



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

Proyecto de Investigación
previo a la obtención del título
de Ingeniero Forestal.

Título del Proyecto de Investigación:

Micorrizas arbusculares y su interacción con especies forestales del bosque protector Pedro Franco Dávila del recinto Jauneche, cantón Palenque, provincia de Los Ríos

Autor:

García Basurto Roselia Alexandra

Director del proyecto de Investigación:

Ing. For. Oscar Prieto Benavides PhD

Quevedo - Los Ríos - Ecuador

2021

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Roselia Alexandra García Basurto**, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; el cual no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Roselia Alexandra García Basurto

CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

El suscrito, **Ing. Oscar Prieto Benavides PhD**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la estudiante Roselia Alexandra García Basurto, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “**Micorrizas arbusculares y su interacción con especies forestales del bosque protector Pedro Franco Dávila del recinto Jauneche, cantón Palenque, provincia de Los Ríos**” previo a la obtención del título de Ingeniero Forestal, bajo mi dirección, habiendo cumplido con todas las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Ing. For. Oscar Prieto Benavides, PhD
DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

CERTIFICACIÓN DEL URKUND EMITIDA POR EL DIRECTOR

El suscrito, **Ing. Oscar Prieto Benavides PhD**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el proyecto de Investigación de la aspirante a Ingeniero Forestal Roselia Alexandra García Basurto “**Micorrizas arbusculares y su interacción con especies forestales del bosque protector Pedro Franco Dávila del recinto Jauneche, cantón Palenque, provincia de Los Ríos**” fue analizado por el sistema URKUND, y presentó el 9% de similitud; este porcentaje está considerado dentro de los límites permitidos por el Reglamento e Instructivos de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Ing. For. Oscar Prieto Benavides, PhD
DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

CERTIFICACIÓN DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO



Document Information

Analyzed document	Proyecto_Investigación_Roselia Garcia Basurto.docx (D97748750)
Submitted	3/9/2021 4:24:00 PM
Submitted by	
Submitter email	oprieto@uteq.edu.ec
Similarity	9%
Analysis address	oprieto.uteq@analysis.urkund.com

Ing. For. Oscar Prieto Benavides, PhD
DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

“Micorrizas arbusculares y su interacción con especies forestales del bosque protector Pedro Franco Dávila del recinto Jauneche, cantón Palenque, provincia de Los Ríos”

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero Forestal

APROBADO POR:

Ing. Mercedes Carranza Patiño, PhD
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Jaime Morante Carriel, PhD
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. José Nieto Rodríguez, PhD
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

QUEVEDO - LOS RÍOS - ECUADOR

2021

AGRADECIMIENTO

Gracias a Dios por darme la oportunidad de vivir día tras día, por fortalecer mi mente y espíritu.

A mi familia porque siempre me han apoyado en cada decisión a lo largo de esta carrera, también quiero agradecer a mi suegra Lucinda Cedeño Sánchez y a mi cuñada Jenny Bravo Cedeño, gracias por el apoyo.

Agradecida con la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Decanos, Coordinadores y a cada uno de los docentes que contribuyeron a mi formación profesional para culminar con éxitos la carrera.

A mi director de tesis Ing.For. Oscar Prieto Benavides, por enseñarme y transmitir sus conocimientos para la realización de este estudio.

Al biólogo José Bonifaz que me ayudo con el reconocimiento de especies para mi trabajo de tesis.

Al Ing. Orlando Espinoza, muchas gracias por la ayuda que me ha brindado es sumamente importante, por su apoyo, por los consejos que muchas veces compartió conmigo, para lograr esta meta, le agradezco infinitamente el apoyo incondicional.

A mis amigos que brindaron su ayuda a lo largo de mi carrera: Alexandra Franco, Erick García, Jaritza Vélez, Nicolle Macas, Angie Salazar.

DEDICATORIA

Gracias a mis queridos padres Ninfa Basurto y Luis García por ser mis guías a lo largo de mi vida, animarme a seguir adelante y por la ayuda para convertirme en profesional.

Gracias a mi esposo Jaime Bravo Cedeño por su apoyo, paciencia y amor para obtener este logro.

A mis queridas hijas Tahiz y Arlet, que son mi vida y se han convertido en una fuente de inspiración para dedicar mi carrera y superar cualquier meta propuesta.

La mayoría de las personas entran y salen de tu vida pero solo los buenos amigos dejan huellas en el corazón. Gracias a mis mejores amigas Melina Chávez Rivera y Helen Zambrano Palma que compartieron experiencias increíbles durante la universidad, lo que fortaleció nuestro nudo de amistad como hermanas.

Gracias

RESUMEN EJECUTIVO

Conocer la dinámica estacional de los hongos micorrízicos vesículos- arbusculares, nos permite aprovechar los múltiples beneficios significativos que proporcionan al suelo. Su importancia radica en que la asociación micorrízica, puede ser crucial para la supervivencia de las plantas, la presencia de estas representa una simbiosis funcional con la planta, basándose en la ayuda que estos hongos dan al momento de la absorción nutrientes y minerales. La presente investigación se realizó en el bosque protector Pedro Franco Dávila del recinto Jauneche, cantón Palenque, provincia de Los Ríos. El objetivo fue analizar la interacción entre los hongos micorrízicos arbusculares con especies forestales del remanente. Se estableció un diseño completamente al azar, en el cual se seleccionaron cinco especies: *Castilla elastica* Cerv. (Caucho), *Triplaris cumingiana* Fisch. & C.A.Mey. (Fernán Sánchez), *Trema micrantha* (L.) Blume (Sapán de paloma), *Brosimum alicastrum* Sw. (Tillo) y *Sorocea trophoides* W.C.Burger (Tillo prieto), las cuales se realizaron tres repeticiones de cada una. Se recolectaron muestras de raíces y suelo, posteriormente se llevaron al laboratorio para su respectivo análisis. Se evaluó el pH del suelo en agua obteniendo un valor de 6,78. En los índices de diversidad: Riqueza media de especies (S), Shannon (H), Margalef (M) y equitabilidad de Pielou (J), los valores más altos los obtuvo la especie *Triplaris cumingiana* y los valores más bajo los obtuvo la especie *Trema micrantha*, Las esporas identificadas en el estudio fueron: *Acaulospora*, *Claroideoglomus*, *Cetraspora*, *Dentiscutata*, *Gigaspora* y *Scutellospora*, *Funneliformis*, *Glomus* y *Rhizophagus*, con un total de 363 individuos presentes. El mayor número de individuos lo presentó la especie *Castilla elastica* con 114, el menor número de individuos los presentaron las especies *Sorocea trophoides* y *Trema micrantha* con 51 individuos cada especie. Con respecto al porcentaje de colonización micorrízica, la especie *Sorocea trophoides* tuvo la mayor colonización con un porcentaje de 32,1% y la especie con menor porcentaje fue *Castilla elastica* con 4,6%. La densidad visual de colonización micorrizica, la especie *Trema micrantha* que obtuvo el mayor valor con un porcentaje de 1,60% y *Triplaris cumingiana* con un menor porcentaje de 0,75%.

Palabras claves: arbusculares, colonización, índices, micorrízica.

ABSTRACT

Knowing the seasonal dynamics of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi allows us to take advantage of the multiple significant benefits they provide to the soil. Its importance lies in the fact that the mycorrhizal association can be crucial for the survival of plants, the presence of these fungi represents a functional symbiosis with the plant, based on the help that these fungi give at the time of absorption of nutrients and minerals. The present research was carried out in the Pedro Franco Dávila protective forest of the Jauneche area, Palenque canton, Los Ríos province. The objective was to analyze the interaction between arbuscular mycorrhizal fungi with forest species of the remnant. A completely randomized design was established, in which five species were selected: *Castilla elastica* Cerv. (Rubber), *Triplaris cumingiana* Fisch. & C.A.Mey. (Fernán Sánchez), *Trema micrantha* (L.) Blume (Pigeon toad), *Brosimum alicastrum* Sw. (Tillo) and *Sorocea trophoides* W.C.Burger (Tillo prieto), of which three replicates of each were made. Root and soil samples were collected and taken to the laboratory for analysis. The soil pH was evaluated in water, obtaining a value of 6.78. In the diversity indexes: Mean species richness (S), Shannon (H), Margalef (M) and Pielou's equitability (J), the highest values were obtained by the species *Triplaris cumingiana* and the lowest values were obtained by the species *Trema micrantha*, The spores identified in the study were: *Acaulospora*, *Claroideoglossum*, *Cetranspora*, *Dentiscutata*, *Gigaspora* and *Scutellospora*, *Funneliformis*, *Glomus* and *Rhizophagus*, with a total of 363 individuals present. The highest number of individuals was presented by the species *Castilla elastica* with 114, the lowest number of individuals was presented by the species *Sorocea trophoides* and *Trema micrantha* with 51 individuals each species. With respect to the percentage of mycorrhizal colonization, the species *Sorocea trophoides* had the highest colonization with a percentage of 32.1% and the species with the lowest percentage was *Castilla elastica* with 4.6%. The visual density of mycorrhizal colonization, the species *Trema micrantha* obtained the highest value with a percentage of 1.60% and *Triplaris cumingiana* with a lower percentage of 0.75%.

Key words: arbuscular, colonization, index, mycorrhizal.

ÍNDICE

	Págs.
Declaración de autoría y cesión de derechos.....	ii
Certificación del Director de Tesis.....	iii
Certificación del Urkund emitida por el director.....	iv
Certificación del reporte de la herramienta de prevención de coincidencia y/o plagio Académico.....	v
Agradecimiento	vii
Dedicatoria.....	viii
Resumen Ejecutivo	ix
Abstract.....	x
Índice	xi
Índice de Tablas.....	xiv
Índice de Figuras	xiv
Índice de Anexos	xiv
Código Dublín	xvi
Introducción.....	1
CAPÍTULO I. CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	
1.1.2. Problema de investigación.....	3
Diagnóstico	3
Pronóstico	3
1.1.3. Formulación del problema.....	4
1.1.4. Sistematización.....	4
1.2. Objetivos.....	5
1.2.1. General.....	5
1.2.2. Específicos	5
1.3. Justificación	6
CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	
2.1. Marco conceptual.....	8
2.1.1. Generalidades de las micorrizas	8
2.1.2. Definición de micorriza	8
2.1.2.1. Importancia de las micorrizas	8
2.1.3. Colonización micorrizal.....	9

2.1.4.	Factores que afectan a los hongos micorrizicos arbusculares	9
2.1.5.	Transporte de fosfato a la planta.....	9
2.1.6.	Aplicación de la micorriza arbuscular	10
2.1.6.1.	Condiciones para la inoculación de las micorrizas.....	10
2.1.7.	Asociación micorrízica	10
2.2.	Marco referencial.....	11
2.2.1.	Importancia de los hongos micorrízicos	11
2.2.2.	Colonización micorrizal.....	11
2.2.3.	Potencial micorrízico del suelo.....	11
2.2.4.	Clases micorrízicas	12
2.2.5.	Investigaciones relacionadas	12
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN		
3.1.	Localización de la zona de estudio	15
3.2.	Tipo de Investigación	15
3.3.	Métodos de investigación	16
3.4.	Fuentes de recopilación de información	16
3.4.1.	Fuentes primarias.....	16
3.4.2.	Fuentes secundarias	16
3.5.	Diseño de la investigación	17
3.5.1.	Campo.....	17
3.5.2.	Laboratorio	17
3.5.2.1.	Muestreo de raíces	17
3.5.2.2.	Tinción de raíces.....	17
3.5.2.3.	Aclaración, coloración y evaluación de la colonización micorrízica de raíces.....	18
3.5.2.4.	Muestreo de suelo	19
3.5.2.5.	Aislamiento e identificación de esporas del suelo	20
3.5.2.6.	Medición del valor pH del suelo.....	21
3.5.2.7.	Evaluación morfológica de esporas en hongos micorrízicos arbusculares (HMA)	21
3.6.	Tratamiento de datos.....	21
3.6.1.	Registro de los datos	21
3.6.2.	Análisis estadísticos.....	23

3.7.	Instrumentos de investigación	23
3.7.1.	Registro de los datos.....	23
3.8.	Recursos humanos y materiales.....	24
3.8.1.	Materiales de campo	24
3.8.2.	Materiales de laboratorio	24
3.8.3.	Reactivos.....	25
3.8.4.	Equipos	25
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		
4.1.	Identificación de familias y especies de HMA presentes en el bosque protector Pedro Franco Dávila.....	28
4.1.	Índices de diversidad de las asociaciones vegetales con las especies de HMA presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”	31
4.2.	Asociaciones vegetales y Ph del suelo en el bosque protector con especies de HMA	31
4.3.	Porcentaje de colonización micorrízica en raíces de las especies forestales <i>Brosimum alicastrum</i> , <i>Castilla elastica</i> , <i>Sorocea trophoides</i> , <i>Trema micrantha</i> <i>Triplaris cumingiana</i> presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.	32
4.4.	Porcentaje de la densidad visual micorrízica en raíces de las especies forestales <i>Brosimum alicastrum</i> , <i>Castilla elastica</i> , <i>Sorocea trophoides</i> , <i>Trema micrantha</i> y <i>Triplaris cumingiana</i> presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.	33
4.5.	Porcentaje de densidad de colonización en raíces de las especies forestales <i>Brosimum alicastrum</i> , <i>Castilla elastica</i> , <i>Sorocea trophoides</i> , <i>Trema micrantha</i> y <i>Triplaris cumingiana</i> presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.	33
4.6.	Discusión	34
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		
5.1.	Conclusiones.....	38
5.2.	Recomendaciones	39
CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA		
6.1.	Literatura citada.....	41
CAPÍTULO VII ANEXOS.....		
7.1.	Anexos	45

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ficha de campo que se aplicó en la inscripción de los datos obtenidos.	24
Tabla 2. Familia y especies de HMA y número de esporas encontradas en la estación lluviosa. en monodominancia de las especies forestales Brosimum alicastrum, Castilla elastica, Sorocea trophoides, Trema micrantha, y Triplaris cumingiana presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”	29
Tabla 3. Riqueza media de especies (S), índice de Shannon (H), índice de Margalef (M) e índice de equitabilidad de Pielou (J) de las especies forestales Brosimum alicastrum, Castilla elastica, Sorocea trophoides, Trema micrantha, y Triplaris cumingiana presente en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”	31
Tabla 4. Asociaciones vegetales y pH del suelo en solución de Agua (H ₂ O) en el bosque protector “Pedro Franco Dávila” con las especies de HMA, ubicado en la localidad de Jauneche, cantón Palenque.	32
Tabla 5. Colonización micorrízica en raíces de las especies forestales Brosimum alicastrum, Castilla elastica, Sorocea trophoides, Trema micrantha, y Triplaris cumingiana presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.	32
Tabla 6. Densidad visual en raíces de las especies forestales Brosimum alicastrum, Castilla elastica, Sorocea trophoides, Trema micrantha, y Triplaris cumingiana presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica del área del Bosque Pedro Franco Dávila.	15
Figura 2. Porcentaje de densidad de colonización micorrízica en raíces de Trema micrantha, Sorocea trophoides, Brosimum alicastrum, Castilla elastica y Triplaris cumingiana en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.	34

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Recolección de muestras.	45
Anexo 2. Selección de especies forestales.	46
Anexo 3. Lavado, preparación de la solución para la decoloración y tinción de las raíces.	47

Anexo 4. Muestras de raíces, obeservación y raíz observada con el microscopio.	49
Anexo 5. Peso y medición del pH del suelo.	50
Anexo 6. Registro de datos obtenidos de raíces de las especies estudiadas.	52
Anexo 7. Parte de la estadística realizada al proyecto de investigación.....	58

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	“Micorrizas arbusculares y su interacción con especies forestales del bosque protector Pedro Franco Dávila del recinto Jauneche, cantón Palenque, provincia de Los Ríos”			
Autor:	García Basurto Roselia Alexandra			
Palabras clave:	Arbusculares	Colonización	Índices	Micorrízica
Fecha de publicación:				
Editorial:	Quevedo: UTEQ, 2021..			
Resumen:	Conocer la dinámica estacional de los hongos micorrízicos vesículos-arbusculares, nos permite aprovechar los múltiples beneficios significativos que proporcionan al suelo. Su importancia radica en que la asociación micorrízica, puede ser crucial para la supervivencia de las plantas, la presencia de estas representa una simbiosis funcional con la planta, basándose en la ayuda que estos hongos dan al momento de la absorción nutrientes y minerales. La presente investigación se realizó en el bosque protector Pedro Franco Dávila del recinto Jauneche, cantón Palenque, provincia de Los Ríos. El objetivo fue analizar la interacción entre los hongos micorrízicos arbusculares con especies forestales del remanente. Se estableció un diseño completamente al azar, en el cual se seleccionaron cinco especies: <i>Castilla elastica</i> Cerv. (Caucho), <i>Triplaris cumingiana</i> Fisch. & C.A.Mey. (Fernán Sánchez), <i>Trema micrantha</i> (L.) Blume (Sapán de paloma), <i>Brosimum alicastrum</i> Sw. (Tillo) y <i>Sorocea trophoides</i> W.C.Burger (Tillo prieto), las cuales se realizaron tres repeticiones de cada una. Se recolectaron muestras de raíces y suelo, posteriormente se llevaron al laboratorio para su respectivo análisis. Se evaluó el pH del suelo en agua obteniendo un valor de 6,78. En los índices de diversidad: Riqueza media de especies (S), Shannon (H), Margalef (M) y equitabilidad de Pielou (J), los valores más altos los obtuvo la especie <i>Triplaris cumingiana</i> y los valores más bajo los obtuvo la especie <i>Trema micrantha</i>, Las esporas identificadas en el estudio fueron: <i>Acaulospora</i>, <i>Claroideoglosum</i>, <i>Cetraspora</i>, <i>Dentiscutata</i>, <i>Gigaspora</i> y <i>Scutellospora</i>, <i>Funnelformis</i>, <i>Glomus</i> y <i>Rhizophagus</i>, con un total de 363 individuos presentes. El mayor número de individuos lo presentó la especie <i>Castilla elastica</i> con 114, el menor número de individuos los presentaron las especies <i>Sorocea trophoides</i> y <i>Trema micrantha</i> con 51 individuos cada especie. Con respecto al porcentaje de colonización micorrízica, la especie <i>Sorocea trophoides</i> tuvo la mayor colonización con un porcentaje de 32,1% y la especie con menor porcentaje fue <i>Castilla elastica</i> con 4,6%. La densidad visual de colonización micorrízica, la especie <i>Trema micrantha</i> que obtuvo el mayor valor con un porcentaje de 1,60% y <i>Triplaris cumingiana</i> con un menor porcentaje de 0,75%.			
Descripción:				
URI:				

INTRODUCCIÓN

Ecuador es considerado uno de los países mega diversos del planeta, los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) forman parte de esta gran biodiversidad (Salgado *et al.*, 2014), siendo estos de gran importancia ya que facilitan a la planta la toma de nutrientes de baja disponibilidad o de poca movilidad del suelo, mejorando su nutrición, lo que ayuda a un mejor desarrollo. Para Oviedo *et. al.*, 2018 el desarrollo biotecnológico utilizando HMA se ha ido incrementando; pero, cabe mencionar la información que existe respecto a la identificación de los principales géneros de HMA presentes en los bosques ecuatorianos, siendo esta una información necesaria para la ampliación de productos en base a los HMA.

También se puede mencionar que la asociación simbiótica establecida de hongos micorrizicos y plantas proveen múltiples beneficios tales como mejor absorción de agua, nutrientes, mayor protección ante el estrés hídrico, contaminantes y agentes patógenos. Sin embargo, los cambios en la cubierta vegetal, humedad, el uso de fertilizantes y los pesticidas han llevado a la reducción de las poblaciones de estos hongos, afectando consigo las interacciones entre plantas y con ello alterando la composición de la comunidad vegetal. Para Barrer (2009), los HMA son microorganismos presentes en el suelo que forman simbiosis con más del 80% de las plantas, pueden formar arbusculos, vesículas e hifas en el interior de las células corticales de las plantas que son colonizadas.

La asociación del hongo con la planta actúa como complemento de la raíz al momento de la toma de nutrientes, esencialmente de fósforo, mejora la tolerancia a estrés abiótico, así como también, la fijación de nitrógeno, influyendo en el aumento de la biodiversidad y productividad de las plantas. Los organismos que habitan en el suelo se pueden destacar por su función ecológica los hongos formadores de micorrizas, los cuales pueden tener una alta incidencia en la estabilidad de ecosistemas donde las condiciones edáficas son extremas (Garzón, 2015). En este sentido, la micorriza es una simbiosis mutualista que tiene como función aumentar la superficie de absorción de la raíz, por medio de un sistema de hifas extrarradicales. Los antecedentes planteados en la presente investigación se estudió los varios géneros predominantes de los HMA y las condiciones en las cuales están expuestos naturalmente en los bosques teniendo en cuenta que estos poseen sectores con mayor diversidad biológica en todo el país.

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problematización de la investigación

1.1.2. Problema de investigación

La capacidad que tienen las plantas de asociarse con los hongos es considerada como la micotrofia. Según Fitter (2004), la longitud y la frecuencia de los pelos absorbentes de la raíz, son la mejor forma para evaluar la capacidad micotrófica de la planta. Las condiciones óptimas de suelo para las plantas son los que tienen los nutrientes necesarios para su crecimiento y conservación, la asociación simbiótica de plantas con hongos micorrízico, se basa en la ayuda que estos hongos dan al momento de la absorción de fósforo y nitrógeno (González *et al.*, 1995).

El desconocimiento de la dinámica estacional de los hongos micorrízicos vesículos-arbusculares, no permite aprovechar los múltiples beneficios significativos que proporcionan al suelo. Ya que son de gran importancia por promover la estabilidad del ecosistema. Al no conocer variación estacional del grado de colonización por estos simbiontes, no permiten que la vegetación sea micorrizada, y consigo evitando la agregación de los granos de arena, proporcionando la erosión producida por el viento liberando los nutrientes y disminuyendo la humedad del sustrato (González *et al.*, 1995).

Diagnóstico

El grado de colonización por parte de hongos micorrízicos a las plantas, en gran parte depende de la variabilidad estacional del medio en el que se encuentren. En el bosque protector Pedro Franco Dávila no existe un estudio que determine la interacción que existe y los múltiples beneficios que proporcionan los HMA a las plantas presentes en el sitio de estudio.

Pronóstico

La determinación de la relación planta – microorganismos, principalmente el grado de colonización por hongos micorrízicos vesículos-arbusculares, podrían ayudar a un mejor aprovechamiento de los múltiples beneficios que presentan, ya que estos ayudan a promover la estabilidad del ecosistema.

1.1.3. Formulación del problema

No existen estudios que determinen la interacción de hongos micorrícicos arbusculares asociados a especies forestales en el bosque protector Pedro Franco Dávila que permitan conocer el nivel de colonización por parte de estos hongos y los beneficios que proveen a las plantas de dicho sitio.

1.1.4. Sistematización

¿Existen hongos micorrizicos arbusculares en las especies forestales presentes en el bosque protector Pedro Franco Dávila?

¿Hay interacción entre hongos micorrizicos arbusculares y las especies forestales presentes en el bosque protector Pedro Franco Dávila?

¿Existe colonización de hongos micorrizicos en las raíces de las especies forestales presentes en el bosque protector Pedro Franco Dávila?

1.2. Objetivos

1.2.1. General

Analizar la interacción de los hongos micorrízicos arbusculares con especies forestales del bosque protector Pedro Franco Dávila del recinto Jauneche, cantón Palenque, provincia de Los Ríos.

1.2.2. Específicos

- Identificar los hongos simbiosis micorrízicos presentes en especies forestales del bosque protector Pedro Franco Dávila.
- Evaluar la dinámica que existe entre hongos micorrízicos arbusculares y las especies forestales presentes en el bosque protector Pedro Franco Dávila.
- Determinar el porcentaje de colonización de hongos micorrízicos en las raíces de las especies forestales

1.3. Justificación

Dependiendo del lugar, la asociación micorrízica, puede ser crucial para la supervivencia de las plantas, la presencia de colonización micorrízica arbusculares representa una simbiosis funcional con la planta. Tienen la función ecológica de desbloquear y solubilizar los nutrientes del suelo entre ellos los más importantes: fósforo, zinc, nitrógeno, brindan protección ante patógenos y a favor de esto la planta le brinda carbohidratos y proteínas para el sostenimiento metabólico del hongo. Los HMA también son los más importantes cooperadores para el establecimiento y crecimiento de las plantas (Barrer, 2009).

Se dice que, en las comunidades terrestres, la diversidad de especies vegetales se determina por la presencia de hongos micorrízicos arbusculares. Teniendo diferencias significativas relacionadas con el ambiente en cuanto a la humedad relativa, funciones biológicas y producción de esporas. La relación simbiótica que se produce entre los HMA y el sistema radicular de las plantas influye de manera determinante en el desarrollo de las mismas (Garzón, 2016).

La colonización de hongos micorrízicos arbusculares de las raíces no producen daño alguno a la planta, sus hifas se distribuyen en el suelo, el micelio externo tiene la función de ser participe en la adquisición de agua y nutrientes para la planta, además de brindar tolerancia a las plantas a soportar en ambientes extremos. Estos hongos presentan bastante distribución en la naturaleza, también considerados como hongos cosmopolitas al ser encontrados en ecosistemas áridos y semiáridos y estos van a depender de las estaciones del año y características edáficas y de latitud (Barrer, 2009).

La presente investigación quiere analizar la interacción de los hongos micorrízicos arbusculares presentes en el Bosque Protector Pedro Franco Dávila, con el cuál se pretende identificar el grado de colonización por parte del hongo, con ello la cuantificación de esporas e identificación morfoespecies de hongos presentes, determinando la relación beneficio que estos dan y obtienen en el ecosistema vegetal del Bosque Protector.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco conceptual

2.1.1. Generalidades de las micorrizas

En el suelo se consideran las características físicas, químicas y biológicas, la combinación de estas características pueden producir cambios significativos en la disponibilidad de nutrientes y de los ciclos biogeoquímicos en las plantas. Sin embargo, con las características biológicas, las plantas captan los nutrientes por medio de las interacciones establecidas por los microorganismos que viven en la rizosfera, por lo general con aquellos denominados simbioses (Guerra, 2018).

Un alto porcentaje de plantas tienen las características de formar simbiosis micorrízica, entre las principales: Ectomicorriza y Micorriza Arbuscular. En la micorriza arbuscular los hongos responsables de su génesis pertenecen a la clase de los Zygomycetes y al Orden de los Glomales, distribuidos en seis géneros (*Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora* y *Scutellispora*) con un número no mayor de 250 especies en total (Meza, 2016).

2.1.2. Definición de micorriza

Es resultado de la unión hongo raíz, mediante una asociación simbiótica en la que ambos organismos resultan beneficiados, al relacionarse ambos: la planta le proporciona al hongo carbohidratos, proteínas y lípidos, necesarios para su desarrollo como organismo multicelular iniciando así su ciclo de vida, a su vez el hongo le permite a la planta mejor captación de nutrientes, minerales y agua que se encuentran en baja proporción en el suelo que habitan (Meza, 2016).

2.1.2.1. Importancia de las micorrizas

Su importancia en los ecosistemas naturales es aceptada y materializada por mejorar la productividad de las plantas y la diversidad, así como una mayor resistencia de las plantas frente a estreses bióticos y abióticos. El estrés ambiental constituye el principal obstáculo para su supervivencia y reproducción. Este estrés involucra baja disponibilidad de agua, patrones de lluvia altamente impredecibles, suelos pobres en nutrimentos (nitrógeno y fósforo) con alta variación espacial y temporal y suelos con alta salinidad. Actualmente, las

micorrizas se consideran cada vez más en la agricultura, en los programas de horticultura y silvicultura, así como para la recuperación del medio ambiente, para aumentar el rendimiento del cultivo y para limitar la aplicación de agroquímico (Sánchez, 2015).

2.1.3. Colonización micorrizal

La capacidad que tienen las raíces para establecer simbiosis benéficas con microorganismos del suelo, los suelos poseen naturalmente una diversidad de especies de micorrizas, que pueden colonizar las raíces de la mayoría de las plantas cultivadas, independientemente de las condiciones ambientales, mejorando así el suministro de nutrientes, crecimiento y producción de las plantas hospederas especialmente en condiciones de nutrientes deficientes. Las asociaciones con hongos micorrízicos representan las simbiosis de mayor relevancia en los sistemas agroecológicos (Pérez y Vertel, 2010).

2.1.4. Factores que afectan a los hongos micorrizicos arbusculares

Los factores que hay que tomar en cuenta son la temperatura, el pH y la presencia de patógenos que lo puedan atacar, entre otros factores que reducen la colonización de micorrizas, así como su función es el arado, ya que destruye las esporas y rompe las hifas que se encuentran en la superficie del suelo, además de llevar a las esporas a las profundidades del suelo dejándolas fuera del alcance de las raíces. También la quema de rastrojos, un drenaje pobre y la inundación de los suelos son prácticas del mal manejo en terreno que afectan la viabilidad de las micorrizas (Sánchez, 2015).

2.1.5. Transporte de fósforo a la planta

El transporte del fósforo, desde la solución del suelo hacia la planta, se presenta en tres fases: tales como: a) El fósforo es captado por las hifas externas de la planta, unas 1 000 veces más rápido, que por difusión en la solución del suelo; b) desde donde el fósforo es trasladado a través de las hifas intraradicales, c) luego, ocurre la transferencia al citoplasma o acumulación en las vacuolas, en forma de gránulos de polifosfato que son impulsados a través del lumen de las hifas, por corrientes citoplasmáticas hacia los arbuscúlos, en donde el polifosfato es degradado y el ion fósforo es transferido a la célula hospedadora (Meza, 2016).

2.1.6. Aplicación de la micorriza arbuscular

Las poblaciones naturales de HMA son a veces insuficientes o ineficientes para que se dé una buena simbiosis; esto afecta negativamente al desarrollo de los cultivos; por ello es que se pueden incrementar estos hongos, mediante la producción de inóculos nativos de un determinado suelo, o también se han aplicado hongos que sin ser nativos han resultado ser eficientes y competitivos. De estas dos prácticas, se prefiere el manejo agro cultural de los hongos nativos y no la introducción de hongos exóticos, pues estos últimos no están adaptados a las condiciones edáficas de un ecosistema en particular (Guerra, 2008).

2.1.6.1. Condiciones para la inoculación de las micorrizas

Osorio (2012) describe cuando es factible la inoculación a las plántulas:

- Las plantas requieren altas cantidades de P.
- La concentración de P disponible es baja.
- La población de HMA nativa del suelo es escasa, poco agresiva e ineficaz, como ocurre en suelos erosionados, degradados o contaminados.
- Se ha realizado un manejo intensivo de fungicidas.
- La especie vegetal depende de la asociación micorrízica. Algunas especies tienen una alta dependencia micorrízica, mientras que otras tienen baja dependencia y algunas son independientes de esta asociación.

2.1.7. Asociación micorrízica

La asociación micorrízica indica la amplia red de hifas extrarradicales desarrolladas por los HMA se extienden desde la superficie de la raíz, esto aumenta considerablemente la superficie de absorción de la planta de 100 a 1000 veces, y por tanto su capacidad de absorción. A medida que las hifas crecen captan y transfieren nutrientes de baja difusión, principalmente P, Cu, Zn, entre otros, desde la solución del suelo hasta la planta huésped. Además de su papel en la nutrición vegetal, la asociación micorrízica contribuye significativamente al mejoramiento de la estructura del suelo, incrementa la resistencia de la planta al estrés hídrico, al ataque de enfermedades y favorece interacciones con otros microorganismos benéficos (Meza, 2016).

2.2. Marco referencial

2.2.1. Importancia de los hongos micorrízicos

La microbiota realiza una serie de funciones clave para mantener la productividad, diversidad y estructura de la comunidad vegetal. La tierra, porque actúa como proveedora de nutrientes para las plantas. Entre los organismos que viven en el suelo, se pueden destacar los hongos micorrízicos por sus funciones ecológicas, que pueden tener un alto impacto en la estabilidad del ecosistema en determinadas condiciones. La vanguardia es extrema, en este sentido, la micorriza es una relación simbiótica, incrementar la función de la superficie de absorción radicular mediante sistema de hifas radicales libres. Las plantas absorbiendo más agua, minerales (nitrógeno y fósforo) e iones de baja movilidad (Ácido fosfórico, amoníaco, zinc, cobre), beneficioso para su equilibrio hídrico y nutrición (Garzón, 2016).

2.2.2. Colonización micorrizal

Cuando la temperatura ambiente y el agua es favorable, las esporas y las hifas juegan un papel como la estructura de la infección de la HMA, en contaminar el suelo y entrar en contacto con la superficie de la raíz. Durante este proceso de infección, los hongos micorrízicos Se planta en la epidermis y en las células de la corteza de la raíz. En estos tejidos, los hongos formarán estructuras llamadas arbuscúlos que le permiten intercambiar nutrientes con la raíz. Pueden crecer hifas de hongos desde la raíz de la planta hasta el exterior del suelo, explorando suelos sin raíces de acceso. Después de la formación de arbuscúlos, generalmente utiliza ciertos tipos de estructuras de apariencia HMA, llamadas vesículas, por lo general, se forman en los extremos de las hifas intrarradicales del hongo y se consideran órganos de reserva (Osorio, 2012).

2.2.3. Potencial micorrízico del suelo

En los últimos años, la micorriza arbuscular (AM) ha sido profundamente estudiada, y actualmente es indiscutible su influencia en la nutrición mineral de las plantas, especialmente en la absorción de elementos de baja movilidad en el suelo (como P, Cu y Zn, y suelo) en el proceso de prevención de patógenos. Aunque se cree que alrededor del 80% de las plantas pertenecen a una familia capaz de formar MA. Dado que la morfología de la colonización micorrízica que se produce en las raíces de las plantas tiene poco valor taxonómico, la

clasificación de los HMA se basa básicamente en la morfología de sus esporas: utilizando su densidad, la forma, color, tamaño, grosor, tipo y naturaleza de sus paredes, conexión micelial, decoración, etc. Esporas de HMA (número de esporas / 100g Suelo) para medir el suelo (Lovera y Cuenca, 2007).

2.2.4. Clases micorrízicas

Para Osorio (2012), los principales tipos de micorrizas son:

Ectomicorriza: Corresponde a la relación simbiótica entre las especies vegetales y hongos de interés forestal como: Basidiomycetes y Ascomycetes.

Endomicorrizas o micorrizas arbusculares: Componen la interacción entre las raíces de las especies vegetales abarcando al grupo de plantas de valor agropecuario y hongos Glomeromycetes, llamados hongos micorrizo-arbusculares (HMA).

2.2.5. Investigaciones relacionadas

Ochoa *et al.* (2009), analizaron la variación estacional de hongos micorrízicos arbusculares asociados con *Agave angustifolia* Haw. en la Sierra sonorense, en México evaluando las cuatro estaciones del año, con la finalidad de estimar la relación con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en tres poblaciones silvestres donde muestreó al azar la rizosfera y raicillas de esta especie. Las variables de micorrización mostraron un cambio estacional, al aumentar la esporulación en el verano y el micelio extrarradical en el otoño, así como una disminución en el micelio intrarradical en el otoño, lo cual sugiere una diversidad funcional entre los HMA.

La comparación demostró que sodio, potasio y magnesio son los factores abióticos más considerables, y que los factores bióticos relevantes fueron las relaciones micelio extrarradical: micelio intrarradical y micelio extrarradical: peso seco de raicillas. Sin embargo, el análisis de correspondencia canónica evidenció la relación *A. angustifolia*-HMA es más compleja y no puede explicarse solamente con estos factores Citlalli *et al.* (2016) describió las características de micorrización en poblaciones de *Cyathea sp.* ubicada a distinta altitud sobre la cuenca del río Apulco, Puebla, México. La investigación se realizó

en tres localidades durante primavera y verano, analizando la composición de morfoespecies, el número total de esporas, la colonización micorrízica y la cantidad de micelio extraradicular mediante la técnica de tamizado en húmedo y microscopía. La colonización micorrízica y el número total de esporas varían según la estación climática, en relación con las diferencias en la concentración de fósforo, tipo de vegetación y altitud. Se describieron 11 morfoespecies cuya presencia depende de la época del año; solamente una se encontró en todas las localidades en ambas épocas, mientras que otras dos morfoespecies solo se observaron asociados a *Cyathea sp.* en el bosque de pino-encino. Los resultados permiten proponer algunas morfoespecies como inoculantes que faciliten los programas de reforestación.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización de la zona de estudio

La presente investigación se realizó en el bosque protector Pedro Franco Dávila del recinto Jauneche, cantón Palenque, provincia de Los Ríos. Esta reserva cuenta con una extensión de 136,49 hectáreas de terreno, propiedad de la Universidad de Guayaquil, se encuentra a cargo del Biólogo José Bonifaz. La fase de laboratorio se la realizó en los laboratorios de Química y bioquímica del Campus “La María”, ubicada en el km 7 vía Quevedo-El Empalme, Quevedo, Los Ríos, Ecuador. En la figura 1 detalla la ubicación geográfica del bosque (Tigrero, 2019).

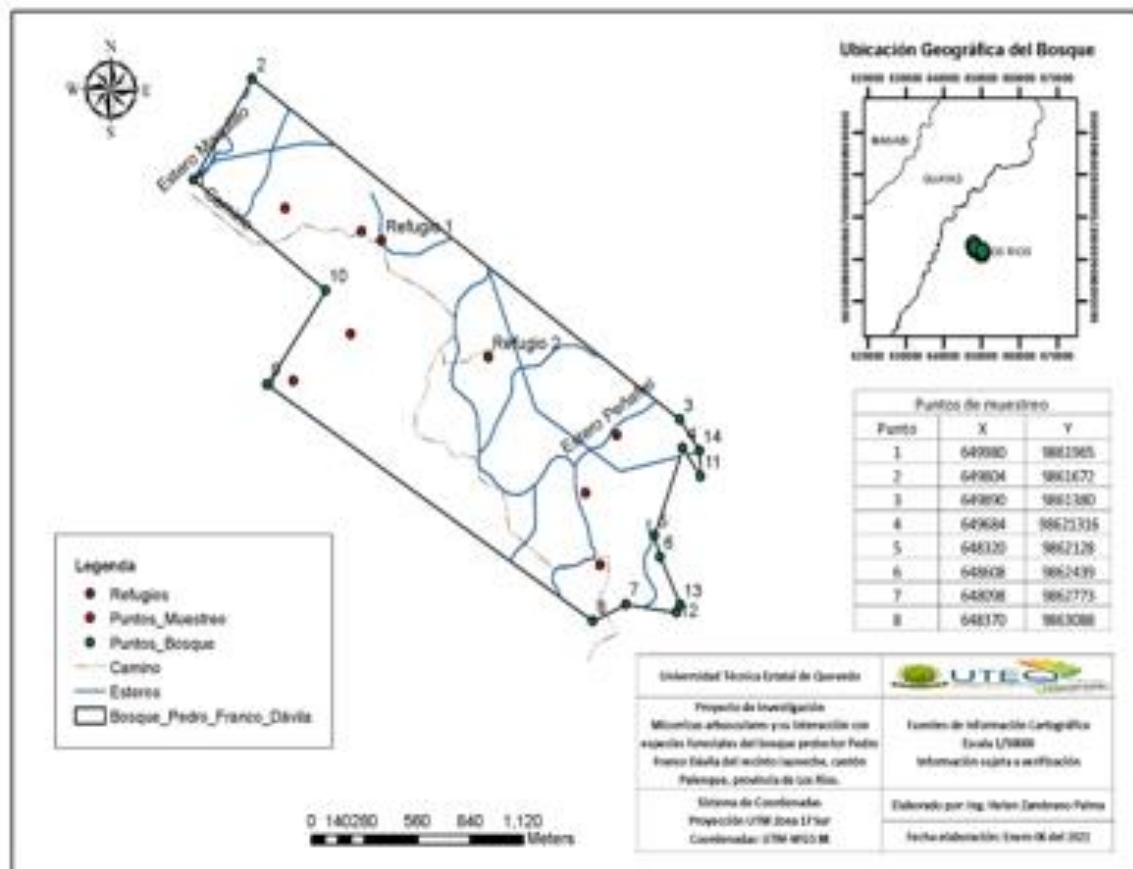


Figura 1. Ubicación geográfica del área del Bosque Pedro Franco Dávila.

3.2. Tipo de Investigación

El estudio se realizó de tipo diagnóstico, comenzando con la extracción de raíces de *Castilla elastica* Cerv. (Caucho), *Triplaris cumingiana* Fisch. & C.A.Mey. (Fernán Sánchez), *Trema micrantha* (L.) Blume (Sapán de paloma), *Brosimum alicastrum* Sw. (Tillo) y *Sorocea trophoides* W.C.Burger (Tillo prieto), para la evaluación y determinación de la colonización

de HMA, seguido con la extracción de muestras de suelo para la identificación morfológica de especies de HMA.

3.3. Métodos de investigación

Se empleó el método inductivo y método experimental, evaluando el estado de colonización micorrízica arbuscular en las especies de *Castilla elastica* Cerv (Caucho), *Triplaris cumingiana* Fisch. & C.A.Mey. (Fernán Sánchez), *Trema micrantha* (L.) Blume (Sapán de paloma), *Brosimum alicastrum* Sw. (Tillo) y *Sorocea trophoides* W.C. Burger (Tillo prieto), cuantificando el porcentaje de colonización micorrízica arbuscular e identificando hongos formadores de micorriza arbuscular en estas plantaciones, utilizando los procedimientos descritos en claves taxonómicas especializadas y la página del INVAM (Internacional Vesicular Arbuscular Culture).

3.4. Fuentes de recopilación de información

La recopilación de los datos necesarios para la investigación fue obtenida del bosque protector Pedro Franco Dávila, cantón Palenque. Además de información por medio de artículos, tesis, publicaciones, los cuales permitieron realizar las distintas etapas del proyecto.

3.4.1. Fuentes primarias

La información fue recolectada mediante un diseño completamente al azar, en el cual se seleccionaron cinco especies: *Castilla elastica* Cerv. (Caucho), *Triplaris cumingiana* Fisch. & C.A.Mey. (Fernán Sánchez), *Trema micrantha* (L.) Blume (Sapán de paloma), *Brosimum alicastrum* Sw. (Tillo) y *Sorocea trophoides* W.C.Burger (Tillo prieto).

3.4.2. Fuentes secundarias

Las fuentes secundarias que se utilizaron fueron: artículos, tesis, publicaciones, datos de campo, entre otros, los cuales permitieron la interpretación del análisis de la interacción de los hongos micorrízicos arbusculares con las especies forestales antes mencionadas del bosque.

3.5. Diseño de la investigación

3.5.1. Campo

3.5.1.1. Raíces

Las raíces fueron recolectadas en el bosque protector Pedro Franco Dávila, cada muestra estará compuesta aproximadamente de 2 kg de suelo y entre 60 y 80 g de raíces. La extracción de las muestras de raíces estará comprendida a una profundidad entre 0 a 20 cm bajo la proyección de la copa de los árboles, por lo general en ese espacio se encontrará la mayor actividad microbiana. Las muestras se recolectaron en fundas plásticas, previamente identificadas.

3.5.1.2. Suelo

Se recolectaron cinco muestras de suelo en puntos establecidos al azar, cada muestra estuvo constituida por tres sub muestras que fueron tomadas en un radio de 1 metro del punto principal de colecta, además cada muestra estuvo compuesta por aproximadamente 2 kg de suelo. La recolección de las muestras de suelo estuvo comprendida a una profundidad de entre 0 a 20 cm, bajo la proyección de la copa de los árboles, que es donde se da la mayor concentración de actividad fúngica. Las muestras recogidas fueron almacenadas en fundas plásticas y transportadas hasta el Laboratorio Química y Bioquímica del Campus “La María”, ubicada en el km 7 vía Quevedo-El Empalme.

3.5.2. Laboratorio

3.5.2.1. Muestreo de raíces

Las raíces se lavaron con agua corriente hasta que se elimine toda impureza y se almacenaron en botellas que contenían 50% de alcohol hasta el momento del análisis de la tasa de colonización micorrízica.

3.5.2.2. Tinción de raíces

Para determinar el porcentaje de colonización micorrízica en las raíces se utilizó el método de Philips y Hayman (1970) que consiste en:

- Lavar las raíces con abundante agua corriente.
- Cubrir las raíces con solución de Hidróxido de potasio (KOH) al 10% y colocarlas al baño de María (90 °C) durante 15 minutos.
- Eliminar el hidróxido de potasio, lavando con agua corriente las raíces, utilizando preferiblemente un tamiz adecuado para evitar pérdidas durante el enjuague.
- Si las raíces son muy oscuras y pigmentadas, un tratamiento adicional de blanqueo con peróxido de hidrogeno (3 %) por 20 minutos será necesario. Las raíces clareadas y blanqueadas se lavaron con abundante agua
- Lavar las raíces por inmersión en solución fresca de KOH al 10% y H₂O₂ al 10 % mezclado en proporción 1:1 (V/V). Deberá dejarse 10 minutos.
- Lavar en agua corriente las raíces.
- Acidificar con una solución de ácido clorhídrico (HCl) al 1N durante 10 minutos.
- Decantar el HCl y sin lavar adicionar Azul de Tripiano al 0.05% en lactoglicerol o cualquier otro colorante y colocar las raíces al baño de María por 15 minutos.
- Retirar el colorante y guardarlo en un recipiente.
- Lavar las raíces en agua destilada y dejarlas en reposo por 12 horas para eliminar el exceso de colorante, o desteñirlas durante la noche con lactoglicerol o glicerol (50 %).
- Montar en lámina y laminilla, 50 raíces de más o menos 1 cm de largo cada una y observar al microscopio.

Por cada muestra se realizaron montajes al microscopio. En una lámina porta objetos se colocaron 50 segmentos de raíces adicionando gotas de glicerol (50 %). Se efectuaron tres repeticiones de cada especie forestal seleccionada. Las observaciones se realizaron en un microscopio a 40x. La frecuencia (%) de colonización radicular se determinó considerando los segmentos colonizados y los no colonizados. Se obtuvo la relación del total de segmentos colonizados con respecto a los segmentos totales evaluados. Se contabilizó con base a colonización total por arbuscúlos o/y por vesículas.

3.5.2.3. Aclaración, coloración y evaluación de la colonización micorrízica de raíces

El proceso de blanqueo y tinción de raíces almacenadas de *Castilla elastica* Cerv. (Caucho), *Triplaris cumingiana* Fisch. & C.A.Mey. (Fernán Sánchez), *Trema micrantha* (L.) Blume (Sapán de paloma), *Brosimum alicastrum* Sw. (Tillo) y *Sorocea trophoides* W.C.Burger

(Tillo prieto), se realizó de acuerdo con la metodología propuesta por Koske y Gemma, (1989), la cual se basa en cortar las raíces en trozos de hasta 1 cm y colocarlas en botellas de vidrio con tapa hermética, luego cubrir las raíces con una solución de KOH al 10% y dejar reposar durante la noche para aligerar el tejido vegetal. Se colocaron en una solución de peróxido de hidrógeno (3%) durante 20 minutos.

Posteriormente se colocaron en una solución de HCl al 1% y luego se teñieron con una solución de azul de tripano al 0.05% en lacto-glicerol (ácido láctico glacial 1:1:1, glicerol y agua). Por último, las raíces se lavaron con agua destilada y se almacenaron en botellas de vidrio que contenían 50% de glicerol para una evaluación adicional de la tasa de colonización micorrízica.

La evaluación de la tasa de colonización micorrízica presente en las raíces de *Castilla elastica* Cerv. (Caucho), *Triplaris cumingiana* Fisch. & C.A.Mey. (Fernán Sánchez), *Trema micrantha* (L.) Blume (Sapán de paloma), *Brosimum alicastrum* Sw. (Tillo) y *Sorocea trophoides* W.C.Burger (Tillo prieto), se realizaron siguiendo el método propuesto por Giovanetti y Mosse, (1980), el cual consiste en analizar la presencia de estructuras fúngicas en la región de la corteza de la raíz (hifas, arbuscos y vesículas que ocurren inter e intracelularmente). Los segmentos de raíces previamente teñidos y cortados en trozos de 1 cm, se extendieron en placas de Petri que tuvieron en las líneas inferiores a cuadros de 1 cm. La observación de la presencia y ausencia de colonización se realizó con la ayuda de un estereoscopio, utilizando las líneas verticales y horizontales de la placa, justo donde las raíces cruzan las líneas, se realizó un mínimo de 100 puntos y el porcentaje de colonización.

3.5.2.4. Muestreo de suelo

Las muestras de suelo que se recolectaron con la ayuda de un barreno holandés, con una profundidad de 0-20 cm, el barreno holandés se limpió con toallas de cocina y etanol de 70% entre recolecciones para evitar la contaminación entre muestras. Para su recolección se colocaron en bolsas de plástico, debidamente selladas y cada una con su respectiva identificación, luego se almacenó en cajas frías llenas de hielo para su debido traslado, posteriormente se llevaron al laboratorio de Química y bioquímica del Campus “La María”, ubicada en el km 7 vía Quevedo-El Empalme, para luego ser colocarlas en refrigeración a una temperatura de 4 a 10°.

3.5.2.5. Aislamiento e identificación de esporas del suelo

Se utilizó el método establecido por Gederman y Nicholson (1963) para el aislamiento e identificación de esporas, el cual se basa en el tamizado y decantación en húmedo, con modificaciones.

El proceso se describe a continuación:

- Se pesó 100 g de suelo y se colocó en un vaso de precipitación, al que se le añadió 1000 mL⁻¹ de agua y se agitó durante 3 a 5 minutos, dependiendo del tipo de suelo. Con la agitación se produjo la disgregación de los terrones.
- La suspensión se dejó reposar durante dos minutos y se pasó a través de tamices con apertura de mallas de 425, 90 y 25 µm para separar las esporas de acuerdo a su tamaño.
- La agitación y decantación se repitió tres veces.
- El material que quedó atrapado en los diferentes tamices se recogió con cuidado y se vertió en vasos de precipitación de 100 mL⁻¹ con 40 a 50 mL⁻¹ de agua destilada.
- En tubos de centrifuga de 15 mL⁻¹ se colocó 5 mL⁻¹ de solución de sacarosa al 20%. Luego se agregó 5 mL⁻¹ de solución de sacarosa al 60%, pero esta última solución se vertió en el fondo de la anterior para formar una gradiente de sacarosa. Por último, se agregó 5 mL⁻¹ de la solución del suelo recogido de los tamices, de manera que la solución quedará por debajo del suelo suspendida en agua.
- Se equilibró y se selló los tubos con parafilm y se colocó en la centrífuga durante 3 minutos a 3000 r.p.m.
- Una vez cumplido el tiempo de centrifugación, los tubos se sacaron cuidadosamente de la centrifuga, teniendo la precaución de no romper la interfase agua-sacarosa.
- El contenido de los tubos se vertió en un tamiz de 75 µm y se lavó con agua destilada para eliminar la sacarosa.
- El contenido del tamiz se recogió en envases de vidrio y posteriormente se agregó de a poco en cajas de Petri cuadrículadas de aproximadamente 1,25 cm entre líneas, para hacer el conteo de esporas.
- La identificación de los hongos micorrízicos a nivel de morfoespecies se realizó con la ayuda del microscopio y el apoyo de diferentes claves taxonómicas.

3.5.2.6. Medición del valor pH del suelo

En los suelos procedentes del bosque a estudiar, se midió el pH empleando la metodología propuesta por Steubing *et al.* (2001) que mide el pH en agua (H₂O). El procedimiento consiste en: depositar en un vaso de precipitación 10 g de suelo seco y tamizado con 25 mL-1 de agua destilada. Se agitó las suspensiones durante 10 minutos. La lectura del pH se registró en el sobrenadante de las suspensiones con un pH -metro marca OAKTON modelo 510 series.

3.5.2.7. Evaluación morfológica de esporas en hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

La identificación de las esporas de las muestras del suelo, se agrupó en morfotipos de acuerdo con sus características morfológicas observadas, como el tamaño, color y la ornamentación de la pared de esporas. Para facilitar la identificación de las especies de HMA, éstas se colocaron en portaobjetos con alcohol lactoglicerol-polivinílico y con reactivo Melzer. Las esporas se rompieron por la ligera presión ejercida sobre el cubreobjetos, mostrando sus paredes bajo un microscopio óptico. La identificación taxonómica se llevó a cabo con la colaboración del docente Oscar Prieto Benavides y siguiendo las descripciones morfológicas disponibles en la página de la INVAM (Internacional Vesicular Arbuscular Culture).

3.6. Tratamiento de datos

3.6.1. Registro de los datos

A continuación, se describen los índices más comunes para medir la riqueza de especies (Corella *et al.*, 2001).

- **La riqueza específica (S)**

Es la forma más sencilla de medir la biodiversidad, ya que se basa únicamente en el número de especies presentes, sin tomar en cuenta el valor de importancia de las mismas. Es el número total de especies obtenido por un censo de la comunidad.

- **Índice de Shannon**

El índice de diversidad de Shannon “abundancia relativa de una especie dada.

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i - \frac{S-1}{2N}$$

Dónde:

H = Índice de Shanon

Pi = Abundancia relativa

Ln = Logaritmo natural

- **Índice de diversidad de Margalef**

Transforma el número de especies por muestra a una proporción a la cual las especies son añadidas por expansión de la muestra (Corella *et al.*, 2001).

$$D_{Mg} = \frac{S-1}{\ln N}$$

Dónde:

S = número de especies

N = número total de individuos

- Equidad de Pielou (J)

Mide la proporción de la diversidad observada con relación a la máxima diversidad esperada. Su valor va de 0 a 0.1, de forma que 0.1 corresponde a situaciones donde todas las especies son igualmente abundantes (Magurran, 1988).

$$J' = \frac{H'}{H'_{max}}$$

Dónde:

H' = medida logarítmica de la diversidad.

H'max = logaritmo natural.

- Índice de Simpson (S)

El índice de Simpson se deriva de la teoría de probabilidades, y mide la probabilidad de encontrar dos individuos de la misma especie en dos extracciones sucesivas al azar sin reposición (Magurran, 1988).

$$Si_D = \frac{1}{\sum_{i=1}^s p_i^2}$$

Dónde:

p_i = abundancia proporcional de la misma especie.

3.6.2. Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico, los datos obtenidos para todas las variables cuantificadas se aplicó análisis de varianza (ANOVA) y prueba de comparación de tratamientos utilizando Tukey al nivel del 5% de significancia para verificar el efecto de los tratamientos sobre el porcentaje de colonización en raíces de HMA y se transformarán en $\arcsin \sqrt{x + 1}$. Las diferencias en la abundancia total de esporas y la riqueza de especies del bosque, fueron probadas utilizando un análisis unidireccional de varianza (ANOVA) y la comparación de medias por Tukey ($P < 0,05$). Todos los análisis se realizaron utilizando los paquetes de software SPSS y Past.

3.7. Instrumentos de investigación

Los instrumentos de la investigación incluyeron el análisis de los documentos y las fuentes bibliográficas, además los formularios para el registro de las variables climáticas y datos de los IMA del bosque protector Pedro Franco Dávila.

3.7.1. Registro de los datos

Los datos obtenidos en campo se registraron en una ficha (cuadro 1), la cual se inventariaron de la siguiente forma: coordenadas geográficas, número de árbol, nombre común, nombre científico y familia de la especie seleccionada; las repeticiones de las colectas de raíces y suelo. Para el reconocimiento de las especies, se contaron con la ayuda de la persona encargada del Bosque Protector Pedro Franco Dávila y la correcta descripción taxonómica se elaborará a través de la página web Theplantlist.org.

Tabla 1. Ficha de campo que se aplicó en la inscripción de los datos obtenidos.

Coordenadas Geográficas		X:	Y:		
Nº Árbol	N. Común	N. Científico	Familia	R. de raíces	R. de suelo
1					
2					
3					

3.8. Recursos humanos y materiales

3.8.1. Materiales de campo

- Etanol (70%)
- Barreno holandés
- Botas
- Caja térmica
- Cinta de papel
- Cuaderno
- Fundas plásticas
- Gps
- Lapicero
- Machete
- Marcador permanente
- Pala
- Toallas absorbentes

3.8.2. Materiales de laboratorio

- Algodón
- Asas de inoculación
- Caja Petri
- Cubre objetos
- Embudo plástico
- Gasas
- Jeringuillas

- Lápiz demográfico
- Mangos de bisturí
- Pipetas
- Piscetas
- Porta objetos
- Probetas graduadas
- Resmas de papel bond A4
- Soporte universal
- Vasos de precipitación
- Hojas de bisturí
- Mascarillas
- Tamices
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación

3.8.3. Reactivos

- Ácido clorhídrico
- Ácido láctico
- Azul de tripano
- Cloruro de potasio
- Glicerol
- Hidróxido de potasio
- Peróxido de hidrógeno
- Sacarosa

3.8.4. Equipos

- Agitador magnético
- Balanza de precisión
- Computadora
- Estéreo microscopio
- Estufa
- Flash memory
- Impresora

- Microscopio
- pH-metro
- Refrigeradora

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Identificación de familias y especies de HMA presentes en el bosque protector Pedro Franco Dávila

En la tabla 2 muestra la identificación de cuatro familias con 25 especies de esporas de HMA en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”. Las esporas identificadas pertenecen a *Acaulospora* (familia de las Acaulosporáceas), *Claroideoglomus* (familia de las Claroideoglomeraceae), *Cetraspora*, *Dentiscutata*, *Gigaspora* y *Scutellospora* (familia de las Gigasporáceas), *Funneliformis*, *Glomus* y *Rhizophagus* (familia de las Glomeráceas). Con un total de 363 individuos presentes en la zona de estudio.

El mayor número de especies de esporas se encontró en la especie *Triplaris cumingiana* con 14 especies, seguido de *Brosimum alicastrum* y *Castilla elastica* con 13 especies cada una, el menor valor lo presentó *Trema micrantha* con 7 especies de esporas. El mayor número de individuos lo presenta la especie *Castilla elastica* con 114, el menor número de individuos los presentan las especies *Sorocea trophoides* y *Trema micrantha* con 51 individuos cada especie.

Las especies *Acaulospora koskei*, *Acaulospora scrobiculata* y *Scutellospora* solo se presentaron en *Triplaris cumingiana*. *Acaulospora rehmsii* solo se tuvo presencia de ella en la especie forestal *Sorocea trophoides*. Solo hubo presencia de *Cetraspora pellucida* y *Rhizophagus aggregatus* en la especie forestal *Castilla elastica*.

Tabla 2. Familia y especies de HMA y número de esporas encontradas en la estación lluviosa en monodominancia de las especies forestales *Brosimum alicastrum*, *Castilla elastica*, *Sorocea trophoides*, *Trema micrantha*, y *Triplaris cumingiana* presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.

Abreviatura	Familia/Especies HMA	Muestras					TOTAL
		<i>Brosimum alicastrum</i>	<i>Castilla elastica</i>	<i>Sorocea trophoides</i>	<i>Trema micrantha</i>	<i>Triplaris cumingiana</i>	
	Acaulasporaceae						
Acau1	<i>Acaulospora</i> sp1	10	0	2	0	0	12
	<i>Acaulospora colombiana</i> (Spain & Schenck) Kaonongbua,						
Acol	Morton and Bever	3	3	0	0	0	6
Aeleg	<i>A. elegans</i> Gerd. & Trappe	5	5	8	0	6	24
	<i>A. kentinensis</i> (C.G Wu & Y.S. Liu) Kaonongbua, J.B.						
Akent	Morton & Bever	5	0	4	0	3	12
Akosk	<i>A. koskei</i> Blaszk	0	0	0	0	4	4
Amorr	<i>A. morrowiae</i> Spain & N.C. Schenck	9	7	0	0	0	16
Arehm	<i>A. rehmi</i> Sieverd. & S. Toro	0	0	2	0	0	2
	<i>Archaeospora trappei</i> (Ames & Linderman) J.B. Morton and						
Artra	D. Redecker	15	0	8	0	5	28
Ascro	<i>A. scrobiculata</i> Trappe	0	0	0	0	3	3
	Claroideoglomeraceae						0
	<i>Claroideoglomus claroideum</i> (N.C.Schenck & G.S.Sm.)						
Cclar	C.Walker & A.Schüßler, 2010	0	0	0	6	6	12
	<i>Claroideoglomus etunicatum</i> (W.N. Becker & Gerd.) C.						
Claetun	Walker & A. Schüßler	6	0	0	4	3	13
	Gigasporaceae						0
	<i>Cetraspora pellucida</i> (T.H.Nicolson & N.C.Schenck) Oehl,						
Cpell	F.A.Souza & Sieverd., 2009	0	8	0	0	0	8
	<i>Dentiscutata biornata</i> (España, Sieverd. & S. Toro)						
Dbio	Sieverd., FA Souza & Oehl	0	0	3	3	0	6
	<i>Dentiscutata heterogama</i> (T.H. Nicolson. and Gerd.)						
Dhet	Sieverd., F.A. Souza and Oehl	0	0	2	7	0	9

Abreviatura	Familia/Especies HMA	Muestras					TOTAL
		<i>Brosimum alicastrum</i>	<i>Castilla elastica</i>	<i>Sorocea trophoides</i>	<i>Trema micrantha</i>	<i>Triplaris cumingiana</i>	
Dret	<i>Dentiscutata reticulata</i> (Koske, D.D.Mill. & C.Walker) Sieverd., F.A.Souza & Oehl, 2009	6	0	0	10	0	16
Giga1	<i>Gigaspora</i> sp1	0	16	0	0	0	16
Gmarg	<i>G. margarita</i> Becker and Hall	2	3	4	0	10	19
Scut1	<i>Scutellospora</i>	0	0	0	0	2	2
	Glomeraceae						0
Fmoss	<i>Funneliformis mosseae</i> (T.H. Nicolson. and Gerd.) C. Walker & A. Schüßler	0	5	3	0	0	8
Glo1	<i>Glomus</i> sp1	9	14	5	12	8	48
Glo2	<i>Glomus</i> sp2	5	7	0	0	1	13
Glo3	<i>Glomus</i> sp3	3	2	0	9	4	18
Gmult	<i>Glomus multicaule</i> Gerd. & B.K. Balshi	8	13	3	0	3	27
Rclar	<i>Rhizophagus clarus</i> (T.H. Nicolson. & N.C. Schenck) C. Walker & A. Schüßler	0	4	7	0	3	14
Raggr	<i>Rhizophagus aggregatus</i> (N.C.Schenck & G.S.Sm.) C.Walker, 2016	0	27	0	0	0	27
	TOTAL	86	114	51	51	61	363

4.1. Índices de diversidad de las asociaciones vegetales con las especies de HMA presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”

La tabla 3 muestra que las especies vegetales *Castilla elastica*, *Sorocea trophoides* y *Triplaris cumingiana* presentan los valores más altos de 6,33 en cada una de ellas para la riqueza media de especies (S), y de 1,59; 1,76; y 1,77 respectivamente en el índice de Shannon (H). En el índice de Margalef (M) valores altos los presentan las especies *Triplaris cumingiana* con un valor de 1,77; *Sorocea trophoides* con 1,59 y *Brosimum alicastrum* con 1,48. El menor valor lo tuvo la especie *Trema micrantha* con 1,23. En el índice de equidad de Pielou (J) valores altos lo tuvieron las especies *Brosimum alicastrum* y *Triplaris cumingiana* con 0,97 para ambas especies, seguido de *Sorocea trophoides* con un valor de 0,96 y *Trema micrantha* con 0,92.

Tabla 3. Riqueza media de especies (S), índice de Shannon (H), índice de Margalef (M) e índice de equitabilidad de Pielou (J) de las especies forestales *Brosimum alicastrum*, *Castilla elastica*, *Sorocea trophoides*, *Trema micrantha*, y *Triplaris cumingiana* presente en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.

Índices	Especies					Media
	<i>Brosimum alicastrum</i>	<i>Castilla elastica</i>	<i>Sorocea trophoides</i>	<i>Trema micrantha</i>	<i>Triplaris cumingiana</i>	
S	5,67 ± 3,51	6,33 ± 2,08	6,33 ± 1,15	5,00 ± 1,41	6,33 ± 1,15	5,93
H	1,49 ± 0,77	1,59 ± 0,52	1,76 ± 0,18	1,48 ± 0,36	1,77 ± 0,16	1,62
M	1,58 ± 1,09	1,48 ± 0,61	1,59 ± 0,36	1,23 ± 0,28	1,77 ± 0,25	1,53
J	0,97 ± 0,03	0,86 ± 0,13	0,96 ± 0,01	0,92 ± 0,06	0,97 ± 0,02	0,93

4.2. Asociaciones vegetales y Ph del suelo en el bosque protector con las especies de HMA

Las asociaciones vegetales con las que se encuentra asociadas las especies de HMA en el bosque “Pedro Franco Dávila”, se relacionan con un valor de pH del suelo obtenidos en solución de agua (H₂O) de 6,78. Fueron asociadas las especies vegetales *Castilla elastica* Cerv (Caucho), *Triplaris cumingiana* Fisch. & C.A.Mey. (Fernán Sánchez), *Trema micrantha* (L.) Blume (Sapán de paloma), *Brosimum alicastrum* Sw. (Tillo) y *Sorocea*

trophoides W.C. Burger (Tillo prieto). La zona de estudio presenta una acidez del suelo neutra.

Tabla 4. Asociaciones vegetales y pH del suelo en solución de Agua (H₂O) en el bosque protector “Pedro Franco Dávila” con las especies de HMA, ubicado en la localidad de Jauneche, cantón Palenque.

Variables	Bosque “Pedro Franco Davila”
Asociaciones Vegetales	<i>Castilla elastica</i> Cerv (Caucho), <i>Triplaris cumingiana</i> Fisch. & C.A.Mey. (Fernán Sánchez), <i>Trema micrantha</i> (L.) Blume (Sapán de paloma), <i>Brosimum alicastrum</i> Sw. (Tillo) y <i>Sorocea trophoides</i> W.C. Burger (Tillo prieto)
Ph del suelo en agua	6,78

4.3. Porcentaje de colonización micorrízica en raíces de las especies forestales *Brosimum alicastrum*, *Castilla elastica*, *Sorocea trophoides*, *Trema micrantha* y *Triplaris cumingiana* presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.

La tabla 5 muestra que existe diferencias significativas en cuanto al porcentaje de colonización micorrízica obtenidos de las raíces de especies encontradas en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”, la especie *Sorocea trophoides* tuvo la mayor la mayor colonización con un porcentaje de 32,1% y un $\arcsen\sqrt{x}$ de 0.027; seguido de *Trema micrantha* con un porcentaje de 26,5% y un $\arcsen\sqrt{x}$ de 0.026. Las especies menos colonizadas fueron *Triplaris cumingiana* con un porcentaje de 13.8% con un $\arcsen\sqrt{x}$ de 0.024 y *Castilla elastica* con un porcentaje de 4,6 y un $\arcsen\sqrt{x}$ de 0.021.

Tabla 5. Colonización micorrízica en raíces de las especies forestales *Brosimum alicastrum*, *Castilla elastica*, *Sorocea trophoides*, *Trema micrantha*, y *Triplaris cumingiana* presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.

ESPECIES	COLONIZACIÓN	
	%	$\arcsen\sqrt{x}$
<i>Brosimum alicastrum</i>	23,0%	0,026
<i>Castilla elastica</i>	4,6%	0,021
<i>Sorocea trophoides</i>	32,1%	0,027
<i>Trema micrantha</i>	26,5%	0,026
<i>Triplaris cumingiana</i>	13,8%	0,024

Significancia obtenida con el nivel de probabilidad del 5% según la prueba de Tukey.

4.4. Porcentaje de la densidad visual micorrízica en raíces de las especies forestales *Brosimum alicastrum*, *Castilla elastica*, *Sorocea trophoides*, *Trema micrantha* y *Triplaris cumingiana* presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.

La tabla 6 muestra que existe diferencias significativas en cuanto al porcentaje de la densidad visual micorrízica obtenidos de las raíces de especies encontradas en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”, los mayores porcentajes en densidad visual lo tuvieron las especies *Trema micrantha* con un porcentaje de 1,60% y un $\arcsen\sqrt{x}$ de 0.921; seguido de la especie *Sorocea trophoides* con un porcentaje de 1,33% y un $\arcsen\sqrt{x}$ de 0.130. La especie menos colonizada fue *Triplaris cumingiana* con un porcentaje de 0,75% y un $\arcsen\sqrt{x}$ de 0.750.

Tabla 6. Densidad visual en raíces de las especies forestales *Brosimum alicastrum*, *Castilla elastica*, *Sorocea trophoides*, *Trema micrantha*, y *Triplaris cumingiana* presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.

ESPECIES	DENSIDAD VISUAL	
	%	$\arcsen\sqrt{x}$
<i>Brosimum alicastrum</i>	1,16	0,955b
<i>Castilla elastica</i>	1,06	0,716b
<i>Sorocea trophoides</i>	1,33	0,130ab
<i>Trema micrantha</i>	1,60	0,921a
<i>Triplaris cumingiana</i>	0,75	0,750c

Significancia obtenida con el nivel de probabilidad del 5% según la prueba de Tukey.

4.5. Porcentaje de densidad de colonización en raíces de las especies forestales *Brosimum alicastrum*, *Castilla elastica*, *Sorocea trophoides*, *Trema micrantha* y *Triplaris cumingiana* presentes en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.

En la figura 2 se observó las diferencias estadísticas significativas en cuanto al porcentaje de la densidad visual micorrízica de las raíces de especies forestales encontradas en la zona de estudio, siendo la especie *Trema micrantha* que obtuvo el mayor valor con un porcentaje de 1,60%; seguido de la especie *Sorocea trophoides* con un porcentaje de 1,33%. Las especies menos colonizadas fueron *Castilla elastica* con un porcentaje de 1,06% y *Triplaris cumingiana* con un porcentaje de 0,75%.

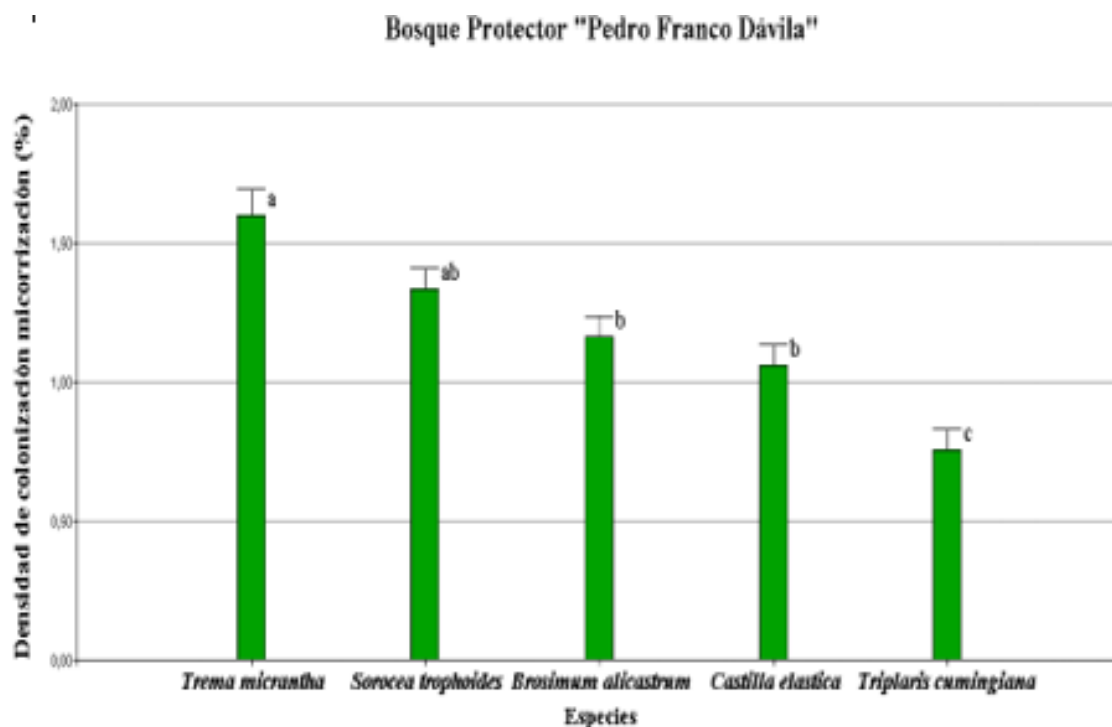


Figura 2. Porcentaje de densidad de colonización micorrízica en raíces de *Trema micrantha*, *Sorocea trophoides*, *Brosimum alicastrum*, *Castilla elastica* y *Triplaris cumingiana* en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”.

4.6. Discusión

La identificación de familia y especies de HMA, en las cinco especies forestales del bosque protector “Pedro Franco Dávila”, presentó cuatro familias y 25 especies que son: los géneros *Acaulospora* (familia de las Acaulosporáceas), *Claroideoglossum* (familia de las Claroideoglomeraceae), *Cetranspora*, *Dentiscutata*, *Gigaspora* y *Scutellospora* (familia de las Gigasporáceas), *Funneliformis*, *Glomus* y *Rhizophagus* (familia de las Glomeráceas) con 363 individuos presentes, estos resultados se difieren con Perez *et al.* (2012), quienes realizaron la diversidad de hongos micorrícicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México, determinando que en las muestras analizadas de las parcelas identificaron género *Glomus*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora* e *Intraspora* con 23 morfoespecies y con un total de 400 individuos.

En la riqueza media de especies *Castilla elastica*, *Sorocea trophoides* y *Triplaris cumingiana* presentan los valores más altos de 6,33, la especie *Triplaris cumingiana* presentan los valores

más altos en Shannon (H) de 1,77 y *Trema micrantha* con el mas bajo de 1,48, para el índice de Pielou valores altos lo tuvieron las especies *Brosimum alicastrum* y *Triplaris cumingiana* con 0,97 y *Castilla elastica* con 0,86 con el mas bajo. A diferencia de un estudio realizado por Hernandez *et al.* (2018) en su estudio sobre la dinámica de la diversidad temporal de los hongos micorrícicos arbusculares de *Larrea tridentata* (Sesse & Mocino ex DC) Coville en un ecosistema semiárido, Argentina mencionando que los parámetros ecológicos de las comunidades de HMA presentes en la rizosfera de *Larrea tridentata* obtuvo en la riqueza de especies un valor de 17, Shannon (H) en el mes de Febrero presentó el valor más alto (2,01) y el más bajo en Mayo con (1,18), Pielou tuvo en Mayo el valor más bajo (0,66) y en Septiembre el más alto (0,73).

En lo que se refiere parámetros químicos en el suelo ubicado en una zona agroecológica, determinado en un estudio por Pérez y Vertel (2010) evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus, donde reportó que el valor de pH es 6,78, es semejante a lo obtenido al presente estudio.

En el porcentaje de micorrización de la especie *Sorocea trophoides* tuvo la mayor la mayor colonización con un porcentaje de 32,1% y densidad visual *Trema micrantha* con un porcentaje de 1,60%. Valores más altos los obtuvo Rivera *et al.* (2011), en un estudio de utilización de cepas eficientes de hongos micorrícicos arbusculares en el desarrollo de portainjertos de aguacate en un sustrato suelo- cachaza, Provincia La Habana, Cuba, donde el porcentaje de micorrización, la especie *Persea americana*, tuvo el valor más alto con 50,10% y densidad visual con 1,65%.

En la actual investigación realizada en el bosque protector “Pedro Franco Dávila”, se seleccionaron cinco especies para conocer el porcentaje de la densidad visual micorrízica, de las cuales, la especie *Trema micrantha* presentó el mayor valor con un porcentaje de 1,60%; seguido de la especie *Sorocea trophoides* con 1,33%. La especie *Castilla elastica* obtuvo un menor porcentaje de 1,06% y *Triplaris cumingiana* con un porcentaje de 0,75%. Resultados diferentes los obtuvo Prieto *et al.* (2012), en un estudio de identificación de hongos arbusculares en sistemas agroforestales con cacao en el Trópico Húmedo Ecuatoriano, en Ecuador, menciona sobre el porcentaje de la densidad visual micorrízica, que realizaron en las fincas “La Unión” y “Mi Recuerdo” obtuvieron una mayor densidad

de colonización visual con 3,50%, siendo las más altas frente a los SAF-C de las finca “Fátima” con el 2,01%; “La Represa” con 1.6% y “La Propiedad” con menor porcentaje de 0,9%.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Se identificaron un total de 25 especies de cuatro familias de esporas de HMA en simbiosis con las especies forestales *Castilla elastica*, *Triplaris cumingiana*, *Trema micrantha*, *Brosimum alicastrum* y *Sorocea trophoides*. Las familias más abundantes fueron Acaulosporáceas con nueve especies, seguido Gigasporaceae, Glomeraceae con siete especies y Claroideoglomeraceae con dos especies. La espora *Glomus* sp1 se reconoce como dominante entre las especies de HMA.
- Las especies *Castilla elastica*, *Sorocea trophoides* y *Triplaris cumingiana* presentaron los valores más altos para la riqueza media de especies (S) con un valor de 6.33 cada una; en el índice de Shannon (H) e índice de Margalef el mayor valor lo presentó la especie *Triplaris cumingiana* con 1,77 en cada índice; en la equidad de Pielou (J) el valor más alto lo tuvo la especie *Brosimum alicastrum* 0,97.
- El mayor porcentaje de colonización micorrízica lo tuvo la especie *Sorocea trophoides* con un valor de 32,1%. Sin embargo, el mayor porcentaje de colonización de la densidad visual lo tuvo la especie *Trema micrantha* con un porcentaje de 1,60%.

5.2. Recomendaciones

Es necesario tener en cuenta variables como las condiciones bioquímicas del suelo y la variación climática, que pueden influir en su grado de efectividad de estudios posteriores.

Se podría realizar una prueba de error a los resultados de este proyecto de investigación, para conocer cuál es el nivel de confiabilidad.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

6.1.Literatura citada

- Apontes, C., Marañón, T., García , L., y Gardes , M. (2009). *La comunidad de hongos micorrízicos en un bosque de quercíneas Mediterráneo*. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, Evolución y Diversidad Biológica. Universidad de Toulouse. España. 2-12.pag.
- Barrer, S. (2009). *El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura*. Tesis inédita. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia. 126-132.pag.
- Citlalli, H., Mora, E., Sánchez, M., y Palafox, M. (2016). Caracterización de hongos micorrízicos arbusculares asociados a *Cyathea* spp. En la sierra nororiental poblana siguiendo un gradiente altitudinal en primavera y verano. *Interciencia*, Vol. 41(10), 681-685.pag.
- Corella, J., Valdez, H., Cetina, A., González, C., Trinidad, S., y Aguirre, R. (2001). Estructura forestal de un bosque de mangles en el noreste del estado de Tabasco, México. *Ciencia Forestal en México*, Vol. 26(1), 73-102.pag.
- Fitter, A. (2004). Raíz-pelos magnolioides, arquitectura y dependencia micorrízica. *New Phytologist*. Vol. 1(1), págs. 15-16.
- Garzón, L. (2016). Importancia de las micorrizas arbusculares (MA) para un uso sostenible del suelo en la Amazonía colombiana. *Luna Azul*, Vol. 42(1), 217-234 pag.
- Gederman, J., y Nicholson, T. (1963). Esporas de especies endógenas de micorrizas extraídas del suelo mediante tamizado húmedo y decantación. *Transacciones de la Sociedad Micológica Británica*, Vol. 1(2). 235-244.
- Gonzáles, B., Godoy, R., y Figueroa, H. (1995). *Dinámica estacional de los hongos micorrízicos vesículo-arbusculares en ecosistemas dunarios del centro sur de chile*. Valdivia, Chile: Universidad Austral de Chile.
- Guerra, B. (2008). Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. *Tecnología en Marcha*, Vol. 21(1), 191-201 pag.
- Hernández, G., Sáenz, J., Moreno, A., Castañeda, G., Ogaz, A., Carballar, S., y Hernández, L. (2018). Dinámica de la diversidad temporal de los hongos micorrízicos

- arbusculares de *Larrea tridentata* (Sesse & Mocino ex DC) Coville en un ecosistema semiárido, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, Vol. 50(3), 301-310 págs.
- Koske, R., y Gemma, J. (1989). Un procedimiento modificado para teñir las raíces para detectar micorrizas VA. *Mycological Research*, Vol. 92(4), Págs. 486-505.
- Lovera, M., y Cuenca, G (2007). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y potencial micorrízico del suelo de una sabana natural y una sabana perturbada de la gran sabana, Venezuela. *Interciencia*, Vol. 32(2), págs. 108-114.
- Magurran, A. (1988). *Diversidad ecológica y sus medidas*. Princeton, Estados Unidos: Prensa de la Universidad de Princeton. 200 p.
- Meza, F. (2016). *Hongos micorrízicos de plantaciones de (melina) y su potencial como biofertilizantes en plántulas a nivel de vivero, año 2015*. Tesis de postgrado. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Ecuador. 76 p.
- Ochoa, A., Esqueda, M., Fernández, R., y Herrera, R. (2009). Variación estacional de hongos micorrízicos arbusculares asociados con *Agave angustifolia* Haw. en la Sierra sonorense, México. *Revista fitotecnia mexicana*, Vol. 32(3), págs. 189-199.
- Osorio, N. (2012). Uso de hongos formadores de micorriza como alternativa biotecnológica para promover la nutrición y el crecimiento de plántulas. *Manejo Integral del Suelo y Nutrición Vegetal*, Vol. 1(2).
- Phillips, J., y Hayman, D. (1970). Mejora de los procedimientos de limpieza de raíces y tinción de hongos micorrízicos parásitos y vasculares-arbusculares para la evaluación rápida de la infección. *Transacciones de la Sociedad Micológica Británica*, Vol. 55(1), 158-161 pag.
- Peréz, A., y Vertel, M. (2010). Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus. *Revista MVZ Córdoba*, Vol. 15(3), 2165-2174 pág.
- Pérez, Y., Álvarez, J., Mendoza, J., Fernández, J., Gómez, R., y Cuevas, L. (2012). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México. *Gayana Botánica*, Vol. 69(1), 46-56 pág.

- Prieto, O., Belezaca, C., Mora, W., Garcés, F., Sabando, F., y Cedeño, P. Identificación de hongos arbusculares en sistemas agroforestales con cacao en el Trópico Húmedo Ecuatoriano. *Agronomía Mesoamericana*, Vol. 23(2), 233-239 pág.
- Rivera, R., Martín, J., Calderón, A., y Torrez, A. (2011). Utilización de cepas eficientes de hongos micorrízicos arbusculares en el desarrollo de portainjertos de aguacate en un sustrato suelo- cachaza. *Cultivos Tropicales*, Vol. 32(2), 172-183 pág.
- Salgado, S., Castelán, M., Jiménez, R., Gómez, J., y Osorio, M. (2014). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en suelos cultivados con caña de azúcar en la región de la Chontalpa, Tabasco. *Revista mexicana de micología*, Vol. 40(1), 7-16 págs.
- Sánchez, A. (2015). *Variación de la población de hongos micorrízicos arbusculares en un suelo agrícola por efecto de la aplicación de vinazas de la industria del tequila*. Unidad de Posgrado, Maestro en Ciencias y Tecnología en la Especialidad de Ingeniería Ambiental. Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco, A.C. Guadalajara, México. 125 pág.
- Steubing, L., Godoy, R., y Alberdi, M. (2001). *Métodos de ecología vegetal*. Santiago de Chile, Chile. Editorial universitaria S.A.
- Tigrero, A. (2019). *Estado de la regeneración natural en tres áreas del bosque protector Pedro Franco Dávila del recinto "Jauneche", provincia de los Ríos, cantón Palenque, año 2019*. Tesis de grado. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Ecuador. 77pág

CAPÍTULO VII

ANEXOS

7.1. Anexos

Anexo 1.Recoleccion de muestras.



Imagen 1. Extracción de raíces para la respectiva observación de micorrizas.



Imagen 2. Recolección de muestra de suelo para la respectiva extracción de esporas.

Anexo 2. Selección de especies forestales.



Imagen 3. Marcación de los árboles seleccionados.



Imagen 4. Toma de coordenadas de los árboles seleccionados.

Anexo 3. Lavado, preparación de la solución para la decoloración y tinción de las raíces



Imagen 5. Lavado de raíces



Imagen 6. Preparación de la solución.



Imagen 7. Decoloración de raíz



Imagen 8. Tinción de raíz

Anexo 4. Muestras de raíces, obeservación y raíz observada con el microscopio.



Imagen 9. Muestra de raíz en caja petri



Imagen 10. Observación de las muestras de raíces

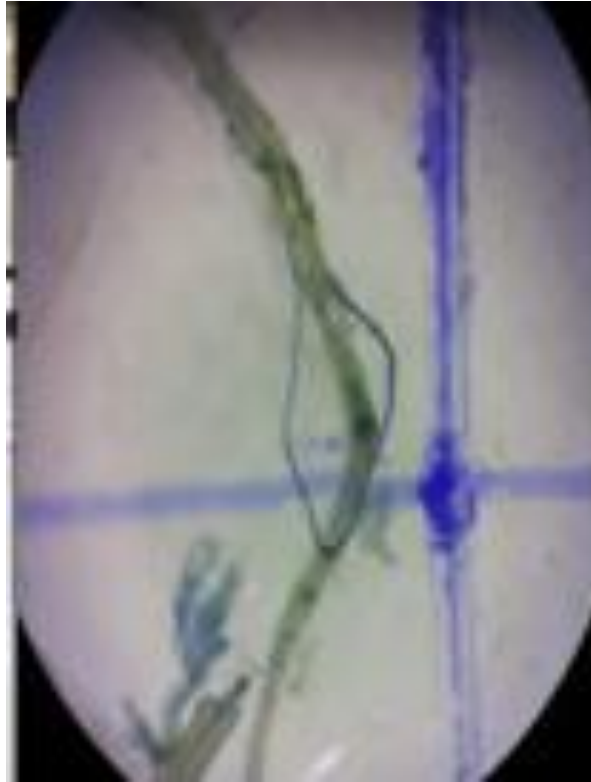


Imagen 11. Observación de micorrizas

Anexo 5. Peso y medición del pH del suelo.



Imagen 12. Peso del suelo



Imagen 13. Medición del pH del suelo

Anexo 6. Registro de datos obtenidos de raíces de las especies estudiadas.

#. Re p	CAUCHO-M1		CAUCHO-M2		CAUCHO-M3		F. SANCHEZ - M1		F. SANCHEZ -M2		F. SANCHEZ -M3	
	NÚMER OS DE RAICES	DENS IDAD VISU AL	PELO S RADI CULA RES	DENSID AD VISUAL	PELOS RADICU LARES	DENSID AD VISUAL	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSID AD VISUAL	PELOS RADICULA RES	DENSI DAD VISUA L
1	1	2	0	1	0	1	0	0	0	1	0	2
1	2	2	0	1	2	1	0	2	0	1	0	1
1	3	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0	2
1	4	1	0	0	0	2	0	0	0	1	0	1
1	5	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
1	6	1	0	2	2	1	0	0	0	0	0	0
1	7	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	3
1	8	1	0	1	2	0	1	0	0	0	0	1
1	9	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0
1	10	0	0	1	0	2	0	1	0	1	0	0
2	11	1	0	0	0	2	4	0	0	1	0	1
2	12	2	0	1	0	1	0	0	0	1	0	2
2	13	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
2	14	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
2	15	1	0	1	0	2	0	1	0	0	0	0
2	16	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
2	17	2	0	1	0	2	0	1	0	1	0	2

#. Rep	NÚMER OS DE RAICES	DENS IDAD VISU AL	PELOS RADIC ULARE S	DENSID AD VISUAL	PELOS RADICU LARES	DENSID AD VISUAL	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSID AD VISUAL	PELOS RADICULA RES	DENSI DAD VISUA L
2	18	2	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1
2	19	1	0	1	1	2	3	0	0	0	0	2
2	20	2	0	2	0	0	0	1	0	2	1	1
3	21	2	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
3	22	1	0	2	0	0	0	0	0	1	0	1
3	23	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
3	24	1	0	1	0	2	0	3	0	1	0	1
3	25	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	2
3	26	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
3	27	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
3	28	2	0	1	0	2	0	0	0	2	0	0
3	29	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	2
3	30	2	0	1	0	1	0	1	0	2	0	1
4	31	1	0	1	4	2	1	0	0	2	0	1
4	32	2	0	1	0	2	0	0	0	2	0	1
4	33	1	0	1	4	1	1	0	0	1	0	1
4	34	1	0	2	4	1	0	2	0	0	0	1
4	35	2	2	1	3	0	0	2	0	0	0	0
4	36	2	2	1	0	0	0	1	0	0	0	0
4	37	1	0	2	4	1	0	1	0	1	0	0
4	38	1	0	1	1	2	0	1	0	1	0	1
4	39	0	0	3	2	0	0	2	0	0	0	1
4	40	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1

#. Rep	NÚMEROS DE RAICES	DENSIDAD VISUAL	PELOS RADICULARES	DENSIDAD VISUAL	PELOS RADICULARES	DENSIDAD VISUAL	PELOS RADICULARES	DENSIDAD VISUAL	PELOS RADICULARES	DENSIDAD VISUAL	PELOS RADICULARES	DENSIDAD VISUAL
5	41	0	0	1	0	1	0	2	0	1	0	1
5	42	1	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0
5	43	0	0	2	4	2	0	1	0	1	0	1
5	44	1	0	2	4	0	0	2	0	1	0	0
5	45	2	0	2	4	1	0	0	0	0	0	1
5	46	1	0	1	4	0	0	0	0	0	0	2
5	47	2	2	2	4	1	0	1	0	2	0	0
5	48	1	0	2	0	0	0	0	0	2	0	1
5	49	0	0	0	0	2	0	2	0	1	0	0
5	50	0	0	1	0	2	0	1	0	0	0	0

Continuación...

TILLO BLANCO M-1		TILLO BLANCO M-2		TILLO BLANCO M-3		TILLO PRIETO M-1		TILLO PRIETO M-2		TILLO PRIETO M-3		SAPAN DE PALOMA-M1		SAPAN DE PALOMA-M2	
PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L
0	1	2	1	0	2	0	0	0	1	0	0	0	2	0	3
0	0	0	0	1	1	3	1	0	2	2	1	0	2	0	0
0	0	0	2	0	1	4	2	0	0	3	1	0	2	0	2
0	1	0	2	1	0	0	3	4	0	0	3	0	2	0	0
0	0	0	1	0	0	0	3	0	1	0	0	0	2	0	3
0	0	0	1	0	2	1	0	4	1	0	0	0	2	0	3
0	3	2	2	0	0	1	1	0	0	0	3	0	1	0	3
0	1	0	2	0	2	4	2	0	1	0	2	0	1	0	2
0	2	0	2	0	1	0	2	0	1	0	1	0	2	0	1
0	1	0	1	0	1	3	2	0	1	0	3	0	2	0	0
0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
0	0	0	0	0	1	1	3	4	3	0	1	0	3	0	1
0	3	0	1	0	3	4	3	4	2	0	1	0	3	0	1
0	3	0	2	0	1	2	4	3	2	4	0	0	2	0	0
0	0	0	1	0	1	2	3	4	1	2	1	0	2	0	1
0	1	0	3	0	1	4	1	0	1	0	1	0	2	0	0
0	1	0	2	0	1	4	3	0	0	0	0	0	3	0	0
0	2	0	0	0	1	4	1	0	0	0	1	0	2	0	3
0	0	0	0	0	0	2	2	0	1	0	1	0	3	0	1
0	2	0	1	1	1	2	4	4	0	0	0	0	2	0	2
0	1	0	2	0	1	0	4	3	1	1	0	0	1	0	1

PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L
0	2	0	1	2	3	0	3	0	1	0	0	0	2	0	1
0	2	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2	0	2	0	2
0	2	0	2	0	0	2	2	0	3	0	1	0	1	0	1
0	0	0	3	0	0	0	1	0	2	0	0	0	2	0	1
0	2	0	2	0	3	0	1	0	2	0	2	0	2	0	0
0	0	0	3	0	3	0	3	0	2	0	1	0	2	0	0
0	2	0	0	0	2	0	2	0	1	0	1	0	2	0	3
0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	2
0	3	0	2	0	0	0	0	4	1	4	1	0	1	0	3
0	1	0	2	0	0	0	4	2	0	0	1	0	2	0	1
0	0	0	2	0	2	0	4	3	1	0	2	0	1	0	1
0	2	0	3	0	2	0	4	3	2	0	0	0	3	0	0
0	2	0	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0	3	0	2
0	2	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	2	0	1	0	1
0	1	0	2	1	1	0	3	0	2	0	1	0	2	0	2
0	2	0	0	0	3	2	0	0	1	0	1	0	2	0	2
0	1	0	1	0	0	4	1	0	2	0	0	0	3	0	1
0	2	0	1	0	3	4	2	0	1	0	1	0	2	0	1
0	1	0	1	1	1	0	2	4	1	0	1	0	1	0	0
0	0	1	1	0	2	2	4	3	0	0	1	0	3	0	3
0	1	0	2	0	1	0	0	0	1	0	2	0	1	0	1
0	2	0	3	0	1	0	2	0	0	4	1	0	1	0	1

PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L	PELOS RADICU LARES	DENSI DAD VISUA L
0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	2	0	2	0	1
0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0
0	0	0	0	0	3	0	1	0	4	4	0	0	2	0	1
0	0	0	1	0	3	3	2	0	1	0	1	0	1	0	2
0	3	0	3	0	3	3	2	0	1	0	1	0	2	0	1
0	1	0	3	0	2	0	3	2	1	0	0	0	2	0	1

Anexo 7. Parte de la estadística realizada al proyecto de investigación.

DENSIDAD VISUAL

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DENSIDAD VISUAL	700	0,08	0,08	78,78

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	50,12	4	12,53	15,23	<0,0001
ESPECIES	50,12	4	12,53	15,23	<0,0001
Error	571,83	695	0,82		
Total	621,95	699			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,30020

Error: 0,8228 gl: 695

ESPECIES	Medias	n	E.E.	
Trema micrantha	1,60	100	0,09	A
Sorocea trophoides	1,33	150	0,07	A B
Brosimum alicastrum	1,16	150	0,07	B
Castilla elastica	1,06	150	0,07	B
Triplaris cumingiana	0,75	150	0,07	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)