



**unl**

Universidad  
Nacional  
de Loja

## Universidad Nacional de Loja

### Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

#### Carrera de Ingeniería Agronómica

### EVALUACIÓN DE FORMULACIONES DE CONSORCIOS NATIVOS DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE CAFÉ (*Coffea* sp) EN CONDICIONES CONTROLADAS.

Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo

#### **AUTOR:**

Michael Alexander Tucto Yanza

#### **DIRECTORA:**

Ing. Narcisa de Jesús Urgiles Gómez PhD.

Loja –Ecuador

2023

## Certificación

Loja, 06 de marzo de 2023

PhD. Narcisa de Jesús Urgiles Gómez

**DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

### **C E R T I F I C O:**

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Titulación denominado: **Evaluación de formulaciones de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en el crecimiento de plántulas de café (*Coffea* sp) en condiciones controladas**, previo a la obtención del título de **Ingeniero Agrónomo**, de la autoría del estudiante **Michael Alexander Tucto Yanza**, con **cédula de identidad Nro. 1105009524**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Nacional de Loja, apruebo y autorizo su presentación para los tramites de titulación.



PhD. Narcisa de Jesús Urgiles Gómez

**DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

## **Autoría**

Yo, **Michael Alexander Tucto Yanza**, declaro ser autor 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:** 1105009524

**Fecha:** 02 de agosto del 2023

**Correo electrónico:** [michael.tucto@unl.edu.ec](mailto:michael.tucto@unl.edu.ec)

**Celular:** 0994083101

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

Yo, **Michael Alexander Tucto Yanza** declaro ser autor del Trabajo de Titulación denominado: **EVALUACIÓN DE FORMULACIONES DE CONSORCIOS NATIVOS DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE CAFÉ (*Coffea sp*) EN CONDICIONES CONTROLADAS**, como requisito para optar por el título de **Ingeniero Agrónomo**, 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 dos días del mes de agosto del dos mil veintitrés.

**Firma:** 

**Autor:** Michael Alexander Tucto Yanza

**Cédula:** 1105009524

**Dirección:** Loja, Reinaldo Espinoza

**Correo electrónico:** [michael.tucto@unl.edu.ec](mailto:michael.tucto@unl.edu.ec)

**Celular:** 0994083101

**DATOS COMPLEMENTARIOS:**

**Director de Trabajo de Titulación:** PhD. Narcisa de Jesús Urgiles Gómez

## **Dedicatoria**

A MIS AMADOS PADRES, Miguel Alejandro Tucto Villashañay y Miriam Lorena Yanza Gordillo por ser la base fundamental para mi superación quienes con gran cariño, esfuerzo y sacrificio supieron apoyarme en todo momento para poder cumplir con mi anhelada meta de culminar mis estudios universitarios.

A MI AMADA ABUELITA, Rosa Elvira Villashañay, por ser el gran ejemplo de lucha y sabiduría, quien ha logrado plasmar amor, cariño y sobretodo esfuerzo en cada uno de sus familiares, ahora desde el cielo te dedico esta meta.

A MIS HERMANOS, Miriam Alexandra y David Alejandro, por ser mis compañeros en el transcurso de la vida, del mismo modo a mis familiares y amigos que han aportado estabilidad y resiliencia en todo desafío afrontado.

A la Srta. Nathaly Andrea Lima Songor, mi enamorada, por ser mi apoyo incondicional en todo momento; me motivo a seguir adelante y cumplir con mis sueños.

A MIS COMPAÑEROS, en especial a mis MEJORES AMIGAS Y AMIGOS, quienes me acompañaron durante la vida universitaria, apoyándome y animándome a seguir adelante.

***Michael Alexander Tucto Yanza***

## **Agradecimientos**

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de Loja, Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, carrera de Ingeniería Agronómica y a todos los docentes que contribuyeron en mi formación académica y profesional.

A mi tutor de trabajo de titulación Ing. Narcisa de Jesus Urgiles Gomez, PhD, guía de este trabajo investigativo, quien gracias a sus enseñanzas, paciencia y apoyo se logró culminar exitosamente el proyecto. De igual manera, a la Ing. Lucia Quichimbo, Ing. Tania Sarango por sus sugerencias en las partes técnicas del trabajo.

Así mismo, agradezco a mis compañeros de clase y amigos: Ariel Avalos y Milton Franco, quienes me han apoyado en todo el transcurso de la carrera.

***Michael Alexander Tucto Yanza***

## Índice de contenidos

<b>Portada</b> .....	i
<b>Certificación</b> .....	i
<b>Autoría</b> .....	ii
<b>Carta de autorización</b> .....	iii
<b>Dedicatoria</b> .....	iv
<b>Agradecimientos</b> .....	v
<b>Índice de contenidos</b> .....	vi
<b>Índice de figuras</b> .....	ix
<b>Índice de tablas</b> .....	x
<b>Índice de anexos</b> .....	xi
<b>1. Título</b> .....	1
<b>2. Resumen</b> .....	2
2.1. Abstract .....	3
<b>3. Introducción</b> .....	4
<b>4. Marco teórico</b> .....	7
4.1. Cultivo del café .....	7
4.1.1. Taxonomía .....	7
4.1.2. Importancia del café para Ecuador .....	7
4.1.3. Principales zonas cafetaleras del Ecuador .....	7
4.1.4. Producción ecuatoriana del café .....	8
4.2. Generalidades de las micorrizas .....	8
4.2.1. Ciclo de vida de las micorrizas .....	9
4.3. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA) .....	10
4.3.1. Proceso de colonización de los HMA .....	10
4.3.1.1. Primera etapa .....	10
4.3.1.2. Segunda etapa .....	10

4.3.1.3. Tercera etapa.....	11
4.4. Estructuras de las micorrizas arbusculares .....	11
4.5. Clasificación de los hongos micorrízicos arbusculares.....	12
4.6. Fuentes de inóculos.....	13
4.7. Biofertilizantes .....	14
4.7.1. Generalidades.....	14
4.7.2. Composición.....	14
<b>5. Metodología</b> .....	<b>15</b>
5.1. Ubicación del estudio.....	15
5.2. Diseño Experimental.....	15
5.3. Colecta de muestras de suelo y raicillas.....	15
5.4. Metodología para el primer objetivo.....	16
5.4.1. Extracción y conteo de esporas .....	16
5.4.2. Montaje de placas .....	17
5.4.3. Caracterización morfológica de esporas de hongos micorrízicos .....	17
5.4.4. Formulaciones de consorcios de hongos micorrízicos arbusculares y aplicación en plántulas de café .....	18
5.4.5. Cuantificación de consorcios encapsulados de HMA .....	19
5.5. Metodología para el segundo objetivo específico.....	19
5.5.1. Siembra del café con la aplicación de encapsulados de consorcios de HMA .....	19
5.5.2. Evaluación de variables de crecimiento en plántulas de café.....	19
5.5.3. Evaluación del porcentaje de colonización en plántulas de café.....	20
5.6. Análisis estadístico.....	20
<b>6. Resultados</b> .....	<b>21</b>
6.1. Resultados del primer objetivo.....	21
6.1.1. Conteo de esporas .....	21



6.1.2. Caracterización morfológica de esporas de hongos micorrízicos encontrados en cultivos trampa ( <i>Plantago lanceolata</i> ). .....	21
6.1.3. Principales géneros de HMA procedentes de cultivos trampa.....	22
6.2. Resultados del segundo objetivo .....	23
6.2.1. Altura de las plántulas .....	23
6.2.2. Diámetro del tallo.....	24
6.2.3. Número de hojas .....	25
6.2.4. Biomasa seca radicular y foliar .....	26
6.2.5. Colonización micorrízica de HMA en raíces de plantas de café .....	27
6.2.6. Observación de colonización de hongos micorrízicos arbusculares en raíces de café. ....	27
<b>7. Discusión</b> .....	<b>29</b>
<b>8. Conclusiones</b> .....	<b>32</b>
<b>9. Recomendaciones</b> .....	<b>32</b>
<b>10. Bibliografía</b> .....	<b>33</b>
<b>11. Anexos</b> .....	<b>39</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b>	Estructuras de los HMA.....	11
<b>Figura 2.</b>	Mapa de ubicación de las zonas donde se colectaron las muestras de suelo	16
<b>Figura 3.</b>	Proceso de encapsulación de HMA .....	18
<b>Figura 4.</b>	Frecuencia de esporas de hongos micorrízicos arbusculares en 100 g de suelo obtenido de plantas trampa cultivadas a partir de suelo de tres fincas de café en sistema agroforestal. ....	21
<b>Figura 5.</b>	Caracterización morfológica de HMA.....	23
<b>Figura 6.</b>	Efecto de tres formulaciones de HMA en la altura de las plántulas de café variedad caturra evaluadas a los 120 días desde la inoculación .....	24
<b>Figura 7.</b>	Efecto de tres formulaciones de encapsulados de HMA en diámetro del tallo plántulas de café variedad caturra evaluadas a los 120 días desde la inoculación.....	25
<b>Figura 8.</b>	Efecto de tres formulaciones de HMA en cuanto al número de hojas en las plántulas de café variedad caturra evaluadas a los 120 días desde la inoculación.....	26
<b>Figura 9.</b>	Comparación del efecto de las tres formulaciones de HMA en relación a la biomasa seca foliar y radicular de las plántulas de café variedad caturra evaluadas a los 120 días desde la inoculación .....	26
<b>Figura 10.</b>	Porcentaje de colonización de HMA en raíces de plántulas de café variedad caturra. ....	27
<b>Figura 11.</b>	Estructuras microscópicas de HMA en raíz de plántulas de café .....	28
<b>Figura 12.</b>	Escala de porcentaje de micorrización en raíces .....	50

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de los HMA.....	13
<b>Tabla 2.</b> Descripción de tratamientos de HMA aplicados en plántulas café.....	15
<b>Tabla 3.</b> Características morfológicas de morfotipos de esporas de HMA en cultivos trampa.....	22

## Índice de anexos

<b>Anexo 1.</b>	Técnica del tamizado y Extracción de esporas.....	39
<b>Anexo 2.</b>	Preparación de capsulas de HMA .....	40
<b>Anexos 3.</b>	Establecimiento del cultivo de café var Caturra.....	42
<b>Anexo 4.</b>	Preparación y enfundado de sustrato.....	42
<b>Anexo 5.</b>	Tratamientos utilizados en el periodo de estudio. ....	43
<b>Anexo 6.</b>	Aplicación de tratamientos y cronograma de evaluación.....	43
<b>Anexo 7.</b>	Evaluación de la altura de la planta.....	44
<b>Anexo 8.</b>	Evaluación del diámetro del tallo utilizando un calibrador.....	44
<b>Anexo 9.</b>	Muestras para determinar las diferentes variables fisiológicas .....	45
<b>Anexo 10.</b>	Cuantificación de número de esporas de consorcios de HMA.....	45
<b>Anexo 11.</b>	Diferencia en variables morfológicas (entre tratamientos) .....	45
<b>Anexo 12.</b>	Promedios de las variables morfológicas .....	46
<b>Anexo 13.</b>	Análisis de varianza ANOVA y test de Tukey para altura de la planta ....	46
<b>Anexo 14.</b>	Análisis de varianza ANOVA y test de Tukey para el diámetro del tallo .....	47
<b>Anexo 15.</b>	Análisis de varianza ANOVA y test de Tukey para el número de hojas ..	48
<b>Anexo 16.</b>	Análisis de varianza ANOVA y test de Tukey para biomasa .....	48
<b>Anexo 17.</b>	Análisis de varianza ANOVA y test de Tukey para el porcentaje de colonización de hongos micorrizicos en plántulas de café.....	49
<b>Anexo 18.</b>	Técnica para el porcentaje de colonización.....	49
<b>Anexo 19.</b>	Tercera visita de campo socialización de resultados el proyecto de investigación.....	51
<b>Anexo 20.</b>	Certificación de traducción Abstract.....	52

## **1. Título**

Evaluación de formulaciones de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en el crecimiento de plántulas de café (*Coffea* sp) en condiciones controladas.

## 2. Resumen

Los biofertilizantes también conocidos como bioinoculantes o inoculantes microbianos son productos que contienen microorganismos vivos o latentes que pueden ser bacterias, microalgas y hongos, solos o combinados y que son agregados a los cultivos agrícolas para estimular su crecimiento y productividad. El objetivo de este estudio fue evaluar el crecimiento de plántulas de café (*Coffea* sp.) variedad caturra en condiciones controladas mediante indicadores morfológicos con la aplicación de tres formulaciones o encapsulados de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y un control: T0: HMA-Control (30 cápsulas sin HMA), T1: HMA-Bajo (10 cápsulas con HMA), T2: HMA-Medio (20 cápsulas con HMA), y T3: HMA-Alto (30 cápsulas con HMA). Se realizó una caracterización morfológica de HMA. Las variables morfológicas del café las evaluaciones se realizaron cada 15 días durante cuatro meses, mientras que biomasa seca foliar y radicular de las plántulas y porcentaje de colonización de raíces en plántulas de café se evaluaron una sola vez a los 120 días. Para la evaluación se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con 4 tratamientos (Bioestimulantes + control) y tres repeticiones. Se identificó tres géneros de HMA: *Glomus*, *Acaulospora* y *Scutellospora*, y tres morfoespecies del consorcio de HAM proveniente de Malacatos. Al analizar las variables morfológicas, el tratamiento HMA-Alto obtuvo el mayor promedio en altura de planta y diámetro del tallo con 9,3 cm y 2,3 cm respectivamente. Las plantas con HMA-Alto tuvieron mayor número de hojas al final del experimento. Los tratamientos HMA-Alto y HMA-Medio lograron un mayor porcentaje en materia seca durante el primer momento de evaluación; los menores valores los presentaron el tratamiento control y HMA-Bajo. El tratamiento que tiene un mayor efecto significativo de micorrización fue HMA-Alto con un promedio de 5 % que en la escala de Trouvelot representa > 90 %, en comparación con los tratamientos HMA-Bajo y HMA-Control entre los que no se encontró diferencia significativa.

**Palabras clave:** Biofertilizantes micorrízicos, pellets, esporas micorrízicas, café.

## 2.1. Abstract

Biofertilizers, also known as bioinoculants or microbial inoculants, are products containing live or latent microorganisms that can be bacteria, microalgae and fungi, on their own or in combination, which are added to agricultural crops to stimulate their growth and productivity. The objective of this study was to evaluate the growth of coffee seedlings (*Coffea sp.*) caturra variety under controlled conditions using morphological indicators with the application of three formulations or encapsulated arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and a control: T0: AMF-Control (30 capsules without AMF), T1: AMF-Low (10 capsules with AMF), T2: AMF-Medium (20 capsules with AMF), and T3: AMF-High (30 capsules with AMF). A morphological characterization of AMF was performed. Coffee morphological variables were evaluated every 15 days for four months, while dry leaf and root biomass of seedlings and percentage of root colonization in coffee seedlings were evaluated only once after 120 days. A completely randomized design (CRD) with four treatments (biostimulants + control) and three repetitions was used for the evaluation. Three genera of AMF were identified: *Glomus*, *Acaulospora* and *Scutellospora*, and three morphospecies of the AMF consortium from Malacatos. When morphological variables were analyzed, the AMF-High treatment obtained the highest average plant height and stem diameter with 9.3 cm and 2.3 cm, respectively. The plants with HMA-Alto had a greater number of leaves at the end of the experiment. The treatments HMA-High and HMA-Medium achieved a higher percentage in dry matter during the first moment of evaluation; the lowest values were presented by the control treatment and HMA-Low. The treatment with the highest significant mycorrhization effect was HMA-High with an average of 5 %, which on the Trouvelot scale represents > 90 %, compared to the HMA-Low and HMA-Control treatments, between which no significant difference was found.

**Key words:** Mycorrhizal biofertilizers, pellets, mycorrhizal spores, coffee.

### 3. Introducción

Después del petróleo, el café es el segundo producto más comercializado y la segunda bebida más consumida en todo el mundo ([Saberian et al., 2021](#)). El café se ha convertido en uno de los bienes que se están ofertando con más fuerza en el país. Con las nuevas tendencias de consumo de café y el potencial productivo ecuatoriano que permite la diversificación de los bienes para comercializar, el país está impulsando la producción cafetalera para ofertarla a nivel nacional e internacional ([Yosa & Regalado, 2021](#)).

El café representa uno de los productos más importantes dentro de las exportaciones ecuatorianas y del mundo, el grano de café Robusta se cotiza en Londres y el Arábigo en Nueva York. La importancia del sector café se manifiesta en el ámbito económico (genera ingresos y divisas a favor del Estado), social (creación de plazas de empleo) y ecológico (protección a distintos agroecosistemas, preservación de flora y fauna) ([Yosa & Regalado, 2021](#)).

Según la asociación nacional Ecuatoriana de café [Anecafe \(2017\)](#) Ecuador posee una gran capacidad como productor de café, convirtiéndose en uno de los pocos países en el mundo que exporta todos los tipos de café: arábigo lavado, arábigo natural y robusta. Los diferentes ecosistemas permiten que los cultivos de café se den a lo largo y ancho del país, en la Costa, Sierra, Amazonía, llegando a cultivarse en las Islas Galápagos ([Yosa & Regalado, 2021](#)).

Actualmente, la población mundial se ha incrementado, lo cual requiere aumentar la producción de cultivos ([Oerke & Dehne, 2004](#)), evidenciándose un excesivo uso de productos químicos provocando varios problemas ambientales, como desequilibrios en el ecosistema, pérdida de fertilidad del suelo y deterioro de la vida marina; además también causan varios problemas dañinos y graves en la salud de los humanos y los animales provocando cánceres graves, trastornos neurológicos, trastornos hormonales y problemas reproductivos ([Chengala & Singh, 2017](#)).

Una alternativa para sustituir la fertilización química o inorgánica es el uso de los biofertilizantes como una forma de aprovechar mejor y más limpiamente la absorción y solubilización de los nutrientes para la planta ([FENIAGRO, 2010](#)). De este modo, cada día el uso de los biofertilizantes en alternancia con los fertilizantes químicos cobra mayor



importancia, buscando garantizar una producción en los cultivos libre de residuos químicos, rentable y sostenible ([FENIAGRO, 2010](#)).

En el Ecuador existen varios estudios sobre el uso de biofertilizantes a base de microorganismos, enfocándose principalmente en buscar cepas nativas con potencial biocontrolador ([Cornejo & Wilkie, 2010](#)). El estudio de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) es importante y de gran interés como una alternativa ecológica de la cual se van a generar mejores resultados que los obtenidos por el uso de fertilizantes convencionales ([Berdugo, 2009](#)). Su utilización puede darse con especies nativas, luego de determinar su asociación con una especie vegetal de interés, para potenciar el crecimiento vegetal ([Klironomos, 2003](#)). Un ejemplo es el café, que de forma natural establece simbiosis con los HMA, necesitando de estos para su establecimiento, por lo que es considerado un cultivo micotrófico obligado, por su alta dependencia micorrízica ([FENIAGRO, 2010](#)).

Los HMA han sido estudiados en bosques de los trópicos, zonas riparias ecuatorianas, y en sistemas agroforestales asociados al cultivo del café en el Sur del Ecuador ([Enríquez et al., 2010](#); [Urgiles et al., 2020](#)), indicando que existe una organización heterogénea, traducido en un gran número de especies vegetales con una alta diversidad de HMA nativas conviviendo en un mismo espacio de suelo, por lo tanto, la posibilidad de encontrar asociaciones exitosas con diversas especies de HMA es alta. Asimismo, en estas zonas se han encontrado HMA en los primeros 20 centímetros del perfil del suelo especialmente de los géneros *Glomus* spp, *Scutellospora* spp., *Acaulospora* spp., *Gigaspora* spp y *Rhizoglyphus* spp. En las últimas décadas los HMA están siendo utilizados en la producción de bioinóculos para la aplicación en cultivos a fin de aumentar su productividad y la resistencia a plagas, su uso podría ayudar a reducir el uso de fertilizantes químicos que causan contaminación en el medio ambiente por sus efectos residuales ([Urgiles et al., 2020](#)). Considerando la riqueza nativa de estos hongos, se debería de promover el uso de consorcios nativos para la realización de estos bioinóculos, pero antes de poder comercializarlos se debe de evaluar su efectividad.

**Objetivo general.**

- Evaluar el efecto de las formulaciones de consorcios nativos de HMA procedentes de sistemas agroforestales sobre el crecimiento de plántulas de café

**Objetivos específicos**

- Elaborar formulaciones de consorcios nativos de HMA provenientes de sistemas agroforestales para su aplicación como biofertilizantes en plántulas de café.
- Evaluar la aplicación de los HMA sobre el crecimiento de las plántulas de café bajo condiciones controladas.

## 4. Marco teórico

### 4.1. Cultivo del café

Según [Kurniati \(2018\)](#), el cafeto pertenece a la familia de las rubiáceas. Esta familia tiene características fáciles de reconocer:

- Las hojas salen en pares.
- No tienen divisiones y los bordes son lisos.
- En las flores están los órganos de los dos sexos, son flores hermafroditas.
- Generalmente cada fruto tiene dos semillas.

#### 4.1.1. Taxonomía

El café pertenece a la familia de las *Rubiáceas* y al género *Coffea*. Existen numerosas especies de cafeto y diferentes variedades de cada especie. Las especies más importantes comercialmente pertenecientes al género *Coffea* son conocidas como *Coffea arabica* L (conocida como *Arábica* o *Arábica*) y *Coffea canephora* Pierre Ex Froehner (conocida como Robusta) ([Kurniati, 2018](#)).

#### 4.1.2. Importancia del café para Ecuador

La importancia del café para los ecuatorianos, en los órdenes: económico, social y ambiental, además de los beneficios para la salud humana. En lo económico, el café es fuente de divisas y de ingresos para los actores de las cadenas productivas localizadas en 23 de las 24 provincias del Ecuador. En lo social, a las cadenas productivas cafetaleras se integran pueblos y etnias, hombres y mujeres, en un amplio tejido social con impacto multisectorial. En lo ambiental, el café se cultiva en suelos y climas diversos, principalmente en sistemas agroforestales, contribuyendo a conservar los recursos naturales. En cuanto al café y la salud, está probado que su consumo muestra correlación inversa con el riesgo de diabetes, daño hepático y enfermedades neurodegenerativas ([Gotteland & De Pablo, 2007](#); [Guambi et al., 2018](#)).

#### 4.1.3. Principales zonas cafetaleras del Ecuador

En el Ecuador se producen las especies de café robusta y café arábigo, cada una propiciada por las características climáticas que el país sudamericano provee. Como se puede apreciar en la figura no. 4, las principales zonas de cultivo del café arábigo se dan en la costa y parte de la sierra baja, siendo Manabí la provincia con mayor superficie

sembrada, mientras que el café robusto se cosecha principalmente en provincias de la sierra y oriente, como Sucumbíos y Orellana. En la región insular del territorio ecuatoriano, se cosecha el café de la variedad arábica, sin mucha incidencia en la producción por las distintas regulaciones a la actividad agrícola en la zona ([Espinoza, 2017](#)).

#### **4.1.4. Producción ecuatoriana del café**

El café se produce en 23 de las 24 provincias del país lo cual denota la gran importancia socioeconómica del sector. La distribución de esta producción y gracias a la Asociación Nacional de Exportadores de Café, ANECAFE, estima que este tipo de cultivo se distribuyen en todas las regiones del Ecuador, teniendo: Región Costa - 112,000 (ha), Región Sierra - 62,000 ha, Región Amazónica 55.000 ha y en la Región Insular - 1.000 ha de cafetales. Esta amplia distribución se presenta porque el Ecuador es uno de los 14 países, entre cerca de 70, que tiene producción mixta, es decir, cultiva las especies comerciales arábica (*Coffea arabica*) y robusta (*Coffea canephora*).

Al igual que en los demás países cafetaleros, la producción de café es una actividad familiar que demanda mucha mano obra, la cual genera empleo rural y urbano, pues a las jornadas en el campo se suman aquellas necesarias para los procesos de comercialización, transporte, preparación del grano para la exportación y de industrialización ([Forum, 2019](#)).

La baja producción de café en Ecuador es el problema central del sector cafetalero, atribuido a causas como: baja productividad, reducción del área cultivada, prevalencia de cafetales viejos y falta de crédito ([Guambi et al., 2018](#)). Según [Monteros \(2016\)](#), en 2016, los promedios de rendimiento fueron: 0,48 t. ha<sup>-1</sup> en robusta y 0,22 t. ha<sup>-1</sup> en arábigo. Los impactos de la baja producción se expresan en: débil competitividad, reducción de exportaciones y aumento de importaciones de materia prima para la industria desde Vietnam, Brasil, Costa de Marfil e Indonesia ([Ponce et al., 2016](#)).

#### **4.2. Generalidades de las micorrizas**

El término micorriza fue propuesto por primera vez en 1885, por Albert Bernard Frank, quien descubrió la asociación regular de tejidos fungosos, con el tejido radical de los árboles, son tan antiguas como las propias plantas y se conoce su existencia desde hace más de 400 millones de años; estimándose que aproximadamente el 95% de las especies

vegetales conocidas establecen de forma natural y constante este tipo de simbiosis con hongos del suelo ([Pérez et al., 2011](#)).

Las micorrizas (gr. Mykes: hongo; rhiza: raíz) son simbiosis mutualistas que se establecen entre ciertas especies de hongos (Basidiomycetes, Ascomycetes, Zygomycetes y Glomeromycetes) y las raíces de la mayor parte de las plantas (Álvarez y Naranjo, 2003). Esta asociación de ambos simbiosis trae beneficios de vivir en una estrecha relación de mutua dependencia. Los beneficios más conocidos es el intercambio nutricional, en el que la planta da al hongo carbohidratos y otras sustancias sintetizada por la misma, y el hongo da a la planta, agua, nutrientes minerales y orgánicos del suelo y otros sintetizados por el hongo (Montilla, 2010).

#### ***4.2.1. Ciclo de vida de las micorrizas***

[León \(2006\)](#), menciona que los HMA son simbiosis biotróficos obligados con un ciclo de vida dividido en dos etapas distintas. Por un lado, los estadios de reposo y reproductivo (esporas, esporocarpos, arbusculos y posiblemente también vesículas), son independientes de la planta. Por otra parte, los estadios vegetativos están involucrados en interacciones complejas con las plantas entre las cuales se incluyen el reconocimiento, la colonización y el intercambio de nutrientes. Estas etapas son representadas por el desarrollo de hifas externas en el suelo e hifas espirales, arbusculos y vesículas dentro de la raíz.

Es así que en la zona externa del córtex de la raíz forma unas estructuras intracelulares típicas que son los “ovillos”; en la zona medias las hifas crecen normalmente de forma longitudinal en los espacios intercelulares; mientras que en la zona interna las hifas penetran intercelularmente y forman los arbusculos de los cuales se produce el intercambio de nutrientes. También habría que destacar la formación de vesículas en el córtex cuya función es el almacenamiento de reservas lipídicas. Tras la colonización interna se produce la ramificación y desarrollo del micelio externo que es la clave en la captación de nutrientes y da lugar a nuevos puntos de colonización en la propia raíz o en otras próximas ([León, 2006](#)).

### **4.3. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA)**

Asociación mutualista establecida entre las raíces de la mayoría de las plantas (tanto cultivadas como silvestres), y ciertos hongos del suelo presentan una relación beneficiosa para los dos organismos implicados, el hongo coloniza la raíz sin causar daño a la planta y le proporciona nutrientes minerales y agua que extrae del suelo por medio de su red externa de hifas, particularmente fósforo, mientras que la planta suministra al hongo sustratos energéticos y carbohidratos que elabora a través de la fotosíntesis; se trata de una simbiosis universal, no sólo porque casi todas las especies vegetales son susceptibles de ser micorrizadas, sino también porque puede estar presente en la mayoría de los hábitats naturales ([Molina et al., 2005](#)).

Esta asociación beneficia significativamente la nutrición mineral de los cultivos, brinda protección contra patógenos del suelo y confiere resistencia a diferentes agresiones tales como sequía, salinidad, metales pesados, regulando de esta manera el estrés biótico y abiótico para la planta; por lo cual esta simbiosis es considerada un recurso biológico en la agricultura moderna y sostenible, tanto en programas de seguridad alimentaria como de biorremediación de suelos ([Guerra, 2014](#)).

#### **4.3.1. Proceso de colonización de los HMA**

[Rivillas \(1996\)](#), menciona que el proceso y la tasa de colonización determinan la efectividad de un HMA o una asociación micorrizal, la colonización de la raíz por parte de un hongo micorrízico es un proceso que involucra tres etapas básicas: colonización (pre- colonización, penetración y colonización intra-radical), desarrollo del micelio extra-radical (esporulación del hongo) y recolonización.

**4.3.1.1. Primera etapa.** Se produce la diferenciación de la espora, propagación del hongo e identificación mutua entre la planta y el hongo, y viceversa, en la rizósfera, o en regiones próximas a las raíces o pelos radicales, este reconocimiento lo facilitan al parecer, sustancias exudadas o emitidas por la raíz, que provocan el crecimiento del micelio y un biotropismo positivo del mismo hacia la raíz.

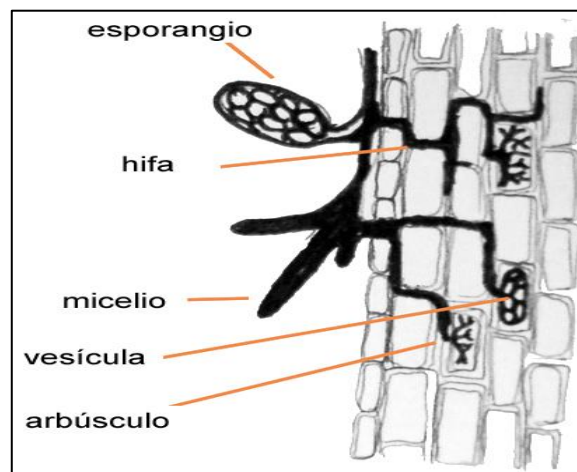
**4.3.1.2. Segunda etapa.** Consiste en el acercamiento y acoplamiento progresivo y gradual del micelio a la raicilla, produciéndose el contacto intercelular, al formarse una estructura que adhiere a ambos especímenes.

**4.3.1.3. Tercera etapa.** Se realiza la colonización, produciéndose cambios morfológicos y estructurales tanto en los tejidos colonizados por el hongo, como en la organización de la pared celular de la raíz, posteriormente se produce la integración fisiológica de ambos simbios (hongo - raíz), y por último se produce una alteración de las actividades enzimáticas, que se coordinan entre los simbios para integrar sus procesos metabólicos.

Este proceso de asociación para formar micorrizas, provoca alteraciones morfológicas y anatómicas en las plantas colonizadas tales como: cambios en la relación tallo - raíz, en la estructura de los tejidos radicales, aumento de la lignificación, alteración de los balances hormonales, etc., y una de las respuestas simbióticas de la planta con el hongo, es destinar fotosintatos en forma de sacarosa, para que el hongo pueda nutrirse heterotróficamente y para que pueda sintetizar azúcares propios tales como manitol, trehalosa, glicógeno, que luego de haberse formado el hongo micorizico este empieza a colonizar el interior de su hospedante formando hifas intraradicales, arbusculos y vesículas ([Grace & Stribley, 1991](#)).

#### 4.4. Estructuras de las micorrizas arbusculares

Según [Janerette \(1991\)](#), los HMA son simbios obligados, incapaces de crecer y reproducirse aislados de la planta hospedera, las estructuras más importantes de los hongos micorizicos arbusculares se detallan de acuerdo a su importancia y función que cumplen en la inoculación en sus hospederos; las estructuras básicas de los HMA se mencionan en la figura 1.



**Figura 1.** Estructuras de los HMA

**Fuente:** ([Janerette, 1991](#))

En la figura 1 podemos observar las diferentes estructuras que presenta las micorrizas arbusculares. (1) Esporas Se forman sobre una o más hifas sustentoras en el suelo o en las raíces. Contienen lípidos, citoplasma y miles de núcleos (1000-3850). Desarrollan paredes densas con más de una y pueden funcionar como propágulos. Se forman cuando los nutrimentos disminuyen removiéndose de la raíz. Pueden formar estructuras de germinación. (2) Hifas Las hifas localizan más rápidamente los nutrimentos en el suelo que las raíces y se ramifican en abundantes hifas muy finas de absorción, al degradar sustratos orgánicos. Al incrementar su volumen en el suelo dejan disponibles diferentes compuestos de fósforo, el cual es absorbido y se deja a disposición de las raíces. (3) Arbúsculos Son repetidas ramificaciones dicotómicas que inician con una hifa en forma de tronco y concluye en la proliferación de hifas muy finas; crecen en el interior de células individuales del córtex de la raíz, que se quedan en el exterior del citoplasma, sin penetrar la célula, produciendo una invaginación del plasma de la membrana. Son los sitios de mayor intercambio entre el hongo y el hospedero, su vida media es de 9-15 días. (4) Vesículas Almacenan productos como lípidos y citoplasma, son estructuras globosas y se forman en la punta de las hifas ([Janerette, 1991](#)).

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) se caracterizan por presentar un crecimiento intra e intercelular en la corteza de la raíz y por formar dos tipos de estructuras, arbúsculos y vesículas en la mayor parte de estos hongos ([Quilambo, 2003](#)). Los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* no producen vesículas, en lugar de ellas forman células auxiliares sobre el micelio externo ([Petterson et al., 2004](#)). El crecimiento del hongo de manera asimbiótica se da entre una y dos semanas hasta que hace contacto con la raíz del hospedero, formando una estructura llamada apresorio por donde penetrarán las hifas a las células corticales de la raíz, para formar los arbúsculos e incrementar el área de contacto entre la planta y el hongo ([Bago et al., 2000](#)).

#### **4.5. Clasificación de los hongos micorrízicos arbusculares**

Los HMA se ubican en el phylum Glomeromycota, dentro de la clase Glomeromycetes, y de acuerdo a [Schüssler and Walker \(2010\)](#), quienes han realizado la clasificación más reciente, mediante análisis filogenéticos, se han establecido 11 familias y 17 géneros (Tabla 1).



**Tabla 1.** Clasificación de los HMA con base en [Schüssler and Walker \(2010\)](#).

<b>Reino Fungi</b>			
	<b>Orden</b>	<b>Familia</b>	<b>Género</b>
<b>Pylum</b> <b>Glomeromycota</b>	Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i> <i>Funneliformis</i> <i>Rhizophagus</i> <i>Scloerocystis</i>
<b>Clase</b> <b>Glomeromycetes</b>	Diversisporales	Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i>
		Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i> <i>Scutellospora</i> <i>Racocetra</i>
		Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>
		Entrophosporaceae	<i>Entrophospora</i>
		Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>
		Diversisporaceae	<i>Diversispora</i> <i>Otospora</i>
		Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>
		Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>
		Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>
		Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>

**Fuente:** ([Schüssler & Walker, 2010](#))

#### 4.6. Fuentes de inóculos

Se conoce como fuente de inóculo de HMA a las zonas de las cuales se obtienen muestras de suelo y raíces de una especie vegetal seleccionada. Dichas muestras se colectan del suelo circundante de la planta, en las que se presume la existencia de diversas especies de HMA ([González et al., 2011](#)).

Diversas metodologías proporcionan criterios de muestreo para garantizar la presencia de los HMA si se desea obtener esporas distribuidas en las inmediaciones de una especie vegetal en particular, se debe tomar un volumen total de aproximadamente 1kg del suelo circundante a la planta, y dicha cantidad debe provenir de una profundidad no mayor a 25cm. Así mismo, también se pueden muestrear las raíces de la especie vegetal, teniendo en cuenta que éstas deberán ser las más finas posibles ([Hernández & Salas, 2009](#)).

Según [Robles \(2008\)](#), se puede tomar muestras de suelo y raíz de varios individuos de la misma especie en una zona determinada. Para las muestras de suelo se toman submuestras de 500 g en cada punto cardinal de los individuos a una profundidad de 15 a 20 cm, las cuales se pueden mezclar para obtener muestras compuestas por individuo. Todos los autores, antes mencionados, coinciden en que las muestras deben ser colocadas

en una bolsa de polietileno para su conservación a 4°C hasta su análisis posterior. Cabe señalar que los autores también afirman que los protocolos de muestreo están sujetos a modificaciones de acuerdo a la especie vegetal seleccionada, así como de los objetivos de la investigación que se desee realizar [Robles \(2008\)](#).

## **4.7. Biofertilizantes**

### **4.7.1. Generalidades**

Los biofertilizantes son productos elaborados a base de microorganismos benéficos (bacterias y hongos), que viven asociados o en simbiosis con las plantas y ayudan a su proceso natural de nutrición, además de ser regeneradores de suelo, se utilizan con la función específica de mejorar la productividad de las plantas. Los microorganismos obtienen de la rizósfera minerales y nutrimentos que son transportados hacia la planta ([Aguirre et al., 2009](#)).

### **4.7.2. Composición**

La composición se establece de un cultivo puro de microorganismos aislados de la parte vegetal (raíz) donde se localiza el simbiote de interés siendo obtenidos e incorporados al suelo o sustrato en forma de inóculo. El proceso de inoculación es complejo, por una parte, implica diseñar métodos adecuados de aislamiento, selección, multiplicación e incorporación de microorganismos específicos para cada especie o propósito. Por lo tanto, la base principal en la composición es el correcto aislamiento y selección del microorganismo de interés inoculado en un soporte o sustrato adecuado de manera que brinde un manejo eficiente de los recursos y no representen un gran gasto a los productores en comparación a los beneficios obtenidos ([Aguirre et al., 2009](#)).

## 5. Metodología

### 5.1. Ubicación del estudio

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de fisiología vegetal de la Universidad Nacional de Loja, el cual se encuentra 6 Km al sur de la ciudad de Loja (04°23'35''S 79°11'55''O), a una altitud de 2138 msnm, temperatura media de 17 °C, 1500 mm/año de precipitación y 80 % de HR.

### 5.2. Diseño Experimental

El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar (DCA), se utilizaron 4 tratamientos para las formulaciones de HMA, en 3 se aplicaron las formulaciones (bajo, medio y alto) y el último tratamiento es el control, donde no se aplicaron formulaciones. Cada tratamiento tuvo 3 repeticiones y se obtuvo un total de 12 unidades experimentales (tabla 2). Cada unidad experimental estuvo conformada por 10 plántulas dando un total de 30 plántulas por repetición y 120 plántulas en todo el ensayo.

Tabla 2. Descripción de tratamientos de HMA aplicados en plántulas café

Código	Tratamientos	Repeticiones	Descripción de las dosis de formulaciones de consorcios de HMA
T0	HMA-Control	3	30 cápsulas sin HMA
T1	HMA-Bajo	3	10 cápsulas de HMA
T2	HMA-Medio	3	20 cápsulas de HMA
T3	HMA-Alto	3	30 cápsulas de HMA

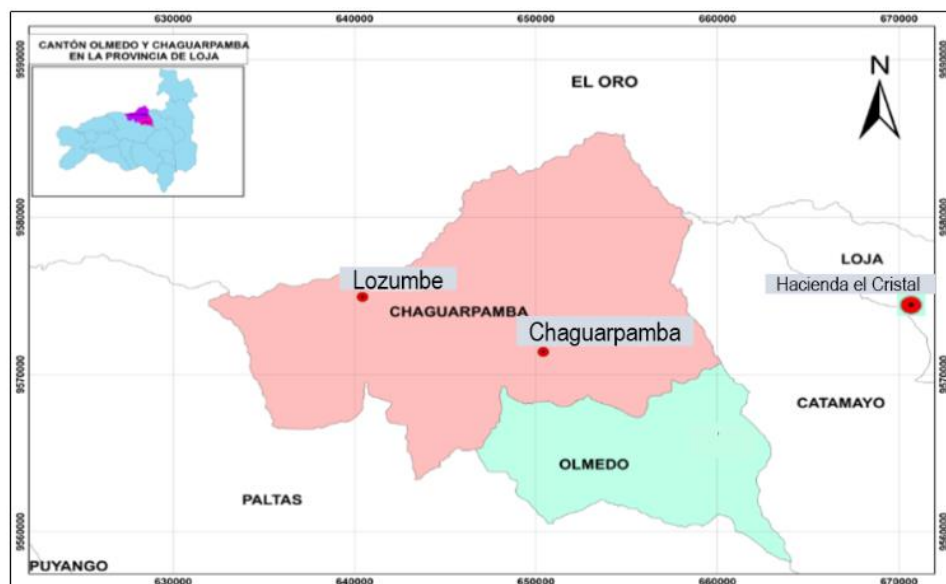
**Fuente:** Autor

### 5.3. Colecta de muestras de suelo y raicillas

En el laboratorio de fisiología vegetal se trabajó sustrato micorrízico generado a partir de muestras de suelo obtenidas de fincas de café con manejo agroforestal de tres zonas del cantón Loja, Malacatos Chaguarpamba y Lozumbe (Figura 2) ([Urgiles et al., 2020](#)). La Hacienda Cristal está ubicada en el barrio Tres Leguas, parroquia Malacatos del cantón Loja, a 2049 m.s.n.m donde se cultiva la variedad Caturra. En el cantón Chaguarpamba, barrio Chaguarpamba, la finca se encuentra a 1471 m.s.n.m, donde se cultiva la variedad Geisha. En el barrio Lozumbe, parroquia Santa Rufina del cantón Chaguarpamba, la finca se encuentra a 843 m.s.n.m, y se cultiva la variedad Caturra ([Urgiles et al., 2020](#)). Estas muestras fueron posteriormente inoculadas en plantas trampas de llantén (*Plantago*

*lanceolata*), que se mantuvieron durante dos años dándole los cuidados respectivos para que los HMA logren adaptarse y multiplicarse.

Para este trabajo, de la planta trampa se separó y se desechó la parte foliar, se colocó la parte radical en bandejas plásticas y todos los segmentos de raíces que permanecían con sustrato fueron separados y colocados en una caja Petri que se utilizó para el proceso de encapsulación. Las raíces que tenían un buen vigor fueron cortadas en segmentos de 1 cm y almacenadas en tubos EDTA sumergidos con alcohol, estos segmentos sirvieron para la evaluación del porcentaje de colonización.



**Figura 2.** Mapa de ubicación de las zonas donde se colectaron las muestras de suelo para la obtención de hongos micorrízicos arbusculares.

**Fuente:** (Guachanama, 2020).

#### **5.4. Metodología para el primer objetivo específico “Elaboración de formulaciones de consorcios nativos de HMA provenientes de sistemas agroforestales para su aplicación como biofertilizantes en plántulas de café”**

##### **5.4.1. Extracción y conteo de esporas**

A partir de 600 g de suelo extraído de la planta trampa, se realizó la extracción de las esporas utilizando la metodología de [Gerdemann and Nicolson \(1963\)](#), en combinación con la técnica de flotación en azúcar (ver anexo 1) ([Walker, 1997](#)). Para evaluar la frecuencia de esporas se recolectó 100 g de suelo de cada zona y posteriormente se evaluaron las esporas mejor formadas y se obtuvo un número de esporas por cada zona de estudio.

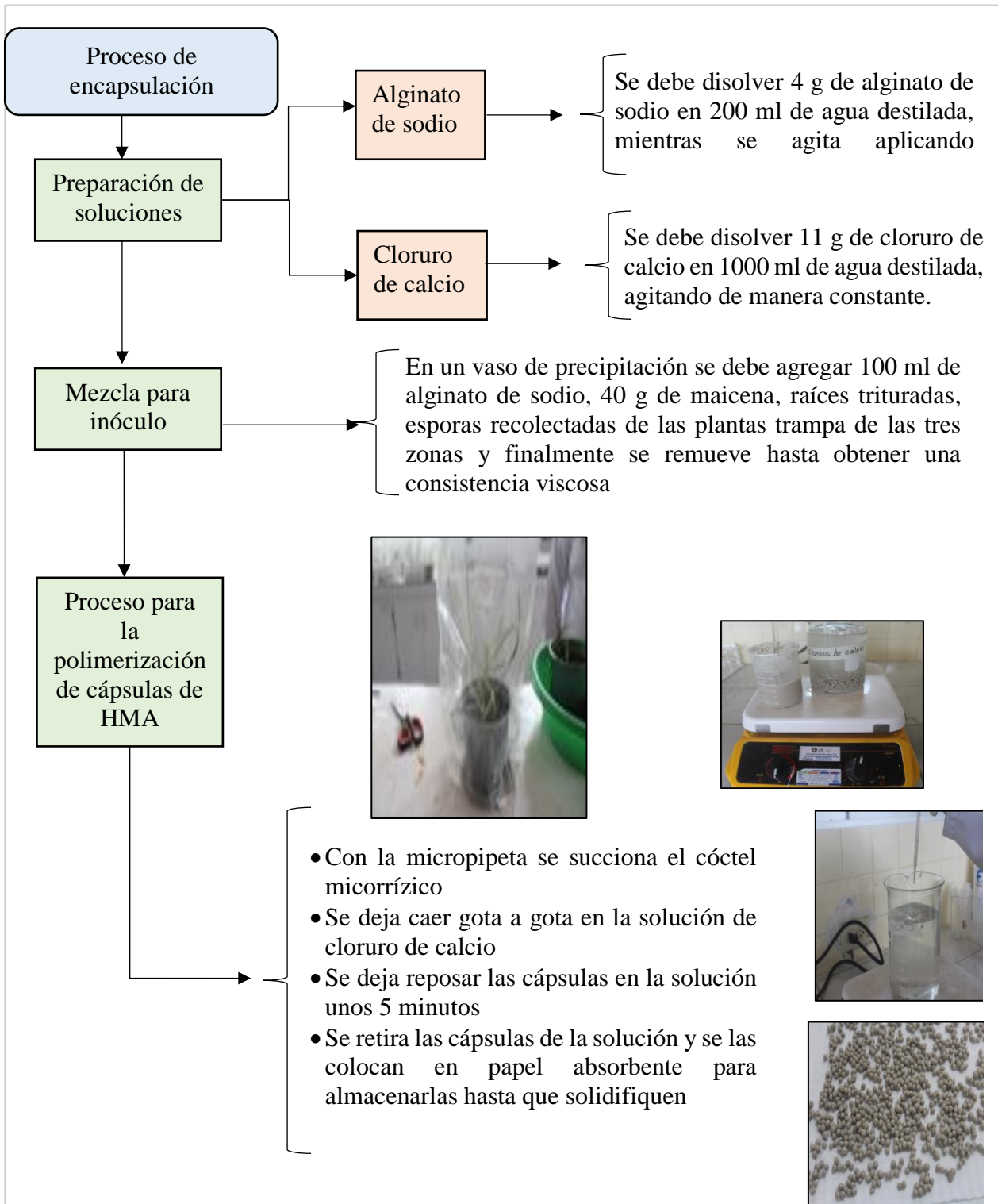
#### **5.4.2. Montaje de placas**

Se colocaron las esporas en una caja Petri con agua destilada para observar en el estereomicroscopio, las esporas que aparentemente eran viables fueron extraídas manualmente con una pipeta Pasteur, y transferidas a un portaobjetos. Una vez colocadas las esporas se agregó una gota del Reactivo de Melzer y una gota de Polivinil Lacto Glicerol (PVLG) y se colocaron los cubreobjetos, las esporas al ser aplastadas con dicho cubreobjetos permitieron la observación de su composición y las capas de la pared de la espora.

#### **5.4.3. Caracterización morfológica de esporas de hongos micorrízicos**

Para llegar a una clasificación previa de las esporas, se tomaron en cuenta sus características morfológicas, comparándolas con las descripciones del [INVAM \(2018\)](#), se tomaron en cuenta el color, forma, tamaño, número de capas y coloración de las capas de la espora al reaccionar con el reactivo de Melzer. La identificación del color de las esporas se realizó con ayuda de [Urgiles et al. \(2020\)](#). Para estimar el diámetro de las esporas de HMA se montaron placas al microscopio Olympus BX41 con objetivo 40x y con ayuda del programa Infinity Analyze para Windows se calculó el diámetro.

#### 5.4.4. Formulaciones de consorcios de hongos micorrízicos arbusculares y aplicación en plántulas de café



**Figura 3.** Proceso de encapsulación de HMA

**Fuente:** Tucto M y Urgiles N. 2023.

La figura 3 presenta el proceso para la obtención del biofertilizante micorrízico, desde la preparación de soluciones, recolección de propágulos de HMA de las plantas trampa hasta la polimerización de los encapsulados, los mismos que posteriormente fueron aplicados a las plántulas de café según el tratamiento correspondiente.

#### **5.4.5. Cuantificación de consorcios encapsulados de HMA**

La concentración aproximada de esporas en cada cápsula se calculó de la siguiente manera, en una caja Petri se colocó una cápsula del biofertilizante micorrízico y se la disolvió con agua destilada, se contabilizó bajo un estereomicroscopio el número de esporas existentes en la cápsula este procedimiento se lo realizó en un total de 20 cápsulas obteniendo así un número de 13 a 18 esporas de HMA por cápsula, finalmente se sacó un promedio de 15 esporas por cada cápsula.

### **5.5. Metodología para el segundo objetivo específico “Evaluar la aplicación de los HMA sobre el crecimiento de las plántulas de café bajo condiciones controladas”**

#### **5.5.1. Siembra del café con la aplicación de encapsulados de consorcios de HMA**

Un total de 120 plántulas de café variedad caturra de aproximadamente 2 meses de edad obtenidas de un vivero de la localidad Guanga del cantón Olmedo provincia de Loja, fueron sembradas en un sustrato estéril en base a, arena de mina y turba (proporción 1:1) para posteriormente desinfectarlo con Terracloro (1 g/L). Las plántulas fueron regadas periódicamente con agua no clorada de acuerdo a sus requerimientos. Todos los ensayos fueron realizados bajo invernadero.

Una vez listas las plántulas se aplicaron los encapsulados de HMA en concentraciones bajo, medio y alto. Todos los tratamientos se mantuvieron a  $15\pm 18$  °C, humedad relativa de 71,96 % y fotoperiodo de 12:12.

#### **5.5.2. Evaluación de variables de crecimiento en plántulas de café**

Inicialmente la altura de la planta, diámetro del tallo y número de hojas de todas las plántulas de café fueron registrados. Una vez aplicados los respectivos tratamientos estas mismas variables fueron evaluadas cada 15 días. Después de cuatro meses desde iniciados los tratamientos la masa vegetal fue valorada; para ello la parte aérea y radical de tres plantas de cada tratamiento fueron separadas, colocadas en fundas de papel, pesadas en fresco y secadas en estufas a 75 °C por 48h. La biomasa seca foliar y radicular de las plantas de café se determinó utilizando la siguiente ecuación (Ávila, 2016):

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

Donde:

B=Biomasa

r = Peso seco / peso fresco

### **5.5.3. Evaluación del porcentaje de colonización en plántulas de café**

Se evaluó el porcentaje de colonización de raíces en 3 plántulas de café de cada tratamiento, las evaluaciones se realizaron a los cuatro meses. El procedimiento se realizó de acuerdo a la metodología aplicada para la evaluación del porcentaje de colonización de los cultivos trampa mediante la técnica de [Phillips and Hayman \(1970\)](#).

### **5.6. Análisis estadístico**

Con los resultados obtenidos y mediante el software estadístico InfoStat 2020 se realizaron los análisis de varianza (ANOVA), una vez comprobados los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas para cada variable evaluada. Posteriormente, se aplicó la prueba de Tukey al 5 % de significancia para determinar diferencia significativa entre las medias de los tratamientos.

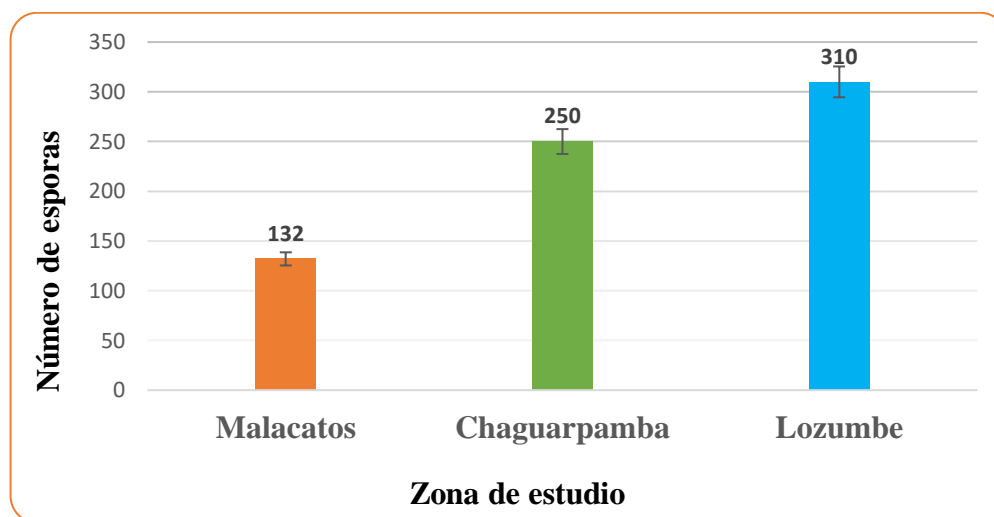


## 6. Resultados

### 6.1. Resultados del primer objetivo

*Elaborar formulaciones de consorcios nativos de HMA provenientes de sistemas agroforestales para su aplicación como biofertilizantes en plántulas de café*

#### 6.1.1. Conteo de esporas



**Figura 4.** Frecuencia de esporas de hongos micorrízicos arbusculares en 100 g de suelo obtenido de plantas trampa cultivadas a partir de suelo de tres fincas de café en sistema agroforestal.

**Fuente:** Autor

En la figura 4 se muestra el promedio de esporas en 100 g de suelo recolectado de los cultivos trampa inoculadas con sustrato micorrízico de tres zonas, aquí podemos observar una mayor frecuencia de esporas en la muestra proveniente de la zona de Lozumbe donde se observaron 310 esporas en comparación con la muestra de la zona de Malacatos donde el número fue de 132 esporas.

#### 6.1.2. Caracterización morfológica de esporas de hongos micorrízicos encontrados en cultivos trampa (*Plantago lanceolata*).

En la Tabla 3 se muestran las características morfológicas de los HMA aislados de las muestras de suelo procedentes de sistemas agroforestales asociados al café. De acuerdo a la caracterización, se identificaron tres morfoespecies del género *Glomus* en la zona de Malacatos (Hacienda Cristal). En cambio, en las zonas de Chaguarpamba y Lozumbe, se identificó una morfoespecie del género *Acaulospora* y uno del género *Scutellospora*, además dos morfoespecies del género *Glomus*.

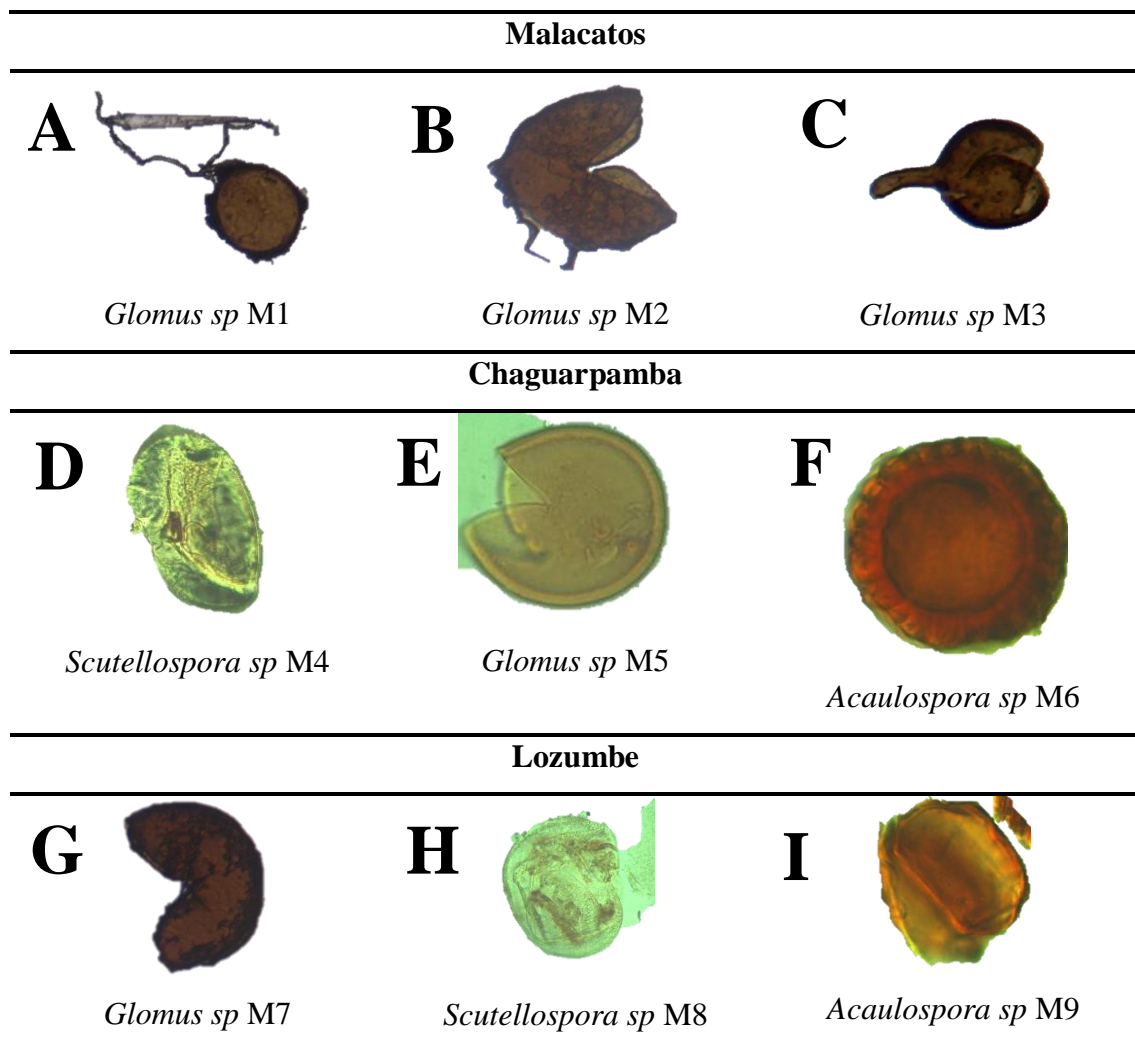
**Tabla 3.** Características morfológicas de morfoespecies de esporas de HMA en cultivos trampa.

Zona de estudio	Color	Forma	Diámetro (µm)	Hifa de suspensión	Género
Malacatos	Marrón oscuro	Subglobosa	150	Presente	<i>Glomus</i> sp M1
	Marrón oscuro	Irregular	180	Presente	<i>Glomus</i> sp M2
	Café oscuro	Subglobosa	113	Presente	<i>Glomus</i> sp M3
Chaguarpamba	Amarillo pálido	Globosa elíptica	358	Ausente	<i>Scutellospora</i> sp M4
	Pardo rojizo	Globosa	20	Ausente	<i>Glomus</i> sp M5
	Pardo rojizo	subglobosa	20	Ausente	<i>Acaulospora</i> sp M6
Lozumbe	Marrón oscuro	Subglobosa	167	Ausente	<i>Glomus</i> sp M7
	Hialina	Subglobosa	246	Ausente	<i>Scutellospora</i> sp M8
	Pardo rojizo	subglobosa	172	Ausente	<i>Acaulospora</i> sp M9

Fuente: Tucto M y Urgiles N. 2023.

### 6.1.3. Principales géneros de HMA procedentes de cultivos trampa.

Tres géneros de HMA fueron encontrados y caracterizados en base a su tamaño, pared y coloración: *Glomus*, *Acaulospora* y *Scutellospora*. En lo referente al género *Glomus* se identificaron tres morfoespecies en cada una de las zonas de estudio. En cuanto al género *Acaulospora* y *Scutellospora* se identificó una morfoespecie, tanto en la zona de Chaguarpamba como en Lozumbe. Las fotografías se observan en microscopio compuesto a un aumento de 40X (Figura 5).



**Figura 5.** Caracterización morfológica de HMA de nueve morfoespecies (M1 a M9)

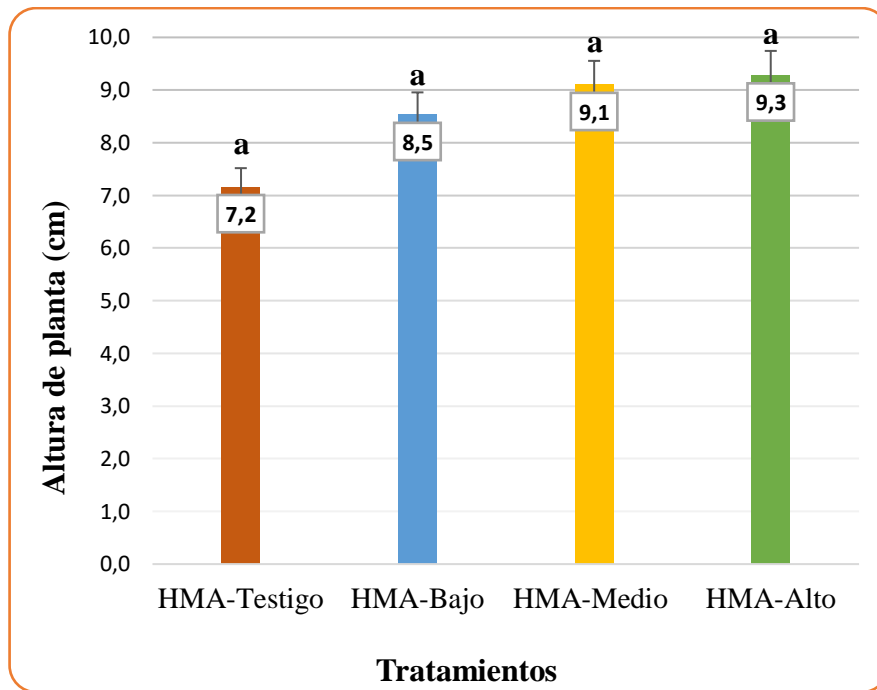
**Fuente:** Tucto M y Urgiles N. 2023.

## 6.2. Resultados del segundo objetivo

*Evaluar la aplicación de los HMA sobre el crecimiento de las plántulas de café bajo condiciones controladas*

### 6.2.1. Altura de las plántulas

Con base a los datos recolectados en invernadero (figura 6), se observa el crecimiento de las plántulas de café variedad caturra donde el tratamiento de mayor altura de la planta es HMA-Alto superando al tratamiento sin micorrizas (HMA-Testigo) con 2.1 cm.



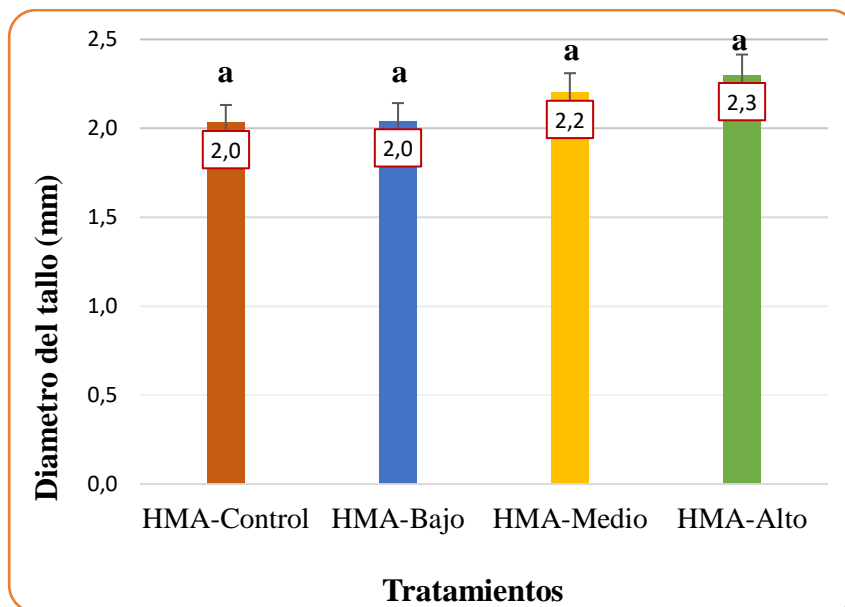
**Figura 6.** Efecto de tres formulaciones de HMA en la altura de las plántulas de café variedad caturra evaluadas a los 120 días desde la inoculación. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

**Fuente:** Autor

Se realizó el análisis de varianza ANOVA con un porcentaje de confiabilidad del 95 %, el cual demostró que no existe diferencias significativas entre los tratamientos (Anexo 13).

### 6.2.2. Diámetro del tallo

Con base a los datos recolectados en invernadero (Figura 7), se observa que el tratamiento de mayor diámetro es el de aplicación de micorriza (HMA-Alto) superando al tratamiento sin micorriza (HMA-Bajo) con 0,05 mm de diferencia.



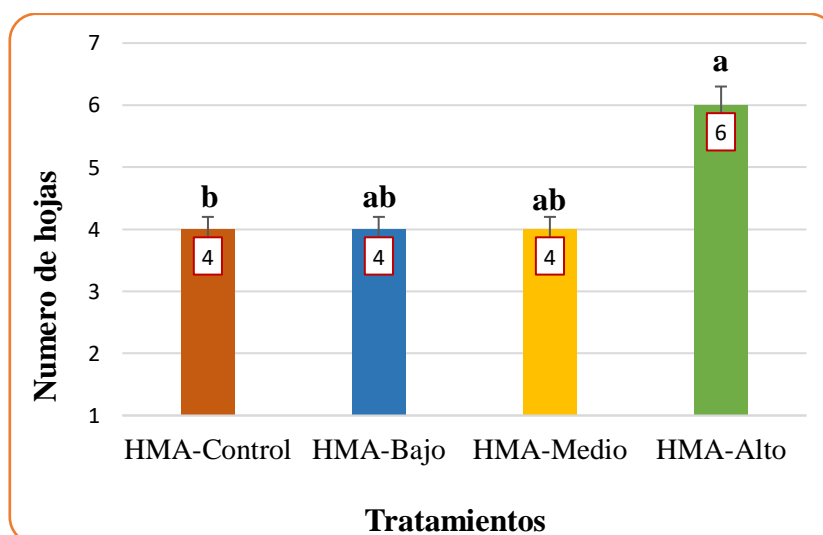
**Figura 7.** Efecto de tres formulaciones de encapsulados de HMA en diámetro del tallo plántulas de café variedad caturra evaluadas a los 120 días desde la inoculación. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

**Fuente:** Autor

Se realizó el análisis de varianza ANOVA con un porcentaje de confiabilidad del 95 %, el cual demostró que, no existe una diferencia significativa entre los tratamientos (Anexo 14).

### 6.2.3. Número de hojas

Con base a los datos recolectados en invernadero (Figura 8), se observa que el tratamiento con el mayor número de hojas es el de aplicación de micorrizas (HMA-Alto) superando al testigo (HMA-Bajo) con un promedio de 2 hojas.



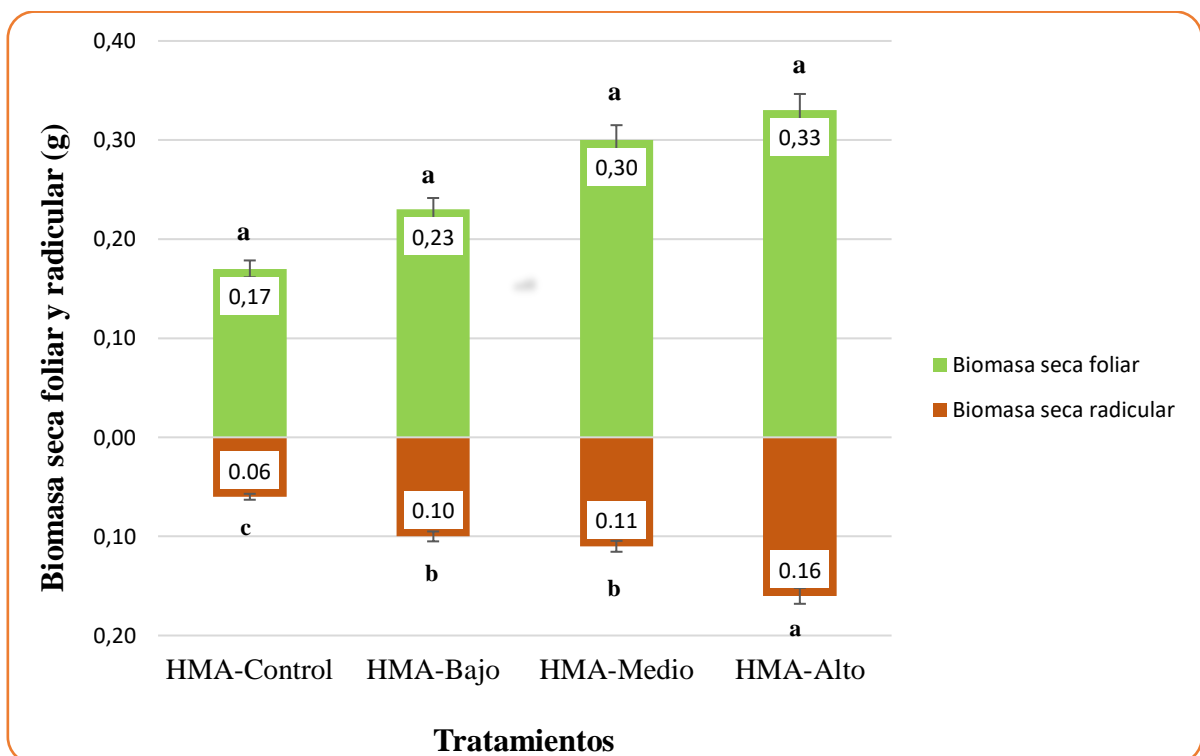
**Figura 8.** Efecto de tres formulaciones de HMA en cuanto al número de hojas en las plántulas de café variedad caturra evaluadas a los 120 días desde la inoculación. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

**Fuente:** Autor

Se realizó el análisis de varianza ANOVA con un porcentaje de confiabilidad del 95 %, el cual demostró que, si existe una diferencia significativa entre los tratamientos, el test de Tukey manifiesta que el tratamiento de (HMA-Alto) presenta una diferencia significativa con el tratamiento (HMA-Control) (Anexo 15).

#### 6.2.4. Biomasa seca radicular y foliar

Con base a los datos recolectados (Figura 9), se observa que los tratamientos con mayor peso en biomasa seca foliar y radicular fueron HMA-Alto y HMA-Medio superando al testigo (HMA-Bajo).



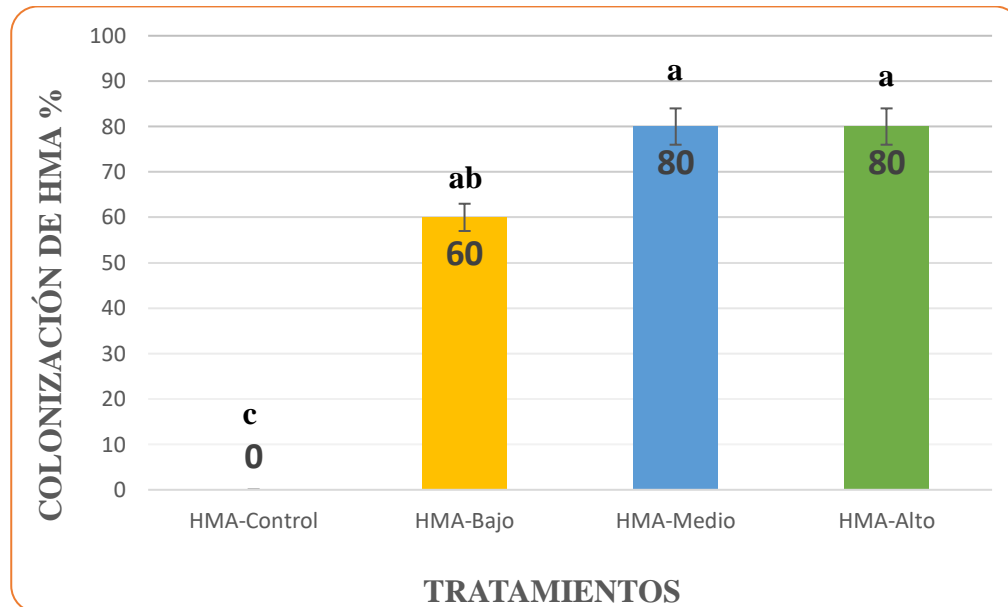
**Figura 9.** Comparación del efecto de las tres formulaciones de HMA en relación a la biomasa seca foliar y radicular de las plántulas de café variedad caturra evaluadas a los 120 días desde la inoculación. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

**Fuente:** Autor

Se realizó el análisis de varianza ANOVA con un porcentaje de confiabilidad del 95 %, el cual demostró que, si existe una diferencia significativa entre los tratamientos, el test de Tukey manifiesta que los tratamientos de (HMA-Alto) y (HMA-Bajo) presentan una diferencia significativa con el tratamiento de (HMA-Control) tanto en biomasa seca radicular y foliar (Anexo 16).

### 6.2.5. Colonización micorrízica de HMA en raíces de plantas de café

Con base a los datos recolectados en laboratorio mediante la observación en microscopio (Figura 10), se observa que los tres tratamientos superan el 50 % de colonización en las raíces en comparación al testigo ([Smith & Read](#)), lo que corresponde a una calificación 4 en la escala de porcentaje de micorrización (Figura 12, Anexo 18).



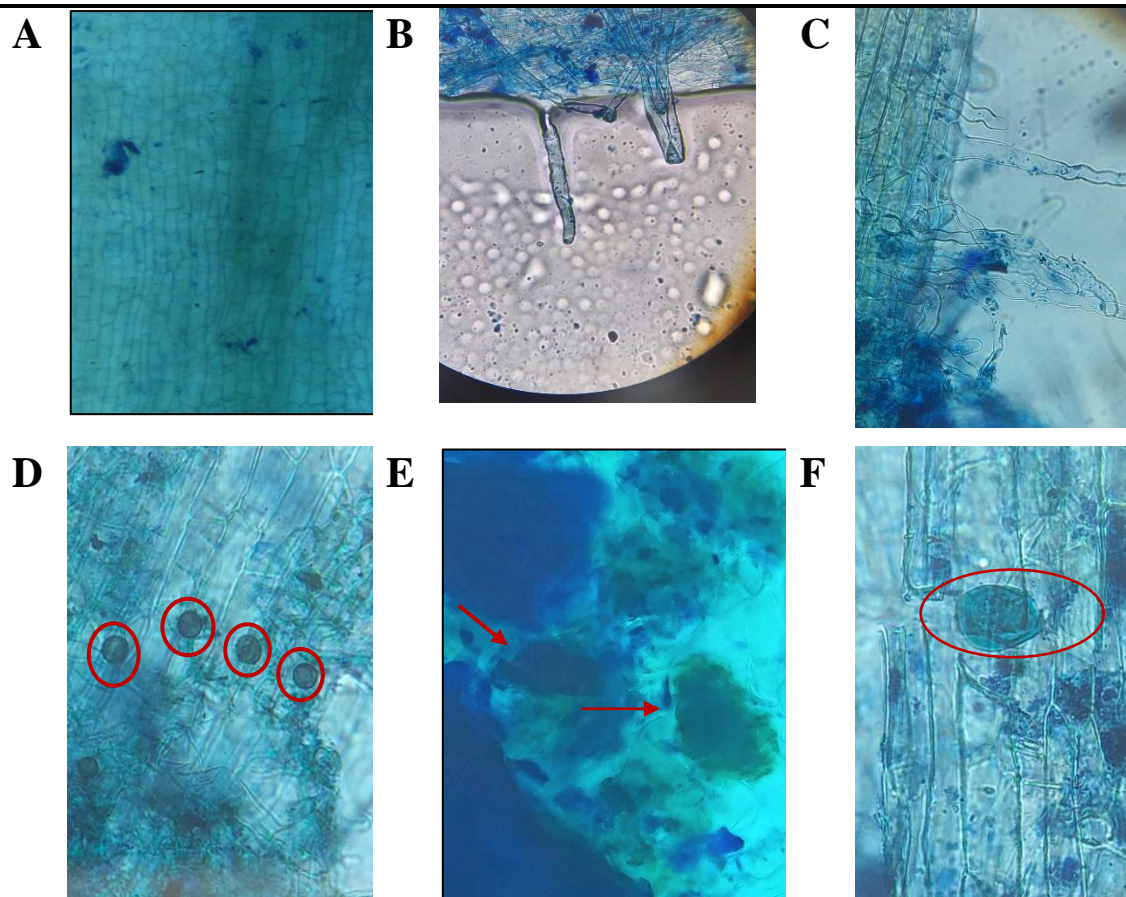
**Figura 10.** Porcentaje de colonización de HMA en raíces de plántulas de café variedad caturra.

**Fuente:** Autor

Se realizó el análisis de varianza ANOVA con un porcentaje de confiabilidad del 95 %, el cual demostró que si existe una diferencia significativa entre los tratamientos micorrízicos con respecto al testigo (HMA-Bajo) (Anexo 17).

### 6.2.6. Observación de colonización de hongos micorrízicos arbusculares en raíces de café.

En los tres tratamientos se observa estructuras micorrízicas tales como: arbuscúlos, hifas, esporas y vesículas (Figura 11), resultado de la simbiosis entre los hongos micorrízicos y la raíz



**Figura 11.** Estructuras microscópicas de HMA (40 X) en raíz de plántulas de café.

**Fuente:** Autor

En la figura 11 se observan las estructuras fúngicas encontradas en las raíces del cultivo de café, esporas de HMA D; presencia de arbusculos de HMA E; vesículas de HMA F; colonización de hifas inter y extra celulares B, C. mostrado que la simbiosis fue exitosa lo cual beneficia al desarrollo del cultivo e incrementa los rendimientos, dando una alternativa viable para pequeños y grandes productores.



## 7. Discusión

Cuando existe una interacción entre los HMA y las plantas, debemos considerar algunos factores como: plantas hospederas, el nivel de esporulación de la especie de HMA y las condiciones edáficas con el fin de presenciar abundancia de los HMA ([Smith & Read, 2008](#)), como se evidencia en los resultados de diferentes número y abundancia de esporas de HMA provenientes de tres sistemas agroforestales de Lozumbe, Chaguarpamba y Malacatos propagados en cultivos trampa. Según [Noboa et al. \(2018\)](#) en un estudio de los HMA en especies del bosque seco tropical del litoral ecuatoriano, los porcentajes de micorrización encontrados en plantas de *Triplaris cumingiana* fueron de 71,7 %, siendo alto el nivel de micorrización. Al finalizar el presente estudio identificamos una mayor colonización de los HMA en las plantas de café cuando se aplicó el tratamiento HMA-Alto superando el 90 % según la escala de micorrización [Trouvelott et al. \(1986\)](#). Si bien el cultivo trampa donde desarrollamos este estudio fue una especie herbácea como el llantén (*Plantago lanceolata*) la adaptación de HMA fue muy buena, por ello se puede utilizar diversas especies que garanticen el desarrollo de estos microorganismos durante un tiempo más prolongado que en plantas herbáceas, como es en el caso de [Noboa et al. \(2018\)](#) quien utilizó como planta trampa a *Triplaris cumingiana* Fisch, especie conocida por su gran biomasa foliar y radicular, de esta manera utilizarla como cultivo trampa para potenciar la multiplicación de HMA y asociarlo al cultivo de café.

En el presente estudio los únicos géneros encontrados mediante caracterización morfológica de los tres sistemas agroforestales fueron *Glomus*, *Acaulospora* y *Scutellospora*,, estos resultados concuerdan con el estudio realizado por [Bolaños et al. \(2000\)](#) en Colombia, donde se evaluaron 28 sistemas cafetaleros, de los cuales se aislaron e identificaron 6 géneros y 20 especies de HMA, siendo los géneros predominantes *Acaulospora* y *Glomus*. Por su parte [Bertolini et al. \(2018\)](#) en un estudio realizado en México, en sistemas agroforestales de café, reporta que se encontraron 20 morfoespecies de HMA pertenecientes a los géneros: *Acaulospora*, *Glomus*, *Gigaspora* y *Sclerocystis*, de los cuales, los géneros predominantes fueron *Acaulospora* con diez morfoespecies y *Glomus* con siete morfoespecies.

La prevalencia del género *Glomus* se encontró en todos los tipos de suelo, en vista de que es un género generalista, mismo que tiene una característica rápida y fácil de colonizar las raíces ([Prieto-Benavides et al., 2012](#)). Por tal motivo la dominancia de este

género también se evidenció en los sistemas agroforestales asociados al café, en un estudio realizado por [Urgiles et al., \(2020\)](#) donde encontró un alto número de esporas total de HMA en los diferentes sectores de estudio, debido a que la multiplicación de estos HMA se relaciona con la diversidad florísticas que poseen el cultivo del café dentro de sistemas agroforestales.

Cuando se demuestra una gran abundancia de esporas de HMA es posible que se deba a que los sistemas agroforestales utilicen especies arbóreas de manera intercalada en comparación con aquellos con monocultivo ([Roxburgh et al., 2004](#)), esto se observa en el sitio de estudio El Cristal de la zona de Malacatos que se caracteriza por ser una plantación únicamente de café monocultivo, y fue precisamente donde se encontraron los menores valores de esporas de HMA. Esta idea es apoyada en la hipótesis de que en suelos de ecosistemas que no han sido intervenidos existe mayor número de especies vegetales y por tanto una mayor cantidad de microorganismo, posiblemente porque en los ecosistemas menos perturbados, dominan especies mejor adaptadas y más competitivas ([Roxburgh et al., 2004](#)). No obstante, es necesario explorar más sitios estratégicos y desarrollar metodologías más sensibles para la detección de todos los géneros y especies de HMA, ya que no se descarta la posibilidad de que los HMA puedan estar subestimados, debido a la dificultad de caracterizar aquellos HMA no esporulantes o en estado de latencia ([Bertolini et al., 2018](#)).

Al aplicar las formulaciones o encapsulados de HMA el testigo presentó la menor altura con 7,2 cm, mientras que la mayor altura se observó con el tratamiento de HMA-Alto. Entre los tratamientos con inoculación micorrízica se encontraron valores desde 8,5 hasta 9,3 cm, con una tasa de incremento desde 6 % a 25 % respecto al testigo considerando que el estudio duró solamente 120 días. Un resultado similar encontraron [Del Aguila et al. \(2018\)](#) en condiciones de vivero con incrementos entre 35 % y 40 % respecto al testigo. En cambio [Trejo et al. \(2011\)](#) en estudios realizados con inoculaciones de HMA a nivel de invernadero encontraron incrementos de altura de plantas de cafeto de 91 % en comparación con el testigo siendo estos incrementos mayores que los encontrados en la presente investigación. No obstante, se deben tomar en cuenta los diversos factores que influyen durante el crecimiento del cultivo como: temperatura, humedad, precipitación, entre otros y en este caso cabe recalcar que el tiempo de evaluación del ensayo duró alrededor de dos años ([Trejo et al., 2011](#)).

En cuanto a materia seca, se observó que, a los 120 DDT, con la aplicación de 30 cápsulas de HMA se incrementa el porcentaje de materia seca a nivel radicular, en cambio en los tratamientos Testigo y HMA-Bajo si existe un efecto significativo a nivel foliar y radicular. Dichos resultados concuerdan por lo descrito por [Valverde-Lucio et al. \(2020\)](#) quien menciona que aplicar micorrizas tiene un gran efecto significativo sobre el aumento de biomasa seca en comparación a los demás tratamientos sin aplicar micorrizas. De la misma forma en el trabajo realizado por [Del Aguila \(2016\)](#) menciona que al aplicar dosis bajas de micorrizas aumenta el contenido de materia seca, pero estos resultados se los puede evidenciar desde el segundo año.

## 8. Conclusiones

- Mediante la caracterización morfológica de esporas de HMA se identificaron nueve morfoespecies de HMA agrupados en tres géneros. El orden más representativo fue el género *Glomus* seguido de los géneros *Scutellospora* y *Acaulospora*.
- Al final del experimento el tratamiento que obtuvo los mejores promedios en cuanto a variables morfológicas fue el tratamiento HMA-Alto reflejado en altura de la planta, diámetro del tallo y número de hojas.
- Se evidenció un efecto benéfico de la asociación planta-microorganismo, reflejado en el crecimiento y acumulación de hifas de los HMA nativos, lo que probablemente promoverá una mejor absorción de minerales y agua.
- La colonización micorrízica mediante la aplicación de biofertilizantes a base de consorcios nativos de HMA mostró valores significativos mayores al 50 %, demostrando un alto nivel de colonización lo que refleja un gran potencial para el crecimiento y producción de las plántulas de café.

## 9. Recomendaciones

- Incentivar al desarrollo de trabajos investigativos en café, especialmente en la búsqueda de nuevas alternativas para incrementar la productividad del cultivo en campo.
- Realizar labores culturales adecuadas con el fin de mantener limpio el cultivo y evitar que las plántulas padezcan algún tipo de enfermedad.
- El tiempo que se evaluó en invernadero fue el adecuado, sin embargo, se pueden evidenciar mejores resultados a lo largo del ciclo de vida del cultivo, por lo que se recomienda su continua investigación una vez instalado en campo.

## 10. Bibliografía

- Aguirre, J., Irizar, M., Durán, A., Grajeda, O., Peña, M., Loredó, C., & Gutiérrez, B. (2009). Los biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México. INIFAP. Campo Experimental Rosario Izapa, Tuxtla Chico. *Chiapas, México. Folleto técnico (5)*, 78.
- Anecafe. (2017). Rendimientos de café grano seco en el Ecuador. *ANECAFE*, 1.
- Bago, B., Pfeffer, P., & Shachar-Hill, Y. (2000). Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant physiology*, *124*(3), 949-958.
- Berdugo, E. (2009). El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Bioteología en el sector agropecuario y agroindustrial*, *7*(1), 123-132.
- Bertolini, V., Montaña, N. M., Chimal Sánchez, E., Varela Fregoso, L., Gómez Ruiz, J., & Martínez Vázquez, J. M. (2018). Abundancia y riqueza de hongos micorrizógenos arbusculares en cafetales de Soconusco, Chiapas, México. *Revista de Biología Tropical*, *66*(1), 91-105.
- Bolaños, M. M., Rivillas, C., & SUAREZ, S. (2000). Identificación de micorrizas arbusculares en suelos de la zona cafetera colombiana.
- Chengala, L., & Singh, N. (2017). Botanical pesticides—A major alternative to chemical pesticides. *A review. Int. J. Life Sci*, *5*(4), 722-729.
- Cornejo, C., & Wilkie, A. C. (2010). Greenhouse gas emissions and biogas potential from livestock in Ecuador. *Energy for sustainable development*, *14*(4), 256-266.
- Del Aguila, K. M. (2016). Efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares a plantones de café (*Coffea arabica*), variedad caturra a nivel de vivero en la región San Martín.
- Del Aguila, K. M., Vallejos-Torres, G., Arévalo, L. A., & Becerra, A. G. (2018). Inoculación de consorcios micorrízicos arbusculares en *Coffea arabica*, variedad Caturra en la región San Martín. *Información tecnológica*, *29*(1), 137-146.

- Enríquez, F., Núñez, L., & 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*, 1, 10.
- Espinoza, W. (2017). *Análisis sectorial del café y elaborados y su importancia en las exportaciones ecuatorianas, periodo 2012-2016* Universidad de Guayaquil.
- FENIAGRO. (2010). Biofertilizantes, bioprotectores y biorestauración micorrízicos para la producción agroecológica en las fincas de los productores de café.
- Forum. (2019). El Café en Ecuador. *Forumcafé*, 2. <https://doi.org/https://www.revistaforumcafe.com/el-cafe-en-ecuador>
- Gerdemann, J., & 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.
- González, P. J., Rivera, R., Arzola, J., Morgan, O., & Ramírez, J. F. (2011). Efecto de la inoculación de la cepa de hongo micorrízico arbuscular *Glomus hoi-like* en la respuesta de *Brachiaria* híbrido cv. Mulato II (CIAT 36087) a la fertilización orgánica y nitrogenada. *Cultivos Tropicales*, 32(4), 05-12.
- Gotteland, M., & De Pablo, V. (2007). Algunas verdades sobre el café. *Revista Chilena de Nutrición.*, 34, 105-115. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182007000200002>
- Grace, C., & Stribley, D. (1991). A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 95(10), 1160-1162.
- Guachanama, J. (2020). Aislamiento e identificación morfológica de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) asociados al café en sistemas agroforestales en el sur del Ecuador. .
- Guambi, L., Soto, M., Solórzano, R., Díaz, A., Cedeño, A., Monroy, C., & Villafuerte, W. (2018). Gestión del conocimiento e innovación organizacional para reactivar

- la cadena productiva del café robusta, Ecuador. *Revista Espamciencia*, 9(1), 61-72.
- Guerra, P. (2014). Evaluación de programas de fertilización de almacigales de café en el cantón de Pérez Zelendón. San José. Costa Rica. ICAFE. *Boletín Técnico*, 53.
- Hernández, W., & Salas, E. (2009). La inoculación con *Glomus fasciculatum* en el crecimiento de cuatro especies forestales en vivero y campo. *Agronomía costarricense*.
- INVAM. (2018). International culture collection of (vesicular) arbuscular mycorrhizal fungi. In: West Virginia University Morgantown.
- Janerette, C. A. (1991). An introduction to mycorrhizae. *The American Biology Teacher*, 13-19.
- Klironomos, J. N. (2003). Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology*, 84(9), 2292-2301.
- Kurniati, D. (2018). The Higher-Order Thinking Process of Students Around a Coffee Plantation Based on Revised Bloom's Taxonomy Criteria During Mathematics and Science Collaborative Learning. *Advanced Science Letters*, 24(1), 426-428.
- León, D. (2006). Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (*manihot esculenta* sp) en dos regiones de la Amazonía colombiana.
- Molina, M., Mahecha, L., & Medina, M. (2005). Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 18(2), 162-175.
- Monteros, A. (2016). *Rendimientos de café grano seco en el Ecuador 2016* (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca., Issue. [http://revistasepam.espam.edu.ec/index.php/Revista\\_ESPAMCIENCIA/article/view/156/139](http://revistasepam.espam.edu.ec/index.php/Revista_ESPAMCIENCIA/article/view/156/139)
- Noboa, I. C., Morán, J. N., & Barcos-Arias, M. (2018). Presencia de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en especies representativas del bosque seco tropical del litoral ecuatoriano. *Bionatura*.

- Oerke, E.-C., & Dehne, H.-W. (2004). Safeguarding production-losses in major crops and the role of crop protection. *Crop protection*, 23(4), 275-285.
- Pérez, C., Montes, V., & Rojas, S. (2011). Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el Caribe Colombiano. *Rev. Colombiana cienc*, 3(2).
- Petterson, R., Massicotte, H., & Melville, L. (2004). Mycorrhiza: Anatomy and Cell Biology. Ottawa. In: NRC Research Press.
- Phillips, J. M., & Hayman, D. (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-IN118.
- Ponce, L., Suárez, K., & Velásquez, I. (2016). Diagnóstico y propuesta de un sistema de innovación tecnológica cafetalera en Ecuador. *Revista Cubana de Ciencias Forestales.*, 4(2), 120-129.
- Prieto-Benavides, O. O., Belezaca-Pinargote, C. E., Mora-Silva, W. F., Garcés-Fiallos, F. R., Sabando-Ávila, F. A., & Cedeño-Loja, P. E. (2012). Identificación de hongos micorrízicos arbusculares en Sistemas Agroforestales con cacao en el Trópico Húmedo Ecuatoriano. *Agronomía mesoamericana*, 23(2), 233-239.
- Quilambo, O. A. (2003). The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *African Journal of Biotechnology*, 2(12), 539-546.
- Rivillas, C. (1996). Las Micorrizas Arbusculares en el cultivo del Café. *CENICAFE. Colombia. pp*, 64-74.
- Robles, C. (2008). Crecimiento y nutrición del maguey mezcalero (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de micorrización arbuscular. *Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos*, 217-233.
- Roxburgh, S. H., Shea, K., & Wilson, J. B. (2004). The intermediate disturbance hypothesis: patch dynamics and mechanisms of species coexistence. *Ecology*, 85(2), 359-371.



- Saberian, M., Li, J., Donnoli, A., Bonderenko, E., Oliva, P., Gill, B., . . . Siddique, R. (2021). Recycling of spent coffee grounds in construction materials: A review. *Journal of Cleaner Production*, 289, 125837.
- Schüssler, A., & Walker, C. (2010). The Glomeromycota: a species list with new families and new genera. In: Gloucester: The author.
- Smith, S., & Read, D. (2008). Mycorrhizal Symbiosis. *Tird edition. Academic Press*, 800.
- Trejo, D., Ferrera-Cerrato, R., García, R., Varela, L., Lara, L., & Alarcón, A. (2011). Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. *Revista chilena de historia natural*, 84(1), 23-31.
- Trouvelot, A., Kough, J., & Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthode d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Physiological and genetical aspects of mycorrhizae: proceedings of the 1st european symposium on mycorrhizae, Dijon, 1-5 July 1985,
- Trouvelott, A., Koughh, J., & Gianinazi-Pearson. (1986). Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthode d'estimation ayant une signification fonctionnelle. *Physiological and genetical aspects of mycorrhizae: proceedings of the 1st european symposium on mycorrhizae, Dijon, 1-5 July 1985*, 217-221.
- Urgiles, G., Narcisa, Guachanamá, S., José, Granda, M., Iván, Robles, C., Ángel, Encalada, C., Max, Loján, A., Paúl, . . . Collahuazo, R., Yadira. (2020). Caracterización morfológica de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) asociados al café en sistemas agroforestales de la provincia de Loja, Ecuador. *Bosques Latid. Cero*, 10, 137-145.
- Valverde-Lucio, Y., Moreno-Quinto, J., Quijije-Quiroz, K., Castro-Landín, A., Merchán-García, W., & Gabriel-Ortega, J. (2020). Biostimulants: An innovation in agriculture for coffee cultivation (*Coffea arabica* L). *Journal of the Selva Andina Research Society*, 11(1), 18-28.

- Walker, J. A. (1997). Ecological morphology of lacustrine threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* L.(Gasterosteidae) body shape. *Biological Journal of the Linnean Society*, 61(1), 3-50.
- Yosa, M. C., & Regalado, J. G. (2021). Análisis de la competitividad de las exportaciones de café de Ecuador versus Colombia y Brasil hacia el mercado de USA. *X-pedientes Económicos*, 5(12), 65-80.

## 11. Anexos

### Anexo 1. Técnica del tamizado y Extracción de esporas

Pesar 600 gramos de suelo provenientes de plantas trampas de cada uno de los tratamientos que tengan inóculo de HMA.

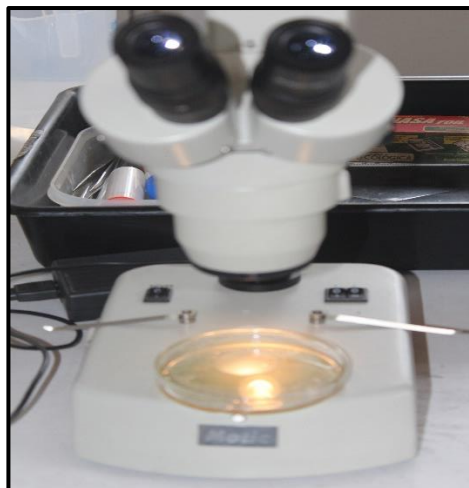
Se coloca el contenido en tamices de 350, 290 y 38  $\mu\text{m}$  en orden de mayor a menor y se realiza el tamizado con agua fría. Se recogió el contenido del tamiz de 290 y 28  $\mu\text{m}$ , y se colocó en tubos Falcón (50 ml de volumen).

Se prepara una solución de sacarosa al 70 %. Y se vierte en los tubos que contiene el material tamizado.

Se centrifuga los tubos por dos minutos a 2400 rpm

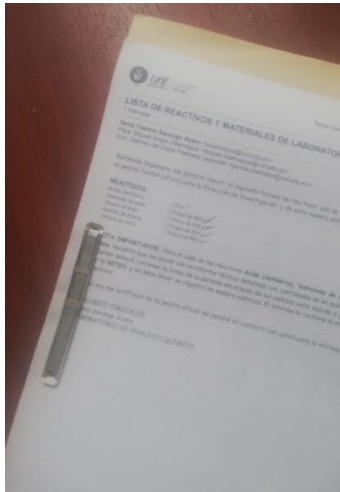
Se deja reposar los tubos por 15 minutos, luego se vierte el sobrenadante en el tamiz de 38  $\mu\text{m}$  y se enjuaga para eliminar el resto de sacarosa.

Se vierte el contenido en cajas Petri y se observa en un estéreo microscopio

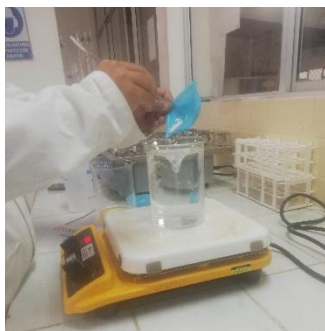


## Anexo 2. Preparación de capsulas de HMA

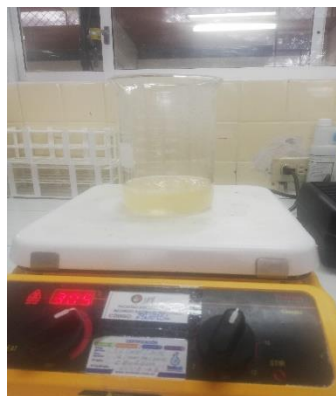
### Adquisición de reactivos



### Preparación de soluciones



Cloruro de calcio



Alginato de sodio



Autoclavado de alginato

### Preparación de coctel



Obtención y trituración de raíces



Agregar las esporas en maicena



Agregar alginato

**Polimeracion de capsulas**



Agregar raíces



Remover



Absorver con micropipeta



Dejar caer gota a gota en la solución de cloruro de calcio



Dejar reposar para que solidifiquen



Almacenar hasta su aplicación o siembra



### Anexos 3. Establecimiento del cultivo de café var Caturra



### Anexo 4. Preparación y enfundado de sustrato en proporción 1:1 (arena de mina y turba).



Anexo 5. Tratamientos utilizados en el periodo de estudio.



Anexo 6. Aplicación de tratamientos y cronograma de evaluación.



#### Cronograma de evaluación

Siembra del café: 15 de junio del 2022

Evaluación de variables (Altura, diámetro y número de hojas)

- 30 de junio del 2022
- 15 de julio del 2022
- 30 de julio del 2022
- 14 de agosto del 2022
- 29 de agosto del 2022
- 13 de septiembre del 2022
- 28 de septiembre del 2022

Evaluación de materia seca

- 3 de octubre del 2022

Evaluación del porcentaje de colonización de HMA

- 3 de octubre del 2022

Anexo 7. Evaluación de la altura de la planta.



Anexo 8. Evaluación del diámetro del tallo utilizando un calibrador.





Anexo 9. Muestras para determinar las diferentes variables fisiológicas: materia seca (%)



Anexo 10. Cuantificación de número de esporas de consorcios de HMA

<b>Capsulas polimerizadas</b>	
Diámetro de la capsula	0.5 cm
Peso de la capsula	1 gramo
Numero de esporas	De 8 a 12 esporas con un promedio de 9 esporas por capsula
Color de esporas	De acuerdo al género y morfotipo puede ser de hialino a marrón oscuro
Diámetro de esporas	Varía desde 20 a 150 $\mu\text{m}$

Anexo 11. Diferencia en variables morfológicas (entre tratamientos) en el periodo de estudio Abril – septiembre 2022.

15 de junio	Tratamiento	Descripción	Altura de la planta	Diametro del tallo (mm)	Nº de hojas
	T0	Testigo 30 capsulas sin HMA T1:R1	6.21	2.00	4
	T1	10 capsulas de HMA	6.21	2.00	4
	T2	20 capsulas de HMA	6.29	2.00	4
	T3	30 capasulas de HMA	6.23	2.00	4
			6.2	2.0	4
30 de junio	Tratamiento	Descripción	Altura de la planta	Diametro del tallo (mm)	Nº de hojas
	T0	Testigo 30 capsulas sin HMA T1:R1	6.21	2.00	4
	T1	10 capsulas de HMA	6.21	2.00	4
	T2	20 capsulas de HMA	6.29	2.00	4
	T3	30 capasulas de HMA	6.23	2.00	4
			6.23	2.00	4
15 de julio	Tratamiento	Descripción	Altura de la planta	Diametro del tallo (mm)	Nº de hojas
	T1	Testigo 30 capsulas sin HMA T1:R1	6.35	2.00	4
	T2	10 capsulas de HMA	6.44	2.00	4
	T3	20 capsulas de HMA	6.60	2.00	4
	T4	30 capasulas de HMA	6.31	2.00	4
30 de julio	Tratamiento	Descripción	Altura de la planta	Diametro del tallo (mm)	Nº de hojas
	T1	Testigo 30 capsulas sin HMA T1:R1	7.06	2.08	4
	T2	10 capsulas de HMA	10.04	2.02	4
	T3	20 capsulas de HMA	10.06	2.02	4
	T4	30 capasulas de HMA	10.23	2.46	4
14 de agosto	Tratamiento	Descripción	Altura de la planta	Diametro del tallo (mm)	Nº de hojas
	T1	Testigo 30 capsulas sin HMA T1:R1	7.06	2.08	4
	T2	10 capsulas de HMA	10.04	2.02	4
	T3	20 capsulas de HMA	10.06	2.42	4
	T4	30 capasulas de HMA	10.23	2.46	4
29 de agosto	Tratamiento	Descripción	Altura de la planta	Diametro del tallo (mm)	Nº de hojas
	T1	Testigo 30 capsulas sin HMA T1:R1	7.67	2.10	4
	T2	10 capsulas de HMA	10.18	2.24	4
	T3	20 capsulas de HMA	11.88	2.63	6
	T4	30 capasulas de HMA	12.00	2.69	6
13 de agosto	Tratamiento	Descripción	Altura de la planta	Diametro del tallo (mm)	Nº de hojas
	T1	Testigo 30 capsulas sin HMA T1:R1	9.58	2.13	4
	T2	10 capsulas de HMA	10.58	2.23	6
	T3	20 capsulas de HMA	12.54	2.75	6
	T4	30 capasulas de HMA	13.75	2.85	8

Anexo 12. Promedios de las variables morfológicas obtenidas al final del periodo de estudio (Abril – septiembre 2022).

Tratamiento	Altura de la planta	Diametro del tallo	Número de hojas
HMA-Control	7.2	2.0	4
HMA-Bajo	8.5	2.0	4
HMA-Medio	9.1	2.2	4
HMA-Alto	9.3	2.3	6

Anexo 13. Análisis de varianza ANOVA y test de Tukey para altura de la planta

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Altura de la planta	28	0.13	0.02	27.87

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19.35	3	6.45	1.14	0.3514
Tratamiento	19.35	3	6.45	1.14	0.3514
Error	135.27	24	5.64		
Total	154.62	27			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=3.50071

Error: 5.6364 gl: 24

Tratamiento	Medias	n	E.E.
T3	9.28	7	0.90 A
T2	9.10	7	0.90 A
T1	8.53	7	0.90 A
T0	7.16	7	0.90 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

## Anexo 14. Análisis de varianza ANOVA y test de Tukey para el diámetro del tallo

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Diámetro del tallo	28	0.24	0.15	11.18

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.45	3	0.15	2.58	0.0767
Tratamiento	0.45	3	0.15	2.58	0.0767
Error	1.38	24	0.06		
Total	1.83	27			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.35395

Error: 0.0576 gl: 24

Tratamiento	Medias	n	E.E.
T3	2.34	7	0.09 A
T2	2.17	7	0.09 A
T0	2.04	7	0.09 A
T1	2.03	7	0.09 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Anexo 15. Análisis de varianza ANOVA y test de Tukey para el número de hojas

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
numero de hojas	28	0.28	0.19	27.74

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	16.43	3	5.48	3.11	0.0453
Tratamiento	16.43	3	5.48	3.11	0.0453
Error	42.29	24	1.76		
Total	58.71	27			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.95725

Error: 1.7619 gl: 24

Tratamiento	Medias	n	E.E.
T3	6.00	7	0.50 A
T2	4.86	7	0.50 A B
T1	4.29	7	0.50 A B
T0	4.00	7	0.50 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Anexo 16. Análisis de varianza ANOVA y test de Tukey para biomasa seca radicular y foliar

**Biomasa seca radicular**

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Biomasa	12	0.49	0.30	38.73

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.01	3	4.5E-03	2.61	0.1238
Tratamiento	0.01	3	4.5E-03	2.61	0.1238
Error	0.01	8	1.7E-03		
Total	0.03	11			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.10886

Error: 0.0017 gl: 8

Tratamiento	Medias	n	E.E.
T3	0.16	3	0.02 A
T2	0.11	3	0.02 A
T0	0.10	3	0.02 A
T1	0.06	3	0.02 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

## Biomasa seca foliar

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Biomasa	12	0.20	0.00	61.21

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.05	3	0.02	0.66	0.6018
Tratamiento	0.05	3	0.02	0.66	0.6018
Error	0.20	8	0.03		
Total	0.25	11			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.41342

Error: 0.0250 gl: 8

Tratamiento	Medias	n	E.E.
T2	0.33	3	0.09 A
T3	0.30	3	0.09 A
T1	0.23	3	0.09 A
T0	0.17	3	0.09 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Anexo 17. Análisis de varianza ANOVA y test de Tukey para el porcentaje de colonización de hongos micorrizicos en plántulas de café

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
escala	12	0.97	0.95	17.50

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	39.33	3	13.11	78.67	<0.0001
Tratamiento	39.33	3	13.11	78.67	<0.0001
Error	1.33	8	0.17		
Total	40.67	11			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.06745

Error: 0.1667 gl: 8

Tratamiento	Medias	n	E.E.
T3	5.00	3	0.24 A
T2	2.67	3	0.24 B
T1	1.67	3	0.24 B
T0	0.00	3	0.24 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Anexo 18. Técnica para el porcentaje de colonización

Para el aclareo de las muestras de raíces, se sumergieron en Hidróxido de Potasio (KOH 10 %) a baño maría a 60 °C por 20 minutos,

Luego se enjuagaron, y seguidamente, se sumergieron por dos minutos en ácido clorhídrico (HCl 10 %), donde las raíces adquirirán un color blanco.

Luego, se desechará la solución química, logrando que las raíces queden sin fenoles para la tinción.

Las raíces se tiñeran con una solución compuesta por azul de metileno al 0,05 %, diluido en Ácido Láctico al 90 %, a baño maría a 60 °C por 20 minutos. Posteriormente, se colocarán en un portaobjetos 5 segmentos de raíces de aproximadamente 1 cm, bien extendidos, a los que se adicionarán unas gotas de Ácido Láctico (90 %). Acto seguido, se cubrirá la muestra con el cubreobjetos, dejando listo el montaje con la finalidad de realizar la observación de las estructuras de los HMA como: arbusculos, apresorios, hifas intercelulares e intracelulares y evaluar el grado o porcentaje de colonización de los consorcios de HMA. En la Figura 2 se muestra la escala visual utilizada para la determinación del porcentaje de colonización de los HMA en segmentos de raíces de un cm ([Trouvelot et al., 1986](#)).

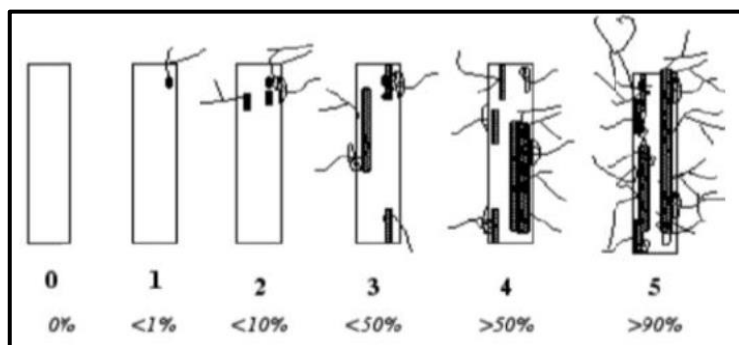


Figura 12. Escala de porcentaje de micorrización en raíces

**Fuente:** (Trouvelot *et al.*,1986).

Anexo 19. Tercera visita de campo socialización de resultados el proyecto de investigación





### CERTIFICADO DEL RESUMEN

Yo, **Maholy Katherine Morocho Merino**, portadora de la cedula de Identidad N°:1104677131. Licenciada en Ciencias de la Educación Especialidad Idioma Inglés. Certifico la traducción al idioma inglés el resumen de la tesis denominada: "**Evaluación de formulaciones de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en el crecimiento de plántulas de café (Coffea sp) en condiciones controladas**", perteneciente al señor **Michael Alexander Tucto Yanza**, esta corresponde al texto original en español.

A la parte interesada muy atentamente,



---

**Maholy Katherine Morocho Merino**

Licenciada en Ciencias de la Educación Especialidad Idioma Inglés  
Registro N° 1008-2016-1695982 SENECYT.