



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES**  
**CARRERA AGRONOMÍA**

**COLONIZACIÓN DE HONGOS MICORRIZICOS EN RAÍCES DE  
MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth) EN LOS PÁRAMOS DE  
GANQUIS Y CUBILLÍN EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERA AGRÓNOMA**

**AUTORA: JENY LORENA SANCHEZ ILBAY**

Riobamba – Ecuador

2022



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES**  
**CARRERA AGRONOMÍA**

**COLONIZACIÓN DE HONGOS MICORRIZICOS EN RAÍCES DE  
MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth) EN LOS PÁRAMOS DE  
GANQUIS Y CUBILLÍN EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERA AGRÓNOMA**

**AUTORA: JENY LORENA SANCHEZ ILBAY**

**DIRECTORA: Ing. NORMA SOLEDAD ERAZO SANDOVAL PhD.**

Riobamba – Ecuador

2022

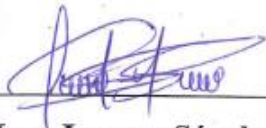
**© 2022, Jeny Lorena Sanchez Ilbay**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho del Autor.

Yo, JENY LORENA SANCHEZ ILBAY, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 06 de junio de 2022



---

**Jeny Lorena Sánchez Ilbay**  
**020212554-8**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES**  
**CARRERA AGRONOMÍA**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación; Tipo: Proyecto de Investigación, **COLONIZACIÓN DE HONGOS MICORRIZICOS EN RAÍCES DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth) EN LOS PÁRAMOS DE GANQUIS Y CUBILLÍN EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO**, realizado por la señorita: **JENY LORENA SANCHEZ ILBAY**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. Víctor Alberto Lindao Córdova PhD. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2022-06-06
Ing. Norma Soledad Erazo Sandoval PhD. <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN</b>		2022-06-06
Ing. Pablo Israel Álvarez Romero PhD. <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>		2022-06-06

## **DEDICATORIA**

A, Dios por haberme otorgado fortaleza y perseverancia, por haberme dado la vida y permitirme culminar con éxito esta etapa tan importante de mi formación profesional. A mis padres, Juan Lorenzo Sánchez Daquilema y María Dolores Ilbay Aucancela, por brindarme su amor, comprensión y apoyo incondicional durante todos estos años y quienes siempre me impulsaron a seguir adelante. A mi hija Sofía por ser mi mayor motivación para nunca rendirme en los estudios y poder llegar a ser un ejemplo para ella. A mis hermanos, familia y a todas aquellas personas que me brindaron todo su apoyo a lo largo de mi carrera.

*Jeny*

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por guiarme a lo largo de mi vida, por ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y debilidad y por permitirme alcanzar una meta más en mi vida. A mis padres por haberme apoyado constantemente y quienes fueron mi fuente de inspiración para poder culminar con este gran sueño. A la escuela superior politécnica de Chimborazo, a la Facultad de Recursos Naturales, a la carrera de Agronomía, a sus docentes por el tiempo invertido en mi formación y compartir sus conocimientos, experiencias a lo largo de estos años de estudio. Un agradecimiento especial a mi directora Ing. Norma Erazo, por su invaluable apoyo y conocimientos impartidos durante el inicio, transcurso y culminación de este trabajo y por la confianza que me brindo para ser parte del proyecto investigación y por todo el apoyo brindado en la orientación y corrección de la investigación, a mi asesor Ing. Pablo Álvarez por sus consejos y acertadas aportaciones que permitieron la culminación de este proyecto. A la ingeniera Gabriela Rosero, por su apoyo durante el desarrollo del presente trabajo de titulación, por impartir sus conocimientos para desarrollar las técnicas, precauciones y conocimientos del trabajo dentro del laboratorio.

*Jeny*

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1

### CAPÍTULO I

<b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1. Páramos.....</b>	<b>4</b>
<b>1.2. Páramos en el Ecuador.....</b>	<b>4</b>
<b>1.3. Rizósfera.....</b>	<b>5</b>
<i>1.3.1. Efecto de la rizósfera.....</i>	<i>6</i>
<b>1.4. Las micorrizas.....</b>	<b>6</b>
<b>1.5. Importancia de las micorrizas.....</b>	<b>6</b>
<b>1.6. Tipos de micorrizas.....</b>	<b>7</b>
<i>1.6.1. Ectomicorriza.....</i>	<i>7</i>
<i>1.6.2. Ectoendomicorrizas.....</i>	<i>8</i>
<i>1.6.3. Endomicorrizas.....</i>	<i>8</i>
<b>1.7. Micorrizas ericoides.....</b>	<b>9</b>
<b>1.8. Hongos Micorrízicos Arbusculares.....</b>	<b>9</b>
<b>1.9. Taxonomía de hongos micorrízicos.....</b>	<b>10</b>
<b>1.10. Estructura de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA).....</b>	<b>11</b>
<i>1.10.1. Esporas.....</i>	<i>11</i>
<i>1.10.2. Arbúsculos.....</i>	<i>11</i>
<i>1.10.3. Vesículas.....</i>	<i>11</i>
<i>1.10.4. Hifas.....</i>	<i>12</i>



<b>1.11.</b>	<b>Beneficios de la micorrización</b> .....	12
<i>1.11.1.</i>	<i>Formación de agregados estables</i> .....	12
<i>1.11.2.</i>	<i>Papel de la micorriza en la absorción de nutrimento</i> .....	12
<i>1.11.3.</i>	<i>Relaciones hídricas de la planta</i> .....	12
<i>1.11.4.</i>	<i>Influencia sobre la fotosíntesis del hospedero</i> .....	13
<i>1.11.5.</i>	<i>Resistencia a condiciones adversas del medio</i> .....	13
<b>1.12.</b>	<b>Factores que afectan la colonización de micorrizas en campo</b> .....	13
<b>1.13.</b>	<b>Técnicas de aislamiento e identificación de micorrizas</b> .....	13
<i>1.13.1.</i>	<i>Métodos cuantitativos</i> .....	13
<i>1.13.1.1.</i>	<i>Método de tamizado y decantación según Gerdemann y Nicolson (1963)</i> .....	14
<i>1.13.1.2.</i>	<i>Métodos de centrifugación</i> .....	14
<i>1.13.1.3.</i>	<i>Método utilizado en CIAT-Proyecto Micorriza</i> .....	14
<i>1.13.2.</i>	<i>Métodos cualitativos</i> .....	15
<i>1.13.2.1.</i>	<i>Método utilizado en CIAT-Proyecto Micorriza</i> .....	15
<i>1.13.3.</i>	<i>Metodología para tinción</i> .....	15
<i>1.13.3.1.</i>	<i>Tinción con azul de tripan</i> .....	16
<i>1.13.3.2.</i>	<i>Tinción con tinta en vinagre (Vierheilig et al., 1998)</i> .....	16
<b>1.14.</b>	<b>Mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth)</b> .....	17
<i>1.14.1.</i>	<i>Origen y distribución</i> .....	17
<i>1.14.2.</i>	<i>Importancia del mortiño</i> .....	18
<i>1.14.3.</i>	<i>Taxonomía del mortiño</i> .....	18
<i>1.14.4.</i>	<i>Descripción botánica</i> .....	18
<i>1.14.5.</i>	<i>Usos</i> .....	19
<i>1.14.6.</i>	<i>Beneficios para la salud</i> .....	19

## CAPÍTULO II

<b>2.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	20
<b>2.1.</b>	<b>Características del lugar</b> .....	20
<i>2.1.1.</i>	<i>Localización</i> .....	20

2.1.2.	<i>Características geográficas</i> .....	20
2.1.3.	<i>Características climáticas</i> .....	20
2.1.4.	<i>Localización de laboratorio</i> .....	21
2.2.	<b>Materiales y equipos</b> .....	21
2.2.1.	<i>Material vegetativo</i> .....	21
2.2.2.	<i>Material de campo</i> .....	21
2.2.3.	<i>Material de oficina</i> .....	21
2.2.4.	<i>Materiales y equipos de laboratorio</i> .....	21
2.2.5.	<i>Reactivos</i> .....	21
2.3.	<b>Metodología</b> .....	22
2.3.1.	<i>Fase de campo</i> .....	22
2.3.1.1.	<i>Determinación del área de muestreo</i> .....	22
2.3.2.	<i>Análisis estadístico</i> .....	22
2.3.2.1.	<i>Localidades y numero de muestras</i> .....	22
2.3.3.	<i>Recolección de muestras</i> .....	22
2.3.4.	<i>Fase de laboratorio</i> .....	23
2.3.4.1.	<i>Separación de esporas</i> .....	23
2.3.4.2.	<i>Cuantificación de esporas</i> .....	24
2.3.4.3.	<i>Tinción de células corticales de raíces</i> .....	24
2.3.4.4.	<i>Cuantificación de porcentaje de colonización</i> .....	24
2.3.4.5.	<i>Identificación morfológica de hongos micorrizas</i> .....	25

### **CAPÍTULO III**

3.	<b>MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS</b> .....	26
3.1.	<b>Porcentaje de colonización de hongos micorrízicos en raíces de mortiño de Ganquis y Cubillín</b> .....	26
3.1.1.	<i>Porcentaje de colonización de hongos micorrízicos</i> .....	26
3.1.2.	<i>Análisis comparativos del porcentaje de colonización en las raíces de mortiño en los páramos de Ganquis y Cubillín</i> .....	28

<b>3.2.</b>	<b>Numero de esporas de hongos micorrízicos asociados a las raíces de mortiño de los páramos de Ganquis y Cubillín.....</b>	<b>30</b>
<b>3.2.1.</b>	<i>Numero de esporas de hongos micorrízicos en la rizósfera de mortiño en el paramos de Ganquis .....</i>	<i>30</i>
<b>3.2.2.</b>	<i>Numero de esporas de hongos micorrízicos en la rizósfera de mortiño en el paramos de Cubillín.....</i>	<i>30</i>
<b>3.2.3.</b>	<i>Análisis comparativos del número de esporas de hongos micorrízicos asociados a las raíces de mortiño en los páramos de Ganquis y Cubillín.....</i>	<i>31</i>
<b>3.3.</b>	<b>Identificación de morfo-tipos de hongos micorrízicos de Ganquis y Cubillín .....</b>	<b>32</b>
	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>36</b>
	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>37</b>
	<b>GLOSARIO</b>	
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Clasificación taxonómica de las micorrizas .....	10
<b>Tabla 2-1:</b>	Clasificación taxonómica de <i>V. floribundum</i> Kunth.....	18
<b>Tabla 1-2:</b>	Características climáticas de las 2 zonas de Ganquis y Cubillín. ....	20
<b>Tabla 2-2:</b>	Características climáticas de la zona Ganquis .....	20
<b>Tabla 3-2:</b>	Características climáticas de Cubillín.....	20
<b>Tabla 1-3:</b>	Porcentaje de colonización radicular de mortiño en la zona de Ganquis .....	27
<b>Tabla 2-3:</b>	Porcentaje de colonización radicular de mortiño en la zona de Cubillín.....	28
<b>Tabla 3-3:</b>	Población de esporas/100g de suelo .....	30
<b>Tabla 4-3:</b>	Población de esporas/100g de suelo .....	31
<b>Tabla 5-3:</b>	Morfo-tipos de hongos micorrízicos presentes en las dos zonas de estudio.....	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b>	Páramo en el volcán Chimborazo .....	5
<b>Figura 2-1:</b>	Ectomicorrizas en corte transversal de una raíz.....	8
<b>Figura 3-1:</b>	Endomicorrizas en corte longitudinal de raíz.....	9
<b>Figura 4-1:</b>	Representación esquemática de las estructuras de un hongo micorrízico.....	10
<b>Figura 5-1:</b>	Mapa de la distribución del mortiño en el Ecuador. ....	17
<b>Figura 6-1:</b>	Planta de mortiño ( <i>V. floribundum</i> Kunth) en su habitat. natural .....	19
<b>Figura 1-3:</b>	Colonización HMA en Ganquis y Cubillín: vesículas (v), arbuscúlos (ar).....	26
<b>Figura 1-3:</b>	Morfo-tipos asociados a <i>V. floribundum</i> Kunth, en el páramo de Ganquis .....	33
<b>Figura 2-3:</b>	Morfo-tipos asociados a <i>V. floribundum</i> Kunth, en el páramo de Cubillín. ....	34

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b>	Porcentaje de colonización en raíces de mortiño en la zona de Ganquis.....	27
<b>Gráfico 2-3:</b>	Porcentaje de colonización en raíces de mortiño en la zona de Cubillín.....	28
<b>Gráfico 3-3:</b>	Porcentaje de colonización en las 2 zonas de estudio .....	29
<b>Gráfico 4-3:</b>	Presencia de esporas de HMA en los páramos de Ganquis y Cubillín.....	31

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

- ANEXO A:** UBICACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN (GANQUIS)
- ANEXO B:** UBICACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN (CUBILLÍN)
- ANEXO C:** FOTOGRAFÍAS FASE DE CAMPO ZONA DE GANQUIS Y CUBILLÍN
- ANEXO D:** SEPARACIÓN, CUANTIFICACIÓN Y RECONOCIMIENTO DE ESPORAS DE HONGOS MICORRÍZICOS
- ANEXO E:** TINCIÓN DE RAÍCES DE MORTIÑO CON AZUL DE TRIPAN
- ANEXO F:** PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN RADICULAR EN MORTIÑO EN LA ZONA DE GANQUIS
- ANEXO G:** PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN RADICULAR EN MORTIÑO EN LA ZONA DE CUBILLÍN

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar la colonización de hongos micorrízicos en raíces de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) en los páramos de Ganquis y Cubillín en la provincia de Chimborazo. Por cada localidad se colectaron 5 muestras de suelo al azar de aproximadamente 1 kg cada una. El porcentaje de colonización de raíces se estimó mediante la observación microscópica de raíces según metodología de Phillips y Hayman, para la separación y cuantificación de esporas se utilizó el método de centrifugación y el método de cuadrantes, para la identificación de morfo-tipos de hongos micorrízicos se emplearon las claves y descripciones presentadas por Schenk y Pérez y la página web del INVAM (Colección Internacional de Cultivo de Hongos Micorrízicos Arbusculares Vesiculares), tomando en cuenta los rasgos morfológicos como la forma, el color y la textura de la pared. El porcentaje de colonización obtenido en páramo de Ganquis fue de 28,2 % , mientras que en Cubillín fue de 43,6 % , el número de esporas encontradas en páramo de Ganquis fue un total de 6300 esporas/100g de suelo y en el páramo de Cubillín se evidenció un total de 7300 esporas/100g de suelo y los morfo-tipos de hongos micorrízicos identificados en el páramo de Ganquis fueron 6 pertenecientes al género *Glomus* y *Archaeospora*, mientras que el páramo de Cubillín se encontró 10 morfo-tipos pertenecientes a los géneros *Glomus* y *Acaulospora*. El mayor porcentaje de colonización en raíces y el número de esporas del suelo se encontró en la localidad de Cubillín. Se recomienda realizar una identificación molecular de las especies de hongos micorrízicos asociadas a la rizósfera de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

**Palabras clave:** <PÁRAMOS>, <RIZÓSFERA>, <HONGOS MICORRÍZICOS>, <MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth)>, <ESPORAS>.

DBRA  
193  
Ahian Castillo



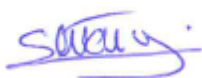
1273-UPT-DBRA-2022



## ABSTRACT

The objective of this research was to determine the colonization of mycorrhizal fungi on roots of mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) in the moorlands of Ganquis and Cubillín in the Chimborazo province. Five random soil samples of approximately 1 kg each were collected for each locality. The percentage of root colonization was estimated by microscopic observation of roots according to Phillips and Hayman's methodology, for the separation and quantification of spores, the centrifugation method and the quadrat method were used, for the identification of morpho-types of mycorrhizal fungi, the keys and descriptions presented by Schenk and Pérez and the INVAM web page (International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi) were used, taking into account morphological features such as the shape, color, and texture of the wall. The percentage of colonization obtained in the Ganquis moor was 28.2%, while in Cubillín it was 43.6%, the number of spores found in the Ganquis moor was a total of 6300 spores/100g of soil and in the Cubillín moor, a total of 7300 spores/100g of soil, and the morphotypes of mycorrhizal fungi identified in the Ganquis moor were six belonging to the genus *Glomus* and *Archaeospora*, while in the Cubillín moor ten morphotypes belonging to the genera *Glomus* and *Acaulospora* were found. The highest percentage of colonization in roots and the number of soil spores were found in the locality of Cubillín. It is recommended to conduct a molecular identification of mycorrhizal fungal species associated with the rhizosphere of mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

**Keywords:** <MOORLANDS>, <RHIZOSPHERE>, <MYCORRHIZAL FUNGI>, <MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth)>, <SPORES>.



---

**Silvana Patricia Céleri Quinde**

**C.C. 0602669830**

## INTRODUCCIÓN

Se considera al paramo como un ecosistema natural, dominado por pajonales, arbustales, humedales y pequeños bosquetes, son ecosistemas frágiles a los cambios de usos de tierra, su localización en el mundo es exclusiva para la zona de los Andes, por lo cual se deberían tomar medidas para conllevar a una concienciación sobre su protección y mantenimiento. Los páramos son sumideros naturales que abastecen de agua tanto para consumo humano como para producción agrícola y eléctrica ( Hofstede et al., 2010: p. 91).

La región Andina se considera como un centro de domesticación y de origen de plantas alrededor del mundo (Vavilov, 1951; citados en Coba et al., 2012: p.6), fue un lugar donde civilizaciones desarrollaron una agricultura natural y tradicional con especies nativas de plantas que son cultivadas entre los 2500 y 4300 msnm. Como, por ejemplo, dentro de estas especies se encuentra el mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), perteneciente a la familia ericácea, ya que esta planta es nativa de los páramos ecuatorianos (Coba et al., 2012: p.7).

El mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), en Ecuador es considerada una planta silvestre la cual crece en las partes altas de la cordillera de los Andes , estas se encuentran en los páramos del Ángel en el Carchi hasta Tambo en Cañar, también se conoce que existen por el parque Nacional Sangay cuya, aunque pocos paramos poseen una número considerable de plantas de mortiño, esto se debe a la gran superficie agrícola que ha sido ocupada (Perez et al., 2007: p.11).

Estas plantas nativas fueron la base principal de alimentación para muchas familias indígenas, ya que a pesar de que existe invasión de nuevas especies vegetales, las familias ecuatorianas aun la siguen consumiendo, sobre en el mes de noviembre, “Día de los difuntos” (Coba et al., 2012: p.8).

La rizósfera es el principal lugar donde ocurren las interacciones entre microorganismos y plantas, estas interacciones en su gran mayoría afectan al desarrollo, productividad y funciones esenciales de la flora circundante. Otros microorganismos de la rizósfera se encargan de la captación de los nutrientes que son liberados, en este grupo encontramos a los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (Moína et al., 2018: p.531).

Las micorrizas es la asociación entre la mayoría de plantas que existen y los hongos beneficiosos, que aumentan el volumen de raíces y permitiendo así una mayor exploración de la rizósfera. Se consideran los componentes más activos de los órganos de absorción de nutrientes de la planta, proporcionando así, a los hongos simbióticos nutrientes orgánicos y de un nicho protector (Corredor, 2008; citados en Noda, 2009: p.2).

El hongo que coloniza exclusivamente a las ericáceas, familia a la cual pertenece el mortiño se les conoce como ericoide. Lo hongos ericoides se conoce por su estructura endomicorrízica que se distingue por sus hifas intracelulares en espiral, y por otro lado también son considerados micorrizas obligadas por el éxito evolutivo que tuvieron al asociarse con plantas de la familia Ericaceae (Vohník, 2020: p.672).

Los HMA constituyen un grupo grande de microorganismos porque establecen procesos simbióticos con el 80% de plantas; en esta simbiosis de la planta se benefician del micelio extrarradical del hongo que aumenta el volumen del suelo que ha sido explorado por la planta y por lo tanto permite el acceso a una gran cantidad de agua y nutrientes (Torres et al., 2017; citados en Urgiles et al., 2019: p.2).

Rey, et al., ( 2005,.p.52), citan la importancia de la simbiosis planta-hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) es reconocida mundialmente, pero algunos aspectos de la estructura y función de la comunidad en los sistemas agrícolas tropicales aún no han sido estudiados.

## **PROBLEMA**

No existe información sobre colonización de hongos micorrízicos en raíces de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) razón por la cual es importante realizar el registro de géneros de micorrizas y saber el porcentaje de colonización en los páramos de Ganquis y Cubillín de la provincia de Chimborazo.

## **JUSTIFICACIÓN**

Dada la importancia que representan las micorrizas para el mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) y la escasa información de la presencia de micorrizas arbusculares en los ecosistemas andinos, lo cual resulta de especial interés conocer la diversidad de hongos micorrízicos, por la cual en la presente investigación surge la necesidad de evaluar el porcentaje de colonización, numero de esporas presente en el suelo e identificación de géneros que se encuentran asociados al mortiño.

La investigación busca proporcionar información que será útil para la comunidad educativa para mejorar el conocimiento sobre el alcance del problema

## **OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **General**

Determinar la colonización de hongos micorrízicos en raíces de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) en los páramos de Ganquis y Cubillín en la provincia de Chimborazo.

### **Específicos**

- Identificar el porcentaje de colonización de hongos micorrízicos en raíces de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth.).
- Cuantificar el número de esporas de hongos micorrízicos asociados a las raíces del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).
- Identificar la clasificación taxonómica de los hongos micorrízicos.

## **HIPÓTESIS**

### **Nula**

El número de esporas de hongos micorrízicos identificados, cuantificados y tejido colonizado en el mortiño no es similar en las dos localidades Ganquis y Cubillín.

### **Alterna**

El número de esporas de hongos micorrízicos identificados, cuantificados y tejido colonizado en el mortiño es similar en las dos localidades Ganquis y Cubillín.

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 1.1. Páramos

Los páramos son ecosistemas naturales, una zona de vida, por otro lado el valor y significado del mismo paramo puede ser diferente para una persona campesina, que para un biólogo que estudia organismos vivos debajo del pajonal (Navarrete, 2021: p.22).

Los páramos se encuentran ubicados principalmente en las montañas tropicales de Centro América y Sudamérica, ubicados entre 3000 a 4500 msnm, su vegetación está expuesta a variantes de temperatura, baja presión atmosférica, cobertura de niebla, y estos factores han permitido que las especies vegetales puedan desarrollar estrategias de adaptabilidad, para hacer frente a condiciones abióticas externas (Navarrete, 2021: p.19).

Ecosistema muy frágil, de clima frío y su potencial para el uso productivo es limitado, aunque mucha gente con gran riqueza cultural, pero con una economía baja están aprovechando tales recursos, al igual que, una gran población aguas abajo lo está aprovechando indirectamente, en especial a través del recurso hídrico (Cunalata y Inga, 2012: p. 2).

En Ecuador poseen una altura promedio de 3300 msnm, cubren alrededor del 7 % de territorio, y por lo tanto hace que seamos el país que más paramo posee a nivel mundial en relación con su tamaño; en otros países sudamericanos como Venezuela, Colombia, Perú y Centro América como Costa Rica y Panamá, tienen extensiones pequeñas, pero muy importantes, en términos ecológicos se encuentran ecosistemas parecidos en las montañas del este de África y en algunas partes tropicales de Asia y Oceanía. Además de compartir características biofísicas muy importantes, la fauna y la flora difieren mucho en los detalles, y no se diga la compleja historia de los diversos paramos del mundo (Flores et al., 2012: p. 15).

#### 1.2. Páramos en el Ecuador

Los páramos del Ecuador han sido utilizados y se han modificado desde tiempos remotos, cumplen un rol importante, sobresaliendo su importancia social, en lo cual se realizan actividades ganaderas y agrícolas. Los páramos de Ecuador son parte de la historia agraria, que, debido al aumento de población, han sido utilizados por campesinos (Cunalata y Inga, 2012: p.3).

En Ecuador los páramos se presentan a simple vista como un paisaje homogéneo, en la cual se pueden encontrar simplemente paja, y uno que otro conejo, esta primera apreciación es equivocada, ya que el páramo está lejos de ser un ecosistema monótono, presentan diferentes variaciones biológicas, por lo tanto para identificar los diferentes tipos de páramos que existen en el país, se ha clasificado de forma general mediante 3 factores que son: nivel de precipitación, vegetación y altitud (Flores et al., 2012; citado en Navarrete, 2021: p.51).

Las causas que producen alteración de los páramos son actividades relacionadas con la agricultura y la ganadería, la quema para que los pastos crezcan verdes principalmente para vacas y ovejas, hacen que la vegetación se altere y se dañen el suelo. Al realizar la remoción de la vegetación para arar y cultivar la tierra, por ejemplo, los tubérculos andinos como la papa, el melloco, la mashua, la oca, a veces rebasa los límites naturales, es decir, existen un avance incontrolado de frontera agrícola, las plantaciones de pino y otras especies sin planificación, hace que el suelo se seque y también altera una de las funciones fundamentales del páramo (Flores et al., 2012: p.20).



**Figura 1-1.** Páramo en el volcán Chimborazo

**Fuente:** (Hofstede, 2019).

### **1.3. Rizósfera**

La rizósfera se encuentra dividida en ectorrizósfera y endorrizósfera, es donde ocurre la colonización de algunos microorganismos en células corticales de la raíz, entre ellos están las micorrizas arbusculares (Peña, 2002: p.8). En la rizósfera ocurren intercambios de sustancia nutritivas a través de interacciones entre microorganismos y plantas. Cada especie de planta

favorecen el desarrollo de diferentes tipos de vida y las raíces también alberga una población particular de microorganismos que están en constante interacción (Kolmans y Vásquez, 1996: p.30).

### ***1.3.1. Efecto de la rizósfera***

La interacción que existe entre planta y microorganismos del suelo se realiza de una manera especial en la rizósfera. No solo la intensidad del efecto rizosférico, sino también la fuerte colonización en el rizoplano, varía en distintas partes del mismo sistema radical (Fenchel, 2000; citado en Castro, 2012: p.14).

En la rizósfera se dan las interacciones simbióticas mutualistas entre microorganismos y plantas, esto se debe a la salida de nutrientes útiles para el metabolismo microbiano, los microorganismos participan en diferentes beneficios como, por ejemplo: influye en el crecimiento de la raíz, regula la actividad metabólica radical e influye en las propiedades físico-químicas del suelo (Gonzales et al., 2001; citados en Castro, 2012: p.14).

## **1.4. Las micorrizas**

La palabra micorriza proviene de la palabra griega mikos, que significa hongo, y rhiza significa raíz, palabra que fue utilizada por primera vez por el botánico alemán Albert Berthard Frank para determinar la conexión entre suelo y las raíces de las plantas (Pilco, 2015: p.5).

Se han estudiado diferentes tipos de micorrizas, según la estructura, en las que las micorrizas se desarrollan en las raíces y participan en el intercambio bidireccional entre especies simbióticas. Tradicionalmente, hay dos grupos principales de micorrizas: ectomicorrizas y endomicorrizas, de las cuales las más abundantes son las micorrizas arbusculares. Esta distinción se basa principalmente en función de que las hifas de hongos se desarrollan o no dentro de las células corticales de la raíz (Díaz et al., 2016: p.39).

Según Smith y Read (2008), estiman que en la actualidad el 90% de plantas que crecen sobre la tierra están micorrizadas.

## **1.5. Importancia de las micorrizas**

La palabra micorriza se refiere a la asociación que las micorrizas establecen en las raíces de una planta y forman una relación simbiótica mutua, es decir, beneficio en la asociación. Por un lado, las plantas reciben nutrientes (minerales, agua, etc.) y los hongos reciben carbohidratos y vitaminas, hasta el 20% del producto de la fotosíntesis, que no se puede obtener de otra manera

(Travieso, 2012; citados en Hoyos Carrera y Rodríguez Cabrera, 2013). Además, las hifas pueden penetrar en áreas del suelo donde las raíces de la planta son inaccesibles y compiten eficazmente por los nutrientes con otros microorganismos (Villegas y Cifuentes, 2004; citados en Hoyos y Rodríguez, 2013: p.6).

La micorrización aumenta el crecimiento y favorece una serie de cambios morfológicos en raíces, por lo cual hace que las plantas sean más resistentes a daños causado por nematodos, ya que gracias al incremento de la ramificación de las raíces en plantas micorrizadas, hace que disminuya los efectos negativos de los nematodos (Hol y Cook, 2005; citados en Rosado y Konling, 2017: p.27). Las micorrizas permiten mejorar las condiciones de las plantas proporcionándoles resistencia al estrés, absorción de nutrientes y agua, especialmente de nitrógeno y fósforo, de tal manera que influyen en la diversidad, productividad y funcionamiento del ecosistema (Guo, 2018: pp.1-6).

Los hongos micorrízicos además de jugar un papel importante en la tolerancia al déficit hídrico, también contribuye a la protección de la raíz contra patógenos a través de diferentes mecanismos de acción, como por ejemplo el mico parasitismo, la lisis enzimática, la antibiosis, la competencia por nutrientes etc (Whipps, 2001: citado en Castro , 2012: p.19).

## **1.6. Tipos de micorrizas**

Según Carrillo (2015, p.176), describe varios tipos de micorrizas que se clasifican según las estructuras que forma el hongo dentro de la raíz: ectomicorrizas, ectoendomicorrizas y endomicorrizas.

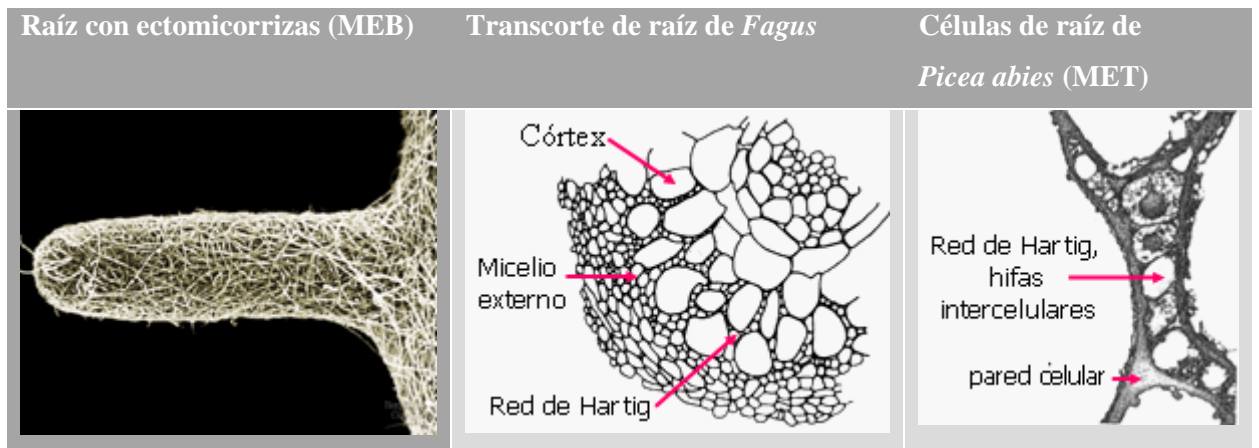
### ***1.6.1. Ectomicorriza***

En las ectomicorrizas, el micelio invade las raíces sin entrar en las células; en este grupo están todos los hongos comestibles (Carrillo, 2015: p.176). Son más comunes en especies forestales como árboles y arbustos, generalmente en plantas perennes leñosas, donde la morfología radicular es corta y lignificada, lo que impide una óptima absorción de nutrientes ( Hoyos y Rodríguez, 2013b, p.7).

Las ectomicorrizas contribuye significativamente a la biomasa del ecosistema, se distribuye ampliamente en el suelo, y tiene una gran importancia en el ciclaje y absorción de nutrimentos (Salas, 2004; citados en Hoyos y Rodríguez, 2013, p.7).

Estas micorrizas son de gran importancia en el aprovechamiento forestal, ya que al parecer son requeridas en diferentes etapas de la mayoría de árboles maderables en los bosques fríos, y lo cual proporciona a la planta cierta protección contra algunos agentes patógenos (Andrade, 2010: p.87).





**Figura 2-1.** Ectomicorrizas en corte transversal de una raíz

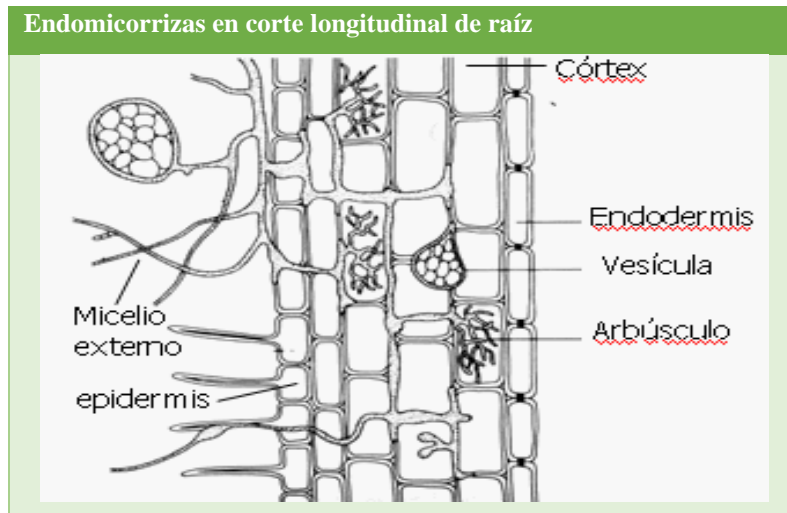
Fuente: (Strasburger citado en Arbo y Gonzalez, 2019).

### 1.6.2. *Ectoendomicorrizas*

Este tipo de micorrizas presenta manto externo, presentan características como de las ectomicorrizas, también penetran en el interior de las células corticales por hifas septadas. Los hongos asociados son reconocidos como formadores de ectomicorriza, por lo que esta asociación puede considerarse un caso especial de simbiosis. Hay dos tipos: ericoide y monotropoide (Carrillo, 2015: p.176).

### 1.6.3. *Endomicorrizas*

Las endomicorrizas se encuentran en un 90% de las plantas superiores y en muchos vegetales inferiores, estos hongos penetran profundamente la raíz formando vesículas y arbusculos intracelulares característicos, de ahí su nombre internacional *vesicular-arbuscular mycorrhizas* (VAM), estas micorrizas juegan un gran papel importante en la agricultura por su capacidad de captar y acumular nutrientes y transferirlo a las plantas micorrizadas (Morán, 2021: p.23). En este grupo se distribuye tres grupos principales: ericoides, orquidioides y arbusculares (Guo, 2018: p.6).



**Figura 3-1.** Endomicorrizas en corte longitudinal de raíz

Fuente: (Mauseth, 1988)

Las endomicorrizas son las más importantes desde el punto de vista agrícola. Son difíciles de ver a simple vista, no forman una capa fúngica externa, se propagan a través de las raíces, alcanzando las células corticales (Mirabal y Ortega, 2008: pp.13-20).

### 1.7. Micorrizas ericoides

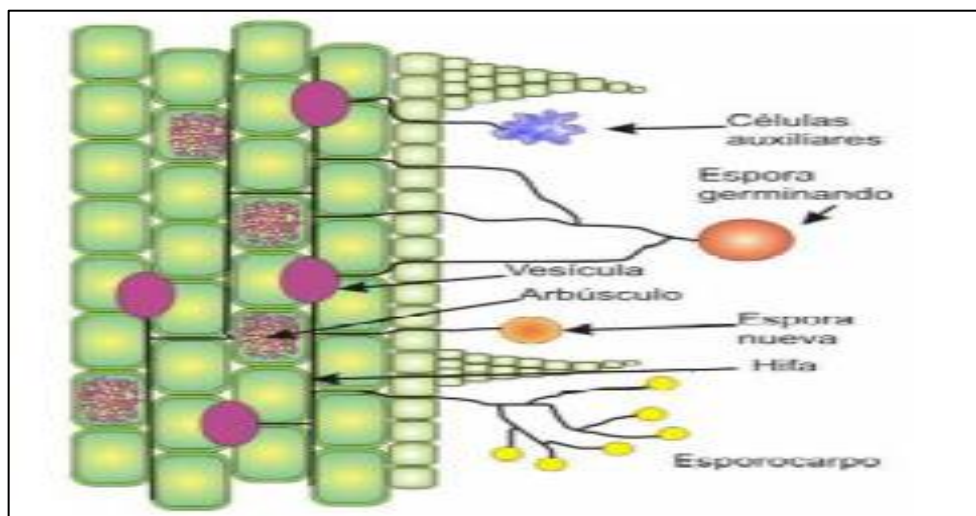
La micorriza ericoide es una asociación entre aquellos individuos pertenecientes al orden Ericales y es el hongo simbiote que coloniza a cada familia, dentro del cual se encuentran plantas de las Ericáceas, principalmente en el hemisferio norte y las especies de Epacridaceae en el hemisferio sur, pues estas dos familias comparten micorrizas morfológicamente muy parecidas (Smith y Read, 1997; citados en Jara et al., 2021: p.6). Estas micorrizas ericoides presentan su morfología simple, presentan espirales finas que están conformadas por hifas, estas se encuentran intracelularmente y de forma compacta en las células rizodérmicas (Vohnik, 2020 ; citados en Jara et al., 2021: p.26).

### 1.8. Hongos Micorrízicos Arbusculares

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) se distinguen por el crecimiento intracelular e intercelular en la corteza de la raíz y por la formación de dos tipos de estructuras, arbuscúlos y vesículas. Los arbuscúlos son hifas que se dividen a partir de la ramificación dicotómica, y, que son invaginados por la membrana plasmática de las células corticales y tienen periodos de vida corta, mientras que las vesículas son estructuras de depósito que se forman en la parte terminal de las hifas (Pérez y Vertel, 2010: p.9).

Las micorrizas arbusculares son los más abundantes y están asociados con la mayoría de las plantas terrestres, especialmente las que crecen en suelos secos y semiáridos, así como en suelos deficientes en fosforo (Gusman y Farias, 2005; citados en Moreno, 2011: p.21).

Hay mucha controversia en como la diversidad de los hongos micorrízicos arbusculares, tienden a bajar su nivel poblacional, debido a la transformación de los ecosistemas naturales en agroecosistemas, por ejemplo, la instalación de monocultivo, después de cierto tiempo de manejo pueden disminuir la abundancia de especies fúngicas (Castro , 2012: p.17).



**Figura 4-1.** Representación esquemática de las estructuras de un hongo micorrízico

Fuente: (Reséndiz, 2013: p. 6).

### 1.9. Taxonomía de hongos micorrízicos

**Tabla 1-1:** Clasificación taxonómica de las micorrizas

Orden (4)	Familia (11)	Género (18)
Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i>
		<i>Funneliforme</i>
		<i>Rhizophagus</i>
		<i>sclerocystis</i>
Diversisporales	Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i>
	Diversisporaceae	<i>Redeckera</i>
		<i>Diversispora</i>
		<i>Otospora</i>
	Acalulosporaceae	<i>Acaulospora</i>
	Entrophosporaceae	<i>Entrophospora</i>
Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>	
		<i>Scutellospora</i>

		<i>Racocetra</i>
	Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>
<b>Archaeosporales</b>	Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>
	Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>
	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>
<b>Paraglomerales</b>	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>

**Fuente:** (Schübler y Walker, 2010: citados en Rodríguez, 2014: p.14).

## **1.10. Estructura de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)**

Los hongos arbusculares forman simbiosis con plantas terrestres formando esporas, arbusculos, vesículas e hifas, dentro de las células corticales que colonizan (Ricardo, 2019: p.13).

### ***1.10.1. Esporas***

Las esporas de endomicorrizas son grandes (20-500µm), su forma puede ser globosa, elíptica ovalada, reniforme, claviforme o irregular, poseen una variedad de colores que ayuda para su identificación. Ciertas especies forman esporocarpios, otras forman esporas solas, ya sea dentro o fuera de la rizósfera (Tena, 2002: citados en Ricardo, 2019: p.13).

### ***1.10.2. Arbúsculos***

Son estructuras que se originan a partir de la ramificación dicotómica repetida de una hifa al interior de la célula vegetal y estas por lo general se encuentran en raíces jóvenes y angostas. Las ramificaciones delgadas de los arbusculos no están en contacto con el protoplasma de la célula, estas ingresan como dedos de un guante, llamándose “invaginaciones de la membrana celular (Souza, 2005: citados en Ricardo, 2019: p.14).

### ***1.10.3. Vesículas***

Son estructuras ovaladas que se forman después de los arbusculos, estas contienen material lipídico, son órganos de reserva, las cuales son utilizadas cuando entran en un estado de estrés. No se encuentran en todos los géneros de HMA, funcionan como esporas para algunas micorrizas (Guachón & Prado, 2012: p.5).

#### ***1.10.4. Hifas***

Son estructuras filamentosas que poseen dos micelios uno interno y otro externo. El micelio interno se desarrolla en las células corticales de la raíz y se conforma el aparato de nutrición del hongo, mientras que el micelio externo se desarrolla por el suelo alcanzando varios centímetros y este se constituye como el colonizador de la raíz de la planta y el suelo micorrizas (Guachón & Prado, 2012: p. 5).

### **1.11. Beneficios de la micorrización**

#### ***1.11.1. Formación de agregados estables***

Se ha comprobado que las hifas de hongos micorrízicos en unión con otros microorganismos, interactúan en tal proceso. El micelio forma un esqueleto y mantiene unidas las partículas, luego, las hifas y las raíces incorporan productos orgánicos a la estructura en formación, luego los microorganismos expulsan mucilagos, polisacáridos que causa cementación de pequeños agregados en formación, y al final se unen a agregados más grandes, dispuestos a la cooperación de hifas de hongos micorrízicos y a la segmentación de productos de origen microbiano y vegetal (Paillacho, 2010: p.16).

#### ***1.11.2. Papel de la micorriza en la absorción de nutrimento***

El uso de nutrientes por plantas, se determina mediante la absorción de la raíz y difusión de nutrientes, y, por consiguiente, mediante la liberación de elementos de solución del suelo. El micelio externo de las micorrizas aumenta el tamaño de suelo examinado y por ende definen el uso de iones de baja velocidad de difusión (P, Zn y Mo). Los hongos micorrízicos a, aparte de ser productora de enzimas hidrolíticas como son, las proteasas y fosfatasas, que son muy útiles para la solubilización del P y la mineralización del fosforo orgánico, lo cual aumenta la disponibilidad de nutrientes (Bernal & Morales, 2006; citados en Paillacho, 2010: p.16).

#### ***1.11.3. Relaciones hídricas de la planta***

Varios estudios, dicen que las micorrizas arbusculares son más resistentes a al estrés hídrico y esto depende un buen nivel nutritivo por parte de la planta y debido a que los micelios externos de micorrizas tienen la capacidad de captar agua lejos de la zona de deficiencia (Paillacho, 2010: p.20).

#### ***1.11.4. Influencia sobre la fotosíntesis del hospedero***

El nivel de fotosíntesis, por lo general en plantas micorrizadas es mayor, no solo depende del efecto de la nutrición del fósforo, sino a la mayor utilización de fósforo en el proceso de fotosíntesis de plantas micorrizadas (Paillacho, 2010: p.20).

#### ***1.11.5. Resistencia a condiciones adversas del medio***

Los hongos micorrízicos les conceden a las plantas tolerancia a la salinidad que se atribuye al efecto en la nutrición de la planta. El micelio externo de la micorriza, puede reemplazar la deformación de raíces causadas por tóxicos (Duchicela, 2001; citados en Paillacho, 2010: pp.21-22).

### **1.12. Factores que afectan la colonización de micorrizas en campo**

La formación y desempeño de los HMA puede verse afectado por cambios en la estructura edáfica (humedad, temperatura y disponibilidad de nutrientes) como consecuencia de las condiciones naturales o contaminación por sustancias tóxicas para los microorganismos y plantas (Augé, 2000, 2000; citados en Perez, 2011: p.371). Cuando hay exceso de agua se presenta inhibición de la colonización por HMA, mientras que, en suelos semihúmedos se va incrementado (Miller, 2000; citados en Perez, 2011: p.371).

Los rangos de temperatura ideal para el desarrollo de la simbiosis en el suelo varían entre 18 y 30 °C; mientras que, temperaturas inferiores la simbiosis se ve afectada (Matsubara y Harada, 1966; citados en Perez, 2011: p.372).

### **1.13. Técnicas de aislamiento e identificación de micorrizas**

Hay varios métodos que se utilizan para separar esporas del suelo, para luego ser cuantificados, siendo los más utilizados:

- ✓ Cuantitativos para la determinación de la población
- ✓ Cualitativos para aislamiento de esporas (Pilco, 2015: p. 14).

#### ***1.13.1. Métodos cuantitativos***

Las muestras tomadas se deben mezclar bien, para obtener una muestra representativa, es recomendable tomar varias sub-muestras para más exactitud. De la muestra se debe tomar una

sub-muestra para poder determinar el peso seco del suelo, para calcular el conteo de esporas por peso seco de suelo (Pilco, 2015: p. 15).

#### *1.13.1.1. Método de tamizado y decantación según Gerdemann y Nicolson (1963)*

Se utiliza 250 g de suelo, para realizar una suspensión en 1 l de agua, esto se deja reposar por algunos segundos para que las partículas se sedimenten, luego se pasa el sobrenadante por tamices de diferentes tamaños, empezando por un tamizador con poros de 1 mm, y se colecta la suspensión tamizada y se agita; esto se deja en reposo por algunos segundos y se decanta por el tamiz de 710  $\mu\text{m}$ , se continúa haciendo con los tamices con poros de 420  $\mu\text{m}$ , 250  $\mu\text{m}$ , 149  $\mu\text{m}$ , 105  $\mu\text{m}$ , 74  $\mu\text{m}$  y 44  $\mu\text{m}$ . para trabajo de rutina se puede utilizar menos tamices, por ejemplo: 1 mm, 420  $\mu\text{m}$ , 149  $\mu\text{m}$  y 44  $\mu\text{m}$  o menos tamices. Las fracciones separadas se pasan a cajas Petri con poca agua, si existe mucho material se divide la muestra colectada en varias cajas, finalmente se procede al conteo de las esporas en la caja Petri, bajo un microscopio de disección (25 x o 50 x aumento) (Sievering, 1983; citado en Pilco, 2015: p. 15).

#### *1.13.1.2. Métodos de centrifugación*

El método inicialmente fue desarrollado por Jenkins (1964) para separar nematodos del suelo. Se mezclan 10 g de suelo con 10 ml de agua en un vaso de precipitación de 250 ml y se agita bien, luego se vacía la suspensión en un tamiz de 500  $\mu\text{m}$ , que se encuentra colocado sobre otro tamiz de 44  $\mu\text{m}$ , se lava el material que se encuentra en el tamiz de 500  $\mu\text{m}$  con agua de llave durante 15 minutos, después se pasa el contenido del tamiz de 44  $\mu\text{m}$  a un tubo de centrifugación de 50 ml, se aplica un poco de agua en el tubo, y se centrifuga a 1800 rpm durante 4 minutos. Se decanta el agua y con un dedo se saca el material orgánico de la pared interna del tubo, y al residuo que queda en el tubo se coloca una solución de azúcar (500 g de azúcar en 1 l de agua), y esto se disuelve y se centrifuga a 1800 rpm durante 2 minutos, después se elimina la solución en un tamiz de 44  $\mu\text{m}$  y se lavan las esporas con agua y se colocan en papel filtro para contarlas (Pilco, 2015: p. 15).

#### *1.13.1.3. Método utilizado en CIAT-Proyecto Micorriza*

Se pesan de 10 a 50 g de suelo fresco en un vaso de precipitación y se añaden de 0,5 a 1 l de agua y durante una hora se agita varias veces la suspensión, después de la última agitación, se deja sedimentar durante algunos segundos para que las partículas más pesadas se asienten y luego se decanta a través de una serie de tamices de 750  $\mu\text{m}$ , 105  $\mu\text{m}$  y 63  $\mu\text{m}$ , previamente colocados uno sobre otro. Se aplica nuevamente agua al residuo, se agita y se decanta, este proceso se repite,

luego se lava con chorro fuerte de agua el tamiz de 750  $\mu\text{m}$  para que las partículas más pequeñas pasen a los otros tamices. Las partículas del tamiz de 750 se pasan a una caja Petri, si todavía existe mucho micelio y raíces con esporas se debe macerar las partículas (Sievering, 1983; citado en Pilco, 2015: p.15).

### ***1.13.2. Métodos cualitativos***

El objetivo es la separación de las esporas del suelo y del material orgánico para facilitar el aislamiento y la identificación (Pilco, 2015: p.16).

#### ***1.13.2.1. Método utilizado en CIAT-Proyecto Micorriza***

El método está basado en el trabajo de Ohms (1957); aquí se presentan modificaciones y ampliaciones.

En 0,5 o 1 l de agua se disuelven de 50 a 500 g de suelo y se agita varias veces durante una hora, luego de 30 segundos de la última agitación se decanta a través de una serie de tamices de 1 mm, 250  $\mu\text{m}$ , 45  $\mu\text{m}$  dispuestas una sobre otra, la agitación y la decantación se repiten dos veces. Se agita el contenido que se encuentra en el tamiz de 1 mm, con un chorro fuerte de agua de llave; utilizando poca agua (20-25 ml) se pasa, separadamente las fracciones de los tamices de 250  $\mu\text{m}$  y 45  $\mu\text{m}$  a tubos de centrifugación de 100 ml de volumen. Se agita la suspensión en el tubo y con una jeringa se inyecta una solución de azúcar de 20-25 ml al fondo del tubo, luego se centrifuga a 3500 rpm durante 3-4 minutos, debido a la centrifugación, existen una sedimentación de las partículas pesadas al fondo del tubo y las esporas se encuentran en la superficie de la solución de azúcar (Sievering, 1983; citado en Pilco, 2015: p.16).

#### ***1.13.3. Metodología para tinción***

Las raíces recolectas se lavan bien con agua para eliminar suelo e impurezas, se lo realiza con mucho cuidado para evitar dañar la estructura radical. Si es posible se deja las muestras en remojo por un periodo de tiempo, por lo cual el suelo adquiere humedad y es más fácil remover el suelo sin dañar las raíces. Se toman raíces finas menor a 1 mm de diámetro, para que sea más fácil la penetración de los reactivos, las raíces deben separarse de modo que no queden muy ajustadas dentro del tubo; para trabajos más exactos, se deben pesar las muestras, con el fin de tener el tamaño de la muestra uniforme (Sánchez et al., 2010: p.49).



#### *1.13.3.1. Tinción con azul de tripan*

Se colocan las raíces en tubos de ensayo y se cubren con KOH al 10%, de manera que queden cubiertas totalmente para que el clareamiento sea uniforme, previamente se calienta el baño María de 60 – 90 °C o una olla con agua hasta punto de ebullición (95 ±5 °C). Los tubos con muestras en KOH, se someten a estas temperaturas por diferentes espacios de tiempo, dependiendo del tipo de raíz. Se debe estar pendiente del tiempo, de la temperatura y los cambios que se van haciendo en las raíces, debido a tiempos muy cortos, temperaturas bajas y exceso de raíces pueden ser un problema para el buen aclarado de raíces y por el contrario demasiado tiempo podría llevar a la desintegración del tejido radical (Sánchez et al., 2010: p.50).

Cuando las muestras presentan raíces maduras y con mucho fenol pueden requerir más tiempo para aclarar o se puede colocar peróxido hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por periodos muy cortos. Luego de finalizada la etapa de clareamiento, se lavan las raíces con abundante agua, utilizando una malla de contención para evitar pérdidas de raíces. Para el blanqueamiento y la acidificación se cubren las muestras con HCl al 1 o 2% por un corto periodo de tiempo, dependiendo del tipo de raíz y el estado de clareamiento, luego se lavan con agua y si las raíces están blanqueadas, después están listas para la tinción con azul de tripano durante 5 a 10 minutos, después se lava las raíces teñidas con agua y se quitan el exceso de colorante con glicerina o lactoglicerol (Sánchez et al., 2010: p.50).

#### *1.13.3.2. Tinción con tinta en vinagre (Vierheilig et al., 1998)*

En esta metodología se utilizará una solución colorante que es la tinta negra o azul al 5% en vinagre blanco de uso doméstico al 4%, si no se dispone de esta tinta se puede realizar un pre-ensayo con tintas que se encuentran disponibles en el mercado (Sánchez et al., 2010: p.51).

La limpieza de las raíces depende del tipo de planta, luego de lavadas se cortan las raíces con bisturí o tijeras en segmentos, seguido se depositan en vasos de precipitación de aproximadamente 50 ml. Para la decoloración se agrega KOH al 10% cubriendo totalmente las raíces, luego se lleva a la plancha de calentamiento y se deja hervir de 15 a 30 minutos, cuando la raíz es muy pigmentada requiere más tiempo para el proceso de decoloración. Lara (2003) reemplaza la plancha por un horno microondas por 30 segundos a 1 minuto (Sánchez et al., 2010: p.51).

Luego de terminada la decoloración, se lavan las raíces varias con agua de llave y después con ayuda de una pinza pasan las raíces a tubos de ensayo, y se cubren las raíces con solución de tinta al 5% en vinagre, y se deja por 3 minutos en baño María previamente calibrado a 90°C. Pasado

ese tiempo se retiran los tubos con ayuda de una pinza y se colocan en la gradilla, la tinta se retira con agua y con unas gotas de vinagre y se dejan reposar por 20 minutos y luego de transcurrido este tiempo se lavan con agua de llave. Las muestras de raíces que fueron teñidas se sacan del tubo de ensayo y se las colocan en cajas Petri para su correspondiente observación en el estereoscopio, luego de registradas las observaciones, se procede a tomar varias raíces de 1 o más cm y se procede a colocar en porta objetos añadiendo gotas de agua destilada, se coloca un cubre objetos y se procede a observar en el microscopio (Sánchez et al., 2010: p.51).

#### 1.14. Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

##### 1.14.1. Origen y distribución

El mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), son arbustos pertenecientes a la familia Ericaceae, son de origen andino, crecen de forma silvestre en los páramos a lo largo de toda la región interandina, a una altitud alrededor de 1600 a 3800 msnm, estos crecen en climas cálidos y fríos, con temperaturas que oscilan entre los 8 y los 16 °C, lo que presenta una marcada vegetación proveniente de los bosques seco montano y húmedo montano (Coba et al., 2012: p.11). En Ecuador el mortiño también es conocido como uva de monte, uva de los andes, en Colombia lo conocen como agraz y en Perú como macha, congama y pushgay (Coba et al., 2012: p.7).

El mortiño se encuentra distribuido en los andes ecuatorianos, desde la provincia del Carchi hasta Loja, distribuyéndose por Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Cañar y Azuay, atravesando toda la cordillera de los Andes (Coba et al., 2012: p.7).



**Figura 5-1.** Mapa de la distribución del mortiño en el Ecuador.

Fuente:(Gonzales, 2002: citados en Roldán, 2012: p.2).

### 1.14.2. Importancia del mortiño

El mortiño tiene dos aspectos generales muy importantes: el primero, que es una especie única que tiene un valor alimenticio directo para la gente y es por esta razón tiene consigo un significado social y comercial (aunque muy poco). En Ecuador, el mortiño no solamente es utilizado por sus habitantes, principalmente en el día de los difuntos para la elaboración de la tradicional colada morada que es considerado un plato típico, sino que también se lo utiliza en procesados como: mermelada, vino, harina, se utiliza su cascara como materia prima para elaboración de medicamentos y su fruto se utiliza en el teñido de textiles (Noboa, 2019: p.361).

El segundo aspecto importante del mortiño en el páramo es el rol que cumple en el funcionamiento del ecosistema, ya que, al contar con su propio nicho ecológico, uno de los aspectos importantes del mortiño y de otros arbustos similares (la mayoría ericáceas), es que poseen frutos que son comestibles para los animales frugívoros y gracias a estas plantas existen aves en el páramo y otros animales que se alimentan de sus frutas (Noboa, 2019: p. 362).

### 1.14.3. Taxonomía del mortiño

Coba et al. (2012: p.6), menciona la clasificación taxonómica del mortiño de la siguiente manera:

**Tabla 2-1:** Clasificación taxonómica de *Vaccinium floribundum* Kunth

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Eudicotiledoneae
Orden	Ericales
Familia	Ericaceae
Nombre científico	<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth
Nombre común	Mortiño, uva de monte, agraz

Fuente: (Coba et al., 2012; p.6)

### 1.14.4. Descripción botánica

El mortiño son arbustos ramificados, cuya altura pueden ir de entre 0.20 hasta 2.5 metros, presentan hojas muy pequeñas con el margen acerrado o crenado, nervaduras pinnadas, de color verde, flores de menos de 1 cm, solitarias o en racimos, su fruto es redondo de un color azulado casi negro cubierto de un polvo blanquecino su tallo es de color verdoso y glabro, la raíz puede alcanzar hasta 1 metro de forma horizontal (Pérez y Valdivieso, 2007; citados en Vargas, 2021. p.27).



**Figura 6-1.** Planta de mortiño (*V. floribundum* Kunth) en su habitad. natural

**Fuente:** (Aguilar et al., 2009: p.43).

#### ***1.14.5. Usos***

En Ecuador el fruto del mortiño lo utilizan en mermeladas, postres, helados, aunque el uso principal es en la popular colada morada, que se elabora en el Día de los difuntos. Estos frutos también son utilizados para tinturar ropa de lana (Roldán , 2012: p.4).

#### ***1.14.6. Beneficios para la salud***

Los frutos contienen antioxidantes naturales que ayudan al metabolismo y protegen de los radicales libres que son perjudiciales para la salud.

- ✓ Ayuda a mejorar el nivel de azúcar en la sangre
- ✓ Evita la diabetes
- ✓ Evita la inflamación de las vías urinarias
- ✓ Ayuda a reducir el riesgo de cáncer
- ✓ Disminuye el riesgo de ataque al corazón
- ✓ Combate las enfermedades digestivas
- ✓ Disminuye el peligro de acumular grasa en las arterias debido a la presencia de flavonoides

(Loor y Zambrano , 2016: p.16).

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Características del lugar

##### 2.1.1. Localización

La presente investigación se realizó con muestras de suelo y raíces de mortiño provenientes de dos localidades del páramo pertenecientes a la provincia de Chimborazo.

##### 2.1.2. Características geográficas

**Tabla 1-2:** Características climáticas de las 2 zonas de Ganquis y Cubillín.

LOCALIDAD	COORDENADAS		ALTITUD	ECOSISTEMA
	UTM	Geográficas	(msnm)	
Ganquis	-1.566725 -78.859722	1°34'00.2''S 78°51'35.0''W	3857	Páramo herbáceo
Cubillín	-1.755424 -78.522272	1°45'19.5''S 78°31'20.2''W	3500	Bosque montano alto

Fuente: (INAMHI, 2020).

##### 2.1.3. Características climáticas

**Tabla 2-2:** Características climáticas de la zona Ganquis

Precipitación	500-1000mm
Temperatura media anual	3°C en la noche y un rango de 6 - 15 °C durante el día
Clima	Frio andino
Humedad relativa	70 – 80%

Fuente: (Espinoza, 2017. p.40)

**Tabla 3-2:** Características climáticas de Cubillín

Precipitación	1000 - 2000mm
Temperatura media anual	6 - 15 °C
Clima	Frio
Humedad relativa	65 – 80%

Fuente: (INAMHI, 2020).

#### **2.1.4. Localización de laboratorio**

La identificación del porcentaje de colonización y la cuantificación del número de esporas, se realizó en el laboratorio de Ciencias Biológicas, Facultad de Recursos Naturales, perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, parroquia Lizarzaburu, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo.

### **2.2. Materiales y equipos**

#### **2.2.1. Material vegetativo**

Raíces corticales de mortiño proveniente de las dos localidades del páramo (Ganquis y Cubillín) de la provincia de Chimborazo.

.

#### **2.2.2. Material de campo**

Azadón, machete, fundas de cierre hermético, lápiz, libreta de campo, cámara fotográfica, cooler, cinta masking.

#### **2.2.3. Material de oficina**

Computadora, impresora, esferos, hojas de papel bond, calculadora, programa (ArcGIS).

#### **2.2.4. Materiales y equipos de laboratorio**

Tamices de 150  $\mu\text{m}$  y 75  $\mu\text{m}$ , placas porta y cubre objetos, vaso de precipitación, pinzas, cajas Petri, tubos de ensayo, jeringuillas, tijera, tubos para centrifuga, colador, microscopio óptico, estereoscopio, centrifuga, balanza analítica.

#### **2.2.5. Reactivos**

Hidróxido de potasio (KOH) al 10%, ácido clorhídrico (HCl) 10%, azul de tripan al 0.05% en lactoglicerina, ácido Láctico, agua destilada y sacarosa 70%.

## **2.3. Metodología**

### **2.3.1. Fase de campo**

#### *2.3.1.1. Determinación del área de muestreo*

La primera área de muestreo fue en la localidad de Ganquis y siendo posteriormente la segunda área de muestreo en la localidad de Cubillín.

.

### **2.3.2. Análisis estadístico**

Se realizarán cuadros comparativos.

#### *2.3.2.1. Localidades y numero de muestras*

Número de localidades	2
Numero de muestras por localidad	5
Numero de repeticiones por localidad	2

### **2.3.3. Recolección de muestras**

Se realizó la georreferenciación de las dos zonas de muestreo (Ganquis y Cubillín). Se tomaron muestras completamente al azar, se recolectaron alrededor de las zonas de crecimiento radicular, haciendo un corte de 15 cm de profundidad, 20 cm de ancho y 20 cm de largo, en donde se incluyó el suelo y las raíces, una cantidad de 0,5 a 1,0 kg por cada muestra. Estas muestras se colocaron en fundas herméticas con su respectiva etiqueta y se dejaron en refrigeración hasta el día del análisis en laboratorio.

### 2.3.4. Fase de laboratorio

#### 2.3.4.1. Separación de esporas

- **Procedimiento**

**Método de centrifugación:** El método fue originalmente desarrollado por Jenkins (1964) para separar nematodos del suelo.

- Se tomaron 100 g de suelo seco previamente tamizadas a 2 mm (Tamiz No. 10) y se colocó en frascos de vidrio, y se adiciono aproximadamente 200 ml de agua.
- Se agitó con la mano por 3 minutos. Después de transcurrido este tiempo, se dejó sedimentar o hasta que el agua este quieta, luego se decantó el agua vertiéndola sobre los tamices previamente ubicados (500  $\mu\text{m}$ , 150  $\mu\text{m}$  y 45  $\mu\text{m}$ ) debajo de un recipiente de 4 l.
- Se Pasó el agua recolectada en el recipiente inferior para lavar el contenido del tamiz superior, y nuevamente recolectar el agua, este paso se repitió por tres veces.
- Del tamiz de 45  $\mu\text{m}$  se recogió con cuidado la interfaz y verter en un tubo de centrifuga de 13 ml con 4 ml de agua. El material restante se pasó con ayuda de un frasco lavador y agua. El volumen del tubo con muestra y agua no debe sobrepasar los 7 ml.
- Se agito el fondo del tubo con ayuda de una espátula de punta fina.
- Con la jeringa para sacarosa se tomó aproximadamente 5 ml de sacarosa al 70% y cuando la muestra no presento agitación, se adiciono a presión al fondo del tubo preparado, hasta completar 12 ml. La jeringa se lavó superficialmente con agua, después de cada adición.
- Se equilibró el peso del frasco con agua, la cual se adiciono cuidadosamente.
- Con mucho cuidado se llevó los tubos a una centrífuga con ángulo libre y se centrifugo a 3350 rpm por 4 minutos. Debe haber una separación clara en tres fases: agua – sacarosa – suelo.
- Con una jeringa se extrajo la fase intermedia del tubo – sacarosa, principalmente el material contenido en el límite sacarosa – agua, donde se acumulan las esporas.
- Se pasó a un tamiz de aproximadamente 45  $\mu\text{m}$  y se lavó con agua de llave.
- Con un frasco lavador se pasó el material restante a una caja de Petri.



#### *2.3.4.2. Cuantificación de esporas*

Se utilizará la Metodología de cuadrantes de Sievering (1983).

- Para el conteo se utilizó una caja de Petri donde se colocó una lámina de papel milimetrado, en la cual se depositó las esporas de micorrizas.
- Se recogen en poca agua de tal forma que se reduzca el movimiento y se procede a recorrer toda la caja con el objetivo cuyo aumento permita distinguirlas claramente.

#### *2.3.4.3. Tinción de células corticales de raíces*

El método utilizado para la tinción de raíces micorrizadas es el de tinción con Azul de Tripán, descrito por Phillips y Hayman (1970) y el procedimiento es el siguiente:

- Se separó las raíces del suelo.
- Se Lavó las raíces con abundante agua corriente y se colocó en tubos de ensayo.
- Se aplicó KOH al 10% hasta que todas las raíces queden completamente cubiertas.
- En esta solución, se colocó en el autoclave de 15 a 20 minutos.
- Se decantó el KOH y se lavó las raíces con agua de llave, utilizando preferiblemente un tamiz adecuado para evitar pérdidas durante el enjuague.
- Se aplicó HCl al 10% y se agito y se dejó las raíces entre 15 y 30 minutos, hasta que tomen un color blanco.
- Se decantó el HCL y se lavó las raíces con agua.
- Se aplicó el azul de tripan al 0.05% y se colocó en la autoclave por 15 minutos.
- Se retiró el colorante y se lavó las raíces con agua destilada y se dejó reposar en ácido láctico por 24 horas para quitar el exceso de colorante.
- Para evaluar el porcentaje de colonización se montó las raíces en portaobjetos.
- Se observó en el microscopio.

#### *2.3.4.4. Cuantificación de porcentaje de colonización*

Se prepararon placas y en cada una se colocaron 3 trozos de raíces teñidas, en total se observaron 100 raíces. Las raíces se observaron utilizando un estereoscopio de luz en objetivo 10X y de 40X para observar las raíces que presentan colonización con estructuras de micorrizas dentro de ellas (hifas, arbusculos y vesículas) y los no colonizados.

El porcentaje de colonización se determinó mediante la observación de las placas en el microscopio dividiendo el número de campos colonizados por el total de campos observados y multiplicando el resultado por 100.

$$\% \text{ colonizacion} = \left( \frac{\text{campos colonizados}}{\text{campos totales observados}} \right) * 100$$

#### *2.3.4.5. Identificación morfológica de hongos micorrizas*

Se emplearon las claves y descripciones presentadas por Schenk y Pérez y la página web del INVAM (Colección Internacional de Cultivo de Hongos Micorrízicos Arbusculares Vesiculares), tomando en cuenta los rasgos morfológicos como la forma, el color y la textura de la pared.

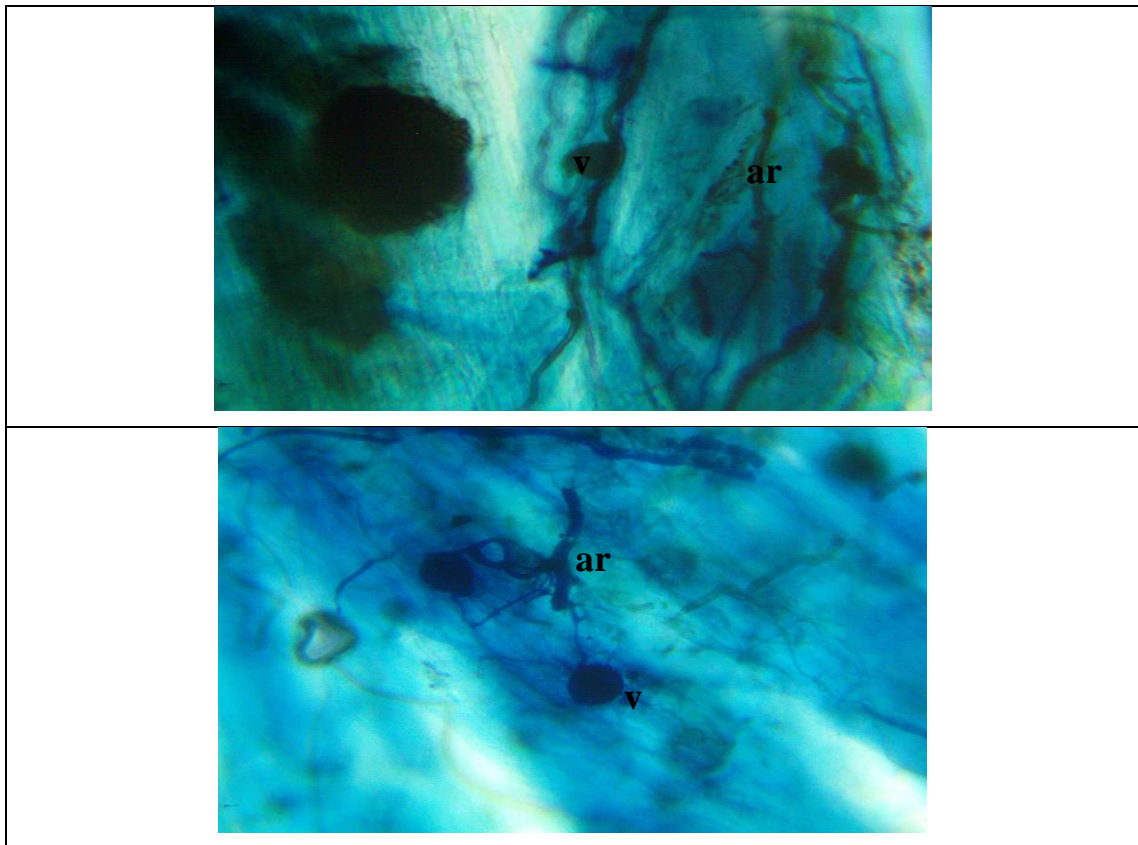
## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

#### 3.1 Porcentaje de colonización de hongos micorrízicos en raíces de mortiño de Ganquis y Cubillín

##### 3.1.1 *Porcentaje de colonización de hongos micorrízicos*

Los HMA desarrollan sus estructuras dentro y entre las células radicales, dichas estructuras favorecen a las plantas que colonizan; sin embargo, el porcentaje de colonización o micorrización es diferente en cada zona



**Figura 1-3.** Colonización HMA en Ganquis y Cubillín: vesículas (v), arbusculos (ar)

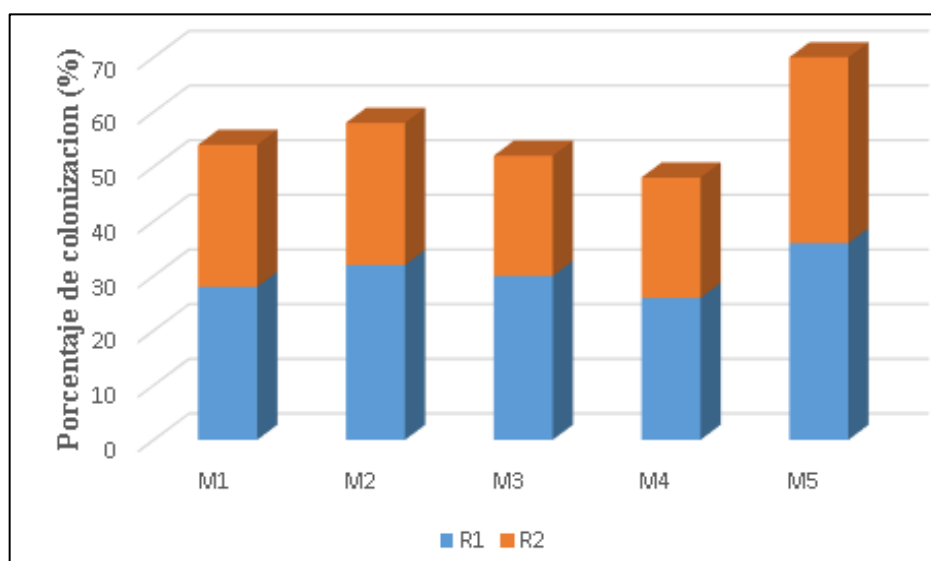
Realizado por: Sánchez, J. 2022.

**Tabla 1-3:** Porcentaje de colonización radicular de mortiño en la zona de Ganquis

Muestras	(%)
M1	27
M2	29
M3	26
M4	24
M5	35
<b>PROMEDIO</b>	<b>28.2</b>

Realizado por: Sanchez, J. 2022

En el gráfico 1-3 se muestra el porcentaje de colonización radicular de las diferentes muestras de estudio, la muestra 04 presentó los valores más bajos en porcentaje de colonización radicular de cada una de las repeticiones analizadas con un valor de 24%, frente a la muestra 5 con un 35% que presentó los valores más altos en porcentaje de colonización radicular de micorrizas.



**Gráfico 1-3.** Porcentaje de colonización en raíces de mortiño en la zona de Ganquis

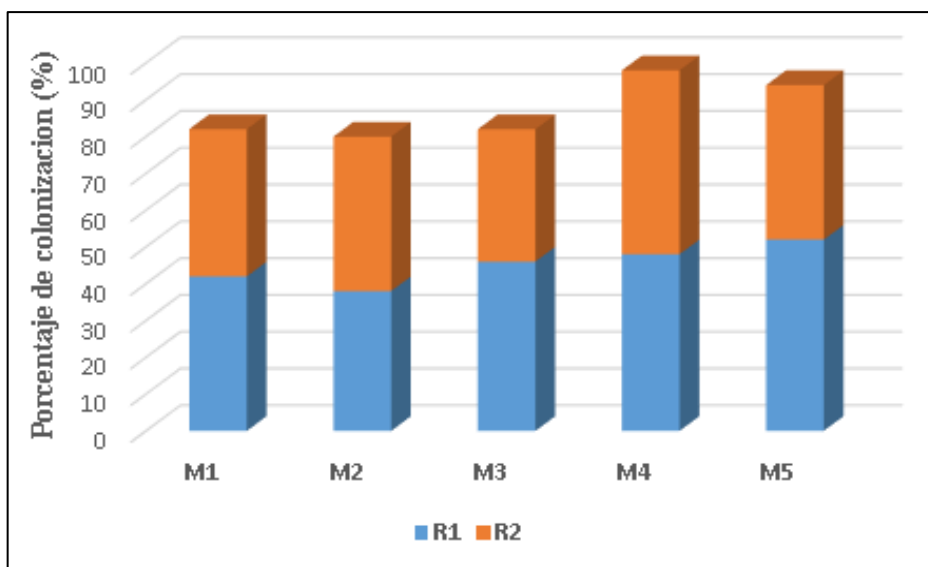
Realizado por: Sanchez, J. 2021.

**Tabla 2-3:** Porcentaje de colonización radicular de mortiño en la zona de Cubillín

Muestras	(%)
M1	41
M2	40
M3	41
M4	49
M5	47
<b>PROMEDIO</b>	<b>43.6</b>

Realizado por: Sanchez, J. 2022

En el gráfico 2-3 se muestra el porcentaje de colonización radicular de las diferentes muestras de estudio, la muestra 02 con un promedio de 40% presenta los valores más bajos en porcentaje de colonización radicular de cada una de las repeticiones analizadas, frente a la muestra 04 con un valor de 49% presentando los valores más altos en porcentaje de colonización radicular de micorrizas.



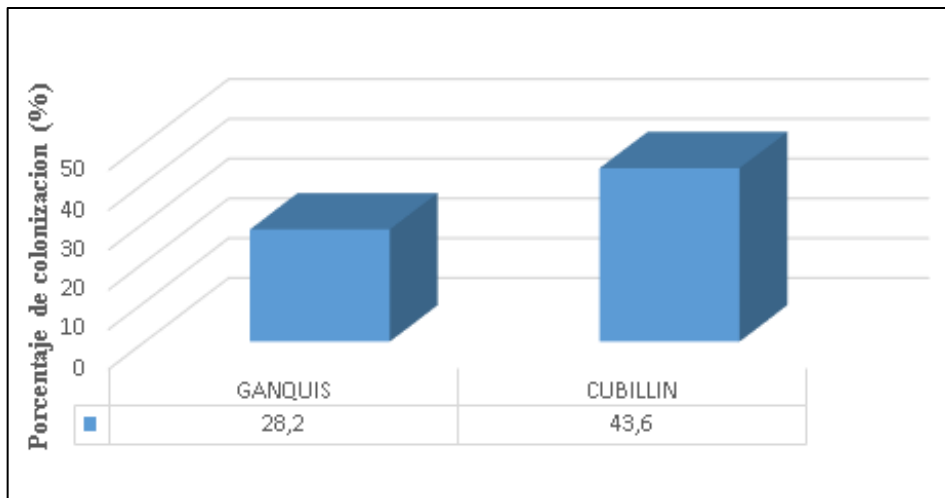
**Gráfico 2-3.** Porcentaje de colonización en raíces de mortiño en la zona de Cubillín.

Realizado por: Sánchez, J. 2022.

### 3.1.2 *Análisis comparativos del porcentaje de colonización en las raíces de mortiño en los páramos de Ganquis y Cubillín*

Las raíces de *Vaccinium floribundum* Kunth., evaluadas reportaron colonización por estructuras de hongos micorrízicos (hifa, arbusculos, vesículas), evidenciando un mayor porcentaje de

colonización alto en la zona de Cubillín con un valor de 43,6 %, frente a la zona de Ganquis que se obtuvo un porcentaje menor de 28,2% de colonización.



**Gráfico 3-3.** Porcentaje de colonización en las 2 zonas de estudio

**Realizado por:** Sánchez, J. 2022.

El porcentaje de colonización de hongos micorrízicos evaluadas en los páramos de Ganquis y Cubillín se obtuvo el 28,2 y 43,6% respectivamente (grafico 3-3), (Alvarado, et al., 2004); mencionan que el porcentaje de colonización micorrízica en las plantas, está fuertemente determinado por el grado de acidez del suelo.

Noboa et al., (2018), reportaron promedios de micorrización del 60% a 90% mientras que Bautista et al. (2017), presentaron valores del 40% encontrándose en este estudio porcentajes similares a los reportados por los investigadores.

Barrer, (2009), dice que los hongos micorrízicos se pueden encontrar en todo tipo de suelo, ya que estos pueden colonizar cualquier planta que estén en simbiosis con ellos.

Alcantara et al., (2018), menciona que el número de especies dentro de un mismo sitio incrementa la masa radical en el suelo favoreciendo la colonización micorrízica, ya que mientras más mayor sea la presencia de estas especies aumenta la diversidad de géneros HMA, y por ende existe mayor porcentaje de colonización , según este criterio en la zona de Cubillín se observó una gran diversidad de especies vegetales lo que incidió que se encuentre mayores porcentajes de micorrización en dichas raíces.

### 3.2 Numero de esporas de hongos micorrízicos asociados a las raíces de mortiño de los páramos de Ganquis y Cubillín

#### 3.2.1 *Numero de esporas de hongos micorrízicos en la rizósfera de mortiño en el páramo de Ganquis*

En la tabla 3-3 se muestra la población de esporas micorrízicas por cada 100 g de suelo, en la muestra 04 se encontró mayor número de esporas con un valor de 1600, mientras que el valor más bajo se encontró en la muestra 01 y 03 con un valor de 1100 esporas, el total de individuos por 100g de suelo es de 6300, con un promedio de 1260 esporas.

**Tabla 3-3:** Población de esporas/100g de suelo

<b>Ganquis</b>	
<b>Muestras</b>	<b>Esporas/100g de suelo</b>
M1	1100
M2	1300
M3	1100
M4	1600
M5	1200
<b>Total</b>	6300
<b>Promedio</b>	1260

Realizado por: Sánchez, J. 2022.

#### 3.2.2 *Numero de esporas de hongos micorrízicos en la rizósfera de mortiño en el páramo de Cubillín*

En la tabla 4-3 se muestra el número de esporas por cada 100 g de suelo, en la cual se determinó que la muestra 01 presentó el menor número de esporas 1100, mientras que el valor más alto se presentó en la muestra 4 con un valor de 1600 esporas, el total de individuos por 100 g de suelo es de 7300, con un promedio de 1460 esporas.

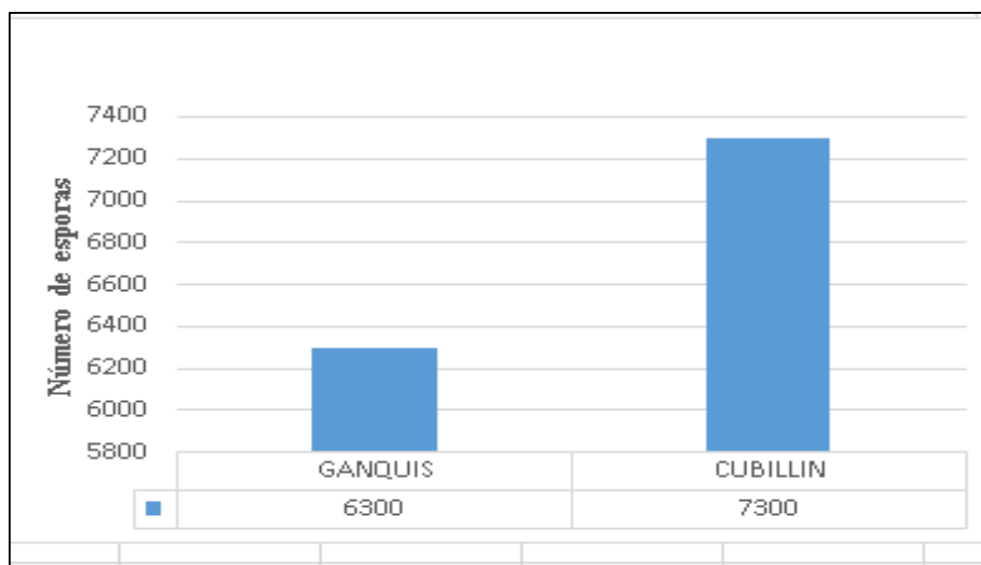
**Tabla 4-3:** Población de esporas/100g de suelo

Cubillín	
Muestras	Esporas/100g de suelo
M1	1400
M2	1500
M3	1300
M4	1400
M5	1700
<b>Total</b>	<b>7300</b>
<b>Promedio</b>	<b>1460</b>

Realizado por: Sánchez, J. 2022.

### 3.2.3 *Análisis comparativos del número de esporas de hongos micorrízicos asociados a las raíces de mortiño en los páramos de Ganquis y Cubillín*

En el gráfico 4-3 se muestra que la zona de Cubillín presenta mayor número de esporas con un valor de 7300 por 100 gramos de suelo, mientras que en Ganquis presento un menor número con un valor 6300 esporas de micorrizas por cada 100 gramos de suelo, con un promedio de 1460 esporas/100g de suelo.



**Gráfico 4-3.** Presencia de esporas de HMA en los páramos de Ganquis y Cubillín.

Realizado por: Sánchez, J. 2022.

Referente al número de esporas micorrízicos obtenidas del páramo de Ganquis y Cubillín se obtuvo un valor de 7300 y 6300 esporas por 100 gramos de suelo.



Cardona et al., (2005), quienes analizaron actinomicetos y HMA en diferentes ecosistemas fragmentados de Colombia, obtuvieron promedios de 1509 esporas en 100g de suelo.

Jara et al., (2021), menciona que la gran cantidad de esporas puede responder a un sin número de factores bióticos y abióticos que establece la reproducción de estos hongos, por ejemplo, Ramírez et al., 1997; citados en Violi et al., (2008), han documentado que la mayor producción de hongos micorrízicos se da en periodos estacionales secos, ya que esto produce un estrés hídrico en la planta, y esto puede conllevar a que el hongo responda aumentando la producción de esporas.

Alvarado et al., (2004), cita que el menor o mayor número de esporas de hongos micorrízicos que se encuentran presentes en los diferentes tipos de suelo, no significa o indica que se dé una mayor infección de la raíz por el mismo organismo, sino que esto puede depender de la relación hongo-hospedero; pero se puede asumir que la incidencia de infección incrementa con relación al número de esporas del suelo.

### **3.3 Identificación de morfo-tipos de hongos micorrízicos de Ganquis y Cubillín**

La determinación de los morfo-tipos se llevó a cabo mediante la caracterización de las esporas respondiendo a rasgos morfológicos como la forma, el color y la textura de la pared. En total se encontraron 13 diferentes tipos de esporas en las dos zonas evaluadas.

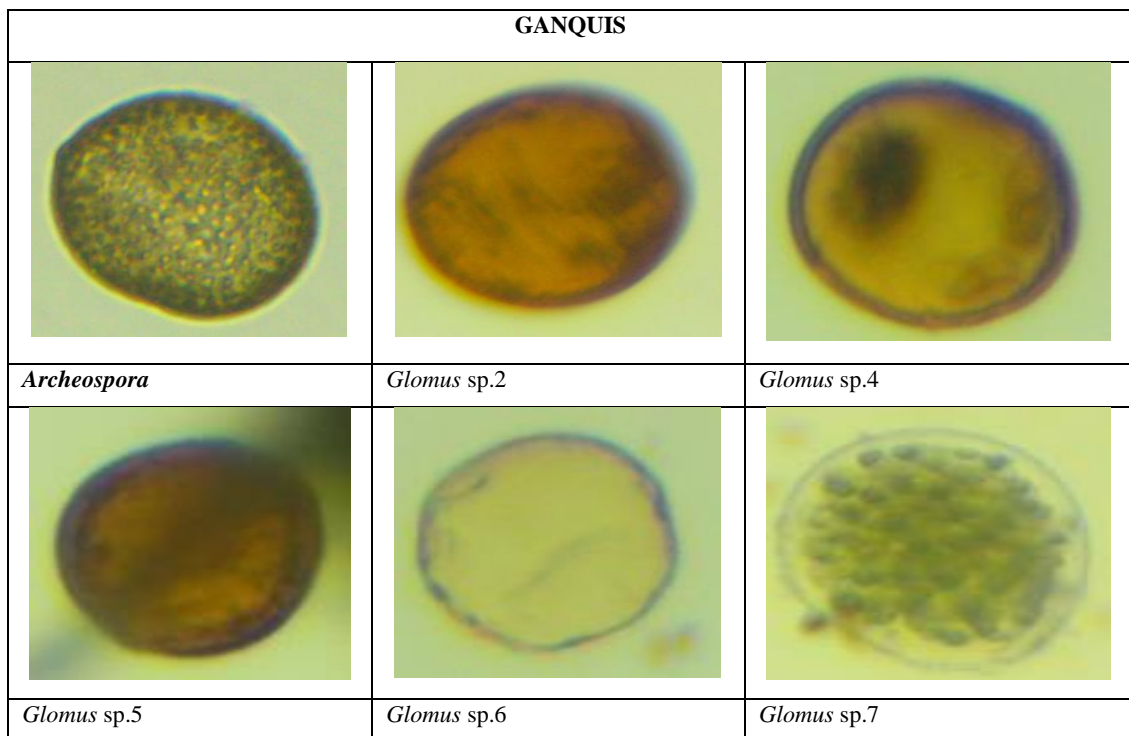
El género *Glomus* sp. se encontraron en las dos zonas del páramo de Ganquis y Cubillín, mientras que el género *Archaeospora* sp. se encontró en la zona de Ganquis y el género *Acaulospora* sp. fue observado en la zona de Cubillín.

**Tabla 5-3:** Morfo-tipos de hongos micorrízicos presentes en las dos zonas de estudio

Genero	Ganquis	Cubillín
<i>Glomus</i> sp.1		x
<i>Glomus</i> sp.2	x	
<i>Glomus</i> sp.3		x
<i>Glomus</i> sp.4	x	x
<i>Acaulospora</i> sp.1		x
<i>Glosmus</i> sp.5	x	x
<i>Glomus</i> sp.6	x	x
<i>Acaulospora</i> sp.3		x
<i>Glomus</i> sp.7	x	
<i>Glomus</i> sp.10		x
<i>Archaeospora</i> sp	x	
<i>Acaulospora</i> sp.4		x
<i>Glomus</i> <i>veriforme</i>		x

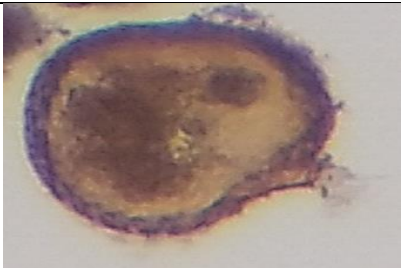
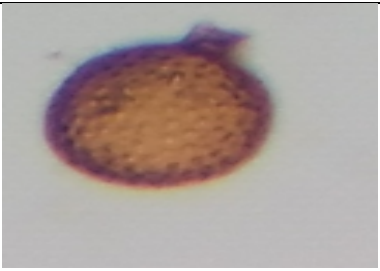
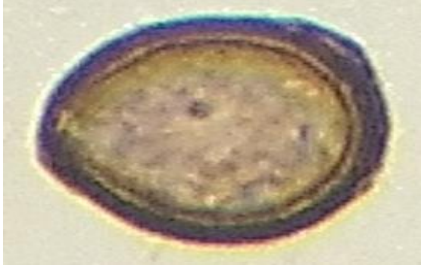
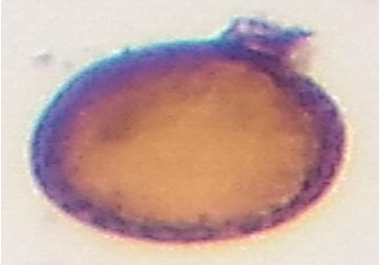
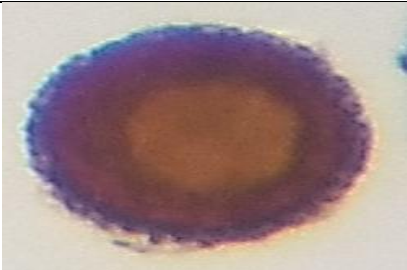
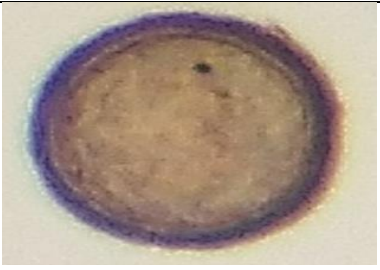

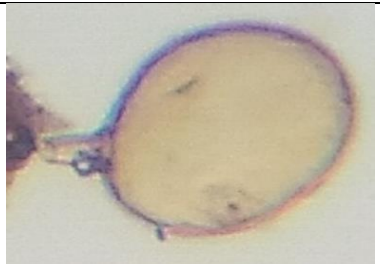
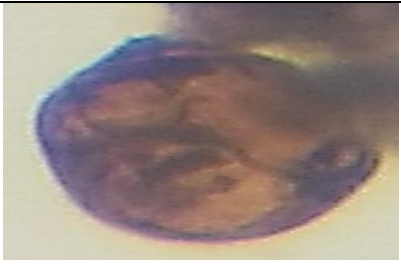
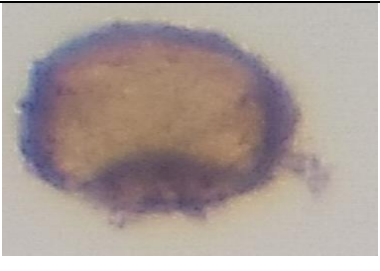
Realizado por: Sánchez, J. 2022)

En las imágenes presentadas a continuación se presenta los diferentes morfotipos de hongos micorrízicos encontrados en las dos zonas del páramo.



**Figura 1-3.** Morfo-tipos asociados a *V. floribundum* Kunth, en el páramo de Ganquis

Realizado por: Sánchez, J. 2022

CUBILLÍN	
	
<i>Glomus</i> sp.1	<i>Glomus</i> sp.3
	
<i>Glomus</i> sp.4	<i>Glomus</i> sp.5
	
<i>Glomus</i> sp.6	<i>Glomus</i> sp.10
	
<i>Acaulopora</i> sp.1	<i>Acaulospora</i> sp.3
	
<i>Acaulopora</i> sp.4	<i>Glomus veriforme</i>

**Figura 2-3.** Morfo-tipos asociados a *V. floribundum* Kunth, en el páramo de Cubillín.

Realizado por: Sánchez, J. 2022

Los géneros de hongos micorrízicos encontrados en el análisis micorrízicos fueron: *Glomus*, *Archaeospora* y *Acaulospora*. Es importante mencionar que la prevalencia del genero *Glomus* en las zonas estudiadas, demuestra la facilidad que tiene los representantes de este género para colonizar raíces de *Vaccinium floribundum* Kunth.

Siendo el mortiño una especie muy importante desde el punto de vista ecológico, cultural, alimenticio y medicinal, y la misma que se encuentra en peligro de perderse debido a la ampliación de la frontera agrícola en las zonas más altas del páramo donde este crece y la falta de conocimiento sobre micorrizas nativas en esta especie y su inoculación para la producción de estas plantas, se ha visto la necesidad de realizar este estudio , para conocer de forma general el porcentaje de hongos que le colonizan , el número de esporas e identificar algunos de los morfotipos de micorrizas que se encuentran asociados a *Vaccinium floribundum* Kunt, ya que este antiguamente era considerado de mucha importancia dentro de la alimentación ecuatoriana, pero esta planta al pasar de los años se ha ido disminuyendo , debido al limitado conocimiento acerca de sus beneficios y la dificultad que presenta para propagarse fuera de su área natural y las micorrizas también juegan un papel importante ya que estas son cruciales para que las plantas puedan colonizar y responder adecuadamente a las condiciones ambientales cambiantes.

Lancheros, (2012: p.6) menciona que el mortiño, al igual que las otras especies de la familia Ericaceae, pues dependen de las asociaciones simbióticas con hongos formadores de micorrizas para que se desarrollen en el medio natural.

Considerando que este sea uno de los primeros estudios en el Ecuador, ya que no existe más evidencias su interacción de hongos micorrízicos con *Vaccinium floribundum* Kunt.

## CONCLUSIONES

Las raíces de Mortiño evaluadas presentaron colonizaciones por estructuras de hongos micorrízicos (hifas, arbusculos, vesículas), evidenciando una mayor de colonización en la zona de Cubillín con un porcentaje de 43,6 %, mientras que en la zona Ganquis presentó una menor colonización con un porcentaje de 28,2 %.

El número de esporas evaluadas en el suelo de la rizósfera de mortiño en el páramo de Ganquis fue de 6300. y en la zona de Cubillín 7300 esporas por 100 gramos de suelo.

Se identificaron 6 morfo-tipos de hongos micorrízicos en la zona de Ganquis y 10 en la zona de Cubillín, agrupadas en tres géneros en cada Zona de estudio. El más representativo fue el género *Glomus*, seguido de los géneros *Achaeospora* y *Acaulospora*.

## **RECOMENDACIONES**

Realizar una identificación molecular de las especies de hongos micorrízicos asociadas a la rizósfera de *Vaccinium floribundum* Kunth.

Determinar las especies de mortiño existentes en los páramos de Ecuador y su interacción con hongos micorrízicos

## **GLOSARIO**

**Estrés hídrico:** Las plantas sufren estrés por déficit hídrico cuando hay sequía, provocando ésta una disminución en el crecimiento de la misma (Franco, 2008: p.13).

**Endomicorrizas:** Las hifas del hongo penetran a las células de la raíz de la planta, formando invaginaciones en la membrana celular del tejido radicular (Andrade, 2010:p.87).

**Endosimbionte:** Es un organismo que vive dentro de otro(Díaz, 2016:p. 20).

**Espora:** Unidad reproductiva de los hongos que consta de una o varias células; es análoga a la semilla de las plantas verdes (Acosta., 2021).

**Hifa:** Un filamento tubuloso con septos o sin septos. Es la unidad estructural fundamental de la mayoría de los hongos. El conjunto de muchas hifas se llama micelio (Acosta., 2021).

**Simbiosis:** Una asociación de dos o más organismos diferentes. Se trata de una simbiosis mutualista, de comensales o parásitos (Hilje, 1984; citados en Urgiles et al., 2019: p.2).

## BIBLIOGRAFÍA

**ACOSTA, María.** *¿Qué son las esporas?* [blog]. Ecología Verde, 2021 [Consulta: 15 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.ecologiaverde.com/que-son-las-esporas-2261.html>

**AGUILAR, Z. et al.** *Guía de plantas útiles de los páramos de Zuleta, Ecuador* [en línea]. Quito, Ecuador: EcoCiencia, 2009. [Consulta: 15 enero 2022]. Disponible en: [https://www.missouribotanicalgarden.org/Portals/0/staff/PDFs/ulloa/Imbabura\\_Zuleta.pdf](https://www.missouribotanicalgarden.org/Portals/0/staff/PDFs/ulloa/Imbabura_Zuleta.pdf)  
<https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/5738/1/CD-4672.pdf>

**ANDRADE TORRES, A.** "Micorrizas: antigua interacción entre plantas y hongos". *Ciencia* [en línea], 2010, (Mexico) 61(4), p. 87. [Consulta: 17 junio 2021]. ISSN 1405-6550. Disponible en: [https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/61\\_4/PDF/11\\_MICORRIZAS.pdf](https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/61_4/PDF/11_MICORRIZAS.pdf)

**ARBO, María; & GONZALEZ, Ana.** *Botánica Morfológica* [blog]. Corrientes:UNNE, 2020. [Consulta: 25 enero 2022]. Disponible en: <http://www.biologia.edu.ar/botanica/>

**CARRILLO SÁNCHEZ , Lilia Emma.** "Micorrizas Para Principiantes". *Herbario CICY* [en línea], 2015, (Mexico) 7, p. 176. [Consulta: 16 junio 2021]. ISSN 2395-8790. Disponible en: [https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde\\_Herbario/2015/2015-11-19-Carrillo-Sanchez-Micorrizas-para-principiantes.pdf](https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2015/2015-11-19-Carrillo-Sanchez-Micorrizas-para-principiantes.pdf)

**CASTRO CAMAÑO, Elizabeth.** Inoculación con micorrizas arbusculares como alternativa en el cultivo de *Sorghum bicolor* L. en Cuautla, Morelos. [en línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Nacional Autónoma de México, México, Mexico. 2012. p. 14-19. [Consulta: 2021-06-15]. Disponible en: <http://132.248.9.195/ptd2012/agosto/0683866/0683866.pdf>

**COBA SANTAMARÍA, P.; et al.** "Estudio etnobotánico del mortiño (*Vaccinium floribundum*) como alimento ancestral y potencial alimento funcional". *La granja* [en línea], 2012, (Ecuador) 16(2), pp. 5-13. [Consulta; 27 mayo 2021]. ISSN 1390-3799. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4760/476047400002.pdf>

**CUNALATA RUGEL, Cristian Geovanny; & INGA CONDOR, Carlos Patricio.** Cuantificación de Carbono Total Almacenado en Suelos de Páramos en las Comunidades Shobol - Chimborazo, San Juan Chimborazo [en línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2012. pp. 2-3. [Consulta: 2022-06-15].



Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2012/1/236T0065.pdf>

**DÍAZ, Gisela; et al.** "Primeras Tesis Doctorales sobre Micorrizas". *Eubacteria*, [en línea], 2016, (España) 36. pp. 20-39. [Consulta: 15 Junio 2021]. ISSN 1697-0454. Disponible en: [https://www.um.es/eubacteria/Primeras\\_Tesis\\_Doctorales\\_sobre\\_Micorrizas.pdf](https://www.um.es/eubacteria/Primeras_Tesis_Doctorales_sobre_Micorrizas.pdf)

**ESPINOZA, Víctor Manuel.** Diseño de un modelo de gestión sostenible para la prevención de incendios forestales en plantaciones de pino en la comunidad Ganquis provincia de Chimborazo [en línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Escuela Superior politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2017. p. 40. [Consulta: 2021-06-15]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/7819/1/20T00933.pdf>

**FLORES, Saskia; et al.** *Gente, vida y agua en los cerros* [En línea]. Quito-Ecuador: EcoCiencia, 2012. [Consulta: 15 enero 2022]. Disponible en: <https://biblio.flacsoandes.edu.ec/libros/digital/56323.pdf>

**FRANCO NAVARRO, Juan de Dios.** "Efectos beneficiosos de las micorrizas en las plantas". *Historia natural* [en línea], 2008, (España) 17(3), p. 13. [Consulta: 18 mayo 2022]. Disponible en: [https://www.ciaorganico.net/documypublic/200\\_infoagronomo.net\\_Micorrizas-beneficios.pdf](https://www.ciaorganico.net/documypublic/200_infoagronomo.net_Micorrizas-beneficios.pdf)

**GUO, L.** "Presidential address: recent advance of mycorrhizal research in China". *Mycology*, [en línea], 2018, (China) 9(1), pp. 1-6. [Consulta: 30 agosto 2021]. ISSN 2150-1203. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/21501203.2018.1437838?needAccess=true>

**GUACHÓN MEDINA, Tania Cecilia; & PRADO VIVAR, María Belén.** Evaluación del efecto del inóculo Micorrízico arbuscular en el crecimiento de *Cinchona pubescens* y *Cinchona officinalis* en condiciones de vivero [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador. 2012. p.5. [Consulta: 2021-12-28]. Disponible en: [file:///C:/Users/xtratech/Downloads/Guach%C3%B3n%20Medina%20Tania%20Cecilia%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/xtratech/Downloads/Guach%C3%B3n%20Medina%20Tania%20Cecilia%20(1).pdf)

**HOFSTEDE, R.; et al.** Los páramos del mundo [en línea]. Quito-Ecuador: Proyecto Atlas, 2003. [Consulta: 20 enero 2022]. Disponible en: <https://biblio.flacsoandes.edu.ec/libros/digital/56486.pdf>

**HOYOS CARRERA, Luis Ricardo; & RODRÍGUEZ CABRERA, Andrea Daniela.** Aislamiento de micorrizas en seis especies de orquídeas nativas de Ecuador para la elaboración de un biofertilizante potencialmente útil en rusticación de orquídeas [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador. 2013. pp. 6-7. [Consulta:2021-06-15 ]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6012/1/UPS-QT04342.pdf>

**INAMHI, Red de Estaciones Automáticas | INAMHI.** [en línea]. [Consulta: 30 junio 2021]. Disponible en: <http://186.42.174.236/InamhiEmas/#>.

**JARA ALCIVAR, Yire Adonay; et al.** Recuperando una especie ancestral “Mortiño” mediada por micorrizas nativas [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador. 2022. pp. 6-26. [Consulta:2022-05-15 ]. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/53161/1/T-111299%20JARA%20-%20MOREIRA.pdf>

**KOLMANS, E.; & VÁSQUEZ, D.** *Manual de Agricultura Ecológica: Una introducción a los principios básicos y su aplicación* [en línea]. La Habana-Cuba:Grupo de Agricultura Orgánica de ACTAF, 1999. [Consulta: 15 enero 2022]. Disponible en: <https://es.calameo.com/read/0016318520efd30e37bc0>

**LANCHEROS, H., 2012.** Caracterización de las micorrizas nativas en agraz *Vaccinium meridionale* Swartz y evaluación de su efecto sobre el crecimiento plantular [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. 2012. p. 6. [Consulta:2022-05-15]. Disponible en: [file:///C:/Users/xtratech/Downloads/790669.2012%20\(8\).pdf](file:///C:/Users/xtratech/Downloads/790669.2012%20(8).pdf)

**LOOR GARABÍ, Julliana Solange; & ZAMBRANO NAVARRO, Alexandra Justina.** Estudio del Mortiño, Beneficios, y Aplicación en la Repostería [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. 2016. p. 16. [Consulta: 2021-12-23]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/14886/1/TESIS%20Gs.%20135%20-%20Estudio%20del%20morti%C3%B1o%20beneficios%20y%20aplicaci%C3%B3n%20en%20la%20Reposter%C3%ADa.pdf>

**MIRABAL, L.; & ORTEGA, E.** "Comunidad microbiana asociada a los Hongos Micorrizógenos Arbusculares". *Cultivos tropicales* [en línea], 2008, (Cuba) 29(4), pp. 13-20. [Consulta: 2021-08-27]. ISSN 0258-5936. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362008000400002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362008000400002)

**MOÍNA QUIMÍ, E.; et al.** "Evaluación de los hongos micorrízicos arbusculares de zonas del trópico húmedo del Ecuador". *Bionatura* [en línea], 2018, (Ecuador) 3(1), p. 531. [Consulta:2021-05-27]. ISSN Disponible en: [file:///C:/Users/xtratech/Downloads/Evaluacion\\_de\\_los\\_Hongos\\_Micorrizicos\\_Arbusculares%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/xtratech/Downloads/Evaluacion_de_los_Hongos_Micorrizicos_Arbusculares%20(1).pdf)

**MORÁN BOLAÑOS, Naomi Nicole.** Comportamiento agronómico del cultivo de maní (*Arachis hypogaea* L.) con aplicación de microorganismos benéficos (Micorrizas y Rizobacterias) [en línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Estatal del Sur de Manabí, Manabí, Ecuador. 2021. p. 23. [Consulta: 2021-06-17]. Disponible en: <http://repositorio.unesum.edu.ec/bitstream/53000/2932/1/TESIS%20FINAL%20-MORAN%20%20feb%2025%20del%202021-signed.pdf>

**MORENO SANTILLAN, Diana Daniela.** Identificación de hongos micorrizicos arbusculares asociados a la rizosfera de *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. Ex. Willd) y *Parkinsonia praecox* (Ruiz y Pavón), en Zapotitlan Salinas Puebla, mediante herramientas moleculares [en línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Nacional Autónoma de México, México, México. 2011. p. 21. [Consulta: 2021-08-30]. Disponible en: [https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/TES01000672819](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000672819)

**NAVARRETE COQUE, Verónica Elizabeth.** Análisis de los ecosistemas de páramo en la cosmovisión andina ecuatoriana [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. 2021. pp. 19-51. [Consulta: 15-01-2022]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/24451/1/UCE-FIL-NAVARRETE%20VERONICA.pdf>

**NOBOA SILVA, V.** "Efecto de Seis Tipos de Sustratos y Tres Dosis de Ácido a Naftalenacético en la Propagación Vegetativa de Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)". *European Scientific Journal* [En línea], 2019, (Ecuador) 15(12), pp. 361-362. [Consulta: 10 agosto 2021]. ISSN 1857-7431. Disponible en: <file:///C:/Users/xtratech/Downloads/11974-Article%20Text-34352-1-10-20190429.pdf>

**NODA, Y.** "Las Micorrizas: Una alternativa de fertilización ecológica en los pastos". *Pastos y forrajes* [en línea], 2009, (Cuba) 32(2), p. 2. [Consulta: 27 mayo 2021]. ISSN 0864-0394. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v32n2/pyf01209.pdf>

**PAILLACHO CEDEÑO, Fabián Isaac.** Evaluación de la efectividad de las Micorrizas Arbusculares Nativas sobre el desarrollo y estado nutritivo del Palmito (*Bactris Gasipaes* HBK) en etapa de vivero, en Santo Domingo de los Tsáchilas [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Escuela Politécnica del Ejército, Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador. 2010.pp. 16-22. [Consulta: 2021-05-27]. Disponible en: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2892/1/T-ESPE-IASA%20II-002332.pdf>

**PEÑA BECERRIL, Juan Carlos.** Influencia de los hongos micorrizógenos arbusculares(HMA) en el establecimiento *Mimosa biuncifera* Benth. bajo condiciones de sequia en un invernadero [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Nacional Autónoma de México, México. D.F., México. 2002. p. 8. [Consulta: 2021-11-27]. Disponible en: <http://132.248.9.195/ppt2002/0307081/0307081.pdf>

**PÉREZ, A.; & VERTEL, M.** "Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus. *MVZ Córdoba* [en línea], 2010, (Colombia) 15(3), p. 9. [Consulta: 27 mayo 2021]. ISSN 1909-0544. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/693/69318985004.pdf>

**PÉREZ, C.** "Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biologica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el caribe colombiano". *Ciencia Animal - RECIA* [en línea], 2011, (Colombia) 3(2), pp. 371-372. [Consulta: 27 mayo 2021]. ISSN 2027-4297. Disponible en: [file:///C:/Users/xtratech/Downloads/Dialnet-HongosFormadoresDeMicorrizasArbusculares-3817504%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/xtratech/Downloads/Dialnet-HongosFormadoresDeMicorrizasArbusculares-3817504%20(2).pdf)

**PÉREZ FLORES, Santiago Javier; & VALDIVIESO NOGUERA, Cyndi Danila.** Colección y caracterización morfológica *In situ* del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) en la sierra norte del Ecuador [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Escuela Politécnica del Ejército, Sangolquí, Ecuador. 2007. p. 11. [Consulta: 2021-05-27]. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2585/1/T-ESPE-IASA%20I-003248.pdf>

**PILCO POMAGUALLI, Marco Fabián.** Estudio de las micorrizas asociadas a *Miconia bracteolata* Bonpl. en el bosque de ceja andina sector Guangra, parroquia Achupallas, cantón

Alausí, provincia de Chimborazo [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2015. pp. 5-16. [Consulta: 2021-05-27]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/3885/1/33T0137%20.pdf>

**RESÉNDIZ CARRILLO, Marcela Alejandra.** Índice de mutualismo de tres gramíneas propagadoras de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) bajo condiciones de invernadero [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico, D.F., Mexico. 2013. p.6. [Consulta: 2021-09-25]. Disponible en: [https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis\\_resendiz\\_carrillo.pdf](https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis_resendiz_carrillo.pdf)

**REY, A.; et al.** "Efecto de la doble inoculación de rizobios y micorrizas sobre la producción y calidad del forraje de *Leucaena leucophala*". *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* [en línea], 2005, (Colombia) 6(2), p. 52. [Consulta: 27 mayo 2021]. ISSN 0122-9706. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4499/449945019006.pdf>

**RODRÍGUEZ NARVÁEZ, Fabián Nicolás.** Inoculación *in vitro* de hongos micorrízicos (mucl 46238; mucl 43204) independientemente en *Cinchona officinalis* [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador. 2014. p.14. [Consulta: 2021-11-23]. Disponible en: [https://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/9103/1/Rodriguez\\_Narvaez\\_Fabian\\_Nicolas.pdf](https://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/9103/1/Rodriguez_Narvaez_Fabian_Nicolas.pdf)

**ROLDÁN RODRÍGUEZ, Stalin Francisco.** Caracterización molecular, funcional y estudio del comportamiento post cosecha del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) de la comunidad de Quinticusig del cantón Sigchos de la provincia de Cotopaxi. [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador. 2012. pp.2-4. [Consulta: 2021-11-23]. Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/5738/1/CD-4672.pdf>

**RICARDO LUCIO, Inocencio.** Evaluación de las diferencias en la diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en huertas de aguacate (*Persea americana* Mill.) orgánicos de 50 y 25 años, establecidas en Uruapan, Michoacán [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Torreón, México. 2019. pp. 13-14. [Consulta: 2021-06-15]. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/46916>

**ROSADO, García; & KONLING, Jhoanna.** Evaluación del efecto agronómico de hongos micorrízicos arbusculares en el desarrollo vegetativo del cultivo de banano (*Musa acuminata*

AAA) a nivel de campo, en la zona de Babahoyo, provincia de Los Ríos. [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. 2017. p. 27. [Consulta: 2021-06-15]. Disponible en: <http://201.159.223.180/bitstream/3317/7713/1/T-UCSG-PRE-TEC-AGRO-118.pdf>

**SÁNCHEZ DE PRAGER, M.; et al.** *Metodologías básicas para el trabajo con micorriza arbuscular y hongos formadores de micorriza arbuscular* [en línea]. Palmira-Colombia: Universidad Nacional de Colombia, 2010. [Consulta: 25 marzo 2022]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Raul-Hernando-Posada/publication/271507112\\_Metodologias\\_basicas\\_para\\_el\\_trabajo\\_con\\_Micorriza\\_Arbuscular\\_y\\_Hongos\\_Formadores\\_de\\_Micorriza\\_Arbuscular/links/555c169c08ae6aea08173167/Metodologias-basicas-para-el-trabajo-con-Micorriza-Arbuscular-y-Hongos-Formadores-de-Micorriza-Arbuscular.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Raul-Hernando-Posada/publication/271507112_Metodologias_basicas_para_el_trabajo_con_Micorriza_Arbuscular_y_Hongos_Formadores_de_Micorriza_Arbuscular/links/555c169c08ae6aea08173167/Metodologias-basicas-para-el-trabajo-con-Micorriza-Arbuscular-y-Hongos-Formadores-de-Micorriza-Arbuscular.pdf)

**URGILES GÓMEZ, N.; et al.** "Aislamiento y caracterización morfológica de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) de zonas riparias del Sur del Ecuador: un enfoque a la producción de biofertilizantes". *Cedamazb*[en línea], 2019, (Ecuador) 9(1), p. 2. [Consulta: 27 mayo 2021]. ISSN 1390-5902. Disponible en: [file:///C:/Users/xtratech/Downloads/700-Texto%20del%20art%C3%ADculo-2104-1-10-20200224%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/xtratech/Downloads/700-Texto%20del%20art%C3%ADculo-2104-1-10-20200224%20(3).pdf)

**VARGAS CEDEÑO, Kathya Denisse.** Establecimiento de un protocolo para el aislamiento y purificación de protoplastos de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) a partir de callos provenientes de hojas *ex vitro*, con base en la recopilación y revisión de material bibliográfico [En línea] (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad de las Fuerzas Armadas, Sangolquí, Ecuador. 2021. p. 27. [Consulta: 2021-06-15]. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/jspui/bitstream/21000/24836/1/T-ESPE-044536.pdf>

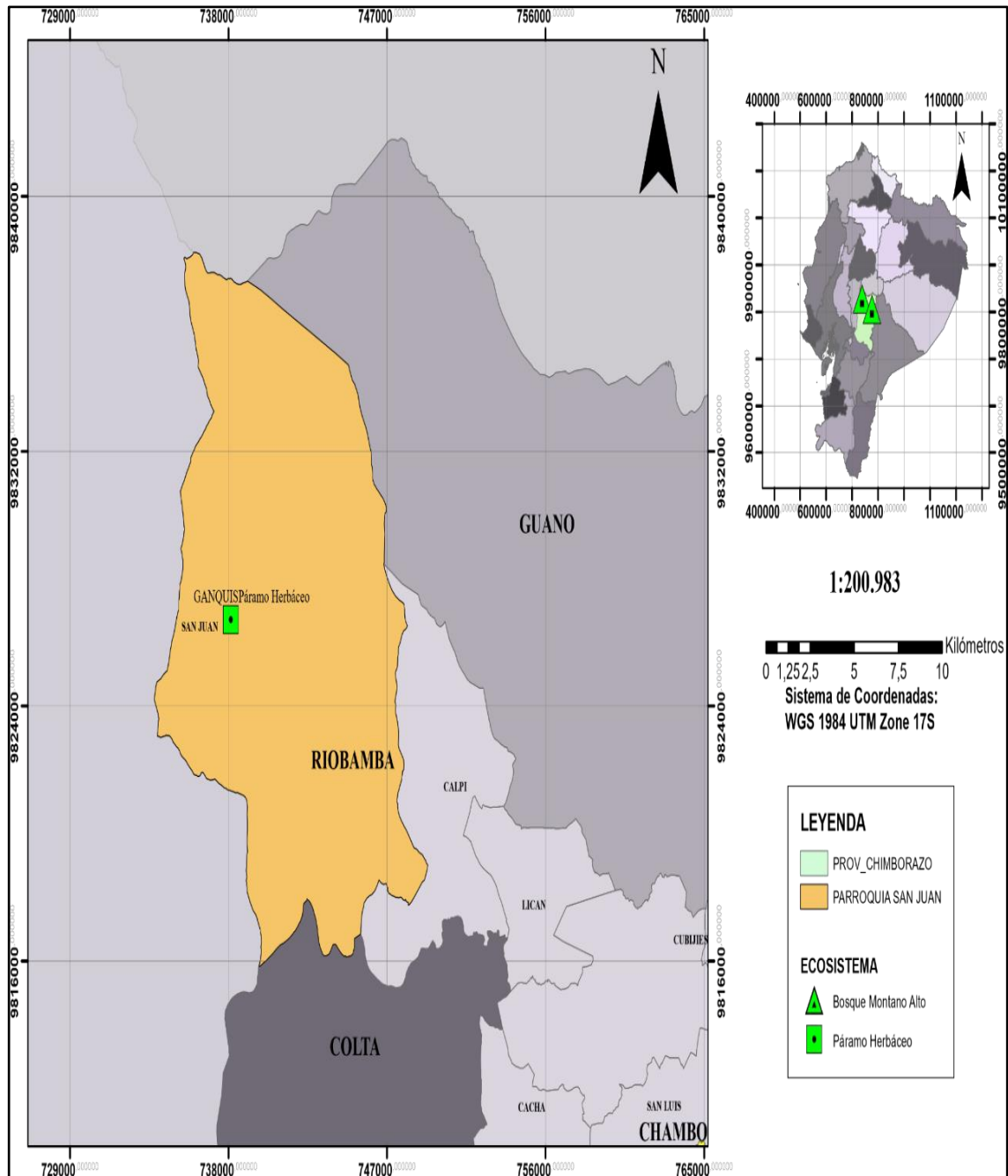
**VOHNÍK, M.** Ericoid mycorrhizal symbiosis: theoretical background and methods for its comprehensive investigation. *Mycorrhiza* [en línea], 2020, (Alemania) 30 (6), pp. 671-695. [Consulta: 20 marzo 2022]. ISSN 1432-1890. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00572-020-00989-1.pdf>

  
Marian Castillo

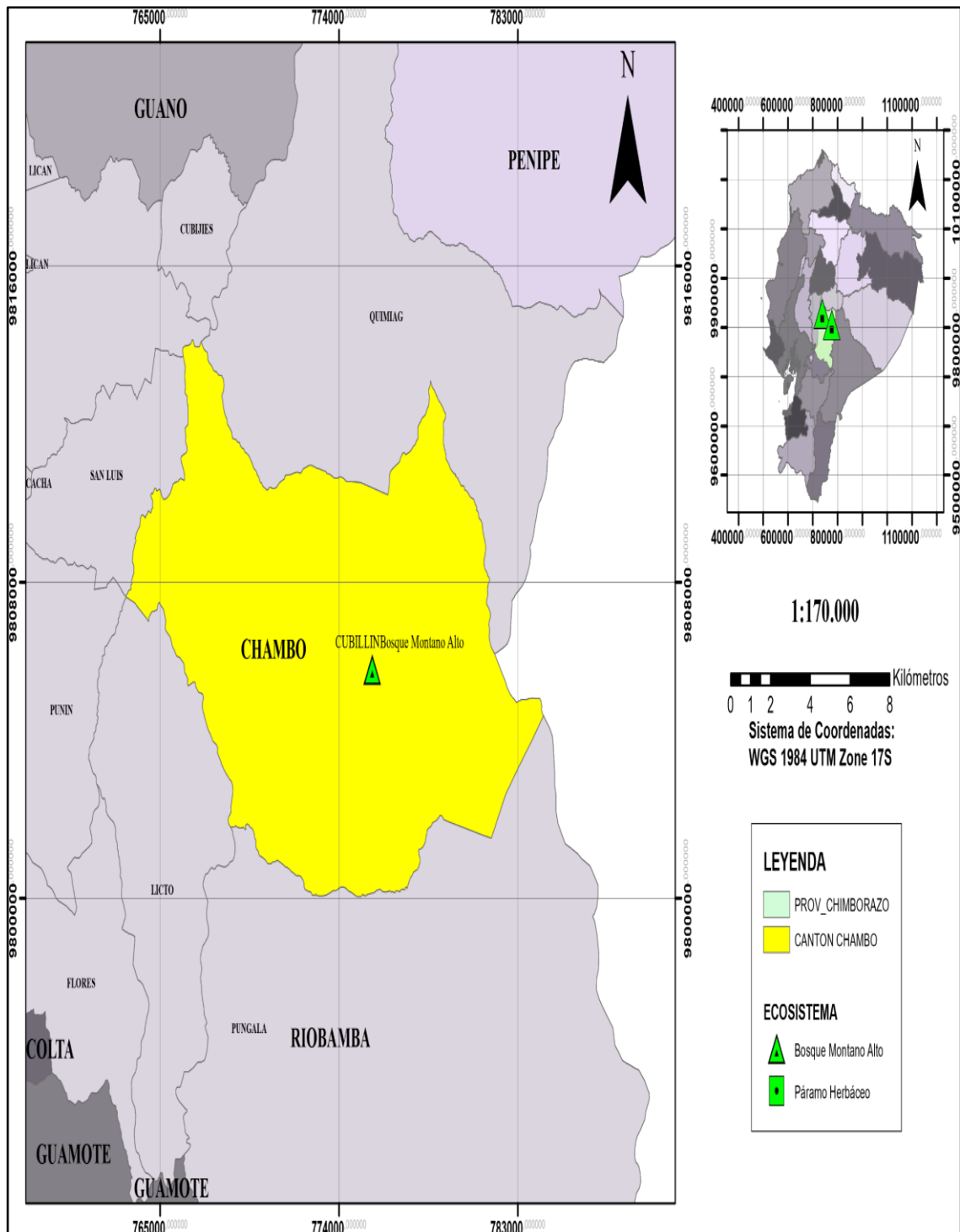


# ANEXOS

## ANEXO A: UBICACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN (GANQUIS)



## ANEXO B: UBICACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN (CUBILLÍN)





**ANEXO C: FOTOGRAFÍAS FASE DE CAMPO ZONA DE GANQUIS Y CUBILLÍN**

**FASE DE CAMPO**



**Fotografía 1:** Reconocimiento de la zona de muestreo el páramo de Ganquis, parroquia San Juan, provincia de Chimborazo



**Fotografía 2:** Recolección de muestras



**Fotografía 3:** Reconocimiento del área de muestreo en el páramo de Cubillín, parroquia Chambo, provincia de Chimborazo



**Fotografía 4:** Recolección de muestras en la zona de Cubillín.

**ANEXO D: SEPARACIÓN, CUANTIFICACIÓN Y RECONOCIMIENTO DE ESPORAS DE HONGOS MICORRÍZICOS**

**SEPARACIÓN, CUANTIFICACIÓN Y RECONOCIMIENTO DE ESPORAS DE MICORRIZAS DE LAS MUESTRAS DE GANQUIS Y CUBILLÍN**



**Fotografía 5:** Pesar 100 gramos de suelo



**Fotografía 6:** Colocar los 100 gramos de suelo en un frasco de vidrio y adicionar 200 ml de agua.



**Fotografía 7:** Agitar los frascos con la mano por 3 minutos



**Fotografía 8:** Dejar sedimentar o hasta que el agua este quieta.





**Fotografía 9:** Se decanta el agua virtiendola en tamices previamente ubicados (500 $\mu$ m, 150 $\mu$ m y 45 $\mu$ m) encima de un recipiente de 4 litros.

Se Pasa el agua recolectada en el recipiente inferior para lavar el contenido del tamiz superior, y nuevamente recolectar el agua, este paso se repite por tres veces.



**Fotografía 10:** Del tamiz de 45  $\mu$ m se recoge la interface y se vierte en un tubo de centrifuga, se adiciono 4 ml de agua y con la jeringa se colocó aproximadamente 5 ml de sacarosa al 70% y se equilibró el peso del tubo con agua, lo cual se adiciono cuidadosamente.



**Fotografía 11:** Se llevo los tubos a una centrifuga y se centrifugo a 3350 rpm por 4 minutos.



**Fotografía 12:** Debe haber una separación clara en tres fases: agua – sacarosa – suelo



**Fotografía 13:** Con una jeringa se extrajo la fase intermedia del tubo – sacarosa, principalmente el material contenido en el límite sacarosa – agua, donde se acumulan las esporas y se pasó a un tamiz de aproximadamente 45  $\mu\text{m}$  y se lavó con agua de llave.



**Fotografía 14:** Con un frasco lavador se pasó el material restante a una caja de Petri.



**Fotografía 15:** Observación en el microscopio



**Fotografía 16:** Identificación.

**ANEXO E: TINCIÓN DE RAÍCES DE MORTIÑO CON AZUL DE TRIPAN**

**TINCIÓN DE RAÍCES DE MORTIÑO MUESTREADAS EN LAS LOCALIDADES DE GANQUIS Y CUBILLÍN.**



**Fotografía 17:** Se separo las raíces del suelo y se lavo con abundante agua de llave



**Fotografía 18:** Se corto las raíces aproximadamente de un cm y se coloco en tubos de vidrio



**Fotografía 19:** Se aplicó KOH al 10% hasta que todas las raíces queden completamente cubiertas.



**Fotografía 20:** Se puso en el autoclave durante 10 a 15 minutos

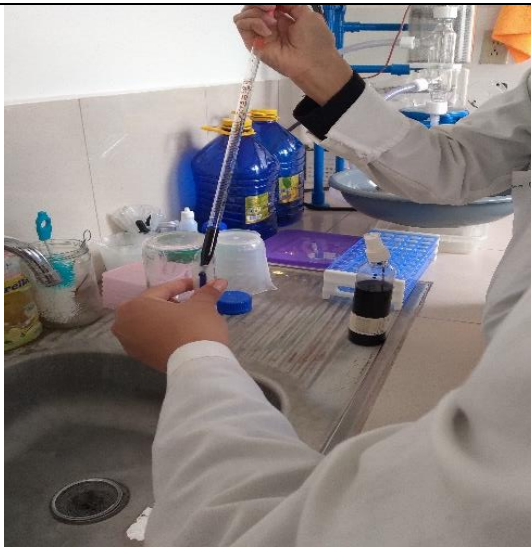




**Fotografía 21:** Se decantó el KOH y se lavó las raíces con agua de llave, utilizando preferiblemente un tamiz adecuado para evitar pérdidas durante el enjuague.



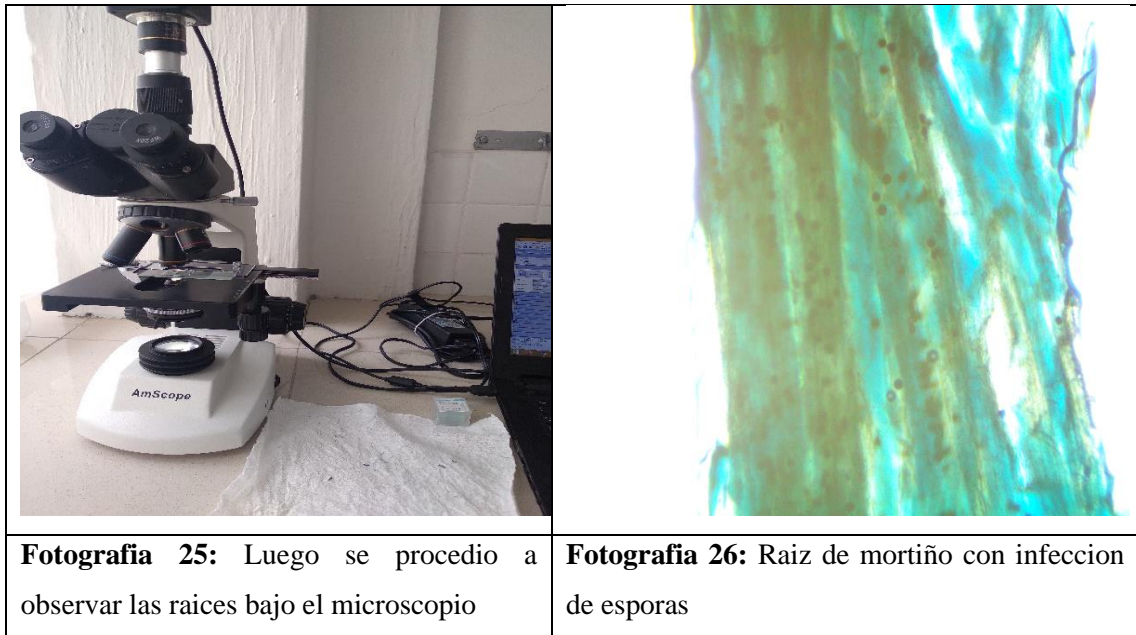
**Fotografía 22:** Se aplicó HCl al 10% y se agito para que exista buena neutralización del KOH, y se dejó las raíces entre 15 y 30 minutos al ambiente, hasta que tomen un color blanco.



**Fotografía 23:** luego de decantar el HCl, se lavo las raices con agua y se coloco azul de tripan al 0.005% y se puso en el autoclave durante 15 minutos.



**Fotografía 24:** Se retiró el colorante y se lavó las raíces con agua destilada y se dejó reposar en ácido láctico por doce horas para quitar el exceso de colorante.



**ANEXO F. PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN RADICULAR EN MORTIÑO EN LA ZONA DE GANQUIS**

Porcentaje de colonización radicular					
	M1	M2	M3	M4	M5
<b>R1</b>	28	32	30	26	36
<b>R2</b>	26	26	22	22	34
<b>PROMEDIO</b>	<b>27</b>	<b>29</b>	<b>26</b>	<b>24</b>	<b>35</b>

**ANEXO G: PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN RADICULAR EN MORTIÑO EN LA ZONA DE CUBILLÍN**

Porcentaje de colonización radicular					
	M1	M2	M3	M4	M5
<b>R1</b>	42	38	46	48	52
<b>R2</b>	40	42	36	50	42
<b>PROMEDIO</b>	<b>41</b>	<b>40</b>	<b>41</b>	<b>49</b>	<b>47</b>



**epoch**

**Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje**

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL**

**REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

**Fecha de entrega:** 04 / 08 / 2022

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Jeny Lorena Sánchez Ilbay
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Recursos Naturales
<b>Carrera:</b> Agronomía
<b>Título a optar:</b> Ingeniera Agrónoma
<b>f. responsable:</b> Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz

  
Ing. Cristhian Castillo



1273-DBRA-UTP-2022