



ELECCIÓN DE PLANTA TRAMPA Y SUSTRATO PARA LA PRODUCCIÓN DE INÓCULO MICORRÍZICO

CHOICE OF TRAP PLANT AND SUBSTRATE FOR MYCORRHIZAL INOCULUM PRODUCTION

Jaime Naranjo-Morán^{*1,2} , Karen Olivo-Fernández² , Milton Barcos-Arias^{2,3} 
y Rodrigo Oviedo-Anchundia² 

¹Universidad Politécnica Salesiana, UPS, Facultad Ciencias de la Vida, Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Carrera de Ingeniería en Biotecnología. Campus María Auxiliadora sede Guayaquil. Km 19.5 Vía a la Costa, 090901. Guayaquil, Ecuador. [<https://ror.org/00f11af73>]

²Escuela Superior Politécnica del Litoral, ESPOL, Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador, CIBE, Campus Gustavo Galindo Km. 30.5 vía Perimetral, P.O. Box 09-01-5863, Guayaquil, Ecuador. [<https://ror.org/04qnc566>]

³Universidad Espíritu Santo, UEES, Facultad de Ingeniería, Km 2.5 vía La Puntilla, Samborondón Apartado Postal 09-01-952, Ecuador. [<https://ror.org/00b210x50>]

*Autor para correspondencia: jnaranjo@ups.edu.ec

Manuscrito recibido el 25 de mayo de 2021. Aceptado, tras revisión el 27 de septiembre de 2022.

Resumen

Las plantas trampa de micorrizas arbusculares pueden ser especies cultivables o silvestres. Además de soportar la presión antropogénica, éstas son excelentes huéspedes para la multiplicación masiva de las micorrizas arbusculares. El objetivo de este trabajo es seleccionar la planta trampa y el sustrato para la propagación masiva de micorrizas arbusculares. Se evaluaron cuatro especies (*Cajanus cajan*, *Cynodon dactylon*, *Tagetes patula*, y *Plectranthus tomentosa*), dos tipos de sustratos (Sustrato 1: arena, cascarilla de arroz y vermiculita; Sustrato 2: arena, cascarilla de arroz y turba) y dos fuentes fosfatadas (fosfato tricálcico y roca fosfórica). A los 120 días después de la inoculación se evaluó el porcentaje micorrización y esporulación. Como resultado se identificó que la especie *Plectranthus tomentosa* en el sustrato 2 fue la más idónea, ya que obtuvo una micorrización total de 79,7% a una concentración de 1000 ppm de fosfato tricálcico, mientras que en el sustrato 1 tuvo 67,5% a la misma concentración de fosfato tricálcico. Esta especie también presentó un mayor número de esporas (638 esporas / 100 g suelo) en el sustrato 1 a una concentración de 1000 ppm de fosfato tricálcico. En conclusión, la planta trampa y composición del sustrato tiene influencia directa en la producción de inóculo micorrízico.

Palabras clave: Endomicorrizas, Esporulación, Huésped, Micorrización, Sustratos.

Abstract

Arbuscular mycorrhizal trap plants can be cultivated or wild species. In addition to withstanding anthropogenic pressure, these are excellent hosts for massive multiplication of arbuscular mycorrhizae. The objective of this work is to select the most suitable trap plant and substrate for the massive propagation of arbuscular mycorrhizal fungi. Four species were evaluated (*Cajanus cajan*, *Cynodon dactylon*, *Tagetes patula*, and *Plectranthus tomentosa*), two types of substrates (Substrate 1: sand, rice husk and vermiculite; Substrate 2: sand, rice husk and peat) and two phosphate sources (tricalcium phosphate and rock phosphate). At 120 days after inoculation, the percentage of mycorrhization and sporulation was evaluated. As a result, it was identified that the species *Plectranthus tomentosa* in substrate 2 was the most suitable, since it obtained a total mycorrhization of 79.7% at a concentration of 1000 ppm of tricalcium phosphate, while in substrate 1 it had 67.5% at the same concentration of tricalcium phosphate. This species also presented a higher number of spores (638 spore / 100 g soil) in substrate 1 at a concentration of 1000 ppm of tricalcium phosphate. In conclusion, the trap plant and substrate composition had a direct influence on the production of mycorrhizal inoculum.

Keywords: Endomycorrhizae, Sporulation, Host, Mycorrhization, Substrates.

Forma sugerida de citar: Naranjo-Morán, J., Olivo-Fernández, K., Barcos-Arias, M., y Oviedo-Anchundia, R. (2025). Elección de planta trampa y sustrato para la producción de Inóculo Micorrízico. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. [Acceso Temprano] <https://doi.org/10.17163/lgr.n42.2025.05>.

Orcid IDs:

Jaime Naranjo-Moran: <https://orcid.org/0000-0002-4410-9337>

Karen Olivo-Fernández: <https://orcid.org/0009-0002-6484-1645>

Rodrigo Oviedo-Archundia: <https://orcid.org/0000-0001-7986-3711>

Milton Barcos-Arias: <https://orcid.org/0000-0003-0863-6778>

1 Introducción

Las plantas trampas, las características ambientales y la limitada dispersión son factores que afectan la multiplicación masiva de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (Ramalho da Silva et al., 2014). Las asociaciones simbióticas de las comunidades de los HMA con las plantas trampas son complejas, dado que las redes de hifas micorrízicas conectan diversos sistemas rizosféricos y regulan los flujos de nutrientes, las comunicaciones e interacciones de competencia dentro de los nichos ecológicos de cada planta. La coexistencia con la comunidad vegetal ha llevado a especializaciones interespecíficas, como el establecimiento de plántulas en nuevos territorios (Tedersoo et al., 2020; Van Geel et al., 2018).

En condiciones naturales la mayoría de las plantas se encuentran colonizadas por HMA, no obstante, la presencia de estos hongos puede verse afectada por factores antropogénicos como el uso excesivo de fertilizantes, fungicidas y herbicidas, ocasionando la disminución o desaparición de la biodiversidad micorrízica presente en los agroecosistemas (Davison et al., 2020). Los HMA son relevantes en la agricultura porque brindan múltiples beneficios a las plantas, como la solubilización de fósforo en el suelo y la sostenibilidad del sistema de producción agrícola (Deepika and Kothamasi, 2015).

Las plantas trampas son hospederos eficientes de HMA. Una planta hospedera promisorio es el maíz (*Zea mays* L.), puesto que permite la producción de una o más especies de HMA. Otras especies también se han usado como plantas trampas con el fin de multiplicar esporas de HMA, estas especies pertenecen a las familias *Solanaceae*, *Fabaceae*, *Cucurbitaceae*, *Amaryllidaceae*, *Lamiaceae*, entre otras (Koske and Gemma, 1995; Salas and Blanco, 2000), ya que sus ciclos biológicos hacen fácil su adaptación al método de cultivo en macetas al reducir los tiempos de producción hasta los 1,5 meses (Salas and Blanco, 2000).

El puerro (*Allium ampeloprasum* L.) es una especie ineficaz para producir inóculo a partir de los HMA, pues puede estar influenciado por las condiciones ambientales, lo que plantea la hipótesis de que la diversidad de plantas se estimula y retarda entre sí para la producción de esporas (Liu and

Wang, 2003). El parámetro de mayor importancia para seleccionar las plantas trampas es la cuantificación del número de producción de esporas por gramo de suelo o sustrato referencial. Un factor limitante de la producción de esporas está asociado con el nivel de P adicionado al sustrato; este elemento puede interferir en la producción de esporas en plantas de ají (*Capsicum annuum* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), puerro (*Allium ampeloprasum* L.) y rosa de muerto (*Tagetes patula* L.).

Otro factor limitante vinculado a la producción es el material vegetal inicial, los factores climáticos y la diversidad genética de los HMA en el sustrato compuesto (Koske and Gemma, 1995; Salas and Blanco, 2000; Schmidt et al., 2010). La composición del sustrato también influye en la multiplicación de inóculo micorrízico, especialmente en la absorción de nutrientes de la planta trampa, como es el caso del P, Mg y Ca (Gao et al., 2019), en particular, la dosificación de P en la fuente de nutrición tiene un efecto diferencial en los beneficios proporcionados por los HMA (Alarcón, 2003), lo que afecta el rendimiento de la producción de esporas en las plantas trampas a consecuencia del origen de la fuente fosfatada, ya que la fertilización fosfatada puede mejorar o disminuir el potencial endógeno de la colonización micorrízica (Covacevich et al., 2006).

Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es elegir una planta trampa y un sustrato prominente para la propagación masiva de micorrizas arbusculares.

2 Materiales y Métodos

2.1 Condiciones del sistema

Esta investigación se desarrolló en el invernadero del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), ubicado en el km 30.5 vía perimetral en el Campus Gustavo Galindo (Latitud: 2° 9'3.12" S y Longitud: 79°57'13.03" W).

Las condiciones climáticas promedio registradas en el invernadero durante el desarrollo de este estudio fueron, 26 °C de temperatura, 65% de humedad relativa y una luminosidad constante durante los meses de mayo y agosto. El material vegetal utilizado como planta trampa fue *Cajanus cajan*, *Cyno-*

don dactylon, *Tagetes patula* y *Plectranthus tomentosa*, todas obtenidas de semillas silvestres excepto *P. tomentosa*, donde se utilizaron esquejes de 10 cm. Se realizaron semilleros en gavetas plásticas con el fin de obtener plantas homogéneas para el ensayo. Cuando las plántulas obtuvieron dos hojas verdaderas fueron trasplantadas a macetas de polipropileno con un volumen de 2 kg de sustrato según los tratamientos e inoculadas con 20 g de un consorcio nativo (inóculo nativo purificado) de HMA conformado por *Acaulospora* sp., *Ambispora* sp., *Diversispora* sp., *Entrophospora* sp., *Funeliformis* sp. y *Glomus* sp. a una concentración de 300 esporas totales por cada 100 g de sustrato (50 esporas por cada género). Cabe mencionar que el inóculo de HMA fue obtenido del banco de micorrizas arbusculares del CIBE – ESPOL.

Para la ejecución de este estudio se realizó un diseño bifactorial. El factor A (fuente fosfatada y sustrato) con cuatro niveles de concentración fosfatada y el B fueron las cuatro especies de plantas estudiadas. Los sustratos contenían arena, cascarilla de arroz y vermiculita (S1) y arena, cascarilla de arroz y turba (S2). Las fuentes fosfatadas utilizadas fueron fosfato tricálcico (FT) y roca fosfórica (RF). Las cuatro especies de plantas usadas en este experimento fueron *C. cajan*, *C. dactylon*, *T. patula* y *P. tomentosa*. Se aplicaron tres dosis de 150, 500, 1000 ppm y un control de 0 ppm de fuente cruda fosfatada a las plantas trampas, con tres repeticiones en cada tratamiento. Los sustratos y materiales utilizados fueron esterilizados de forma estricta antes de iniciar la experimentación para evitar la contaminación cruzada con agentes patógenos. Se midieron los parámetros agronómicos para determinar los atributos de selección en las especies, y los fisiológicos de la masa radicular: altura, número de hojas, biomasa seca, índice del contenido de clorofila, porcentaje de micorrización y número de esporas a los 120 días después de la inoculación. Adicionalmente a la fertilización fosfatada, las plantas fueron fertilizadas con 10 ml de solución modificada de Steiner, aplicándose tres veces por semana (Galindo Pardo et al., 2014).

2.2 Medición de parámetros agronómicos y fisiológicos

En el presente estudio se midió la altura, desde el cuello de la planta hasta la yema terminal; el núme-

ro de hojas emitidas por cada especie, contabilizada hasta la última hoja extendida en su totalidad; se determinó la biomasa seca total utilizando una estufa a una temperatura de 80 °C hasta obtener un peso constante (López-Hidalgo et al., 2018); se analizó el índice del contenido de clorofila a los 120 días, y para su efecto se seleccionó la tercera hoja más joven que contaba con un buen desarrollo, y la medición se realizó entre las 10:00 y 11:00 horas, cuando hubo una excelente luminosidad, mediante el uso de un medidor CCM-200 PLUS, Opti-Science (Redha et al., 2019).

Para medir el porcentaje de micorrización total en las raíces de las plantas trampas, éstas se sometieron a estrés hídrico durante una semana, cuando se suspendió el riego y fertilización. Transcurrido este periodo se tomó una muestra combinada de 10 g de raíces secundarias de las tres réplicas de cada tratamiento. Las raíces se lavaron con agua potable para retirar impurezas, después se cortaron y colaron en un recipiente ámbar, aplicando 1 ml de KOH al 10% por 10 minutos en autoclave (125 °C y 15 de presión). Una vez finalizado este tiempo se retiró el KOH, lavando con agua y se aplicó HCl al 1% durante 3 minutos para acidificar las muestras, luego se retiró el HCl sin lavar las raíces y finalmente se aplicó azul de tripano al 0,05% y se esterilizó durante 15 minutos. Una vez esterilizadas las muestras se dejaron enfriar y se procedió a colocar 10 raicillas en cada portaobjeto. Seguidamente se agregó una gota de lactoglicerol, se colocó en una placa cubre objeto para observar las estructuras infectivas y se determinó el porcentaje de micorrización (McGonigle et al., 1990).

Para determinar el número de esporas se tomó una muestra de 100 g de sustrato por triplicado de cada tratamiento. Las muestras se evaluaron con la metodología de tamizado húmedo, donde se utilizaron tamices de 45, 106 y 710 μm , y luego se centrifugaron en un gradiente de tween 20 más sacarosa durante 5 min a 2000 rpm (Gerderman and Nicholson, 1963). El sobrenadante final se disolvió en agua para lavar las esporas (Furlan et al., 1980). El contenido final se vertió en una caja de Petri segmentada donde se realizó el conteo haciendo uso de un estereoscopio. El criterio para determinar la densidad de esporas de todas las especies combinadas fue el mismo: una densidad baja corresponde < 1 esporas/g de sustrato; densidad media correspon-

de 1 – 10 esporas/g de sustrato; y densidad alta corresponde > 10 esporas/g de sustrato (Sieverding, 1983).

2.3 Análisis estadístico

Los resultados se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y a la prueba de Tukey con valores de $p < 0,05$ para las variables estudiadas, haciendo uso del software Infostat V.1.2.0 (2017).

3 Resultados y Discusión

3.1 Parámetros de crecimiento de las plantas trampas con fuentes fosfatadas de fosfato tricálcico (FT) y roca fosfórica (RF)

En lo que respecta a la altura, en las plantas de *C. cajan* se pudo observar que en la interacción del S1 con la fuente fosfatada a 1000 ppm de FT, estas lograron alturas de 79 cm respecto al testigo que obtuvo 59 cm (Tabla 1), mientras que en la misma concentración en el S2 se obtuvo una altura de 59 cm en *C. cajan*, respecto al control que tuvo 51 cm. Con la fuente fosfatada RF tuvieron una altura de 71 cm a la máxima concentración respecto al control que obtuvo 67 cm en el S1. En este sustrato se obtuvieron 47 hojas respecto al testigo con 41 hojas (Tabla 1). De igual manera, en el S2 se alcanzó un patrón similar. En cuanto al número de hojas, en el S1 se obtuvieron 51 hojas a una concentración de 1000 ppm de FT.

Las plantas de *C. dactylon* en S1 y S2 obtuvieron una altura de 25 cm en el tratamiento con 1000 ppm de FT. El número de hojas más alto ocurrió en el S2 y como resultado se obtuvieron 50 hojas en el tratamiento con 1000 ppm de FT, respecto al testigo con 73 hojas en S2. En el S1 se alcanzaron 13 unidades CCI en el tratamiento de 1000 ppm de RF, respecto al testigo que obtuvo 5 unidades CCI. En S1 y S2 para esta especie no se alcanzaron diferencias significativas en las variables evaluadas.

Las plantas de *T. patula* en S1 tuvieron una altura de 6 cm en el tratamiento con 1000 ppm de FT, en comparación al testigo que tuvo un valor de 8 cm. Vale la pena mencionar que en esta especie no hubo muchos cambios respecto a S2, ya que mantuvo un

patrón similar a las otras especies estudiadas. Por otra parte, el tratamiento con 1000 ppm de RF alcanzó una altura de 9 cm, en comparación al testigo que tuvo un valor de 11 cm en S1, mientras que en S1 y S2 las diferencias no fueron significativas.

La especie *P. tomentosa* obtuvo un crecimiento en el S2 de 12 cm de altura en el tratamiento de 1000 ppm RF, comparado con el testigo que alcanzó 17 cm (Tabla 1).

El contenido de clorofila evaluado en las plantas de *C. cajan*, *T. patula* y *P. tomentosa* no presentó diferencias significativas en ambos sustratos (Tabla 1), mientras que la clorofila obtenida en *C. dactylon* en el S1 fue de 14 unidades CCI en el tratamiento de 1000 ppm de FT, respecto al testigo con 7 unidades CCI. Las plantas de *T. patula* obtuvieron en el S2 una clorofila de 11 unidades CCI en el tratamiento de 1000 ppm de FT, en comparación al testigo con 13 unidades CCI. El resto de las especies no tuvieron diferencias estadísticas significativas en ambos sustratos, lo que significa que las especies se adaptan de mejor manera a los sustratos y pueden mantener una mayor capacidad fotosintética y tolerancia al estrés hídrico producido.

Los datos experimentales revelaron grandes diferencias en el crecimiento de las plantas con el S2, siendo este el que más se adaptó a casi todas las especies de plantas evaluadas. El S1 fue el que más influencia tuvo en las plantas de *P. tomentosa*. Estos resultados muestran que la selección de la planta trampa tiene un rol fundamental en la producción de inóculo micorrízico. Estudios recientes demuestran que la planta trampa juega un papel relevante en el ensamblaje de la comunidad micorrízica presente en el inóculo (Van Geel et al., 2018), ya que las especies vegetales y la comunidad fúngica de sitios específicos fortalecen la restauración ecológica (Wu et al., 2020).

3.2 Micorrización de las plantas trampas

La micorrización más alta en el S1 con ambas fuentes fosfatadas ocurrió en plantas de *P. tomentosa* con una micorrización superior al 60%, mientras que la micorrización más baja se dio en *C. cajan*, que alcanzó una micorrización alrededor del 25% en ambas fuentes fosfatadas (Tabla 2).

Tabla 1. Crecimiento de plantas trampas en sustratos S1 y S2 y fuentes de fosfato FT y RF (en concentraciones 0, 150, 500 y 1000 ppm): altura (cm), número de hojas, clorofila (U/CCI).

Plantas trampas	Tratamiento (ppm)	Fosfato tricálcico (FT)					
		S1			S2		
		Altura (cm)	Número de hojas	Clorofila (U/CCI)	Altura (cm)	Número de hojas	Clorofila (U/CCI)
<i>Cajanus cajan</i>	0 (control)	*59 ± 6,5 ^a	*36 ± 1,8 ^a	44 ± 1,1 ^a	51 ± 1,7 ^a	35 ± 0,5 ^a	47 ± 2,2 ^a
	150	*66 ± 1,4 ^b	*43 ± 1,0 ^b	45 ± 0,7 ^a	59 ± 4,4 ^a	40 ± 2,9 ^a	51 ± 1,4 ^a
	500	*61 ± 4,3 ^b	*46 ± 2,7 ^b	39 ± 3,0 ^a	56 ± 2,0 ^a	38 ± 3,4 ^a	44 ± 3,9 ^a
	1000	*79 ± 1,4 ^b	*51 ± 2,3 ^b	48 ± 4,1 ^a	59 ± 1,5 ^a	39 ± 3,2 ^a	51 ± 0,9 ^a
<i>Cynodon dactylon</i>	0 (control)	23 ± 1,7 ^a	65 ± 4,0 ^a	*7 ± 0,3 ^b	27 ± 1,2 ^a	*73 ± 0,3 ^b	9 ± 0,8 ^a
	150	19 ± 1,2 ^a	55 ± 3,7 ^a	*6 ± 1,8 ^a	28 ± 1,1 ^a	*64 ± 8,0 ^b	19 ± 5,1 ^a
	500	23 ± 2,0 ^a	61 ± 3,6 ^a	*14 ± 3,6 ^b	26 ± 0,6 ^a	*51 ± 2,6 ^a	16 ± 1,0 ^a
	1000	25 ± 1,1 ^a	63 ± 5,3 ^a	*14 ± 4,8 ^b	25 ± 1,0 ^a	*50 ± 3,4 ^a	15 ± 0,5 ^a
<i>Tagetes patula</i>	0 (control)	8 ± 0,5 ^a	22 ± 1,1 ^a	12 ± 0,9 ^a	9 ± 0,3 ^a	25 ± 2,0 ^a	*13 ± 0,0 ^b
	150	8 ± 1,0 ^a	22 ± 1,3 ^a	14 ± 4,0 ^a	10 ± 0,5 ^a	22 ± 0,6 ^a	*11 ± 0,2 ^b
	500	7 ± 1,8 ^a	20 ± 0,6 ^a	16 ± 5,0 ^a	8 ± 0,6 ^a	23 ± 1,3 ^a	*12 ± 1,1 ^b
	1000	6 ± 0,0 ^a	20 ± 0,6 ^a	19 ± 3,1 ^a	9 ± 0,5 ^a	24 ± 1,1 ^a	*11 ± 1,1 ^a
<i>Plectranthus tomentosa</i>	0 (control)	13 ± 2,0 ^a	64 ± 2,4 ^a	13 ± 2,8 ^a	14 ± 1,1 ^a	*70 ± 0,0 ^a	15 ± 4,4 ^a
	150	13 ± 1,7 ^a	68 ± 4,3 ^a	16 ± 0,3 ^a	11 ± 1,1 ^a	*74 ± 0,6 ^b	17 ± 0,5 ^a
	500	9 ± 0,6 ^a	58 ± 4,0 ^a	11 ± 1,9 ^a	11 ± 0,8 ^a	*80 ± 1,7 ^c	15 ± 3,6 ^a
	1000	12 ± 2,0 ^a	60 ± 7,6 ^a	15 ± 2,9 ^a	12 ± 0,5 ^a	*76 ± 0,8 ^c	18 ± 0,1 ^a
Roca fosfórica (RF)							
<i>Cajanus cajan</i>	0 (control)	67 ± 1,1 ^a	41 ± 1,2 ^a	44 ± 1,1 ^a	63 ± 4,3 ^a	41 ± 1,2 ^a	46 ± 1,1 ^a
	150	60 ± 1,8 ^a	42 ± 1,4 ^a	45 ± 0,9 ^a	52 ± 0,6 ^a	36 ± 1,4 ^a	46 ± 1,0 ^a
	500	58 ± 6,0 ^a	43 ± 4,5 ^a	43 ± 1,7 ^a	65 ± 2,5 ^a	42 ± 4,5 ^a	49 ± 2,0 ^a
	1000	71 ± 4,9 ^a	47 ± 3,7 ^a	42 ± 1,3 ^a	61 ± 0,3 ^a	41 ± 3,7 ^a	50 ± 0,4 ^a
<i>Cynodon dactylon</i>	0 (control)	20 ± 1,7 ^a	*68 ± 4,0 ^a	*5 ± 1,1 ^a	30 ± 0,0 ^a	67 ± 2,6 ^a	13 ± 0,2 ^a
	150	23 ± 1,2 ^a	*49 ± 0,6 ^a	*20 ± 2,7 ^b	28 ± 0,6 ^a	64 ± 2,6 ^a	21 ± 8,7 ^a
	500	22 ± 0,3 ^a	*44 ± 0,8 ^b	*13 ± 2,0 ^b	27 ± 1,3 ^a	68 ± 4,9 ^a	19 ± 3,1 ^a
	1000	22 ± 2,0 ^a	*63 ± 2,6 ^b	*13 ± 1,7 ^b	28 ± 1,0 ^a	59 ± 6,2 ^a	16 ± 2,5 ^a
<i>Tagetes patula</i>	0 (control)	11 ± 2,0 ^a	21 ± 1,7 ^a	18 ± 1,9 ^a	9 ± 0,6 ^a	20 ± 0,6 ^a	*14 ± 0,8 ^b
	150	11 ± 0,8 ^a	20 ± 1,1 ^a	14 ± 1,0 ^a	9 ± 0,5 ^a	22 ± 1,7 ^a	*13 ± 0,9 ^b
	500	10 ± 3,1 ^a	22 ± 1,1 ^a	16 ± 1,6 ^a	8 ± 1,0 ^a	22 ± 1,1 ^a	*12 ± 0,5 ^b
	1000	9 ± 3,0 ^a	22 ± 1,3 ^a	17 ± 1,7 ^a	9 ± 1,3 ^a	24 ± 1,3 ^a	*15 ± 0,4 ^b
<i>Plectranthus tomentosa</i>	0 (control)	13 ± 1,2 ^a	66 ± 4,0 ^a	12 ± 1,3 ^a	*17 ± 0,8 ^b	*73 ± 1,6 ^a	18 ± 2,2 ^a
	150	10 ± 1,2 ^a	59 ± 3,3 ^a	12 ± 4,0 ^a	*13 ± 0,8 ^a	*79 ± 2,4 ^b	18 ± 2,5 ^a
	500	10 ± 0,3 ^a	63 ± 6,6 ^a	9 ± 1,1 ^a	*15 ± 1,1 ^b	*84 ± 0,6 ^b	15 ± 1,3 ^a
	1000	10 ± 1,0 ^a	58 ± 3,0 ^a	7 ± 1,5 ^a	*12 ± 0,5 ^a	*72 ± 3,0 ^a	18 ± 0,9 ^a

Sustratos: S1= arena, cascarilla de arroz y vermiculita, S2: arena, cascarilla de arroz y turba; FT= Fosfato tricálcico, RF= Roca fosfórica. Valores promedios ± el error estándar, las comparaciones están realizadas según la fuente fosfatada utilizada * Letras distintas en la misma hilera indican diferencias significativas según test de Tukey (p<0.05).

Las especies *C. dactylon* y *T. patula* obtienen porcentajes similares, en donde destaca la concentración de 150 ppm de FT y RF, pues ambas especies alcanzan valores más altos de micorrización. La especie *P. tomentosa* en el S2 fue la que obtuvo mayor porcentaje de micorrización, obteniendo 71 y 74% en el tratamiento de 1000 ppm con FT y RF respectivamente, en comparación a los testigos que lograron 68 y 63%, lo que demuestra una mayor

afinidad del consorcio micorrízico al sustrato utilizado y al tipo de planta estudiada, respecto al resto de especies vegetales estudiadas.

Muchos reportes han mencionado que la fuente fosfatada podría afectar a las micorrizas del inóculo inicial. Al respecto, la especie que mejor respondió a las más altas concentraciones de fuente fosfatadas (FT y RF) fue *P. tomentosa*, lo que puede deberse a

la disponibilidad de P influenciado por el pH (Lu et al., 2019). Los patrones de absorción de P pueden diferir acorde a la disponibilidad en el sustrato o el suelo (Stewart et al., 2005). Nuestros resultados evidencian que RF brinda P y otros elementos necesarios para las plantas y la comunidad micorrízica, pues estas interacciones siempre están moduladas por las condiciones del hábitat de las plantas trampas (Hu et al., 2019; Li et al., 2018, 2020). En el sustrato ocurren cambios en la abundancia relativa de ciertas especies de HMA (*Gigasporaceae*, *Glomeraceae*, *Diversisporaceae* y *Acaulosporaceae*), la clave es atribuida a la fertilidad de nutrientes en el micro ecosistema de sustrato para el monitoreo continuo (Xiang et al., 2016).

3.3 Producción de esporas en los sustratos

Este estudio encontró que distintas plantas trampas pueden adaptarse a un inóculo micorrízico y a la composición del sustrato, constituyéndose en un anidamiento específico por afinidad durante el

ciclo de vida de la planta. Esto fue respaldado por las diferencias observadas en la producción de esporas. El hecho de que utilizáramos varias plantas trampas dependientes de micorrizas y un inóculo nativo en estrés hídrico demuestra que estos factores pueden haber aportado significativamente a los efectos sinérgicos en el desarrollo de las plantas trampas. En plantas de *P. tomentosa* crecidas en el S1 se obtuvo mayor número de esporas con valores de 637 y 623 esporas / 100 g de suelo en FT y RF, respectivamente, a una concentración de 1000 ppm respecto a los testigos (T0) que lograron 434 y 438 esporas / 100 g de suelo en FT y RF (Figura 1).

Por otro lado, la especie que menor número de esporas obtuvo fue *C. cajan* con 195 y 198 esporas / 100 g de suelo en FT y RF respectivamente, a una concentración de 1000 ppm, en comparación a los T0 que alcanzaron 211 y 166 esporas / 100 g de suelo en FT y RF, respectivamente. Las otras especies tuvieron comportamientos similares en los tratamientos con 150 y 500 ppm de fuentes fosfatadas.

Tabla 2. Porcentajes de micorrización de raíces de las plantas trampas en los sustratos S1 y S2, y las fuentes de fosfatos FT y RF (en concentraciones 0, 150, 500 y 1000 ppm).

Plantas trampas	Tratamiento (ppm)	Porcentaje de micorrización (%)			
		FT		RF	
		S1	S2	S1	S2
<i>Cajanus cajan</i>	0	27±2,5 ^c	25±2,8 ^c	35±1,3 ^f	33±2,5 ^d
	150	25±1,7 ^b	32±1,0 ^d	41±3,5 ^g	18±0,6 ^a
	500	31±2,0 ^e	23±1,3 ^b	29±2,2 ^d	31±3,3 ^d
	1000	22±0,9 ^a	31±4,2 ^d	24±0,7 ^b	32±0,7 ^d
<i>Cynodon dactylon</i>	0	39±1,9 ^f	39±2,7 ^d	42±1,7 ^g	38±0,0 ^e
	150	46±3,6 ⁱ	47±2,4 ^e	43±1,7 ^c	34±2,8 ^d
	500	42±1,3 ^g	34±2,8 ^d	34±2,4 ^f	42±3,2 ^e
	1000	45±2,4 ^h	31±4,2 ^e	38±2,6 ^f	48±0,7 ^f
<i>Tagetes patula</i>	0	63±1,7 ^l	42±1,1 ^g	60±1,8 ^l	51±0,0 ^e
	150	71±3,2 ^l	50±1,6 ^f	62±5,2 ^l	45±2,0 ^e
	500	45±5,4 ^h	45±1,3 ^e	55±3,5 ^k	45±3,8 ^e
	1000	46±5,5 ⁱ	46±1,8 ^e	49±1,9 ^j	40±4,0 ^e
<i>Plectranthus tomentosa</i>	0	68±4,9 ^l	68±3,1 ^h	67±2,4 ^l	63±0,6 ^h
	150	63±1,3 ^l	79±1,9 ^h	61±1,6 ^l	75±2,4 ^h
	500	65±3,5 ^l	77±2,5 ^h	67±2,6 ^l	79±3,1 ^h
	1000	69±1,3 ^l	71±6,1 ^h	69±4,2 ^l	74±1,0 ^h

Sustratos: S1= arena, cascarilla de arroz y vermiculita; S2= arena, cascarilla de arroz y turba; FT= Fosfato tricálcico, RF= Roca fosfórica, Valores promedios ± el error estándar, las comparaciones están realizadas según la fuente fosfatada utilizada * Letras distintas en la misma hilera indican diferencias significativas según test de Tukey (p<0.05).

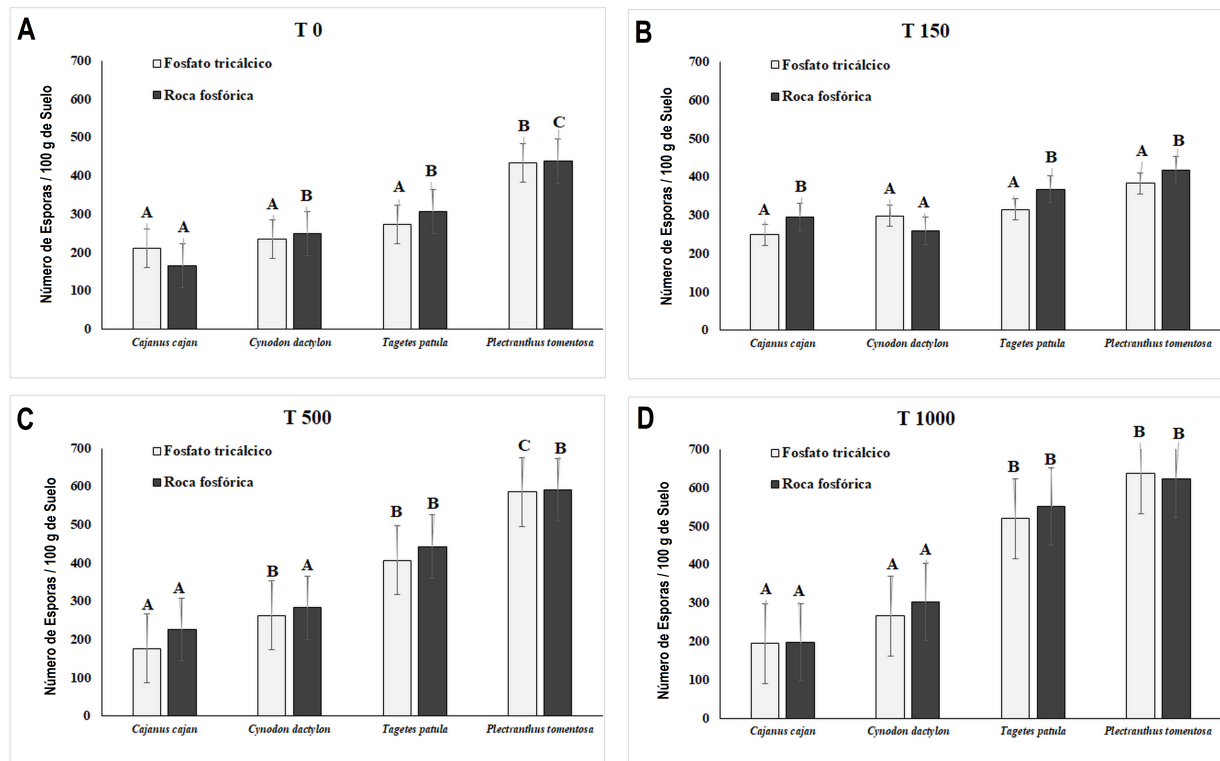


Figura 1. Esporas producidas en el sustrato 1; A) Tratamiento 0 (testigo), B) Tratamiento 150 ppm, C) Tratamiento 500 ppm, D) Tratamiento 1000 ppm. Los límites de las barras representan el error estándar con un intervalo de confianza del 95 %. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas según test de Tukey ($p < 0,05$).

Las plantas de *P. tomentosa* crecidas en el S2 lograron un mayor número de esporas con valores de 612 y 623 esporas / 100 g de suelo en FT y RF, respectivamente, a una concentración de 1000 ppm, respecto a T0 que lograron 426 y 506 esporas / 100 g de suelo en FT y RF (Figura 2). La especie con menor número de esporas fue *C. cajan* con valores de 256 y 238 esporas / 100 g de suelo en FT y RF respectivamente, a una concentración de 1000 ppm, respecto a T0 que lograron 187 y 133 esporas / 100 g de suelo en FT y RF respectivamente. Las otras especies tuvieron patrones similares en los tratamientos con 150 y 500 ppm de fuertes fosfatadas.

Los resultados demuestran que *P. tomentosa* presentó una mayor micorrización de raíces al quinto mes con micorrización superior al 60 y 70% en FT y RF, respectivamente donde se observaron las estructuras infectivas propias de HMA (Figura 3). Lo anterior sugiere una complementariedad eficaz al momento de seleccionar una planta trampa para el uso biotecnológico o para la restauración de suelos

contaminados. Las plantas trampa que enfrentan múltiples factores de estrés y al ser inoculadas con distintas especies de micorizas son más eficientes que aquellas que no han sido inoculadas o repotenciadas con mayor diversidad de géneros de HMA (Crossay et al., 2019). Encontramos que la altura, el contenido de clorofila y la biomasa de las plantas trampa responden al tipo de sustrato utilizado y a la fuente fosfatada (FT o RF). Estos resultados concuerdan con los reportes de plantas inoculadas con micorizas que incrementan la fotosíntesis, la expansión radicular, la absorción de agua y los nutrientes (Selvakumar et al., 2018). Esta información es relevante para el criterio de selección de la planta trampa, puesto que un indicador de rendimiento aceptable en la producción de biomasa puede estimular o retardar la colonización micorrízica, y esto se traduce en producción de esporas (Liu and Wang, 2003).

La densidad de plantas trampa también se considera un indicador limitante, debido a que las plan-

tas compiten por el P inorgánico en los sustratos, lo que podría mejorar la producción de esporas (Fabińska et al., 2020), en específico las plantas que macollan como es el caso de *C. dactylon*.

Independiente de las variaciones de nutrientes, la red fúngica de los HMA mantiene a las plantas trampa con un suministro constante de P, siendo estos administradores exitosos de los recursos

(Van't Padje et al., 2021b). En los patrones de colonización se ha demostrado que el tiempo y requerimiento de nutrientes de la planta trampa tienen un rol importante, debido a que estos son muy dinámicos y difíciles de predecir en condiciones naturales, por lo que constituye un desafío investigar las relaciones anfitrión-simbiote que sean medibles y confiables con la realidad de las asociaciones naturales (Van't Padje et al., 2021a).

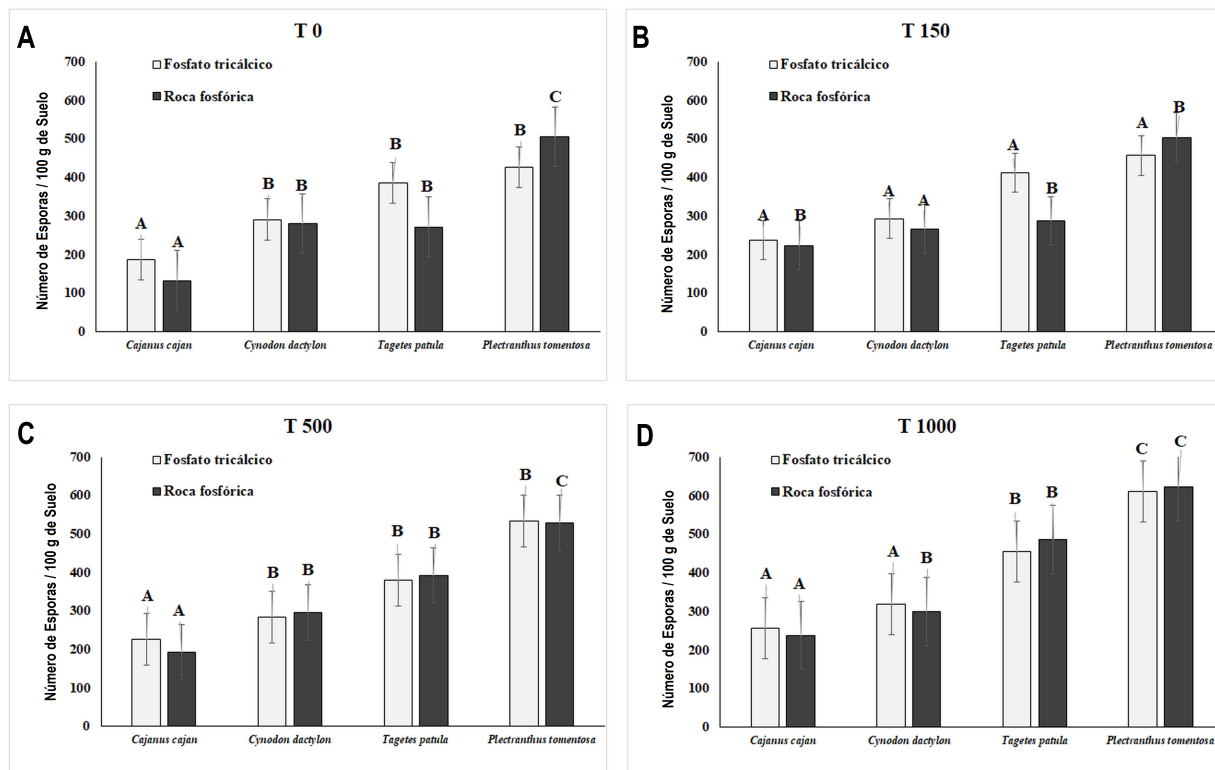


Figura 2. Esporas producidas en el sustrato 2; A) Tratamiento 0 (testigo), B) Tratamiento 150 ppm, C) Tratamiento 500 ppm, D) Tratamiento 1000 ppm. Los límites de las barras representan el error estándar con un intervalo de confianza del 95 %. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas según test de Tukey ($p < 0,05$).

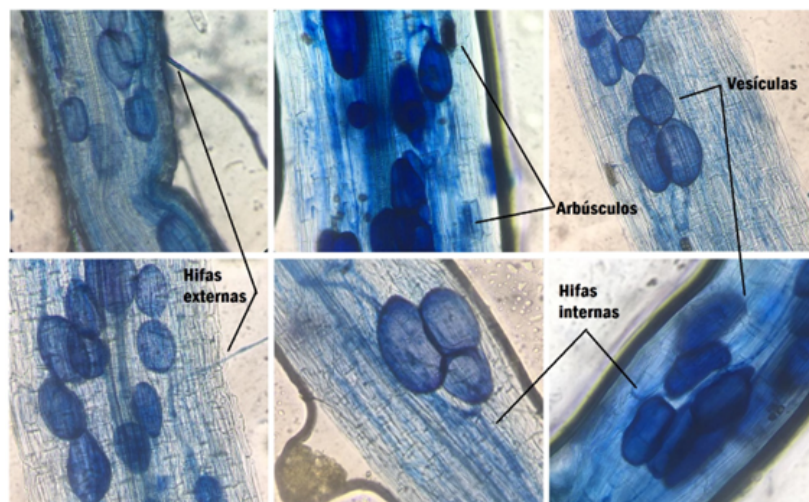


Figura 3. Raíces micorrizadas de *P. tomentosa* observadas en un microscopio óptico con una magnificación de 400X, a los 120 días de la inoculación.

4 Conclusiones

De las cuatro plantas trampa evaluadas la que mejor respondió al consorcio micorrízico fue la especie de *Plectranthus tomentosa*. Esta especie posee características prometedoras para la producción de inóculo micorrízico, independiente del tipo de sustrato utilizado. La planta trampa de *Cajanus cajan* fue el hospedero menos eficiente en la producción de esporas de HMA. La dosificación de las fuentes fosfatadas no afectó a la colonización micorrízica ni a la producción de esporas de las especies en estudios, pero sí afectó su crecimiento.

Agradecimientos

Al personal del Centro de Investigaciones Biotecnológicas CIBE-ESPOL, quienes facilitaron la ejecución del proyecto; agradecemos a la Corporación Ecuatoriana para el Desarrollo de la Investigación y la Academia (CEDIA), por su apoyo financiero al presente proyecto.

Contribución de los autores

J.N.M.: Conceptualización, Escritura- borrador original, Metodología. K.O.F.: Investigación, Curación de datos. R.O.A.: Escritura- revisión y edición, Análisis formal, Recursos, Visualización. M.B.A.: Admi-

nistración de proyecto, Supervisión, Adquisición de financiación.

Referencias

- Alarcón, A. and Ferrera-Cerrato, R. (2003). Aplicación de fósforo e inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en el crecimiento y estado nutricional de *Citrus volkameriana* tan & pasq. *Terra Latinoamericana*, 21(1):91–99. Online: <https://n9.cl/78cwt>.
- Covacevich, F., Marino, M. A., and Echeverría, H. E. (2006). The phosphorus source determines the arbuscular mycorrhizal potential and the native mycorrhizal colonization of tall fescue and wheatgrass. *European Journal of Soil Biology*, 42(3):127–138. Online: <https://n9.cl/alej7>.
- Crossay, T. and Majorel, C., Redecker, D., Gensous, S., Medevielle, V., Durrieu, G., Yvon Cavaloc, Y., and Amir, H. (2019). Is a mixture of arbuscular mycorrhizal fungi better for plant growth than single-species inoculants? *Mycorrhiza*, 29(4):325–339. Online: <https://n9.cl/d6jg5>.
- Davison, J., García de León, D., Zobel, M., Moora, M., Bueno, C. G., Barceló, M., Gerz, M., León, D., Meng, Y., Pillar, V. D., Sepp, S.-K., Soudzilovskaia, N. A., Tedersoo, L., Vaessen, S., Vahter, T.,

- Winck, B., and Öpik, M. (2020). Plant functional groups associate with distinct arbuscular mycorrhizal fungal communities. *New Phytologist*, 226(4):1117–1128. Online:<https://n9.cl/8dae6>.
- Deepika, S. and Kothamasi, D. (2015). Soil moisture—a regulator of arbuscular mycorrhizal fungal community assembly and symbiotic phosphorus uptake. *Mycorrhiza*, 25(1):67–75. Online:<https://n9.cl/kvt2bz>.
- Fabiańska, I., Pesch, L., Koebke, E., Gerlach, N., and Bucher, M. (2020). Neighboring plants divergently modulate effects of loss-of-function in maize mycorrhizal phosphate uptake on host physiology and root fungal microbiota. *PloS one*, 15(6):e0232633. Online:<https://n9.cl/puj1p>.
- Furlan, V., Bartschi, H., and Fortin, J. (1980). Media for density gradient extraction of endomycorrhizal spores. *Transactions of the British Mycological Society*, 75(2):336–338. Online:<https://n9.cl/7iufjh>.
- Galindo Pardo, F. V., Fortis Hernández, M., Preciado Rangel, P., Trejo Valencia, R., Segura Castruita, M., and Orozco Vidal, J. A. (2014). Caracterización físico-química de sustratos orgánicos para producción de pepino (*Cucumis sativus* L.) bajo sistema protegido. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(7):1219–1232. Online:<https://n9.cl/e1xc>.
- Gao, C., Montoya, L., Xu, L., Madera, M., Hollingsworth, J., Purdom, E., Huttmacher, R. B., Dahlberg, J. A., Coleman-Derr, D., Lemaux, P. G., and Taylor, J. W. (2019). Strong succession in arbuscular mycorrhizal fungal communities. *The ISME Journal*, 13(1):214–226. Online:<https://n9.cl/x4aa4>.
- Gerderman, J. and Nicholson, T. (1963). Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46(2):235–244. Online:<https://n9.cl/cd3na>.
- Hu, J., Cui, X., Wang, J., and Lin, X. (2019). The non-simultaneous enhancement of phosphorus acquisition and mobilization respond to enhanced arbuscular mycorrhization on maize (*Zea mays* L.). *Microorganisms*, 7(12):651. Online:<https://n9.cl/3yzdx>.
- Koske, R. E. and Gemma, J. N. (1995). Vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation of hawaiian plants: a conservation technique for endangered tropical species. *Pacific Science*, 49(2):181–191. Online:<https://n9.cl/mkat7>.
- Li, X., Xu, M., Christie, P., Li, X., and Zhang, J. (2018). Large elevation and small host plant differences in the arbuscular mycorrhizal communities of montane and alpine grasslands on the tibetan plateau. *Mycorrhiza*, 28(7):605–619. Online:<https://n9.cl/nlc48>.
- Li, X., Xu, M., Li, X., Christie, P., Wagg, C., and Zhang, J. (2020). Linkages between changes in plant and mycorrhizal fungal community composition at high versus low elevation in alpine ecosystems. *Environmental Microbiology Reports*, 12(2):229–240. Online:<https://n9.cl/86n4p>.
- Liu, R. and Wang, F. (2003). Selection of appropriate host plants used in trap culture of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 13(3):123–127. Online:<https://n9.cl/0nd60>.
- López-Hidalgo, H., Martínez-González, J. C., Balseca-Guzmán, D., Gusqui-Vilema, L., and Cienfuegos-Rivas, E. (2018). Crecimiento inicial de dos variedades de gandul (*Cajanus cajan*) en el trópico de ecuador. *Abanico Veterinario*, 8(2):33–46. Online:<https://n9.cl/e3si3t>.
- Lu, N., Xu, X., Wang, P., Zhang, P., Ji, B., and Wang, X. (2019). Succession in arbuscular mycorrhizal fungi can be attributed to a chronosequence of *Cunninghamia lanceolata*. *Scientific Reports*, 9:18057. Online:<https://n9.cl/g6i6p>.
- McGonigle, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L., and Swan, J. A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 115(3):495–501. Online:<https://n9.cl/p5l49x>.
- Ramallo da Silva, I., Aragão de Mello, C. M., Ferreira Neto, R. A., Alves da Silva, D. K., de Mello, A. L., Oehl, F., and Costa Maia, L. (2014). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi along an environmental gradient in the brazilian semiarid. *Applied Soil Ecology*, 84:166–175. Online:<https://n9.cl/lgqki>.

- Redha, A., Al-Hasan, R., José, J., Saju, D., and Afzal, M. (2019). The photosynthetic apparatus of *Conocarpus lancifolius* engl. (combretaceae) suffers damage in soil contaminated with heavy metals. *Botany*, 97(3):179–189. Online:https://n9.cl/7i5rr.
- Salas, E. and Blanco, F. (2000). Selección de plantas hospederas y efecto del fosforo para la producción de inoculo de hongos formadores de micorrizas arbusculares por el método de cultivo en macetas. *Agronomía Costarricense*, 24(1):19–28. Online:https://n9.cl/ti1ngp.
- Schmidt, B., Domonkos, M., Şumălan, R., and Biró, B. (2010). Suppression of arbuscular mycorrhiza's development by high concentrations of phosphorous at *Tagetes patula* l. *Research Journal of Agricultural Science*, 42(4):156–162. Online:https://n9.cl/hxyrc.
- Selvakumar, G., Yi, P. H., Lee, S. E., Shagol, C. C., Han, S. G., Sa, T., and Chung, B. N. (2018). Effects of long-term subcultured arbuscular mycorrhizal fungi on red pepper plant growth and soil glomalin content. *Mycobiology*, 46(2):122–128. Online:https://n9.cl/6bumxh.
- Sieverding, E. (1983). Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo arbuscular en el laboratorio. Technical report, Centro Internacional de Agricultura Tropical. CIAT. Online:https://n9.cl/vzyrpk.
- Stewart, L. I., Hamel, C., Hogue, R., and Moutoglis, P. (2005). Response of strawberry to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi under very high soil phosphorus conditions. *Mycorrhiza*, 15(8):612–619. Online:https://n9.cl/6twcd.
- Tedersoo, L., Bahram, M., and Zobel, M. (2020). How mycorrhizal associations drive plant population and community biology. *Science*, 367(6480):eaba1223. Online:https://n9.cl/o4981.
- Van Geel, M., Jacquemyn, H., Plue, J., Saar, L., Kasari, L., Peeters, G., van Acker, K., Honnay, O., and Ceulemans, T. (2018). Abiotic rather than biotic filtering shapes the arbuscular mycorrhizal fungal communities of european seminatural grasslands. *New Phytologist*, 220(4):1262–1272. Online:https://n9.cl/5ra9e.
- Van't Padje, A., Oyarte Galvez, L., Klein, M., Hink, M. A., Postma, M., Shimizu, T., and Kiers, E. T. (2021a). Temporal tracking of quantum-dot apatite across in vitro mycorrhizal networks shows how host demand can influence fungal nutrient transfer strategies. *The ISME journal*, 15(2):435–449. Online:https://n9.cl/evjq0g.
- Van't Padje, A., Werner, G., and Kiers, E. T. (2021b). Mycorrhizal fungi control phosphorus value in trade symbiosis with host roots when exposed to abrupt 'crashes' and 'booms' of resource availability. *The New phytologist*, 229(5):2933–2944. Online:https://n9.cl/bp7i3.
- Wu, S., You, F., Wu, Z., Bond, P., Hall, M., and Huang, L. (2020). Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities across the gradient of alkaline fe ore tailings, revegetated waste rock to natural soil sites. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(1-12):11968–11979. Online:https://n9.cl/e4hgo.
- Xiang, X., Gibbons, S. M., He, J. S., Wang, C., He, D., Li, Q., Ni, Y., and Chu, H. (2016). Rapid response of arbuscular mycorrhizal fungal communities to short-term fertilization in an alpine grassland on the qinghai-tibet plateau. *PeerJ*, 4:e2226. Online:https://n9.cl/z37ke.