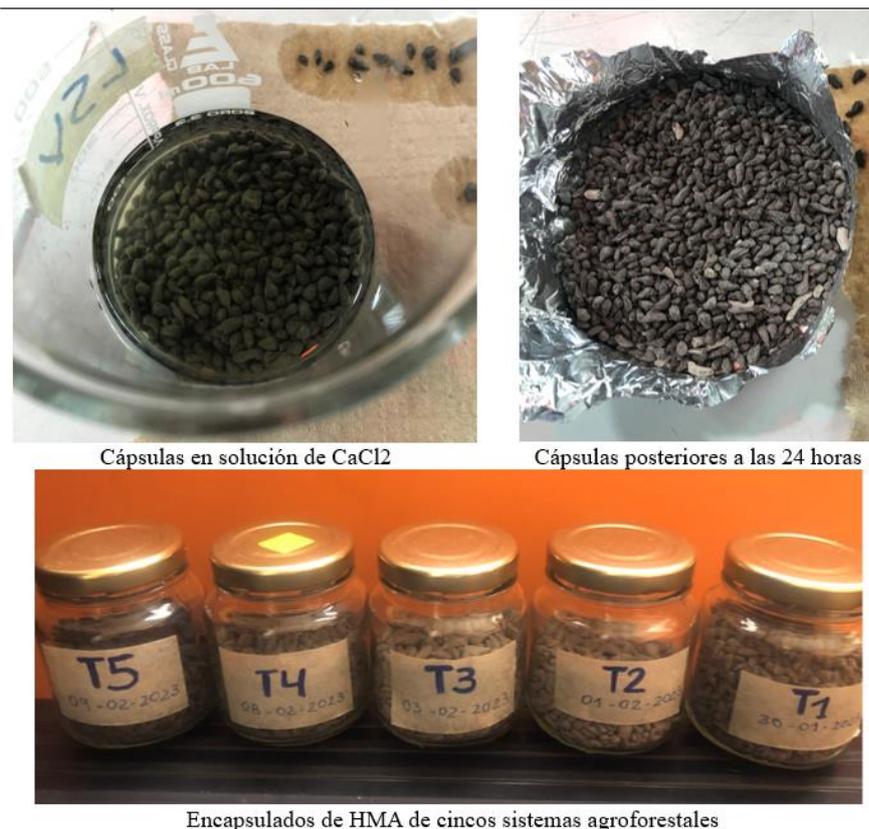


Figura 7. Encapsulados de HMA de sistemas agroforestales.

Fuente: Elaboración de la autora.

En la Tabla 6 se muestra el número promedio de esporas por cada una de los SAF, observándose que la zona de El Cristal es la que posee mayor número de esporas por cápsula, seguido de Zapotepamba, La Argelia y Chaguarpamba. La zona que presentó menor número de esporas de HMA en encapsulados fue Lozumbe. No se encontró niveles de significancia con respecto al número de esporas por cápsula y el peso promedio de las mismas.

Tabla 6.

Cuantificación de esporas de HMA en encapsulados.

Procedencia	Nro. promedio de esporas/cápsula	Peso/10 cápsulas (g)
El Cristal	8,1	0,5
Chaguarpamba	7,5	0,5
Lozumbe	7	0,3
Zapotepamba	7,8	0,2
La Argelia	7,7	0,4

Fuente: Elaboración de la autora.

7. Discusión

Las condiciones climáticas y edáficas, manejo agronómico y asociaciones vegetales son diversas en cada uno de los sistemas agroforestales asociados al café. Mediante la caracterización morfológica de los HMA, se determinó que pertenecen a los géneros *Glomus*, *Acaulospora*, *Sclerocystis* y *Gigaspora*. La zona de Lozumbe al presentar mayor diversidad de especies como banano (*Musa paradisiaca* L), guaba (*Inga edulis* Mart), naranjo (*Citrus x sinensis* L.), porotillo (*Erythrina velutina* Willd), fernán sánchez (*Triplaris cumingiana* Fisher y Meyer), vegetación arbustiva y herbácea, es el sitio en el cual se caracterizó mayor número de esporas de HMA, esto guarda relación con el trabajo realizado por Álvarez-Sánchez et al. (2017) quienes en un estudio de diversidad y abundancia de HMA, en sitios donde existen distintas etapas de regeneración identificaron los géneros *Glomus* y *Acaulospora*, destacando que la diversidad de plantas determina la de HMA. Lo descrito es ratificado por Ávila-Salem et al. (2022), quienes mencionan que una organización vegetal heterogénea, en la cual exista diversidad de especies conviviendo en un mismo espacio de suelo, presentan una alta posibilidad de identificar asociaciones exitosas con diversas especies de HMA.

Los sistemas agroforestales El Cristal asociado con aliso (*Alnus acuminata* Kunth) y vegetación herbácea, y Chaguarpamba con asociación vegetal de banano (*Musa paradisiaca* L). guayabo (*Psidium guajava* L) y pico-pico (*Acnistus arborescens* L), también presentaron diversidad de morfoespecies de HMA, conforme lo describió Mendoza-Churape et al. (2021) quienes identifican 8 géneros de HMA, refiriendo que el mayor número de especies de HMA están presentes en agroecosistemas en donde las actividades agrícolas son casi nulas. Esto se respalda con lo mencionado por Hernández-Morales et al. (2014) quienes determinaron que la diversidad y abundancia de HMA está regida principalmente por los factores edáficos y climáticos, más que por la planta huésped. Así mismo, Mendoza-Churape et al. (2021) menciona que la

composición de especies de HMA es fuertemente afectada por las labores de cultivo o el modelo de siembra en monocultivo.

Con este antecedente, se ratifica lo observado en los SAF Zapotepamba y La Argelia, sistemas agroforestales que si bien presentaron un alto número de esporas de HMA por 100 g de suelo, no se encontró diversidad de especies; así lo describió Bertolini et al. (2020) en la distribución y efecto de los hongos micorrízicos en el agroecosistema de café, además determinaron que los sistemas agroforestales asociados al café albergan una población de HMA diversa y abundante; no obstante, la alta diversidad de HMA en el sistema cafetalero puede depender del hospedero, aunque los factores bióticos y abióticos del sitio podrían determinar su presencia (Hernández-Acosta et al., 2021).

En los cinco SAF estudiados, se identificaron dos géneros: *Glomus* y *Acaulospora*. Según Bertolini et al. (2020), estos géneros y algunas de sus especies son los que más frecuentemente han sido observados en las plantaciones de café, por su alto grado de esporulación principalmente en suelos ácidos a neutros con pH entre 5,4 y 7,0. Según Hernández-Acosta et al. (2021) mencionan que el género *Glomus* es ecológicamente conocido como generalista y pese a mostrar promoción de crecimiento en las plantas, no necesariamente es la especie más eficiente. En el trabajo reportado por Veeramachaneni y Ramachandrudu (2020) mostraron que los géneros considerados como los más eficientes para café son *Gigaspora* y *Glomus*, así lo demostró el presente estudio, en el cual este género estuvo presente en los SAF El Cristal, Chaguarpamba, Lozumbe. Así lo sostiene Hernández-Acosta et al. (2021) quien comprobó que las familias con el mayor número de especies asociadas al café son Acaulosporaceae, Gigasporaceae y Glomerace, destacando que el género *Acaulospora* es un género de HMA que frecuentemente se encuentra en pH ácidos, donde el café también se desarrolla adecuadamente; así mismo el sistema de producción de café con sus diferentes métodos de manejo, alberga una alta diversidad de especies vegetales utilizadas, lo que significa que dentro de esos

agroecosistemas hay un acervo genético, cuyos hospederos influyen en la comunidad de los hongos micorrízicos. Actualmente gran cantidad de evidencia apunta a las propiedades físico-químicas del suelo como los factores determinantes de la composición de la comunidad de HMA (Álvarez-Sánchez et al., 2017). No obstante, el microclima que se mantiene dentro del sistema agroforestal y el contenido de materia orgánica crea un ambiente óptimo para la sobrevivencia de microorganismos benéficos entre los que destacan los HMA.

Estudios en sistemas tropicales como Nicaragua, Costa Rica y Brasil descritos por Álvarez-Sánchez et al. (2017) reportan el mismo comportamiento respecto de la diversidad encontrada en el presente trabajo, señalando que las esporas glomoides (especies del género *Glomus*) suelen predominar en diversas condiciones de suelo debido a que resisten más los disturbios que las especies gigasporoides (géneros *Gigaspora*, *Dentiscutata*, *Racocetra* y *Scutellospora*); es por ello, que en los sistemas agroforestales estudiados, los géneros *Gigaspora* y *Sclerocystis* fueron los que se presentaron en menor medida. Además, este autor ratifica que los géneros *Acaulospora* y *Glomus* comprenden un mayor número de especies que presentan adaptaciones a suelos degradados, poco fértiles y con valores bajos de pH, pero con alta disponibilidad de agua.

Respecto del porcentaje de colonización, autores como Pérez et al. (2012) sugieren que el porcentaje mínimo de colonización de HMA debe ser mayor al 40 % para que favorezca la relación simbiótica con la planta y sirva como indicador biológico de la calidad del suelo; en su estudio se determinaron porcentajes de colonización en promedio del 20 - 50 %, pudiendo constituir un buen referente para su posterior utilización como inóculo fúngico; no obstante, en el presente estudio se estableció el 18,29 % de colonización promedio de HMA en raíz. Si se realiza el análisis independiente por cada zona, se determina que Lozumbe y La Argelia obtuvieron el porcentaje más alto de colonización, esto se respalda con lo descrito por Alcántara-Contreras et al. (2018), quienes mencionan que la densidad de especies dentro de una

misma zona aumenta la masa radical en el suelo y por ende favorece la colonización micorrízica de HMA ya que a mayor presencia de éstas se incrementa la diversidad de géneros de HMA y consecuentemente mejora el porcentaje de colonización. Las condiciones naturales del suelo, desde el momento que se ven afectadas por factores externos sean de manera positiva o negativa, bajo estas circunstancias pueden influenciar la actividad de las micorrizas y el desarrollo de estructuras para su reproducción.

La presencia de estructuras micorrícicas no registró diferencias significativas ($p > 0.05$), resultados similares se han atribuido en estudios realizados en suelos tropicales en los cuales las condiciones edafo-climáticas son similares, así lo describió Rendón et al. (2013), quien sugiere que la escasez de estructuras (vesículas y esporas) puede deberse a que no todos los HMA son arbusculares y/o esporulantes, además, la formación de estas estructuras depende de las condiciones climáticas, físico-químicas del suelo y de las prácticas agronómicas.

La presente investigación es una evidencia de la asociación simbiótica entre el cultivo de café y los HMA en las diferentes localidades, con la presencia de estructuras características de la simbiosis como arbusculos, vesículas y esporas. El porcentaje de colonización total es un indicio de la asociación HMA-planta, aunque es evidente que hay especies generalistas que pueden asociarse con plantas de café en casi todas las regiones del mundo, pero conocer cuáles especies de HMA están asociadas al cultivo de café en las zonas de estudio y determinar su eficiencia, servirá como referencia en la producción de biofertilizantes micorrízicos.

Posterior a la caracterización morfológica, este trabajo permitió establecer un protocolo descrito previamente en la metodología para la elaboración de encapsulados y el potencial para emplearse a futuro como un bioproducto. Existen estudios como el descrito por Amador-Lamus (2021), quien determinó que el uso de alginato como material de recubrimiento, y en combinación con otros materiales, presenta grandes ventajas en cuanto a la mayor viabilidad de microorganismos. Respecto al uso a gran escala, son necesarios más estudios a fin de determinar

el comportamiento de las cápsulas, el tiempo de degradación, efectividad y tiempo de liberación de los microorganismos.

8. Conclusiones

- De acuerdo a las características morfológicas de las esporas encontradas en los cinco sistemas agroforestales asociados al café, se determinó la presencia de los géneros *Glomus*, *Acaulospora*, *Sclerocystis*, *Gigaspora*.
- El género *Glomus* estuvo presente en las cinco zonas de estudio, debido a que la distribución es cosmopolita.
- Los SAF Lozumba y Zapotepamba presentaron mayor número de esporas (198 y 151 esporas respectivamente); sin embargo, el porcentaje de colonización no difirió significativamente en las cinco zonas, es así, que el porcentaje de colonización en raíz está directamente asociada a las condiciones edafo-climáticas y diversidad vegetal.
- La caracterización morfológica de microorganismos benéficos asociados al café en sistemas agroforestales permitió plantear alternativas para el manejo sostenible de plantaciones de café en diferentes sistemas agroecológicos, así como potenciar la formulación de bioinsumos o biofertilizantes.
- Se estableció un protocolo para la elaboración de encapsulados con hongos micorrízicos arbusculares en matriz de alginato, almidón y ácidos húmicos para su posterior uso como bioinsumo.

9. Recomendaciones

- Continuar con la caracterización molecular de las esporas de hongos micorrízicos arbusculares de sistemas agroforestales asociados al café, con el objeto de conocer con precisión la biodiversidad de HMA de los SAF en la provincia de Loja, es necesario se realice este análisis, puesto que se pudiese encontrar otros géneros en estado vegetativo.
- Realizar un análisis físico-químico y biológico del estado actual del suelo de los sistemas agroforestales asociados al café, para determinar su relación con los hongos micorrízicos arbusculares presentes.
- Realizar un ensayo de la liberación de los hongos micorrízicos arbusculares en los encapsulados y su influencia sobre la morfología de las plantas de café.
- Potenciar la elaboración de los encapsulados de consorcios nativos de HMA a gran escala para ser utilizados en cultivos agroecológicos, con la finalidad de incrementar la biodiversidad de microorganismos benéficos en la rizosfera del suelo, así como también para disminuir el uso de insumos químicos.
- Generar bioconocimiento a través de la aplicación de técnicas de encapsulación de microorganismos promotores del crecimiento vegetal, no solo de consorcios nativos de hongos micorrízicos, sino también de bacterias como *Rizobium*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Bacillus*, hongos del género de *Trichoderma*, entre otros, para impulsar la agroecología y el desarrollo sostenible en la agricultura.

10. Bibliografía

- Alcántara-Contreras, G. K., Corlay-Chee, L., & Hernández-Tapia, A. (2018). Colonización micorrízica arbuscular de *Bursera bipinnata* en la Sierra de Huautla, Morelos, México. *Cadernos de Agroecología*. <https://cadernos.abagroecologia.org.br/cadernos/article/view/1299/1526>
- Alvarez, M., Tucta, F., Quispe, E., & Meza, V. (2018). Incidence of the inoculation of beneficial microorganisms in the strawberry (*Fragaria sp.*) crop. *Scientia Agropecuaria*, 9(1), 33–42. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.04>
- Álvarez-Sánchez, J., Sánchez-Gallen, I., Hernández Cuevas, L., Hernández-Oro, L., & Meli, P. (2017). Diversidad, abundancia y variación estacional en la comunidad de hongos micorrizógenos arbusculares en la selva Lacandona, Chiapas, México. *Scientia Fungorum*, 45: 37-51. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmm/v45/0187-3180-rmm-45-00037.pdf>
- Amador Lamus, I. S. (2021a). Encapsulación de un Consorcio Microbiano con Actividad Promotora de Crecimiento Vegetal (PGPM) en una Matriz de Almidón de Yuca y Alginato. Universidad de Santander.
- Amador Lamus, I. S. (2021b). Encapsulación de un Consorcio Microbiano con Actividad Promotora de Crecimiento Vegetal (PGPM) en una Matriz de Almidón de Yuca y Alginato.
- Andrade, C. M., & Ayaviri, D. (2018). Demanda y Consumo de Productos Orgánicos en el Cantón Riobamba, Ecuador. *Información tecnológica*, 29(4), 217–226. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642018000400217>
- Andrade, D., & Avellán, A. (2020). Inoculación de un consorcio microbiano autóctono encapsulado con capacidad celulolítica para la producción de compost de calidad en Manabí-Ecuador. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí.
- Añazco Romero, M. J., Vallejos Álvarez, H. V., & Vizcaino Pantoja, M. I. (2018). Dinámica de crecimiento de *alnus nepalensis* d. don en el noroccidente de Ecuador continental. *Revista Cubana de Ciencias Forestales*, 6(3), 354–365.
- Ávila-Salem, M., Urgiles Gomez, N., Lojan, P., & Araujo, S. (2022). Microorganismos benéficos en suelos de ecosistemas naturales y agroecosistemas de Ecuador. *Suelos de Ecuador: Clasificación, Uso y Manejo*, May, 387–407. <https://www.geoportalmgm.gob.ec/portal/index.php/estudios-geograficos/>
- Bertolini, V., Montaña, N. M., Chimal Sánchez, E., Varela Fregoso, L., Gómez Ruíz, J., & Martínez Vázquez, J. (2018). Abundancia y riqueza de hongos micorrizógenos arbusculares en cafetales. *Revista de Biología Tropical*, 66(1), 91–105.
- Bertolini, V., Montaña, N. M., Salazar-Ortuño, B. L., Chimal-Sánchez, E., & Varela, L. (2020). Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares en plantaciones de café (*Coffea arabica*) del volcán Tacaná, Chiapas, México. *Acta Botanica Mexicana*, 127. <https://doi.org/10.21829/abm127.2020.1602>

- Bhatia, M. (2020). A review on application of encapsulation in agricultural processes. En *Encapsulation of Active Molecules and Their Delivery System*. INC. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819363-1.00008-9>
- Castillo, B., Ruiz, J. O., Manrique, M. A. L., & Pozo, C. (2020). Contaminación por plaguicidas agrícolas en los campos de cultivos en Cañete (Perú). *ISSN*, *41*(10), 11.
- Cedeño, M. (2022). Análisis morfológico de grupos micorrízicos arbusculares presentes en sistemas agroforestales en la zona de Los Ríos. Universidad Técnica de Babahoyo.
- Celi-Delgado, L., & Aguirre-Mendoza, Z. (2022). Caracterización de los sistemas agroforestales tradicionales de la parroquia Zumba, cantón Chinchipe, Ecuador. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, *6*, 814–837. https://doi.org/https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v6i4.2626
- Cevallos-Suárez, M. P., Urdaneta, F., Jaimes, E., & Rodríguez-Balza, M. (2020). Transición agroecológica de los sistemas de producción agrícola de la provincia de Imbabura Ecuador. *Revista de la Facultad de Agronomía de La Universidad del Zulia*, 69–94.
- Fao, & Mimec. (2023). *Uso de micorrizas y sus beneficios Guía Técnica*. <https://doi.org/https://doi.org/10.4060/cc3969es> Las
- García Quintana, Y., Arteaga Crespo, Y., Chávez Esponda, D., & Lazo Pérez, Y. (2017, diciembre). Contribución de herramientas ecológicas en la formación agropecuaria y forestal en las condiciones amazónicas del Ecuador. *Revista Electronica de Veterinaria*, *18*(12).
- Gerdemann, J. W., & Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, *46*(2), 235–244. [https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(63\)80079-0](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(63)80079-0)
- Gonzalez, M., Ruscitti, M., Arango, C., & Pastorino, G. (2018). Micorrizas arbusculares y la restauración de ecosistemas degradados. *Libros de Cátedra*, 52–63.
- Guamán, P. (2016). Identificación de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de chinchona spp. en sitios perturbados y no perturbados de la provincia de Loja. En *Utpl* (Vol. 1).
- Héctor-Ardiana, Eduardo; Torres-García, Antonio; Fosado-Téllez, O., Peñarrieta-Bravo, Soraya; Solórzano-Bravo, Jorge; Jarre-Mendoza, Vicente; Medranda-Vera, F., & Montoya-Bazán, José. (2020). Influencia de bioestimulantes sobre el crecimiento y el rendimiento de cultivos de ciclo corto en Manabí, Ecuador. *Cultivos Tropicales*, *41*(4), 2.
- Hernández-Acosta, E., Banuelos, J., & Trejo-Aguilar, D. (2021). Distribution and effect of mycorrhizal fungi in the coffee agroecosystem: A review. *Revista de Biología Tropical*, *69*(2), 445–461. <https://doi.org/10.15517/rbt.v69i2.42256>
- Hernández-Morales, J. L., López-Sánchez, C., & Palma-Cruz, F. de J. (2014). Caracterización morfológica de micorriza arbuscular asociada a agave potatorum zucc. con potencial de uso agronómico 1 [morphological characterization of arbuscular mycorrhizal associated to *Agave potatorum* Zucc. with agronomic potential]. En *Revista Mexicana de Agroecosistemas* (Vol. 1, Número 2). <https://www.researchgate.net/profile/Jose->

Hernandez-Morales-

2/publication/363330859_CHARACTERIZACION_MORFOLOGICA_DE_MICORRIZA_ARBUSCULAR_ASOCIADA_A_Agave_potatorum_Zucc_CON_POTENCIAL_DE_USO_AGRONOMICO_MORPHOLOGICAL_CHARACTERIZATION_OF_ARBUSCULAR_MYCORRHIZAL_ASSOCIATED_TO_Agave_potator/links/6317f6e061e4553b956e9e99/CARACTERIZACION-MORFOLOGICA-DE-MICORRIZA-ARBUSCULAR-ASOCIADA-A-Agave-potatorum-Zucc-CON-POTENCIAL-DE-USO-AGRONOMICO-MORPHOLOGICAL-CHARACTERIZATION-OF-ARBUSCULAR-MYCORRHIZAL-ASSOCIATED-TO-Agave-potator.pdf

- Loján, P., Senés-Guerrero, C., Suárez, J. P., Kromann, P., Schüßler, A., & Declerck, S. (2017). Potato field-inoculation in Ecuador with *Rhizophagus irregularis*: no impact on growth performance and associated arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Symbiosis*, 73(1), 45–56. <https://doi.org/10.1007/s13199-016-0471-2>
- Martín-Morales, C., Fernández-Méndez, J., Aranda, P., & Ruiz-Hitzky, E. (2021). Contribución al estudio de la encapsulación de microorganismos mediante el uso de arcillas y biopolímeros.
- Masaquiza, L. (2017). Producción agrícola y desarrollo económico de los productores agrícolas de la parroquia El Rosario del cantón Pelileo en Universidad Técnica de Ambato. Universidad técnica de Ambato.
- Mendoza, D. (2021). *Universidad técnica estatal de quevedo facultad de ciencias agropecuarias*.
- Mendoza-Churape, J., Apáez-Barrios, P., Raya-Montaña, Y. A., Pedraza-Santos, M. E., Aguirre-Paleo, S., Vargas-Sandoval, M., & Lara-Chávez, Ma. B. N. (2021). Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares en monocultivo de trigo en Michoacán, México. *Scientia Fungorum*, 51, e1369. <https://doi.org/10.33885/sf.2021.51.1369>
- Mera-Andrade, R., Bejarano-Rivera, C., Sánchez-Espín, J., Artieda-Rojas, J., Pomboza-Tamaquiza, P., Albán-Yáñez, C., Latorre-Tapia, L., Carrión-Cevallos, M. J., Zarabia-Calero, R., & Tapia-Montenegro, I. (2019). Aplicación del bioconocimiento ancestral en la producción agropecuaria. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 22, 837–843.
- Moína-Quimí, E., Oviedo-Anchundia, R., Nieto-Barcelona, S., Herrera-Samaniego, P., & Barcos-Arias, M. (2018). Evaluation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi from humid tropical areas of Ecuador. *Bionatura*, 3(1), 531–536. <https://doi.org/10.21931/RB/2018.03.01.9>
- Mondino, E. A., Thougnon Islas, A. J., & Covacevich, F. (2019). Potencialidad en el control de infección de nematodos en tomate por hongos micorrícicos arbusculares nativos. *Horticultura Argentina*, 38(96), 20–29.
- Novillo Espinoza, I. D., Carrillo Zenteno, M. D., Cargua Chavez, J. E., Moreira, V. N., Albán Solarte, K. E., & Morales Intriago, F. L. (2018). Propiedades físicas del suelo en diferentes sistemas agrícolas. *Temas Agrarios*, 23(2), 177–187. <https://doi.org/https://doi.org/10.21897/rta.v23i2.1301>

- Ortiz-Romero, N., Ochoa-Martínez, L. A., González-Herrera, S. M., Rutiaga-Quiñones, O. M., & Gallegos-Infante, J. A. (2021). Avances en las investigaciones sobre la encapsulación mediante gelación iónica: una revisión sistemática. *TecnoLógicas*, 24(52), 1–19. <https://doi.org/https://doi.org/10.22430/22565337.1962>
- Pachacama, S. (2011). Aplicación de un consorcio de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y su evaluación como posible biofertilizante en el cultivo de cebada (*hordeum vulgare*, variedad cañicapa) en la hacienda Aychapicho. Machachi - Ecuador. Escuela Politécnica del Ejército.
- Pacheco-Aguirre, J. A., Ruíz-Sánchez, E., Ballina-Gómez, H. S., & Alvarado-López, C. J. (2017). ¿Mejora el encapsulamiento basado en polímeros el desempeño de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal? Una visión de meta-análisis. *Agrociencia*, 51(2), 173–187.
- Pardo-Plaza, Y. J., Paolini Gómez, J. E., & Cantero Guevara, M. E. (2019). Biomasa microbiana y respiración basal del suelo bajo sistemas agroforestales con cultivos de café. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 22(1), 1–8. <https://doi.org/https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n1.2019.1144>
- Pérez, A., Leyva, D., & Gómez, F. (2018). Desafíos y propuestas para lograr la seguridad alimentaria hacia el año 2050. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(1), 175–189.
- Phillips, J. M., & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), 158-188. [https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(70)80110-3)
- Pinoargote, M. (2022). Tópicos selectos de investigación en conservación de recursos naturales en América Latina. En *Tópicos selectos de investigación en conservación de recursos naturales en América Latina* (Número February).
- Redecker, D., Schüßler, A., Stockinger, H., Stürmer, S. L., Morton, J. B., & Walker, C. (2013). An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza*, 23(7), 515–531. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0486-y>
- Rendón, Y., Mancipe, C., Andrade, V., Bello, G., Sánchez, J., Campos, S., & Rivera, H. (2013). Caracterización de hongos formadores de micorrizas arbusculares en maíz (var.ica-508) de cajicá (colombia) characterization of fungi formers arbuscular mycorrhizae in Corn (var.ica-508) of Cajica (Colombia). *Artículo de investigación científica. Suelos Ecuatoriales*, 43(1), 29–34. <http://www.statistix.com/>
- Rivillas, C., Calle, C., & Ángel, C. (2020). Micorrizas arbusculares. Aplicación de ciencia, tecnología e innovación en el cultivo del café ajustado a las condiciones particulares del huila. *Micorrizas arbusculares*. <https://doi.org/10.35537/10915/99599>
- Rodríguez, L. (2004). *Sistemas agroforestales en café Produciendo más que una bebida*. 19.
- Salazar, L., & Muñoz, G. (2019). Seguridad Alimentaria en America Latina. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53, 1689–1699. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.18235/0001784>

- Sánchez, T. (2017). Efecto de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas clonales de café (*Coffea arabica* L.) Variedad caturra en condiciones de invernadero, rodríguez de mendoza, región amazonas.
- Sandoval, J. (2019). Efecto de tres consorcios específicos de hongos micorrízicos arbusculares nativos en la biofertilización de plantas de Café (*Coffea arabica*) variedad pache en las provincias de Moyobamba, Lamas y Huallaga de la Región San Martín.
- Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986) Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S (eds) Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. INRA Press, Paris, pp 217–221
- Urgiles Gomez, N., Lalangui Zhingre, C., Chamba Quiñonez, E., Loján Armijos, P., Poma López, L., Encalada Cordova, M., & Aguirre Mendoza, N. (2019). Aislamiento y caracterización morfológica de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) de zonas riparias del Sur del Ecuador: un enfoque a la producción de biofertilizantes. Revista del Centro de Estudio y Desarrollo de la Amazonia, 09(11), 1–7.
- Urgiles-Gómez, N., Guachanamá-Sánchez, J., Granda-Mora, I., & Robles-Carrión, Á. (2021). Caracterización morfológica de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) asociados al café en sistemas agroforestales de la provincia de Loja , Ecuador Morphological characterization of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) associated with coffee in Agrofor. December 2020.
- Vallejos-Torres, G., Arévalo, L., Iliquin, I., & Solis, R. (2019). Field response of coffee clones to inoculation with consortium of arbuscular mycorrhizal fungi in the Amazonas Region, Peru. Información Tecnológica, 30(6), 73–84. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642019000600073>
- Venegas Sánchez, S., Orellana Bueno, D., & Pérez Jara, P. (2018). La realidad Ecuatoriana en la producción de café. Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento, 2(2), 72–91. [https://doi.org/10.26820/recimundo/2.\(2\).2018.72-91](https://doi.org/10.26820/recimundo/2.(2).2018.72-91)
- Veeramachaneni, S., & Ramachandrudu, K. (2020). Changes in growth, microbial and enzyme activities in oil palm nursery in response to bioinoculants and chemical fertilizers. Archives of Agronomy and Soil Science, 66(4), 545-558.
- Viera-Arroyo, W. F. (2020). Rol de los microorganismos benéficos en la Agricultura Sustentable. Journal of the Selva Andina Biosphere, 8(2), 67–68. <https://doi.org/10.36610/j.jsab.2020.080200067>

11. Anexos

Anexo 1. Tabla de color Munsell para HMA.

Tablas de color Munsell



Adaptado de: http://edafologia.ugr.es/programas_suelos/practclas/abcsol/comun/munsells.htm

Anexo 2. Registro fotográfico del proceso de caracterización morfológica y elaboración de encapsulados.



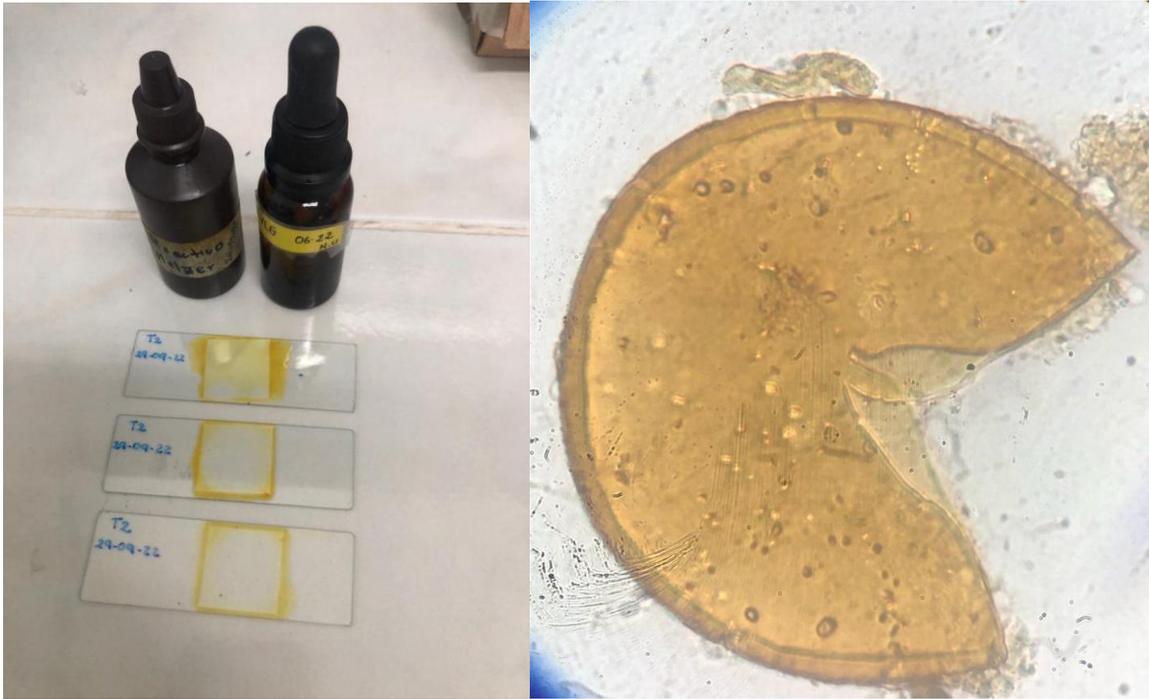
Cultivos trampa con maíz (*Zea mays*)



Lavado de suelo.



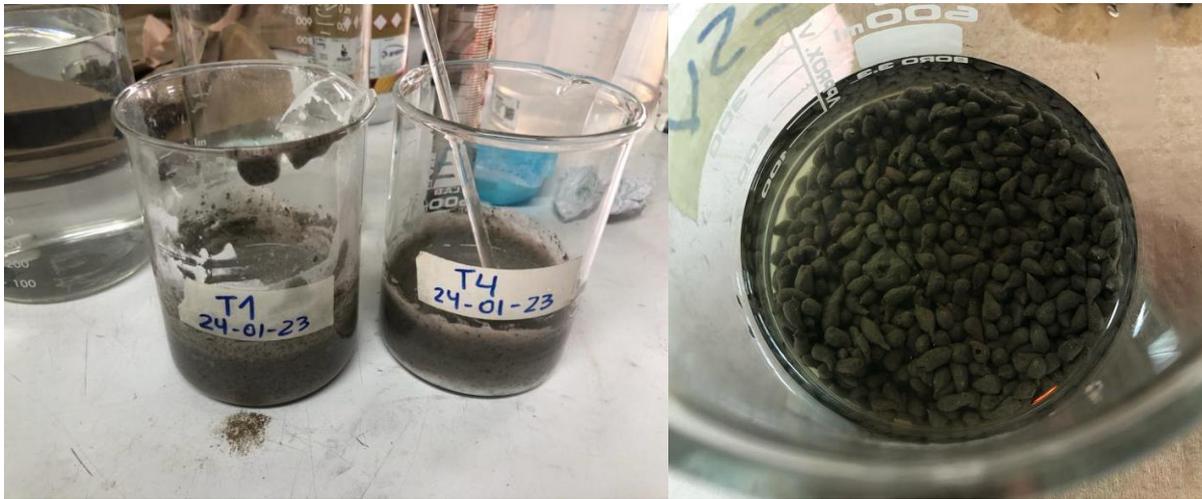
Aislamiento de esporas de HMA



Montaje de esporas



Proceso de aclareo de raíz



Proceso de elaboración de encapsulados.

Anexo 3. Certificado de traducción.

CERTIFICADO DE TRADUCCIÓN

Yo, Eduardo Alexander Vargas Romero, con número de cédula 1104605454 y con título de Licenciado en Ciencias de la Educación, Mención Inglés, registrado en el SENESCYT con número 1031-15-1437415

CERTIFICO:

Que he realizado la traducción de español al idioma Inglés del resumen del presente trabajo de titulación denominado **“GENERACIÓN DE BIOCONOCIMIENTO SOBRE ENCAPSULADOS DE CONSORCIOS NATIVOS DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES DE SISTEMAS AGROFORESTALES ASOCIADOS AL CAFÉ EN LA PROVINCIA DE LOJA”** de autoría de **María de los Angeles Ochoa Tapia**, portadora de la cédula de identidad, número **1104385230**, estudiante de la Maestría en Agroecología y Desarrollo Sostenible de la Universidad Nacional de Loja, siendo el mismo verdadero y correcto a mi mejor saber y entender.

Es todo en cuanto puedo certificar en honor a la verdad, facultando al interesado hacer uso del presente en lo que se creyera conveniente.



Lic. Eduardo Alexander Vargas Romero, Mgs.

C.I. 1104605454

Registro del SENESCYT: 1031-15-1437415