



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

TRABAJO DE FIN DE CARRERA

**“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE
MICORRIZAS ARBUSCULARES ASOCIADAS EN
RAICES DE TOMATE DE ÁRBOL SILVESTRE
(*Solanum cajanumensis*) Y CULTIVADO (*Solanum
betacea*) EN DOS SECTORES DE LA PROVINCIA DE
LOJA”**

Tesis previa a la obtención del título de:

Bioquímico-Farmacéutico

Autor: MAYRA LETICIA CASTILLO GONZÁLEZ

Directora de Tesis: Ing. Verónica Cueva.

Loja – Ecuador

2009

CERTIFICACIÓN

Ing.

Verónica Paulina Cueva G.

DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICA:

Que una vez revisado el trabajo de investigación realizado por Mayra Leticia Castillo González, previo a la obtención del título de **BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**, se autoriza su presentación final para la evaluación correspondiente.

Loja, marzo de 2009.

Ing. Verónica Cueva
DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Los conceptos, ideas y resultados vertidos en el desarrollo del presente trabajo de investigación son de responsabilidad exclusiva de su autora.

Mayra Leticia Castillo González.

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico:

A la imagen del Divino Niño por iluminarme y darme la fortaleza suficiente, guiándome por la senda de la sabiduría

A mis padres, en especial a mi madre Carmencita, quien con su sacrificio, abnegación se convirtió en el pilar fundamentales de mi esfuerzo y superación personal. Gracias a su apoyo y esfuerzo he llegado a culminar mi formación académica.

A mis hermanos, que siempre estuvieron dándome su apoyo incondicional.

A mi señor esposo, que siempre me brindo su apoyo leal y desinteresado para la culminación de mis estudios.

A mis abuelitos, hermanos, tíos y más familiares quienes fueron el soporte en mi formación y vida.

Mayra Leticia Castillo González.

AGRADECIMIENTO

Expreso mi gratitud:

A la Universidad Técnica Particular de Loja que por medio del Centro de Biología Celular y Molecular y la Escuela de Bioquímica y Farmacia me ha permitido la oportunidad de formarme y prepararme integral y profesionalmente.

A todos los Docentes Investigadores del CBCM que son un ejemplo claro de compañerismo, responsabilidad y dedicación, formaron parte de formación humana y académica.

A la Ing. Verónica Cueva por su valioso apoyo y asesoramiento en el transcurso de mi tesis y en todo el proceso de esta investigación.

A mis amigos sinceros que con su apoyo y esfuerzo me impulsaron a llegar a la culminación del presente trabajo.

Mayra Leticia Castillo González.

CONTRATO DE CESIÓN DE DERECHO DE TESIS

Yo, Mayra Leticia Castillo González declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 67 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”.

.....

Mayra Castillo González.
TESISTA

.....

Ing. Verónica Cueva
DIRECTORA DE TESIS

ÍNDICE DE CONTENIDOS	PAG
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
1. Micorrizas:	7
1.1 Definición.....	7
1.2 Clasificación Morfológica de Micorrizas.....	8
2. Micorrizas Arbusculares	10
2.1 Arquitectura de micorrizas arbusculares...	10
2.1.1. Micelio intercelular	10
2.1.2. Micelio intracelular.....	10
2.1.3. Apresorios.....	10
2.1.4. Vesículas.....	11
2.1.5. Arbúsculos.....	11
2.1.6. Coils.....	11
2.1.7. Células auxiliares.....	11
3. Caracterización Morfológica de los hongos formadores de MA	12
3.1. Filogenia.....	12
3.2. Taxonomía de la MA.....	16
3.2.1. <i>Glomus</i>	16
3.2.2. <i>Acaulospora</i> y <i>Entrophospora</i>	16
3.2.3. <i>Gigaspora</i>	16
3.2.4. <i>Scutellospora</i>	17
4. METODOLOGIA	17
4.1. Sitio de estudio y muestreo.....	17
4. 2. Tinción y preparación de las micorrizas para el estudio microscópico.....	18

4.3. Análisis del porcentaje de colonización de raíces micorrizadas.....	19
5. RESULTADOS.	20
5.1. Descripción microscópica ilustrativa.....	21
5.2. Cultivo de Santiago sector Quemado (Ilustraciones Morfotipos.....)	21
5.3. Cultivo de Santiago sector no Quemado (Ilustraciones de Morfotipos).....	28
5.4. Estación de Zamora Huayco (Ilustraciones de Morfotipos).....	35
6. DISCUSIÓN	41
7. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS	44
8. BIBLIOGRAFÍA CITADA	47
9. ANEXOS (tablas y gráficos)	55

Nomenclatura - Significados

Nomenclatura	
Coils	cl.
Vesículas	ves ó v
Lípidos	lip.
Arbúsculos	arb.
Ramificación de arbúsculos	rarb.
Hifas	hif.
Hifas supraradicales	hs.
Hifas extraradicales	hex.
Apresorios	Apr ó a
Puntos de entrada	Ped ó p
Micorrizas Arbusculares	MA
Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares	HFMA
Hongos de Micorrizas Arbusculares	HMA

Coils (c) circunvalaciones de hifas presentes en la colonización son irregulares, rugosos, simples con ramificaciones; Vesículas (ves ó v) son estructuras de diferentes formas y tamaños, algunas con doble membrana, terminales porque se encuentran en la parte terminal de la hifa que las forma; Lípidos (lip) los cuales se encuentran en especial en el género *Glomus*; Arbusculos

(arb) los cuales presentan formas y tamaños diversos, con cilindro o eje principal, con ramificaciones (rarb) que darán origen a posteriores arbusculos; Hifas (hif) irregulares, rugosas, simples gruesas y finas las cuales permiten la colonización; Hifas supraradicales (hs) las cuales se las encuentra en la superficie de la raíz; Hifas extraradicales (hex) las cuales provienen del suelos con diferente diametro y forma; Apresorio (apr ó a) que son abultamientos presentes al inicio de la colonización; Puntos de entrada (ped ó p) es el origen para la colonización.

RESUMEN

La mayoría de las plantas vasculares forman micorrizas arbusculares (Smith y Read 1997) simbiosis micorrízica que se desarrolla en casi todas las plantas cultivadas. La identificación, clasificación y función de las micorrizas en diferentes especies es el objetivo de diversos trabajos recientes, orientados hacia una tendencia de manejo sustentable o como proceso de producción. El presente trabajo de investigación se enfoca a la clasificación morfológica de los hongos que forman este tipo de micorrizas y que están asociados a las raíces de tomate de árbol (*Solanum betaceum*, SOLANACEAE) especie endémica del sur del Ecuador frecuentemente cultivada en los valles interandinos. Las muestras de estudio fueron recolectadas en dos cultivos de la Ciudad de Loja.

Se analizó raíces de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) de 5 individuos de la Estación Agroecológica Zamora Huayco y raíces de 10 individuos (*Solanum cajanumensis*) pertenecientes al Bosque de Santiago; bajo dos condiciones, 5 plantas provenientes de un sector quemado y 5 a un sector no quemado. Finas raíces de ± 2 cm de longitud fueron teñidas con azul de metileno para estudiar la anatomía del micelio. Microscopía de luz reveló visiblemente grandes cantidades de micelio, conexiones de la raíz colonizada, apresorios que se forman al penetrar a la raíz, vesículas con sus formas regulares e irregulares, coils, arbusculos con sus diversas formas y tamaños. Estas características en combinación con el micelio supraradical y micelio intraradical permitieron identificar 15 morfotipos que recopilan caracteres indicativos de dos posibles géneros (*Glomus* y *Acaulospora*)

predominando el género *Glomus* en plantas de tomate de árbol *Solanum cajanumensi*, en cambio los géneros *Glomus*, *Acualospora* y *Scutellospora*, predominan en las plantas de tomate de árbol *Solanum betacea*

Palabras Claves: Micorrizas arbusculares (MA), morfología, géneros, porcentaje de colonización.

ABSTRACT

Most of the vascular plants form arbusculares mycorrhiza (Smith y Read 1997), symbiosis mycorrhizica that is developed in almost all the cultivated plants. The identification, classification and function of the mycorrhizas in different species are the objective of recent diverse works, guided toward a tendency of sustainable handling or like production process. The present investigation work is focused in the morphology of the mushrooms mycorrhizae arbuscular associated to the roots of tomato of tree (*Solanum betaceum*, SOLANACEAE) endemic species of the south of frequently cultivated Ecuador in the valleys interandinos. Not yet they have been publications of molecular and morphological identification of HMA associated to these species. The samples were gathered in two forests belonging to the City of Loja.

It was analyzed roots of tomato of 5 individuals' of the Station tree (*Solanum betaceum*) Agroecológica Zamora Huayco and roots of 10 individuals (*Solanum cajanumensis*) belonging to Santiago's low two conditions forest, 5 plants coming from a burnt sector and 5 to a non burnt sector. You die roots of + 2cm of longitude were tinted with blue of metileno to study the anatomy of the mycelium. Slight (of light) microscopy revealed visibly, big quantities of mycelium, connections with the surface of the colonized root, appressorio that are formed when penetrating to the root, vesicles with its regular and irregular forms, coils, arbúsculos with its diverse forms and sizes. These characteristics previously described in combination with the mycelium supradradical and mycelium intradradical they were used to distinguish the main morfotipos identified in this study, in

the one which you achievement to determine 15 morfotipos each one with their characteristics specifies, only obtaining two goods (*Glomus* and *Acaulospora*) prevailing the gender *Glomus* in plants of tree tomato *Solanum cajanumensi*, on the other hand the goods *Glomus Acualospora* and *Scutellospora Solamun betacea* prevails in the plants of tree tomato

Key Words: Arbuscular Mycorrhiza (AM). Morphology of AM. Genero AM, colonization percentage.

INTRODUCCIÓN

Micorrizas Arbusculares (MA) constituyen el tipo de simbiosis más extendido en la naturaleza, siendo capaz de establecer asociaciones entre el 80 y el 85 % con plantas vasculares (Smith y Read 1997) y la mayoría de especies tropicales. Los hongos formadores de MA juegan un papel clave en el establecimiento y desarrollo de la mayoría de las plantas, gracias al aumento de la superficie útil de exploración que representan las hifas del hongo que se desarrollan en el suelo conectadas al sistema radical de las plantas. Las bases sobre las que se establece la simbiosis mutualista son nutritivas, la planta da al hongo productos carbonados procedentes de la fotosíntesis, mientras que el hongo cede a la planta nutrientes minerales, especialmente aquellos menos disponibles para la misma (Baligar y Fageria 1997; Clark y Zeto 2000).

Las solanáceas tienen una gran diversidad de hábito, morfología y ecología, se distribuyen por todos los continentes, la mayor diversidad de especies se hallan en América del Sur y América Central, pueden ocupar una gran variedad de ecosistemas desde los desiertos hasta los bosques tropicales. La diversidad de solanáceas es muy alta, existen pocos estudios acerca de la asociación de MA a tomate de árbol en la cual se ha determinado la presencia del género *Glomus* y *Acaulospora*, predominando *Acaulospora mellea* (María J. Botero, Carlos A. Rivillas et al. 1995) en plantas de tomate de árbol. Existen otros estudios de la utilidad que las MA pueden brindar a especies de esta familia como papa (variedad Alfa y Gigant), en jitomate mediante ensayos en la producción de plántulas a nivel de vivero

con HMA (in situ) para después ser trasplantadas en campo (ex situ), demostrando que estas plantas presentan una mejora en los cambios fisiológicos, mayor vigor - nivel alto de concentración de fósforo, aumenta el rendimiento y la calidad del producto (Ocampo O. et al 2001) lo que provoca costos de producción baratos ya que requiere de aplicar menos del fertilizante fosforado.

Los hongos formadores de MA juegan un papel clave en el establecimiento y desarrollo de la mayoría de las plantas, mejoran las condiciones de productividad, supervivencia y resistencia ante factores patológicos su simbiosis mutualistas contribuye a la retención física de partículas del suelo limitando los efectos dañinos de la erosión, ayuda a la retención de humedad, aireación y descomposición de la materia orgánica, mejoran la capacidad productiva de los suelos como los afectados por la desertificación, la salinización, la erosión hídrica y eólica; (Alarcón A, Ferrera Cerrato R. 2000) interactúan con diversos microorganismos del suelo, estableciendo cooperaciones con unos y compitiendo con otros generalmente de tipo patógeno, e incluso interactuando con la microfauna de la rizósfera (Ewald Sieverding 1991) además prolongan la vida de los suelos agrícolas productivos, contribuyendo a su uso más diverso, económico y ecológico. (Cavagnaro. T.R. et al. 2001).

Estudios basados en el uso de herramientas moleculares revelan la alta diversidad de hongos que forman micorrizas, lo que ha permitido dar una clasificación de estas asociaciones. (Read et al. 2000; Kottke et al .2003). Como es de conocimiento que algunos datos moleculares no revelan toda la

información necesaria y que para ello se ha tenido que aplicar la morfología basada en el estudio de las diferentes características estructurales que diferencian cada género, como los puntos de entrada de las hifas, colonización intrarradical, vesículas, coils y arbúsculos que son los indicativos específicos de cada género de estudio. (Beck et al. 2007).

1. MICORRIZAS

1.1. Definición.

El termino micorriza significa (hongo - raíz, del griego *myco*, hongo, y *rhyza*, raíz que fueron acuñadas por Frank (1885) para describir las especies diferentes según su forma y morfología de órganos. Un aspecto importante de estas asociaciones es su universalidad, dado que la gran mayoría de las plantas que crecen sobre la corteza terrestre son capaces de desarrollarlas, estando presentes en la casi totalidad de los ecosistemas terrestres (Allen 1991) tanto longitudinal como altitudinalmente.

A pesar de presentar muchas similitudes en cuanto a función y en algunos casos morfología, se pueden reconocer cinco tipos de micorrizas en base a las estructuras formadas y a la naturaleza de los simbioses implicados (Harley y Smith 1993; Barea 1998). Las micorrizas han sido agrupadas en base a la anatomía de las plantas colonizadoras en:

1.2. Clasificación Morfológica de Micorrizas

Ectendomicorrizas. Se forman entre algunos basidiomicetos y plantas arbutoides o monotropales, siendo el tipo menos extendido de micorrizas, se caracteriza por presentar un manto relativamente desarrollado, red de Hartig y una ligera penetración de las hifas al interior de las células de la corteza, formando ovillos (Yu et al. 2001).

Ectomicorrizas. Se forma entre gimnospermas, angiospermas y hongos basidiomicetos y pocos ascomicetos, se caracterizan por la presencia de un manto y la red de “Hartig”, que consiste en la ramificación de una hifa del hongo que se desarrolla entre las células de las raíces.

Endomicorrizas. Se caracterizan porque no forman manto y las hifas penetran en las células de la epidermis y/o del cortex de la raíz (González 2005). Existen tres subtipos principales.

Arbusculares. Este tipo de micorriza se caracteriza por la penetración de las hifas del hongo en las células de la epidermis y cortex de la raíz y por la ausencia de manto sobre la superficie de la misma. Esta categoría abarca dos subtipos **Arum** donde existe la presencia de arbusculos y **Paris** presenta hifa que forma ovillos, formando coils-arbusculos. (Brundrett 2004)

Orquideo Micorrizas. Se da por una interacción entre embrión y hongo, el cual tiene una interacción micorrízica con la formación de pelotones que luego de un tiempo se destruyen; una interacción parasítica, en

que las células de la orquídea son invadidas por el crecimiento hifal.

Ericoide Micorrizas. Su formación se basa en la simbiosis entre Ericaceas y Epacridaceas, (Smith and Read 1997) no presentan red ni manto, las hifas del hongo penetran las paredes gruesas de las células epidérmicas y forman una hifa intracelular compleja dentro de las células epidérmicas. Como se muestra en la Figura 1.

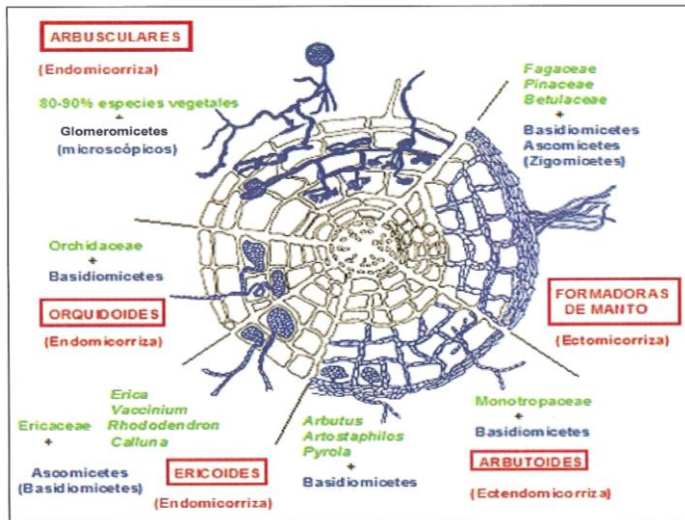


FIG. 1 Esquema de los diferentes tipos de micorrizas. Se muestra las estructuras características de cada uno de ellos, así como simbiosiontes implicados. (Modificado de Barea 1998).

2. MICORRIZAS ARBUSCULARES

2.1. Arquitectura de micorrizas arbusculares

Los primeros intentos de clasificar los hongos MA datan de finales del siglo XIX y los comienzos del siglo XX, incluyéndose inicialmente en la familia Endogonaceae, dentro del phylum Zygomycota, debido al parecido de sus esporas con las de los zigomicetos (Gardemann y Trappe 1974). En los últimos años, la sistemática de la simbiosis micorrizica del grupo de hongos formadores de MA ha sufrido numerosas modificaciones, debido principalmente a la incorporación de estudios moleculares en la filogenia de estos hongos.

Las estructuras del mico-simbionte que se extienden dentro de la raíz de la planta hospedadora y en el sustrato circundante, son características de cada tipo de micorriza (Fig 2) y sirven para su diferenciación (Allen 1991).

2.1.1. Micelio intracelular, conjunto de hifas que crecen dentro de la pared de las células de la raíz.

2.1.2. Micelio Intercelular, crece entre la pared de las células de la raíz

2.1.3. Apresorios, apéndices especializados del micelio externo de una hifa o tubo germinativo, imitando una bomba, ejerce presión sobre el tejido que se va a colonizar y facilita la penetración del hongo (García-Garrido et al 2002).

2.1.4. Vesículas, estructuras de almacenamiento cuya formación de sustancias (lípidos) es posterior a la de los arbúsculos y tiene lugar a partir del hinchamiento de una hifa terminal (Smith y Smith 1997).

2.1.5. Arbúsculos, se forman a partir de hifas que son filamentos tubulares, que penetran la epidermis radicular hasta llegar a la endodermis sin atravesarla, allí comienza su ramificación, su vida aproximada es de 1 a 3 semanas después de lo cual se colapsa, una parte se reabsorbe hacia el citoplasma hifal y el resto permanece en la célula hospedera rodeados por el plasmalema, son responsables de la transferencia bidireccional de nutrientes.(Requena N 1996)

2.1.6. Coils, circunvoluciones de hifas intracelulares, implicadas en la absorción inicial de compuestos carbonados por parte del hongo (Smith y Smith 1997).

2.1.7. Células auxiliares, son estructuras cilíndricas y espinosas, las cuales se forman en hifas gruesas, alrededor de las raíces, son abundantes durante la colonización temprana y luego estas disminuyen cuando la esporulación aumenta (<http://invam.caf.wvu.edu>)

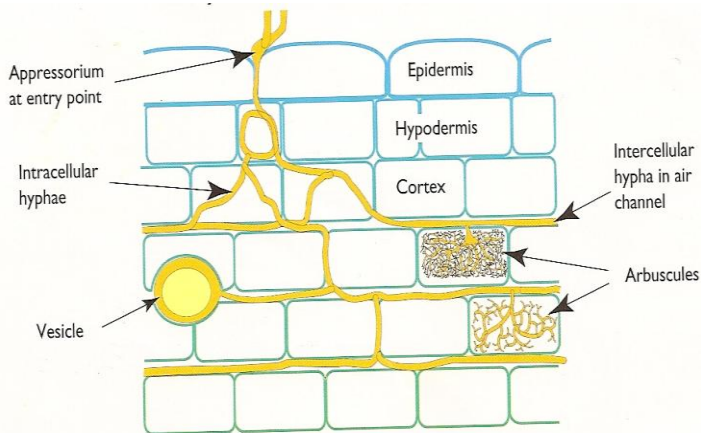


FIG. 2 Estructuras que forman las micorrizas Glomalean en las raíces. (Brundrett, et la, 1996)

3. CARACTERIZACIÓN MORFOLOGICA DE LOS HONGOS FORMADORES DE MA

3.1. FILOGENIA

Según Morton y Benny (1990), las alrededor de 150 especies de hongos MA conocidas hasta la fecha se incluían dentro del orden de los *Glomales* (mas correctamente *Glomerales*) de la clase *Zygomycota*, distribuidos en seis géneros y tres familias: *Gigaspora* y *Scutellospora* (Fam. *Gigasporaceae*), *Glomus* y *Sclerocystis* (Fam. *Glomaceae*) y *Acaulospora* y *Entrophospora* (Fam. *Acaulosporaceae*). Esta clasificación ha sido, hasta hace relativamente poco tiempo, aceptada de forma generalizada.

Posteriormente, Morton y Redecker (2000), considerando caracteres morfológicos e incluyendo por

primera vez evidencias moleculares, incluyeron dos nuevas familias, que presentaban mayores distancias en el árbol filogenético: i) *Archaeosporaceae*, representada por el género *Archaeospora* y que incluye especies anteriormente consideradas como *Acaulospora*, y ii) *Paraglomaceae*, representada por el género *Paraglomus*, y que incluye especies anteriormente consideradas como *Glomus*. Por otra parte, el género *Sclerocystis* se incluye dentro del género *Glomus* (figura 3a). A pesar de esto, Redecker y colaboradores (2000), estudiando las secuencias de la subunidad pequeña del gen ribosómico (18s ADMr), y el desarrollo ontogénico de algunas especies de HMA, encontraron que existían divergencias en cuanto a su agrupación taxonómica, y que presentaban un desarrollo dimórfico, compartiendo características tanto *Glomus* como de *Acaulospora* (eg. *Glomus leptotichum* y *Acaulospora gendemanii*).

Estudios moleculares posteriores, basados en análisis de 18S ADNr, han demostrado la naturaleza monofilética de este grupo de hongos, lo que ha permitido incluirlos en un nuevo phylum denominado *Glomeromycota* (Schüßler et al. 2001) (figura 3b). Este phylum se compone de una sola clase, los *Glomeromycetes*, que a su vez comprende cuatro órdenes: *Glomerales*, *Diversisporales*, *Paraglomerales* y *Archaeosporales*. Es de destacar el hecho de que el género *Glomus*, que presenta características morfológicas y estructurales bien definidas, muestra divergencias filogenéticas importantes, que han

implicado su subdivisión en al menos tres grupos como se muestra en la figura 3, dos de los cuales se incluyen en el orden *Glomerales* (*Glomus* A y B), y el tercero en *Diversisporales* (*Glomus* C) (Schwarzott et al. 2001). Walker y Schüßler (2004) realizaron la última modificación del phylum *Glomeomycota*, incluyendo la familia *Pacisporaceae*, representada por el género *Pacispora* (Oehl y Sieverding 2004).

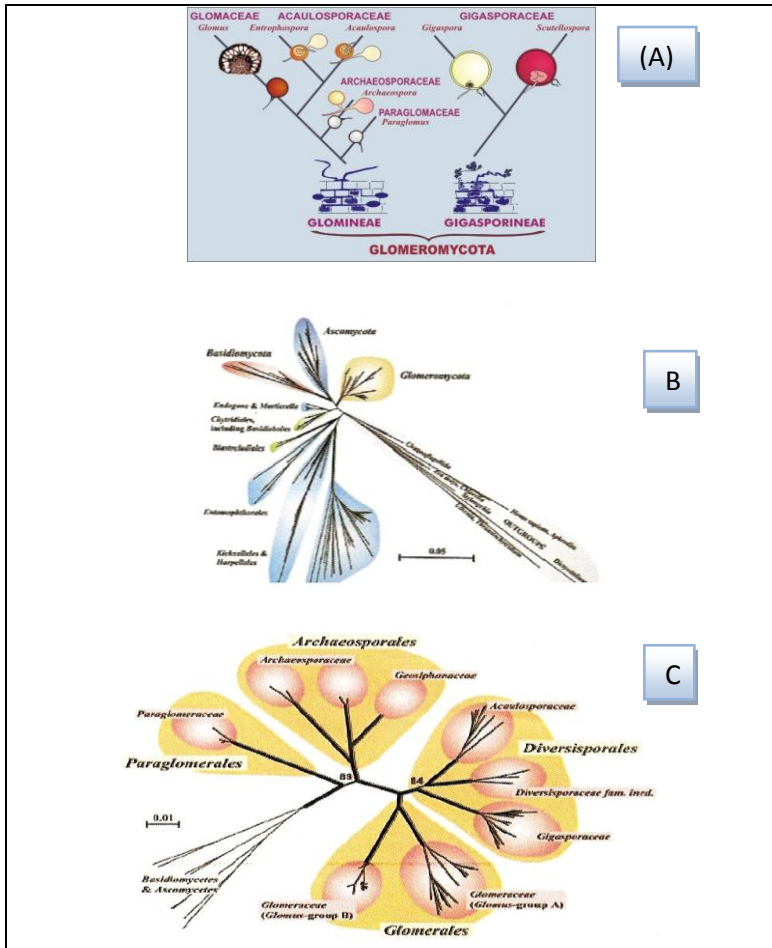


FIG. 3. Últimas revisiones de la clasificación de los hongos formadores de micorrizas arbusculares. (a) Relaciones filogenéticas en el orden *Glomales*, según Morton y Redecker (2000). (b) Relaciones filogenéticas del phylum *Glomeromycota* respecto de otros grupos de hongos. (c) Relaciones filogenéticas en el phylum *Glomeromycota* basadas en las secuencias de la subunidad pequeña del ARNr (SSU, 18S) (basado en Schüßler et al. 2001, revisado por Walker y Schüßler 2004).

3.2. TAXONOMIA

Glomus: las hifas fúngicas se diferencian dando lugar a los arbúsculos, formaciones dicotómicas con apariencia de un pequeño árbol, con troncos cilíndricos, los cuales se afilan hacia las extremidades, las vesículas, son generalmente de paredes delgadas y elipsoides. Las hifas que son constituidas superficialmente en la raíz son las hifas supraradical, las hifas que se extienden de manera radial alrededor de la raíz hospedera son hifas extraradicales pues dan al suelo estabilidad física, química y biológica, los puntos de entrada que es el lugar origen de donde parte una hifa para colonizar la célula, tras la formación de un apresorio el hongo penetra en la raíz y se extiende en la misma, estos se encuentran en la superficie de la raíz, generalmente, la colonización más vieja consta de una hifa principal y presenta abundantes vesículas, la tinción con azul de metileno es muy intensa.

Acaulospora* y *Entrophospora: estos dos géneros se caracterizan por presentar arbúsculos generalmente similares al *Glomus*, vesículas intraradicales altamente polimórficas, globosas con finas capas y presentan lípidos no continúan a lo largo de la raíz., hifas intraradical rectas y en espiral las cuales forman los posibles puntos de entrada que son irregulares y presentan bifurcaciones, la mayoría de las unidades de infección se combinan y en cambio algunas quedan aisladas y dan a la micorriza una distribución muy dispersa, la tinción con azul de metileno es débil.

Gigaspora: género que presenta una característica muy específica, células auxiliares espinosas, las cuales se

forman en hifas gruesas, se encuentran, alrededor de las raíces, son abundantes durante la colonización temprana y luego esta disminuye cuando la esporulación aumenta, los arbúsculos presentan un eje principal ancho y con ramificaciones que se afilan en sus extremidades; las unidades de infección del hongo se combinan para formar una colonización bastante uniforme a través de la corteza en diferentes lugares de la raíz.

Scutellospora: se caracteriza por incluir en su arquitectura, arbúsculos más gruesos y más largos con ramificaciones, puntos de entrada, hifa extra e intrarradical circular presentes cerca de los puntos de entrada, presentan una morfología similar a la *Gigaspora*, en este género, las células auxiliares carecen de espinas superficiales, estas presentan y forman amplias concavidades en diversos lugares de las células.

4. METODOLOGÍA

4.1. Sitio de estudio y muestreo

La recolección de muestras de tomate de árbol cultivado (*Solanum betaceum*) se realizó en la Estación Agroecológica de Zamora Huayco ubicado a 4° 16' S, 79°10'E a una altura de 2160 m.s.n.m y las raíces de tomate de árbol silvestre (*Solanum cajanumensis*) en el cultivo de Santiago en dos sectores quemado y no quemado, ubicado a 4°11'S, 46°3'E a una altura de 2735 ms.n.m en la ciudad de Loja. Se recolectó 15 individuos entre los dos cultivos: 5 individuos de *Solanum betaceum*; 5 individuos del sector quemado y 5 individuos del sector no quemado de *Solanum*

cajanumensis. De cada individuo se extrajeron 5 muestras, dando un total de 75 muestras (25 del sector no quemado y 25 del sector quemado del cultivo de Santiago; y 25 de la Estación Agroecológica de Zamora Huayco).

4.2. Tinción y Preparación de las micorrizas para el estudio microscópico

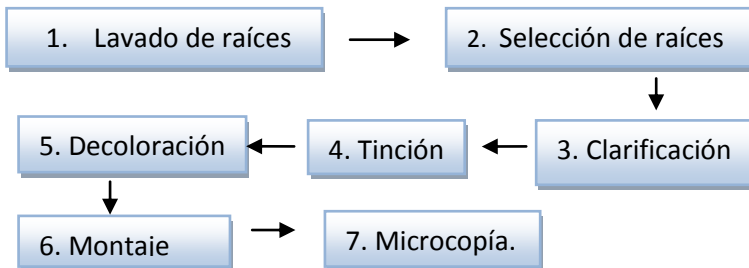


Fig 4. Diagrama de flujo de tinción y microscopía de las MA

Descripción del diagrama de flujo

Se realizó una limpieza minuciosa de las raíces con agua corriente eliminando todas las impurezas, luego se seleccionaron las raíces más jóvenes y finas y se cortaron en piezas de ± 2 cm de longitud. Se procedió a realizar la clarificación de raíces para lo cual se adicionó con KOH al 10 % hasta que todas las raíces quedaran cubiertas, dejándolas en baño maría a 65 °C durante 2 horas, posteriormente fueron tratadas con H₂O₂ a 65 °C por 20 minutos, luego las raíces fueron lavadas dos

veces con agua corriente y acidificadas con HCl al 10 % por 2 minutos a temperatura ambiente, finalmente se agregó el colorante azul de metileno al 0.05 % y se llevó a baño maría a 65 °C durante 2 minutos. (Phylips y Hyman 1970, modificada por Rivillas (1995). Transcurrido este tiempo las raíces fueron colocadas con ácido láctico al 90 % durante una noche. Se montaron las raíces en placas de vidrio con unas gotas de ácido láctico el cual nos sirve para su decoloración y su conservación. Se observó las diferentes estructuras como vesículas, arbuscúlos, coils, hifas, su medición se realizó con regleta calibrada a micrómetros en el ocular y un objetivo de 40X (algunos casos 100X con aceite de inmersión) en microscopio ZEISS estándar Axioplan 2, las respectivas fotos fueron tomadas con el microscopio de contraste de fases.

4.3. Análisis estadístico del porcentaje de colonización de raíces micorrizadas

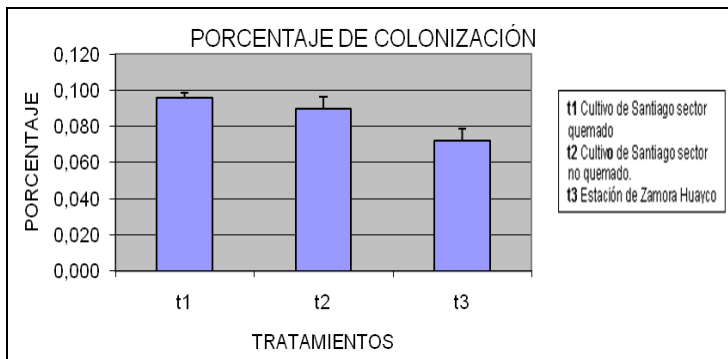
Los niveles de colonización se determinaron mediante la observación de placas al microscopio, tomando en cuenta las diferentes estructuras morfológicas y su frecuencia en cada una de las muestras como se indica en la tabla 1 (anexos).

Los datos del porcentaje de colonización micorrizica (% Colonización) fueron transformados en decimales, tomando en cuenta los dos cultivos de la investigación, sectores y especies de tomate de árbol se agruparon en tres tratamientos: T1(cultivo de Santiago tomate silvestre

sector quemado); T2(cultivo de Santiago tomate silvestre sector no quemado); T3 (Estación Agroecológica de Zamora Huayco Tomate cultivable) estos datos fueron sometidos a un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA), siendo los tratamientos con diferencias significativas comparadas según la prueba de rangos múltiples de Duncan.

5. RESULTADOS

Según los porcentajes obtenidos entre T1 y T3 la diferencia es de 0.024 % y entre T2 y T3 la diferencia es de 0.018 %, es decir que hay una diferencia significativa entre estos dos cultivos, en cambio entre T1 y T2 la diferencia es de 0.006 % por lo que se determino que ya diferencia significativa es muy baja.



De acuerdo al porcentaje obtenido podemos determinar que existe mayor porcentaje de colonización en el cultivo de Santiago tanto en el sector quemado (96 %) como en el sector no quemado (88 %), en cambio en la

Estación Agroecológica de Zamora Huayco el porcentaje de colonización es bajo (72 %) en relación al cultivo de Santiago, es decir existe una escasa colonización de micorrizas arbusculares en este sector. Estos resultados concuerdan en gran medida con los estudios realizados en la Universidad de Granada (Influencia de la cobertura vegetal sobre la diversidad y estructura de las comunidades de hongos micorrízicos y sus efectos en la estabilización de suelos degradados 2006).

5.1. Descripción Microscópica Ilustrativa

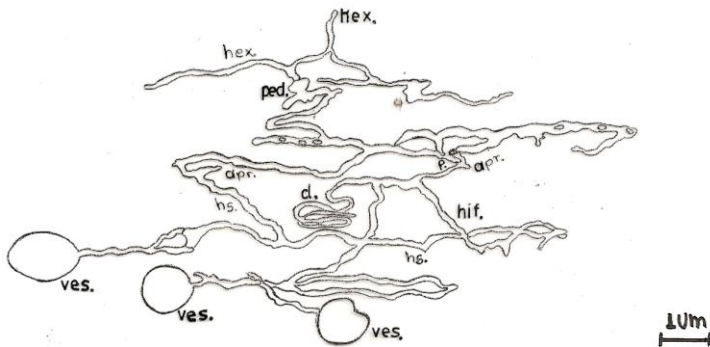
Luego de la observación microscópica se ha podido identificar tres géneros, las características que determinaron cada género fueron la presencia de arbusculos, su interconexión, origen, forma de las vesículas, paredes o capas que presentan, los coils, su conexión entre ellos, la presencia o ausencia de lípidos, la intensidad de la tinción con azul de metileno, son características para cada tipo de MA.

5.2. CULTIVO DE SANTIAGO SECTOR QUEMADO (Morfortipos)

Según el análisis morfológico se pudo determinar el posible genero *Glomus* (resumen Tabla 2), presentan vesículas con tamaños que oscilan entre 27.5 – 70 um y formas como redondas, ovaladas y por lo general siempre terminales, así mismo hay la presencia de coils entre los cuales unos son finos y otros son un poco más gruesos teniendo un diámetro de hifa diferente para su colonización, abarca todo el fragmento de la raíz analizada, existe una

escasa presencia de arbusculos que van de 27.5 – 95 μm y siempre conectados a hifas y coils, la tinción es intensa, siendo este otro indicativo para la determinación de este género. A continuación las ilustraciones de los morfotipos que recopilan toda la morfología y estructuras características presentes en este sector.

ILUSTRACIÓN 1. (Codigo BQSM1) 10 μm



Coils: De 5 μm de ancho, con una intensidad de tinción débil, forma regular con varias ramificaciones que circundan el ancho de la célula, estos son poco frecuentes.

Vesículas: De 27.5 – 47.5 μm de diámetro, con tinción fuerte, son poco numerosas, son intercelulares distribuidas a lo largo de la raíz, su forma regular oval y con pared doble.

Arbusculos: Ausentes

Hifas: De 2.5 – 5 μm de ancho, a lo largo de las hifas presentan irregularidades y lípidos en escasa cantidad.

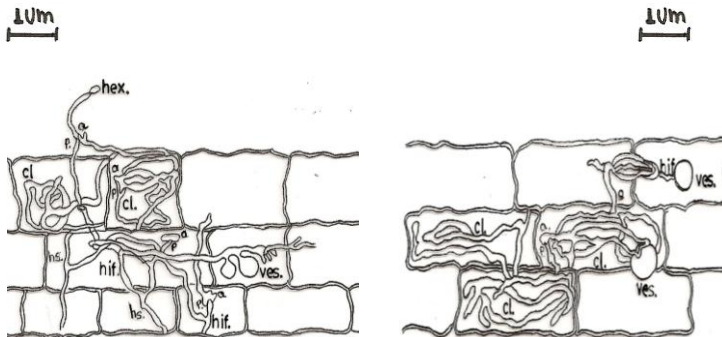
Hifas supraradicales, 5 μm de ancho, tinción débil y fuerte uniforme.

Hifas extraradical; tinción fuerte, con pocas irregularidades.

Apresorios; son de diámetro pequeño, simples, poco frecuentes

Puntos de Entrada; irregulares, poco frecuentes

ILUSTRACIÓN 2. (Codigo BQSM2) 15 μm - 12 μm



Coils: 3-5 μm , tinción fuerte, forma irregular con varias ramificaciones y están interconectados entre sí.

Vesículas: De 30 – 57.5 μm de diámetro, la intensidad de la tinción es fuerte y débil en algunos casos, forma redondas regulares con doble pared, se pueden evidenciar hifas recién desarrollándose para posteriormente convertirse en vesículas más grandes.

Arbúsculos: Ausencia

Hifas: De 5-10 μm de ancho, las cuales son externas e internas, abarcan casi todo el fragmento de la raíz.

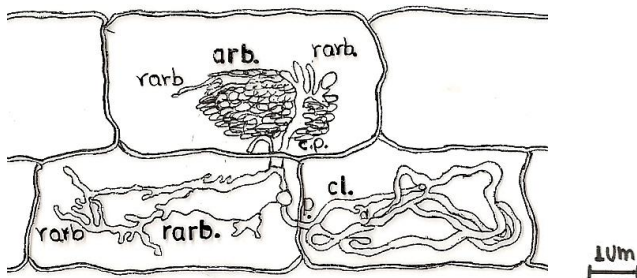
Hifas supraradicales; 5 μm de ancho, intensidad de tinción fuerte, son irregulares presenta algunas rugosidades.

Hifas extraradicales; 5 μm de ancho, con tinción débil, regular.

Apresorios; simples

Puntos de entrada; frecuentes regulares, poco frecuentes.

ILUSTRACIÓN 3. (Codigo BQSM3) 10 μm



Coils: 2 μm de ancho, tinción fuerte, son irregulares con varias ramificaciones, poco frecuentes, conectados al arbusculo.

Vesículas: Ausencia

Arbúsculos: De 36 μm de largo y 18 μm de ancho, forma irregular con ramificaciones gruesas, cilindro principal irregular.

Hifas: De 2.5 μm de ancho, según evidencias se muestra que son muy frecuentes.

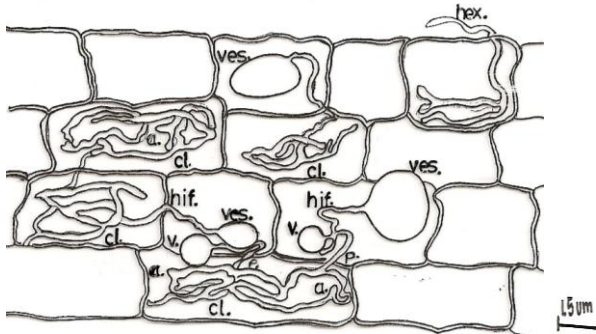
Hifas supraradical: Ausencia

Hifas extraradical; Ausencia

Apresorios; simples regulares poco frecuentes.

Puntos de entrada; simples regulares muy escasos.

ILUSTRACIÓN 4. (Codigo BQSM4). 27 um



Coils: 5 um, tinción fuerte, rugosos, irregulares con varias ramificaciones muy frecuentes se encuentra interconectados entre sí.

Vesículas: De 37.5 -70 um de diámetro, su tinción fuerte, son polimórficas, redondas, elípticas, ovaladas con pared doble, de diferentes tamaños y son vesículas terminales.

Arbúsculos: Ausencia

Hifas: De 7.5 um de ancho, se encuentran irregulares.

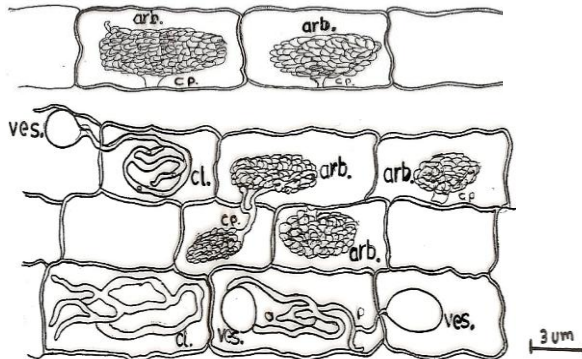
Hifas supraradicales; Ausencia

Hifas extraradicales; Ausencia

Apresorios; simples, regulares, escasos.

Puntos de entrada; simples, regulares poco frecuentes.

ILUSTRACIÓN 5. (Codigo BQSM4). 50 um



Coils: 2.5 um, tinción fuerte, irregulares con ramificaciones, poco frecuentes, se encuentran dentro de la célula.

Vesículas: De 25 – 60 um de diámetro, tinción fuerte, son elípticas, oblongas, redondas y terminales con pared delgada, las cuales luego se forman en esporas.

Arbúsculos: De 25 – 60 um, tinción fuerte, cilindro principal grueso conectado a las células y en otros casos conectados a otro arbúsculo, son muy frecuentes.

Hifas: De 2 -5 um de ancho, presentan pequeñas cantidades de lípidos.

Hifas supraradical; 2.5 um, tinción fuerte, regular, poco frecuente.

Hifas extraradical; Ausencia

Apresorios. Ausencia

Puntos de entrada Ausencia

Tabla 2. BQSM – Bosque Quemado de Santiago, análisis morfológico de tomate de árbol silvestre

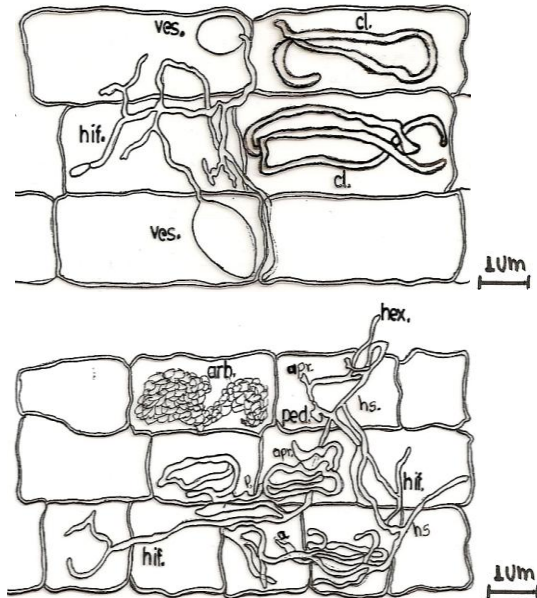
Códg	CARACTERÍSTICAS								Ilustración Nº	Género Posible
	Coils	Vesículas Ø	Arbúsculos	Hifas Ø	Hifas supra radical	Hifas extra radical	Apresorios	Puntos entrada		
BSSQM1	P	27.5 – 47.5 um media 59um	A	2.5 – 5 um	5 um	4.5 um	P	P	1	<i>Glomus</i>
BSSQM2	P	30 – 57.5 um Recién desarrollándose de las hifas más gruesas	A	5-10 um	5 um	5 um	P	P	2	<i>Glomus</i>
BSSQM3	P	A	36 – 18 um	2.5 um	A	A	P	P	3	<i>Glomus</i>
BSSQM4	P	37.5 -70 um media 90 um	A	7.5 um	A	5 um	P	P	4	<i>Glomus</i>
BSSQM5	P	25 – 60 um media 67.5 um	27.5 – 95 um	2-5 um	3 um	A	A	P	5	<i>Glomus</i>

Descripción: (P) presente; (A) ausente

5.3. CULTIVO DE SANTIAGO SECTOR NO QUEMADO (Morfortipos)

En el cultivo de Santiago en el sector no Quemado se identificó dos géneros posibles *Glomus* y *Acaulospora* se resumen en la tabla 3; género *Glomus* la presencia de vesículas que oscilan entre 25 a 75 μm de diámetro, con formas ovaladas y redondas arbusculos que van de 40 – 80 μm , es poco frecuente el cual carece de tronco o cilindro principal, las hifas intraradicales presentes se enrollan, para dar origen a los coils, hifas que se extienden de manera radial alrededor de la raíz hospedera son hifas extraradicales, los puntos de entrada es el lugar de origen de donde parte una hifa para colonizar la célula, la tinción con azul de metileno es muy intensa; la *Acaulospora* presenta vesículas que oscilan entre 32.5 a 72.5 μm , estas son polifórmicas, con finas capas y hay la presencia de lípidos característica principal de este género, las hifas intraradicales rectas y en algunos casos en espiral que luego formaran puntos de entrada, la mayoría se combinan, presentan una tinción muy débil con azul de metileno. A continuación las ilustraciones características para estos dos géneros posibles, que han sido recopiladas tomando en cuenta sus características más sobresalientes de cada una de las muestras analizadas.

ILUSTRACIÓN 6. (Codigo BNQSM6). 10 um – 16 um



Coils: 4 um de ancho, irregulares, rugosos, poco frecuentes con varias ramificaciones.

Vesículas: De 25 – 47.5 um de diametro, globosas, elípticas, con pared delgada y son vesículas terminales.

Arbúsculos: De 80 um de largo y 40 de ancho, el cilindro principal nace de la célula, sus ramificaciones son muy aglomeradas, son poco frecuentes

Hifas: De 2.5- 5 um de ancho, estas son muy finas algunas con irregularidades.

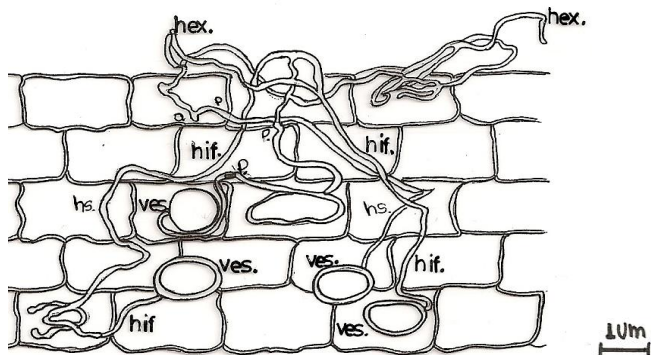
Hifas supraradicales; 5 um irregularidades y con varias ramificaciones rugosas, muy frecuentes.

Hifas extracelulares; 2 μm de ancho, regulares, muy frecuentes.

Apresorios; simples, regulares, poco frecuentes.

Puntos de entrada; simples, regulares poco frecuentes.

ILUSTRACIÓN 7. (Codigo BNQSM7). 12 μm



Coils: Ausencia

Vesículas: De 25 – 47.5 μm de diámetro, de forma oblonga, redondas con lípidos ocupando la mayor parte de la vesícula.

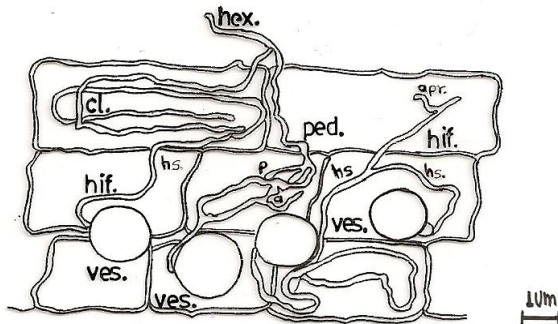
Arbúsculos: Ausencia

Hifas: De 2.5 – 7.5 μm de ancho, se enrollan en los puntos de entrada y penetran colonizando la raíz.

Hifas supraradicales; 5 μm de ancho, irregular a lo largo de la colonización con varias ramificaciones.

Hifas extraradicales; 2.7 μm de ancho muy irregulares y rugosas con ramificaciones muy frecuentes, se extienden a lo largo de las células.

ILUSTRACIÓN 8. (Código BNQSM8). 15 um



Coils: 2.5 um de ancho, irregulares, rugosos con ramificaciones poco frecuentes.

Vesículas: De 40 – 50 um de diámetro, redondas y terminales muy frecuentes

Arbúsculos: Ausencia

Hifas: De 5 -7.5 um de ancho con varias ramificaciones.

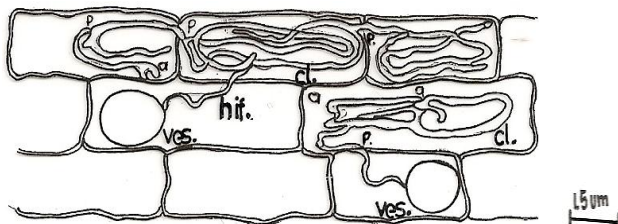
Hifas supraradicales; 2 um de ancho, regular, con pocas rugosidades, poco frecuentes.

Hifas extraradicales; 3 um de ancho, irregular con varias rugosidades, poco frecuente.

Apresorios; simples regulares poco frecuentes.

Puntos de entrada; irregulares poco frecuentes.

ILUSTRACIÓN 9. (Codigo BNQSM9). 20 um



Coils: 2 um de ancho, irregulares y rugosos con varias ramificaciones, muy finos.

Vesículas: De 25 – 47.5 um de diámetro, redondas y terminales, con pared delgada poco frecuentes.

Arbúsculos: Ausencia

Hifas: De 2.5 um de ancho, conectadas a las vesículas

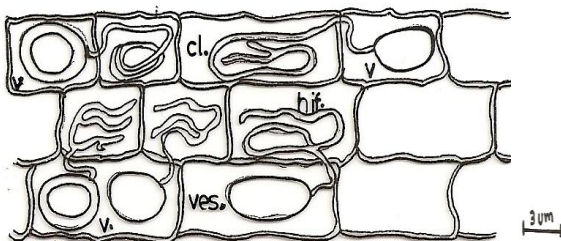
Hifas supraradicales; Ausencia

Hifas extraradicales; Ausencia

Apresorios; simples escasos

Puntos de Entrada; simples escasos.

ILUSTRACIÓN 10. (Codigo BNQSM10).50 um



Coils: 2 um de ancho, irregulares, rugosos, con varias ramificaciones muy finas.

Vesículas: De 15 – 75 μm diámetro, son irregulares, elípticas, redondas, con doble membrana y terminales.

Arbúsculos: Ausencia

Hifas: De 5 μm de ancho las cuales dan origen a las vesículas

Hifas supraradicales; Ausencia

Hifas extraradicales; Ausencia

Apresorios; Ausencia

Puntos de Entrada; Ausencia

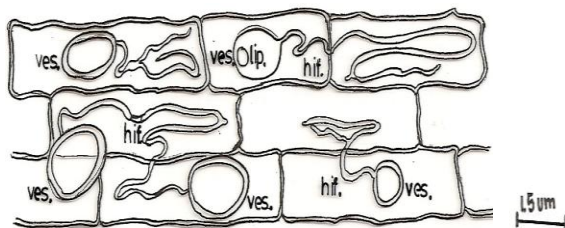
Tabla 3. BNQSM – Bosque de Santiago Sector No Quemado, análisis morfológico de tomate de árbol silvestre.

Código M.	CARACTERÍSTICAS								Ilustración N°	Género Posible
	Coils	Vesículas Ø	Arbúsculos	Hifas Ø	Hifas supra radical	Hifas extra radical	Apresorios	Puntos de entrada		
BSSNQM6	P	25 – 47.5 um y en algunos casos A	40- 80 um A	2.5- 5 um	2.5 um	2 um	P	P	6	<i>Glomus</i>
BSSNQM7	A	32.5 – 72.5 um media 112 um	A	2.5 –5 um	5 um	2 um	P	P	7	<i>Acaulospora</i>
BSSNQM8	P	40 – 50 um media 89	A	5 -7.5 um	5 um	2 um	P	P	8	<i>Acaulospora</i>
BSSNQM9	P	25 – 47.5 um media 63 um	A	2.5 um	A	A	P	P	9	<i>Glomus</i>
BSSNQM10	P	15 – 75 um media 70 um	A	5 um	A	A	A	A	10	<i>Glomus</i>

5.4. ESTACIÓN AGROECOLÓGICA DE ZAMORA HUAYCO (Morfotipos)

En la estación Agroecologica de Zamora Huayco se identificó tres géneros posibles *Glomus*, *Scuellospora*, *Acaulospora* (resumen tabla 4) debido a la presencia de vesículas que van de 30 a 77.5 μm de diámetro, presentan formas elipsoides, con lípidos y muy frecuentes, arbusculos de 25 a 107.5 μm , siendo poco frecuentes, presentan un cilindro principal, coils conectados entre si, y sobre todo la intensidad de la tinción que es muy azul, así mismo la presencia de hifas extra e intraradical es otro indicativo que permiten que la colonización se extienda a lo largo de la raíz. A continuación las ilustraciones de los morfotipos que recopilan toda la morfología y estructuras características presentes en este sector.

ILUSTRACIÓN 11. (Codigo EZHM11). 20 μm



Coils: 2 μm de ancho, irregulares rugosos con varias ramificaciones muy finas, muy frecuentes.

Vesículas: De 30 – 77.5 μm , son elípticas, globosas, redondas, con doble membrana, muy frecuentes

Arbusculos: Ausencia

Hifas: De 2.5 μm de ancho que dan origen a las vesículas

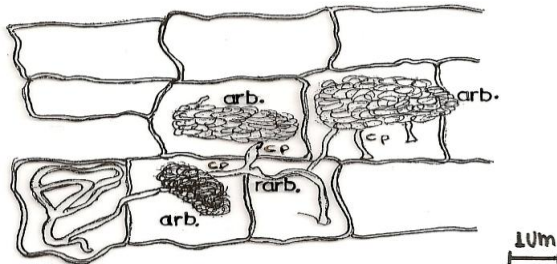
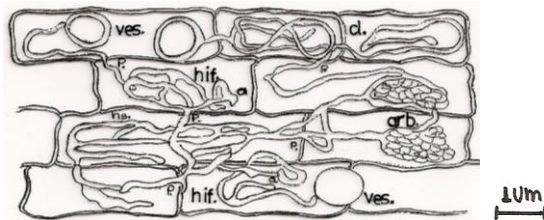
Hifas supraradicales; Ausencia

Hifas extraradicales; Ausencia

Apresorios; Ausencia

Puntos de Entrada; Ausencia

ILUSTRACIÓN 12. (Codigo EZHM12). 10 μm - 15 μm



Coils: 5 μm de ancho, irregulares rugosos con ramificaciones.

Vesículas: De 40 – 77.5 μm diámetro, redondas, elípticas con doble membrana, poco frecuentes.

Arbúsculos: De 25 – 107.5 μm , ovalada con un solo aglomerado y el cilindro principal fino conecta con los demás arbúsculos, poco frecuentes.

Hifas: De 7.5 μm , irregulares con proyecciones que generalmente se enrollan en los puntos de entrada.

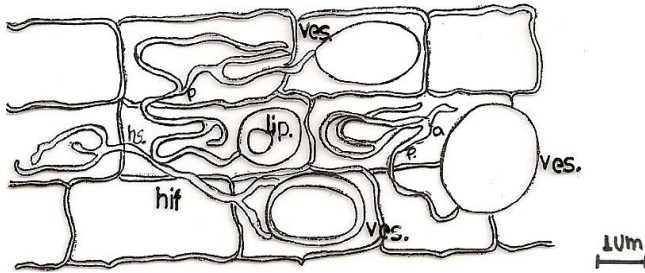
Hifas supraradicales; 5 μm irregulares, con rugosidades a lo largo de la colonización.

Hifas extraradicales: Ausencia.

Apresorios; simples, regulares poco frecuentes.

Puntos de entrada; simples regulares escasos.

ILUSTRACIÓN 13. (Codigo EZHM13). 15 μm



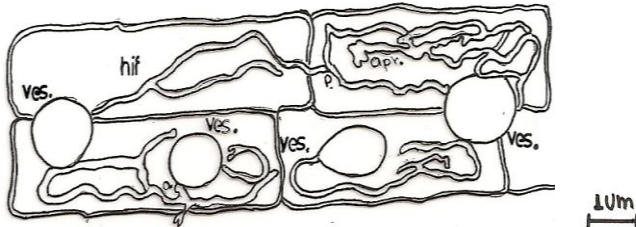
Coils: circunvalaciones de hifas intracelulares, muy finas presentes en la colonización y dentro de las célula que colonizan.

Vesículas: De 47.5 – 75 μm de diámetro, redondas. Elípticas, globosas, doble membrana, son vesículas terminales

Arbúsculos: Ausencia

Hifas: De 5 μm las cuales se hinchan y da origen a las vesículas.

ILUSTRACIÓN 14. (Codigo EZHM14). 15 um



Coils: 5um de ancho, irregulares, rugosos, con ramificaciones muy frecuentes.

Vesículas: De 45 – 75 um diámetro, son redondas, globosas, elípticas, con doble membrana y terminales, muy frecuentes.

Arbúsculos: Ausencia

Hifas: De 5 um de ancho a lo largo de su trayecto presenta irregularidades y rugosidades.

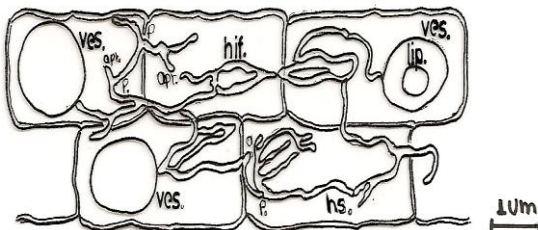
Hifas supraradicales; Ausencia

Hifas extraradicales; Ausencia

Apresorios; regulares, simples poco frecuentes.

Puntos de entrada; simples, escasos

ILUSTRACIÓN 15. (Codigo EZHM15). 15 um



Coils: 5 um de ancho, irregulares y con rugosidades, poco frecuentes.

Vesículas: De 47.5 – 77.5 μm de diámetro, redondas, elípticas, con presencia de lípidos en menor cantidad, con doble membrana, muy frecuentes.

Arbúsculos: Ausencia

Hifas: De 5 - 7.5 μm de ancho con varias irregularidades a lo largo de su colonización.

Hifas supraradicales; 2.3 μm irregulares con rugosidades, poco frecuentes.

Hifas extraradicales; Ausencia.

Apresorios; regulares, simples poco frecuentes.

Puntos de entrada; simples, regulares escasos.

Tabla 4. EZHM - Estación Agroecológica de Zamora Huayco Muestra, análisis morfológico de tomate de árbol cultivado.

Código M.	CARACTERISTICAS								Ilustración N°	Género Posible
	Coils	Vesículas Ø	Arbúsculos	Hifas Ø	Hifas supraradical	Hifas extraradical	Apresorios	Puntos de entrada		
EZHM11	P	30 – 77.5 um media 102 um	A	2.5 um	A	A	A	A	11	<i>Glomus</i>
EZHM12	P	40 – 77.5 um media 114 um	25 – 107.5 um,A	7.5 um, A	5 um	A	P	P	12	<i>Scutellospora</i> <i>Acaulospora</i>
EZHM13	P	47.5 - 75 um media 121 um	A	5 um	5 um	A	P	P	13	<i>Glomus</i>
EZHM14	P	45 – 75 um media 108 um	A	5 um	A	A	P	P	14	<i>Glomus</i>
EZHM15	P	47.5 – 77.5 um media 121 um	A	2.5 um	2.3 um	A	P	P	15	<i>Acaulospora</i>

6. **DISCUSIÓN**

En base a los porcentajes obtenidos podemos determinar que no hay diferencia significativa en el porcentaje de colonización, entre el sector quemado y no quemado del cultivo de Santiago, por lo tanto el tomate *Solanum cajanumensis* tiene una mejor adaptación en este sector debido a su clima templado, el cual beneficia tanto a la planta como al hongo ya que los dos se complementan con la interacción de sus funciones y beneficios (Allen 1991).

El análisis estadístico que se realizó entre el cultivo de Santiago (*Solanum cajanumensis*) con la Estación Agroecológica de Zamora Huayco (*Solanum betacea*) dió como resultado una diferencia significativa en cuanto al porcentaje de colonización. Ya que el cultivo de Santiago (*Solanum cajanumensis*) con sus dos sectores de estudio, contiene mayor porcentaje de colonización en comparación con la Estación Agroecológica Zamora Huayco (*Solanum betacea*) que contiene un porcentaje de colonización bajo, por lo cual podemos determinar que una de las principales causas de la baja colonización es la degradación del suelo, el cual afecta a la microflora y microfauna existente en este bosque, así mismo existe desgaste de nutrientes los cuales son indispensables para la formación de las diferentes especies vegetales (Ewald Sieverding 1991).

Existen distintos métodos de tinción, en nuestro caso se utilizó azul de metileno (Grace y Stribley, 1991), que nos ayudó a identificar arbusculos, vesículas, coils, micelio extra e intraradical, estas características determinaron la presencia de estos géneros de MA, cabe mencionar que según el método de tinción que se utilice para la

identificación de las micorrizas variarían los resultados para determinar diferentes estructuras e identificar de mejor manera los géneros: tinción con Azul de Tripán (Phillips y Hayman 1970) determina el porcentaje de infección y la densidad visual de MA; lactoglicerina, polivinil-lactoglicerina (PVLG) y PVLG mas Melzer para visualizar características morfológicas como las esporas que sería otra forma para la identificación y confirmación de diferentes géneros (Walker 1983).

La perturbación que afecta a la planta y al suelo presupone una reacción fúngica, ya que la micorriza se considera una triple asociación de planta, hongo y suelo. La agricultura intensiva tiende a reducir las densidades de la colonización o altera la composición de especies de hongos, que resultan de una baja resistencia de un ecosistema, se sabe también que los terrenos sin cubierta verde, uso intensivo e indiscriminado de plaguicidas, fertilizantes inorgánicos especialmente superfosfatos, puede reducir la cantidad de propágulos infectivos e inhibir drásticamente la formación de hongos formadores de micorrizas arbusculares (Azcón – Aguilar et al 1991; 1998).

Se ha demostrado luego de muchos estudios, que las plantas micorrizadas absorben mucho mejor el fósforo, indispensable para su crecimiento, incrementan las concentraciones de nitrógeno, captan en mayor proporción los macro y micronutrientes, mientras que en las plantas no micorrizadas sucede todo lo contrario (Ocampo O. et al 2001).

La morfología no es la única estrategia que nos ayuda a identificar la presencia de hongos formadores de micorrizas arbusculares, sino que también se pueden

estudiar otras características como son la presencia de fósforo, nitrógeno, nutrientes de baja densidad, lípidos, compuestos orgánicos como los ferricromos, son de gran utilidad para la determinación de la presencia de micorrizas arbusculares, pues estos compuestos están en la mayoría de estas plantas (Bonfante- Fasolo 1984).

La caracterización morfológica de MA, apuntan a diferentes morfotipos que puede ser vinculados con clases fúngicas, es decir cada morfotipo tiene características específicas y variadas que los haces diferentes unos de otros, los cuales son de gran ayuda para su diferenciación así tenemos los arbusculos los cuales están presentes en unos y ausentes en otros, las vesículas, formación de lípidos, coils que hacen la diferencia o la similitud en cada uno de los morfotipos encontrados, la intensidad de la tinción juega un papel importante en la identificación de los mismos (Beck et al. 2007)..

Las micorrizas son utilizadas como control biológico, protegiendo a las plantas de organismos de tipo patógeno, prolongando la vida de los suelos agrícolas productivos, contribuyendo a su uso más diverso, económico y ecológico; y a la captación de agua para tolerar el estrés hídrico (Cavagnaro. T.R. et al. 2001).

Condiciones ambientales como fósforo, la temperatura y la luz pueden influir en el nivel de la colonización y la respectiva presencia de las diferentes estructuras características de hongos formadores de MA (Hepper 1981).

Se recomienda que para futuras investigaciones, los sectores de estudio sean varios, ya que en algunos

lugares de la provincia de Loja la práctica de la agricultura es muy incrementada debido a su importancia económica y que con la ayuda de nuestra investigación, se de la información necesaria e indispensable, los mismos que ayudaran a los pequeños agricultores, a incentivar y fomentar una mejor y mas rentable producción de tomate de árbol en los lugares que mejor se adapte, con la ayuda de las MA obtener un menor desgaste del suelo y por ende disminuir el impacto ambiental en el uso de fertilizantes (Rosendahl et al. 1989; Abbott y Gazey 1994).

Las prácticas agrícolas alteran la población de HFMA, la composición de especies y la colonización micorrízica, analizando la biodiversidad de diferentes organismos pertenecientes a la biota del suelo señalan que la siembra directa, merced a la no remoción del suelo, permitiría la recomposición de una parte importante de la biota edáfica y sus cadenas tróficas, creando oportunidades para el establecimiento de diversos organismos en un número superior al de los manejos convencionales (Barea 2000).

7. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS A FUTURO

CONCLUSIONES

Morfológicamente se ha logrado determinar 10 morfotipos representativos donde se recopilan las diferentes estructuras en el cultivo de Santiago y 5 para la Estación Agroecológica de Zamora Huayco

Según los datos obtenidos en base a la morfología estudiada se logró determinar la presencia de dos posibles géneros de MA: *Glomus* y *Acaulospora* tanto en

el sector quemado y no quemado del cultivo de Santiago. En cambio para la Estación de Zamora Huayco se logró determinar tres géneros posibles *Glomus*, *Scutellopora*, *Acaulospora*.

Existe mayor diversidad morfológica de MA en el cultivo de Santiago en comparación con la Estación de Zamora Huayco, esto se relaciona directamente con el grado de colonización ya que se obtuvo un porcentaje de 92 % y 72 % respectivamente. Esta diversidad puede deberse a que este cultivo no ha sido sometido a fungicidas, ni a productos químicos que pudiesen afectar la formación de MA, desarrollando así una mejor interacción entre la planta y la microflora - microfauna del suelo, lo que beneficia la gran colonización de estos sectores. La escasa diversidad y colonización de HMA en la estación Agroecológica de Zamora Huayco se debe a una alteración progresiva del suelo lo que estaría afectando directamente al desarrollo y evolución de los diferentes microorganismos como las micorrizas que habitan en esos suelos.

La presencia de MA son claves en las estrategias destinadas a controlar la degradación de los ecosistemas, en especial en la revegetación, pues juegan un papel crucial en las primeras etapas de adaptación de las plantas en suelos afectados por diferentes factores: erosión, incendios, etc. (Salamanca 1991; Requena 1996).

PERSPECTIVAS FUTURAS

- Crear un banco de características morfológicas de las MA, las mismas que servirán como aporte científico para posteriores investigaciones.

- Realizar un estudio morfológico de esporas presentes en el suelo de donde fueron extraídas nuestras muestras, como complemento a los resultados obtenidos en esta investigación.
- Recopilar las diferentes ilustraciones gráficas a cerca de la morfología de MA obtenidas en especies de tomate árbol, ya que existen pocos estudios de MA en estas especies.
- La morfología de MA sea aplicada y estudiada en otras especies frutales, con esto lograríamos una mejor calidad y mayor productividad de los frutos, sin alterar la vegetación y los ecosistemas.
- El estudio de MA ayudan a la ejecución de buenas prácticas agrícolas (BPA), para el mantenimiento adecuado de los ecosistemas en el cual se desarrollan especies alimenticias que ser consumidas por el ser humano.

8. BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Abbot LK, Gazey C (1994) An ecological view of the formation of VA Mycorrhizas. *Plant Soil* 159: 69-78.
- Alarcón A, Ferrera-Cerrato R (2000) *Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular*. Mundi Prensa Mexico. Pp 1-15
- Allen MF (1991) *The Ecology of Mycorrhizae*. Cambridge Univ.Press, Cambridge, UK, 184p.
- Augé, RM, Stodola, Ann J.W, Tims JE, Saxton AM (2001). Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. *Plant Soil* 230:87-97.
- Azcón-Aguilar C, Bago B, Barea JM (1998) Saprophytic growth of arbuscular mycorrhizal fungi. En: Varma A, Hock B (eds) *Mycorrhiza: Structure, function, molecular biology and biotechnology*. Springer, Heidelberg, pp 391-408.
- Azcón Aguilar C. García-García F, Barea JM (1991) Germinación y crecimiento axénico de los formadores de micorrizas vesículo-arbusculares. En: Olivares J, Barea JM (eds) *fijación y movilización biológica de nutrientes, Vol II Nuevas tendencias*, CSIC, Madrid pp 129-147.
- Azcón –Aguilar, C. y JM. Barea 1996. Interacciones de las micorrizas arbusculares con microorganismos de la rizosfera. Colombia Bogota, pp 47-68
- Bago B, Azcón-Aguilar C, Sharchar-Hill Y, Pfeffer P (2000) el micelio externo de la micorriza arbuscular como Puente simbiótico entre raíz y su entorno. En : Alarcón A Ferrera-Cerrato R (eds) *Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular*. Colegio de

Posgraduados. Ediciones mundi Prensa, Montecillo, México pp78-92.

- Barea JM (2000) Rhizosphere and mycorrhiza of field crops. En: Toutant J, Balazs E, Galante E, Lynch J, Scherpers J, Wemer D, Werry P(eds) Biol. Resource Management: Connecting Science and Policy (OECD). INRA, Springer, Heidelberg-Alemania, pp 110-125
- Baligar V, Fageria N (1997) Nutrient use efficiency in acid soils: nutrient management and plant use efficiency. En: Moniz A, Schaffert R, FageiraN; Rosolem C, Cantarella H (eds) Plant-soil interctions at low pH: Sustainable agriculture and forestry production. Brazilian Soil Science Society. Campinas, SP, Brazil, pp75-95.
- Barea JM (1998) Biología de la rizosfera. Investigación y Ciencia 256: 74-81.
- Beck et al. (2007) Structural characterization and molecular identification of arbuscular mycorrhiza morphotypes of *Alzatea verticillata* (Alzateaceae), a prominent tree in the tropical mountain rain forest of South Ecuador. *Mycorrhiza* 2007 17: 607-625.
- Bonfante-Fasolo P (1984) Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. En: Powell CL, Bagyaraj DJ (eds) VA mycorrhiza, CRC Press, Boca Raton, pp 5 – 33.
- Borie F, Rubio R, Morales A, Castillo C (2000) Relación entre densidad de hifas de hongos micorrizogenos arbusculares y producción de glomalina con las características físicas y químicas de suelos bajo cero labranza. *Revista Chilena de Historia Natural* 73: 663-670.

- Brundrett M, Bougher N, Dell B, Grove T, Malajczuk N (1996) Working With Mycorrhiza in Forestry and Agriculture, ACIAR Monograph; Australia pp 25,185
- Cavagnaro. T.R. Gao L.L. et al. (2001) Morphology of arbuscular mycorrhizas is influenced by fungal identity. *New Phytologist* 151: 469-475.
- Clark R, Zobel R, Zeto S (1999) Effects of mycorrhizal fungus isolates on mineral acquisition by *Panicum Virgatum* in acidic soil. *Mycorrhiza*: 167-176.
- Clark RB, Zeto SK (2000) mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *J Plants Nutr* 23: 867-902.
- Del Val C, BArea JM, Azcón-Agyuilar C (1999) Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in heavy-metal-contaminated soils. *Appl Environ Microbiol* 65: 718-723.
- Ewald Sieverding (1991) Vesicular- Arbuscular Mycorrhiza Management Tropical Agrosystems, Eschborn, pág 20-25, 57-70.
- Frank, A.B (1885) Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. *Ber. Deut. Bot. Gesell.* 3, 128 – 145.
- García –Garrido Jm, Ocam-po JA (2002) Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *J Exp Bot* 53: 1377-1386.
- (Grace C, Stribley DP (1991) A safer procedure for routine staining of vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycol Res* 95; 1160-1162.

(Gardemann JW, Trappe JM (1974) The Endogonaceae in the Pacific Northwest. Mycol Memoir 5: 1-76.

González C.F. et al (2005) Influencia de hongos micorrizógenos arbusculares (hma) en el desarrollo de plántulas de opuntia streptacantha lem. sometidas a sequía en condiciones de invernadero. TIP. p. 5-10.

Harley JL, Smith SE (1983) Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, Londres 483 p.

Hepper CM (1981) Techniques for studying the infection of plants by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi under axenic conditions. New Phytol 88: 641-647

Hooker JE, Jaizme-Vega M, Atkinson D (1994) Biocontrol of plant pathogens using arbuscular mycorrhizal fungi. En: Gianinazzi S, Schüepp H (eds) Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. Birkhauser-Verlag, Basel, Switzerland, pp 191-200.

INVAM. <http://invam.caf.wvu.edu/>

Jeffries P, Barea JM (2001) Arbuscular Mycorrhiza-a key component of sustainable plant soil ecosystems. En: HOCK (ed) The ycota IX. Fungal Associations. Springer-Verlag. Berlin, pp 95-113.

Mallock DW, Pirozynski KA, Raven PH (1980) Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbioses in vascular plants (a review). Proc Natl Acad Sci USA 77(4): 2123-2118.

- Marulanda A, Azcón R, Ruiz-Lozano JM (2003) Contribution of six arbuscular mycorrhizal fungal isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress. *Physiologia Plantarum* 119: 526-533.
- Morton JB, Benny J (1990) Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glominae and Gigasporinae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with a reclassification of Glomaceae. *Mycotaxon* 37: 471- 491
- Morton JB, Redecker D (2001) two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia* 93: 181-195
- Muthukumar T. Udaiyan K. Shanmughavel P. (2004) Mycorrhiza in sedges-an overview. *Mycorrhiza* 14: 65-77.
- Mukerji K.G, Manoharachary, Chamola B.P. Techniques in Mycorrhizal Studies. Editorial Kluwer Academic Publishers. Pp 250 - 252
- Oehl y Sieverding E (2004) *Pacispora*, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany* 78: 72-82.
- Ocampo O. et al. (2001). Uso de microorganismos rizofericos en solanáceas, Centro de Investigación y de Estudios avanzados del IPN. Irapuato Depto. Biotecnología y Bioquímica

- Phillips, J. And M. Hayman. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular fungi for rapid assesment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55:158-161
- Redecker D, Morton JB, Bruns TD (2000) Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 14: 276-284.
- Requena N (1996) Exploración de la biodiversidad microbiana (hongos de las micorrizas arbuscula-Rhizobium-Rizobacterias) en un ecosistema mediterráneo desertificado, dirigida a una estrategia de revegetación. Tesis doctoral de la Universidad de Granada, Facultad de ciencias.
- Rivillas O, C.A. 1995. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on two different coffee varieties from Colombia and their biochemical detection in roots. Kent, University of Kent. Research School of Biosciences. 88 p (Tesis: Magister Science).
- Rosendahl S, Sen R, Hepper CM, Azcón- Aguilar C (1989) Quantification of three vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus* spp.)in roots of leek (*Allium porrum*) on the basis of activity of diagnostic enzymes after polyacrylamide gel electrophoresis. *Soil Biol Biochem* 21: 519- 522.
- Salamanca P (1991) Estudio sobre la simbiosis microbio-planta (micorrizas y *Rhizobium*-leguminosas) en la revegetación de los suelos en las zonas áridas. Tesis doctoral de la Universidad de Granada, Facultad de ciencias.

- Sánchez –Díaz M, Honrrubia M (1994) Water relations and alleviation of drought stress in mycorrhizal plants. En: Gianinazzi S.Schüepp H (eds) impact of arbuscular mycorrizas on sustainable agriculture and natural ecosystems, Barkäuser Verlag, Basel, pp 16-178.
- Simon L, Bousquet J, Lévesque RC, Lalonde M (1993^a) Origin and diversificatiob of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature* 363: 67-69
- Siqueira j, Moreira F (1997) Microbial populations and activities in highly-weathered acidic soils: highlights of the Brazilian research. En: Moniz AFurlani A, Schaffert R, Fageria N, Rosolem C, Cantarella H(eds) Plant-soil interactions at low pH: Sustainable agriculture and forestry production. Brazilian Soil Science Society. Campinas, SP, Brazil, pp 139-156.
- Smith FA, Smith SE (1997) Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytol* 137: 373-388
- Smith SE, Read DJ (1997) Mycorrhizal symbiosis. Academic Press. San Diego, USA.
- Schüßler A, Schwarzott D, Walker C (2001) A new Fungal Phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol Res* 103: 1413-1421.
- Trouvelot et al. 1986 Scoring Mycorrhizal Colonization.
- Taylor TN, Remy W, Hass H, Kerp H (1995) Fossil arbuscular mycorrhizal from the early devonian. *Mycologia* 87: 560-573.

Walker C, Schüßler A (2004) Nomenclatural clarifications and new taxa in the Glomeromycota *Mycological Research* 108: 981-982.

WALKER, C. 1983. Taxonomic concepts in the Endogonaceae: spore wall characteristics in species descriptions. *Mycotaxon* 18 (2): 443-455.

Wright SF, Upadhyaya A (1998) A survey of soils for aggregate stability and glomalin a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 198: 97-107.

Yu T, Egger KN, Peterson RL (2001) Ectendomycorrhizal associations-characteristics and functions. *Mycorrhiza* 11: 167-177.

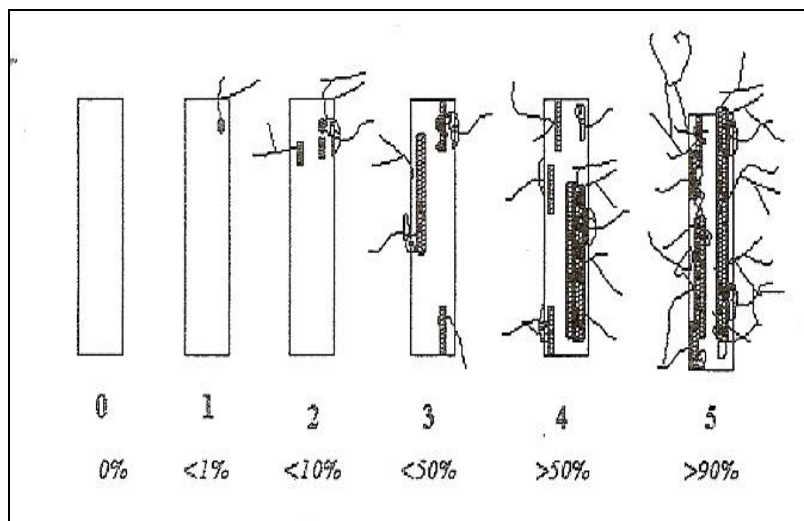
<http://www3.unileon.es/personal/wwdbvcac/Micorrizas%204.htm>

<http://www.botanicargentina.com.ar/boletin/40-3.htm#Micorrizas>

http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasCientificas/Agronomia%20Tropical/at4804/arti/chacon_a.htm

http://www.rlc.fao.org/prior/segalim/prodalim/prodveg/cdrom/contenido/libro09/Cap3_5.htm

9. ANEXOS.



Calculo de parámetro de porcentaje de micorrización, % vesículas, % coils, Trouvelot et al . 1986

Estructuras	Bosque de Santiago					Bosque de Santiago					Estación de Zamora Huayco				
	Tomate de árbol silvestre (<i>Solanum cajaniensis</i>)										Tomate de árbol cultivado (<i>Solanum betaceum</i>)				
	Sector Quemado					Sector No Quemado									
	Genero <i>Glomus</i>					G	<i>Acualos</i>	<i>Glomus</i>			G	A	<i>Glomus</i>		A
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15
Coils	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Lípidos	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	%/-	+	+	+
Vesículas	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	%/-	+++	+++	+++
Arbúsculos	-	-	+	-	+	%/-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
Hifas supraradicales	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+	-	-	%/-
Hifas extraradicales	++	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	%/-	+
Aprorios	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	%/-	+
Puntos de entrada	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	%/-	+

(G) género *Glomus*; (A) género *Acuaolospora*; (-) ausencia; (+) presencia; (%/-) escasa presencia; (+++) muy frecuentes.

BOSQUE DE SANTIAGO SECTOR QUEMADO

ILUSTRACIÓN 1 Código BSSQM1

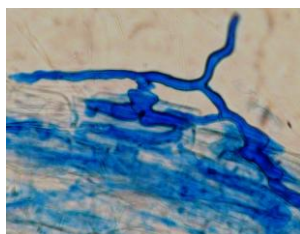
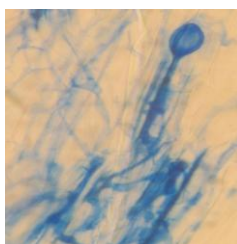
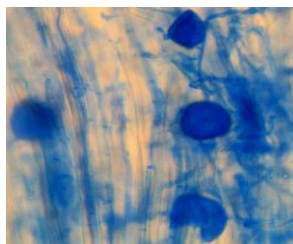


ILUSTRACIÓN 2 Código BSSQM2

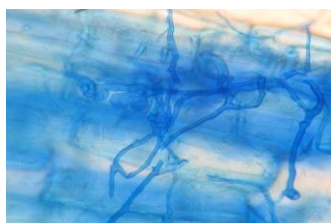
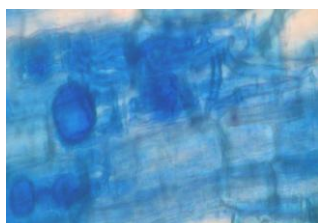


ILUSTRACIÓN 3 Código BSSQM3

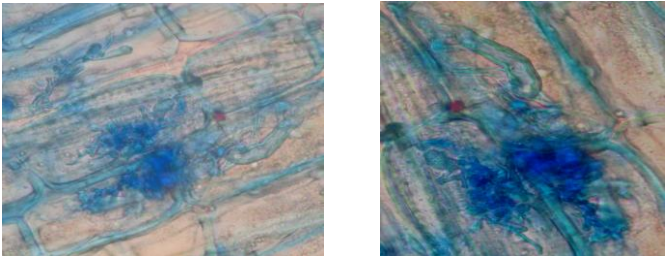
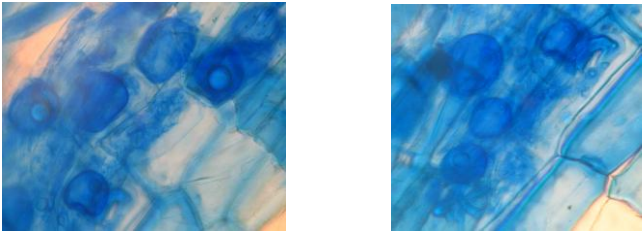
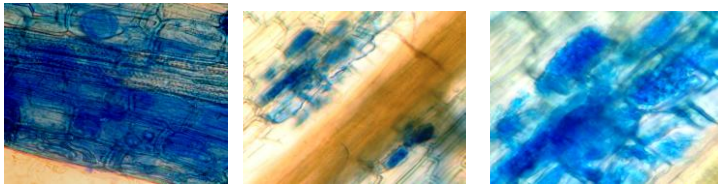


ILUSTRACIÓN 4 Código BSSQM4



ILUSTRACION 5 Código BSSQM5



BOSQUE DE SANTIAGO SECTOR NO QUEMADO

ILUSTRACIÓN 6 Código BSSNQM6



ILUSTRACIÓN 7 Código BSSNQM7

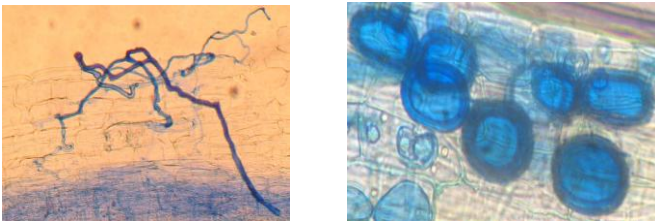


ILUSTRACIÓN 8 Código BSSNQM8

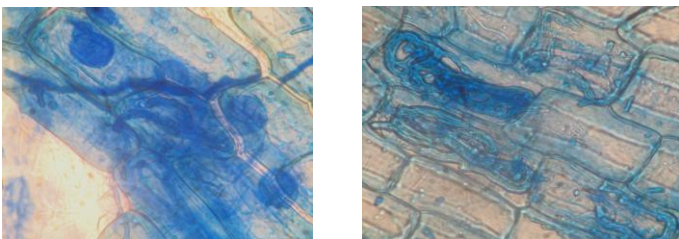


ILUSTRACIÓN 9 Código BSSNQM9

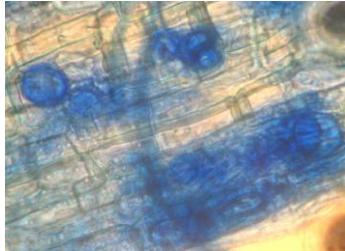
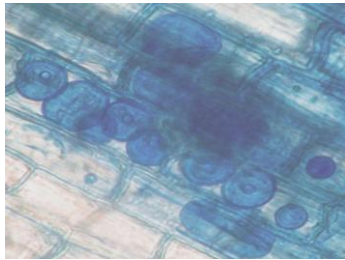


ILUSTRACIÓN 10 Código BSSNQM10



ESTACIÓN AGROECOLOGICA DE ZAMORA
HUAYCO

ILUSTRACIÓN 11 Código EZHM11

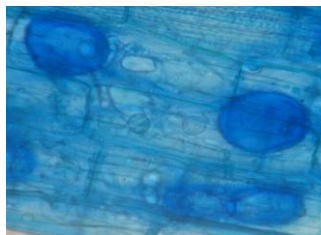
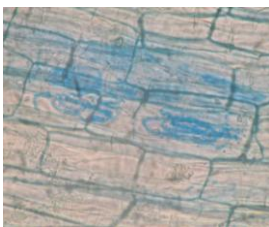


ILUSTRACIÓN 12 Código EZHM12

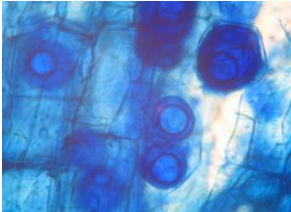
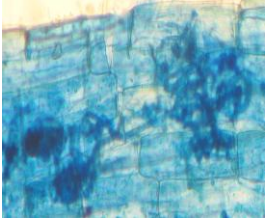
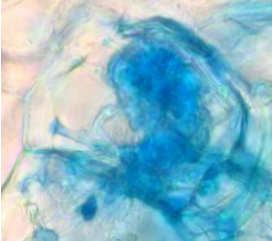
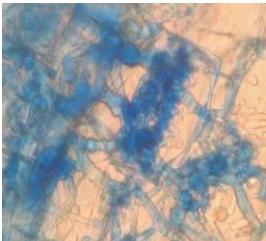


ILUSTRACIÓN 13 Código EZHM13

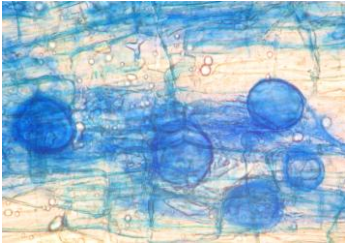
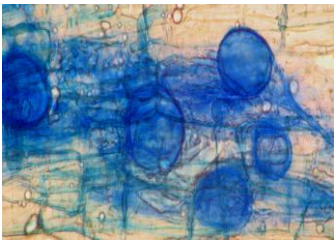


ILUSTRACIÓN 14 Código EZHM14

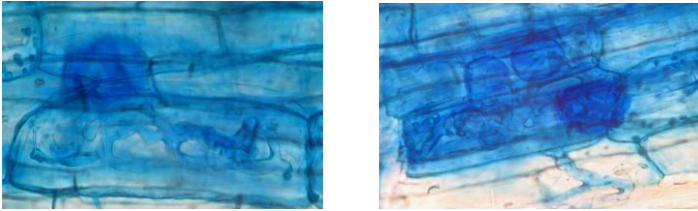


ILUSTRACIÓN 15 Código EZHM15

