



Hongos formadores de micorrizas arbusculares nativos en la granja Agroecológica de  
UNIMINUTO, Villavicencio Meta

Andrea Fernanda Acosta Saldaña

Jorge Luis Cano Perdomo

Marielena Espitia Ramírez

Corporación Universitaria Minuto de Dios

Vicerrectoría Regional Orinoquia

Sede Villavicencio (Meta)

Programa Ingeniería Agroecológica

23 de Mayo de 2022

Hongos formadores de micorrizas arbusculares nativos en la granja Agroecológica  
EKONUCO de UNIMINUTO, Villavicencio Meta

Andrea Fernanda Acosta Saldaña  
Jorge Luis Cano Perdomo  
Marielena Espitia Ramirez

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniero  
Agroecológico

Asesor(a)  
Martha Lucia Velasco Belarcazar  
Bióloga  
MSc Fitopatología

Co Asesor (a)  
Carlos Alberto Hernandez Medina  
Biólogo  
MSc Fitopatología

Corporación Universitaria Minuto de Dios  
Vicerrectoría Regional Orinoquia  
Sede Villavicencio (Meta)  
Programa Ingeniería Agroecológica  
23 de Mayo de 2022  
Dedicatoria

## **Dedicatoria**

El Presente trabajo lo queremos dedicar primeramente a Dios pues nos brindó la fuerza y la sabiduría para afrontar con disciplina y responsabilidad nuestro proceso formativo y también va con especial dedicatoria a nuestros padres y esposa por su incondicional amor y apoyo en todo momento. Por impulsarnos a seguir adelante y nunca desfallecer, llenándonos de valor para recorrer este camino, en el cual hemos adquirido herramientas que enriquecieron continuamente nuestro aprendizaje, enseñándonos con ello a superar los diferentes obstáculos presentes en este proceso. porque nos animaron a emprender y a culminar con éxito esta investigación y así alcanzar una de nuestras más grandes metas. Graduarnos como Ingenieros agroecológicos. También a las personas que contribuyeron de manera emocional y profesional, siendo guías y/o ejemplos, a lo largo de esta ardua etapa, amigos, compañeros, maestros y demás familia.

## **Agradecimientos**

En primera instancia a Dios por permitirnos cumplir una nueva etapa en nuestra vida con su ayuda y compañía, a nuestros padres, esposa e hijo por ser nuestro motor de vida, e impulsarnos a seguir adelante para cumplir nuestros sueños y metas, por acompañarnos en todo momento llenándonos de su amor incondicional. A nuestra asesora y co asesor de proyecto Martha Lucia Velasco Belalcázar y Carlos Alberto Hernández Medina, en forma muy especial, por la valiosa y desinteresada ayuda, guía, colaboración profesional y apoyo emocional brindado, permitiéndonos así culminar de manera óptima este valioso proyecto. Su orientación, su paciencia y su motivación han sido un ítem fundamental dentro de nuestra formación como investigadores y profesionales. A nuestras familias, compañeros y amigos por su compañía y colaboración a lo largo de este proceso. También A los diferentes docentes por su entrega y compromiso, además por todos los conocimientos adquiridos que nos contribuyen tanto a nivel personal como profesional, Por último, pero no menos importante a la Corporación Universitaria Minuto De Dios (UNIMINUTO) por permitirnos realizar este tipo de proyectos investigativos y tener diferentes semilleros dentro del programa.

## Tabla de contenido

	<b>Pag.</b>
Lista de tablas .....	7
Lista de figuras.....	8
Resumen.....	11
Introducción .....	13
<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>15</b>
1 Objetivos.....	15
1.1 Objetivo general.....	15
1.2 Objetivos específicos .....	15
<b>CAPITULO II</b> .....	<b>16</b>
2 Problemática .....	16
2.1 Antecedentes .....	16
2.2 Estado Actual del problema.....	18
2.2.1 Preguntas problemas .....	20
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>21</b>
3 Justificación.....	21
<b>CAPÍTULO IV</b> .....	<b>23</b>
4 Marco teórico.....	23
4.1 La rizosfera .....	23
4.2 ¿Qué son las micorrizas arbusculares? .....	23
4.3 Clasificación de las micorrizas morfología y fisiología .....	24
<b>CAPITULO V</b> .....	<b>27</b>
5 Materiales y métodos.....	27
5.1 Área de estudio .....	27
5.2 Subdivisión y descripción de las zonas de estudio .....	28
5.3 Muestreo de suelos.....	28
5.4 Análisis químico de los suelos y cálculo del índice de relación de los parámetros con el número de esporas.....	29
5.5 Extracción de esporas de las muestras de suelo.....	30
5.6 Clasificación e identificación de esporas.....	32

5.7	Generación del banco de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares.....	34
5.8	Diseño experimental .....	36
CAPITULO VI.....		37
6	Resultados y discusión.....	37
6.1	Cuantificación de la densidad de esporas de HMA de suelo rizosférico.....	37
6.2	Géneros de hongos formadores de micorrizas arbusculares nativos encontrados en las zonas de estudio. ....	40
6.3	Caracterización química del suelo y determinación de la relación de los parámetros del suelo con el número de esporas encontrado.....	47
6.4	Generación del banco de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares.....	51
CAPITULO VII .....		54
7	Conclusiones.....	54
CAPITULO VIII.....		55
8	Referencias. ....	55
9	ANEXOS .....	62

**Lista de tablas**

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> Coordenadas y altitud sobre el nivel del mar de los distintos puntos de toma de muestra en las zonas de estudio. Resultados de pH y numero de esporas en 100 g de suelo.....	38
<b>Tabla 2.</b> Especies/morfoespecies encontradas en cada una de las zonas de estudio. Clasificación taxonómica e información de la figura que representa la espora de la morfoespecie.....	41
<b>Tabla 3.</b> Resultados del análisis de suelo y del cálculo de correlación de Spearman, valor de la correlación y probabilidad de esta.....	48
<b>Tabla 4.</b> Resultados del número de esporas en cada una de las tres repeticiones según zona estudio.....	62

## Lista de figuras

	Pag.
<b>Figura 1.</b> Vista del área de la Granja agroecológica UNIMINUTO, diferenciando las zonas muestreadas y los diferentes puntos en los cuales se tomaron las muestras de suelo. Nomenclatura utilizada para el marcaje de los puntos <b>B</b> : Zona de Bosque, <b>P</b> : zona de pastizal, <b>Z1</b> : Sector 1, <b>Z2</b> : Sector 2, <b>Z3</b> : Sector 3, <b>M1</b> : Muestra 1, <b>M2</b> : Muestra 2. ....	27
<b>Figura 2.</b> Toma de muestras del suelo rizosférico para la extracción de esporas y el análisis químico: ( <b>A</b> y <b>B</b> ) en zona de pasturas, ( <b>C</b> y <b>D</b> ) en zona de Bosque.....	29
<b>Figura 3.</b> Proceso inicial de la extracción de esporas de HMA. <b>A)</b> Tamizaje de suelo. <b>B)</b> Rotulado de muestras. <b>C)</b> Pesaje de 100 g/suelo).....	31
<b>Figura 4.</b> Proceso de recolección de suelo tamizado para separación de esporas de HMA por gradiente de concentración. <b>A)</b> Traspaso de material en tubos de falcón <b>B)</b> Adición de solución azucarada <b>C)</b> Centrifugación.....	31
<b>Figura 5.</b> Proceso de selección de esporas y conteo al estereoscopio. <b>A)</b> Observación, conteo y pesca/succión de morfo tipos de esporas de HMA, <b>B)</b> Separación de morfo tipos de esporas y ubicación en tubos ependorf de 2ml.....	33
<b>Figura 6.</b> Recolección del material para la generación del sustrato del banco de esporas de HMA. <b>A)</b> Empacado de suelo en bolsas para esterilización. <b>B)</b> Esterilización del suelo en autoclave tipo olla.....	35
<b>Figura 7.</b> Materia prima y preparación de macetas para posterior siembra, propagación y establecimiento de banco de esporas HMA. <b>A).</b> Sustrato esterilizado. <b>B).</b> Semillas. <b>C).</b> Siembra.....	37

**Figura 8.** Comparación del número promedio de esporas en 100 g de suelo, entre la zona de Bosque y Pastizal de la granja agroecológica UNIMINUTO.....39

**Figura 9.** Número promedio de esporas en 100 g de suelo, encontrado en cada uno de los tres sectores de las dos zonas de estudio.....43

**Figura 10.** Esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares encontradas asociadas a ambas zonas de estudio: A) *cf Acaulospora denticulata*, B) *Acaulospora* sp. 2, C) *Acaulospora* sp. 7, D) *Gigaspora* sp. 2, E) *Gigaspora* sp. 3, F) *Gigaspora* sp. 4, G) *Claroideoglosum* sp. 1, H) *Claroideoglosum* sp. 2, I) *Funneliformis* sp. 1, J) *Glomus* sp. 1, K) *Glomus* sp. 3, L) *Glomus* sp. 7, M) *Glomus* sp. 8, N) *Glomus* sp. 12, Ñ) *Sclerocystis* sp. 2.....44

**Figura 11.** Esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares encontradas de manera exclusiva en zona de Bosque: A) *cf Acaulospora scrobiculata*, B) *Acaulospora* sp. 1, C) *Acaulospora* sp. 3, D) *Acaulospora* sp. 4, E) *Acaulospora* sp. 5, F) *Acaulospora* sp. 6, G) *Acaulospora* sp. 8, H) *Acaulospora* sp. 9, I) *Acaulospora* sp. 10, J) *Gigaspora* sp. 1, K) *Gigaspora* sp. 5, L) *Scutellospora* sp. 1, M) *Scutellospora* sp. 2, N) *Glomus* sp. 2, Ñ) *Glomus* sp. 4, O) *Glomus* sp. 5, P) *Glomus* sp. 6, Q) *Glomus* sp. 9, R) *Glomus* sp. 10, S) *Glomus* sp. 11, T) *Sclerocystis* sp. 1, U) *Paraglosum* sp. 1, V) *Paraglosum* sp. 2.....45

**Figura 12.** Esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares encontradas de manera exclusiva en zona de Pastizal o pradera: A) *Gigaspora* sp. 6, B) *Gigaspora* sp. 7, C) *Scutellospora* sp. 3, D) *Scutellospora* sp. 4, E) *cf Glomus geosporum*, F) *Glomus* sp. 13, G) *Glomus* sp. 14, H) *Glomus* sp.....46

**Figura 13.** Resultado del cálculo de correlación de spearman entre el N° de esporas y el pH del suelo en la zona de estudio.....49

**Figura 14.** Establecimiento Banco de esporas de HMA en la Granja agroecológica UNIMINUTO. A) materiales para establecimiento del banco de esporas HMA. B) Suelo estéril para inóculo de esporas HMA. C) Siembra en semilla de *B. decumbes*. D) Inóculo de esporas HMA. E) Sellado

con suelo estéril el inóculo y semilla. F) Banco de espora establecido. G) Germinado de *B. decumbes* con el inóculo de espora HMA. A sus 4 días de pregerminado.....52

**Figura 15.** Banco de bioaumentación de esporas HMA en el hospedero *Brachiaria decumbes* establecido en la granja agroecológica UNIMINUTO.....53

## Resumen

En los suelos de la Orinoquía existe gran complejidad de microorganismos, como los hongos formadores de micorrizas arbusculares-HMA, que además de su presencia resultan relevantes por las distintas interacciones que generan y los beneficios que prestan dentro de los ecosistemas. Es por ello, que la presente investigación pretendió caracterizar las poblaciones de HMA nativos asociados a dos zonas con diferente grado de intervención antrópica en la granja Agroecológica de UNIMINUTO, Villavicencio-Meta. Para ello, se tomaron seis muestras de suelo rizosférico en cada zona y se realizó extracción de esporas mediante la técnica de decantación y tamizado en húmedo, seguido de centrifugación en gradiente de sacarosa al 70%. Las esporas encontradas fueron contadas, seleccionadas e identificadas. Se hizo análisis químico de los suelos y se determinó la relación de los parámetros con el número de esporas (Correlación spearman). Así mismo se realizó una comparación de medias (prueba U Mann Whitney) encontrándose diferencias estadísticamente significativas ( $p$  valor: 0,0001) entre la densidad de esporas presentes las dos zonas de estudio, siendo el bosque el lugar de mayor densidad (7640,5 esporas/100 g de suelo) en comparación con la zona de pastizal (3323,1). Se encontró correlación entre el número de esporas y cada uno de los 18 parámetros evaluados, menos con el pH. Se identificaron un total de 46 morfo especies de esporas pertenecientes a los géneros *Glomus* (16), *Acaulospora* (12), *Gigaspora* (7), *Scutellospora* (4), *Claroideoglomus* (2), *Sclerocystis* (2) y *Funneliformis* (1). Lo encontrado es una contribución a la generación de soluciones para enfrentar problemas presentes en los agroecosistemas de esta manera.

**Palabras clave:** Autóctonos, microorganismos, Orinoquia, rizosfera, sostenibilidad.

## Abstract

In the soils of the Orinoquía there is a great diversity of microorganisms, such as the arbuscular mycorrhizal fungi-AMF, which in addition to their presence are relevant for the different interactions they generate and the ecosystem services they provide. For this reason, this research aimed to characterize the populations of native AMF associated with two areas with different degrees of anthropic intervention in the Agroecological farm of UNIMINUTO, Villavicencio-Meta. For this, six samples of rhizosphere soil were taken in each area and spore extraction was performed using the decanting and wet sieving technique, followed by centrifugation in a 70% sucrose gradient. The spores found were counted, selected and identified. Chemical analysis of the soils was carried out and the relationship of the parameters with the number of spores was determined (Spearman Correlation). Likewise, a comparison of means (Mann Whitney U test) was carried out, finding statistically significant differences (p value: 0.0001) between the density of spores present in the two study areas, with the forest being the place with the highest density. (7640.5 spores/100 g of soil) compared to the grassland area (3323.1). A correlation was found between the number of spores and each of the 18 parameters evaluated, except for pH. A total of 46 morphospecies of spores belonging to the genera *Glomus* (16), *Acaulospora* (12), *Gigaspora* (7), *Scutellospora* (4), *Claroideoglosum* (2), *Sclerocystis* (2) and *Funneliformis* (1) were identified. What was found is a contribution to the generation of solutions to face problems present in agroecosystems in this way.

**Keywords:** Autochthonous, microorganisms, Orinoquia, rhizosphere, sustainability.

## Introducción

En los suelos de la Orinoquía, así como la mayoría de área de las diferentes regiones de Colombia y a nivel global, existe gran diversidad de microorganismos en el suelo que, además de su presencia, resultan relevantes por las distintas interacciones que generan y los servicios ecosistémicos que prestan. “Se estima que un 1 g de suelo puede contener de  $10^5$  a  $10^6$  células microbianas, entre ellas las fúngicas, teniendo en cuenta que los hongos presentes en el suelo son responsables de múltiples funciones ecológicas importantes (Landinez *et al.*, 2020)”. Una de ellas, es la que sucede entre las raíces de cerca del 70 al 90% de las plantas existentes e importantes para la agricultura, y algunos hongos (hongos formadores de micorrizas arbusculares-HMA) los cuales poseen la capacidad de generar una simbiosis denominada “Micorriza”, la cual, como resultado de la interacción permite que las raíces de la planta tengan mayor exploración radicular mejorando la absorción de nutrientes y de agua (Vega, 2011; Suchitra *et al.*, 2012; Bernola *et al.*, 2018), entre muchos otros beneficios.

Algunos investigadores afirman que los HMA son clave en la agricultura sustentable (Bernola *et al.*, 2018), puesto que, dichos organismos asumen una función importante en los ciclos de nutrientes como “el carbono orgánico (C), en forma de azúcares y lípidos (Jiang *et al.*, 2017; Luginbuehl *et al.*, 2017., Bernola *et al.*, 2018); la transferencia de fósforo (P) y nitrógeno (N) a las plantas por parte o con ayuda de los hongos en mención (Smith y Read, 2008; Bernola *et al.*, 2018)”, entre otros mecanismos que contribuyen a proteger a las plantas de manera directa e indirecta, para que sean menos susceptibles a enfermedades.

Los hongos formadores de micorrizas presentan un gran rango de adaptabilidad a condiciones ambientales y una amplia distribución geográficas, por lo que, diferentes investigaciones sobre este tema mencionan, la necesidad de incluir estos microorganismos en los cultivos agrícolas, forestales y pecuarios, debido a que su presencia garantiza la fertilidad y estructura del suelo.

Por lo anterior, se evidencia en diferentes investigaciones, la riqueza y complejidad de especies de HMA; dado que tiene un impacto importante frente a la productividad de las plantas,

debido a que esta simbiosis, que se desarrolla entre los HMA y las raíces de las plantas, genera unos efectos positivos en las especies vegetales como lo son: el crecimiento y nutrición. (Reyes, 2019). Dada la importancia que tienen las micorrizas dentro de los sistemas agrícolas y en la preservación del suelo y del ecosistema. Se busca identificar las diferentes especies de micorrizas presentes en los suelos de los llanos, ampliando las posibilidades de manejo de este recurso microbiológico y a su vez aumentar y/o mantener la presencia de este en dichos suelos, con el fin de contribuir en la generación de soluciones para enfrentar problemas presentes en los agroecosistemas (Sanchez de Prager *et al.*, 2010).

## **CAPÍTULO I**

### **1 Objetivos**

#### **1.1 Objetivo general**

Caracterizar las poblaciones de hongos formadores de micorrizas arbusculares nativos asociados a dos zonas con diferente grado de intervención antrópica en la granja Agroecológica de la Corporación Universitaria Minuto de Dios- UNIMINUTO, en Villavicencio Meta.

#### **1.2 Objetivos específicos**

- Determinar los géneros de hongos formadores de micorrizas arbusculares nativos asociados a pasto *Brachiaria* sp., de la zona de pastoreo y plantas de la zona de bosque secundario presente en la Granja agroecológica.
- Establecer la relación de la presencia o abundancia de hongos formadores de micorrizas arbusculares nativos frente a las condiciones ambientales y de suelo de las áreas de la granja que son objeto de estudio.
- Generar un banco de esporas de hongos formadores de micorrizas nativas que pueda ser utilizado en procesos prácticos y otras investigaciones a futuro.

## CAPITULO II

### 2 Problemática

#### 2.1 Antecedentes

Son diversos y numerosos los estudios realizados en torno a los hongos micorrizógenos, su efecto e interacciones. Algunos de ellos, buscan entender y cuantificar las bases de dichas interacciones, como por ejemplo, el estudio realizado por Noda (2009), el cual manifiesta la importancia que tienen los microorganismos. Debido a que algunos pueden generar una simbiosis micorrízica la cual es un fenómeno fundamental para la vida, esta actividad que se genera entre los hongos y las plantas es reconocido científicamente, por su incremento en la toma de los nutrientes y el agua, también generar un mayor crecimiento y rendimiento de los cultivos, La efectividad de las micorrizas arbusculares encontradas, fue altamente variable y esto depende de diferentes factores como; el pH, fertilizantes, temperatura del suelo y su humedad. Los hongos (*Glomus manihotis* y *Entrophospora colombiana*) fueron las especies más positivas para los pastos, en suelos que presentaron bajo pH y altos contenidos de elementos como; Nitrógeno, Fósforo y potasio. Las especies de pastos con suelos que presentan bajo contenido de fósforo, dependen demasiado con la ausencia de las micorrizas en estos suelos, en diferencia con los suelos con altos contenidos de P, los cuales con la inoculación con los HMA, combinada con roca fosfórica, aumentó los niveles de formación y el establecimiento adelantado de las plantas, demostrando así la rentabilidad y los beneficios que nos brinda los HMA y sus asociaciones con la mayoría de las plantas y los otros hongos benéficos, incrementando con ello el volumen en la raíz.

De la misma forma, Bárbaro et al., (2017) en Catamarca-Argentina, quiso esbozar aspectos fundamentales y morfo fisiológicos de la micorrización ya que en el estudio se realizó la observación microscópica de estructura fúngicas tiñendo la raíz de las plantas, el cual realizaron mediante metodologías de clasificación y conteo sobre cuadrícula con estereoscopio. Donde se encontraron esporas endo micorrízicas con estructuras como; hifas, arbusculos y vesículas y hongos endofíticos septados oscuros. Estos hallazgos permitieron cuantificar que la colonización micorrízica representa un 97% en raíces, asimismo la aparición de arbusculos, vesículas y la frecuencia de aparición de microesclerocios oscila entre 34, 21, y 11% en las raíces evaluadas.

Por otra parte, se encuentran estudios en los que se observa el proceso de desarrollo, e incidencia de las condiciones del suelo en las poblaciones de micorrizas. Díaz et al., (2016) explica, los primeros estudios desarrollados por el Dr. Mario Honrubia y Concepción Azcón Aguilar en la tesis doctoral: sobre el estudio de micorrizas vesículo arbusculares en suelos afectados por actividades mineras donde encuentran una variación de población de hongos arbusculares relacionados con la planta hospedera. A pesar de la degradación producida por actividades mineras que reduce la población de estos organismos, determinando una permanencia notoria de estos hongos en el suelo, reflejada en la cantidad de esporas y del grado de micorrización en raíces, por tanto, se dedujo que los hongos no desaparecen por completo porque tiene adaptación al estrés en el que se someten, también se logran identificar y aislar especies de *Glomus etunicatum*, *G. invermaium*, *G. geosporum*, *G. mosseae*, *G. pansihlos*, *G. diaphanum*, *Entrophospora infrequens*, *Sclerocystis sinuosa* (Díaz y Honrubia, 1993).

Así mismo, Mahecha (2015) en su investigación evaluó el efecto del sistema de manejo monocultivo vs policultivo de los factores edáficos sobre la riqueza y diversidad de hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA). Se tomaron muestras en diferentes plantaciones en zonas de alta producción (Monocultivo) y baja producción (Policultivo) donde evidencio alto contenido de fósforo edáfico y halló entre 11 y 18 morfoespecies de HMA en promedio por finca tanto en agricultura intensiva como en el policultivo también, evidencia, que el pH fue un factor correlacionado con la riqueza y el índice de Margalef, siendo los monocultivos los que presentaron suelos menos ácidos y por lo tanto con mayor riqueza de especies.

Teniendo un contexto global de como se aprecia el accionar de la simbiosis dada entre hongo y planta se menciona una investigación llevada a cabo en Costa Rica por el autor Blanco (1997), en la cual se plantea que algunos de los beneficios de la micorriza son; la absorción de minerales por parte de la planta favorece en el aumento de la fotosíntesis, ayuda en la distribución de minerales, contribuye en la fijación de carbono hacia las raíces, beneficia en el aumento en biomasa y entre otras bondades dirigidas a una estabilidad del suelo. Las micorrizas son un agente estabilizador de numerosos factores de los agroecosistemas. En contexto a lo mencionado anteriormente, me permito tomar las palabras de Blanco en caracterizar como uso alternativo de las micorrizas arbusculares como herramienta emergente en las nuevas sociedades consciente de

la importancia del cuidado de los ecosistemas y alternativas aplicables a nuestras actividades agrícolas.

Por su parte, a nivel nacional se han desarrollado estudios como el realizado por Pérez et al., (2012) en el municipio de Corozal, Sucre, en el que se caracterizaron las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) en rizosfera del pasto Colosuana (*Bothriochloa pertusa* (L.) A. Camus) en unas fincas ganaderas donde realizaron aislamiento de esporas HMA con zonas agroecológicas del municipio con el fin de determinar la proporción (%) de colonización en raíces del pasto, allí se encontraron variedad de especies de hongos de los géneros *Glomus* y *Gigaspora*. Así mismo se reconoce que estos microorganismos generan beneficios ambientales en los agroecosistemas ya que mejora la estructura del suelo y sus propiedades químicas.

La amazonia colombiana se considera que es donde mayor albergue de morfoespecies de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) se presentan, debido al clima tropical, y el nivel de importancia para el desarrollo y subsistencia de las plantas, para ello, que Cardona et al., (2008) estudiaron los hongos formadores de micorrizas arbusculares, a partir de colectas de suelo rizosférico y raíces de ají. (*Capsicum* sp). Estas colonizaciones se evaluaron con varias metodologías modificadas y basadas en la propuesta de Sieverding (1983) en la cual, las plantas de ají muestreadas incidieron con una baja y alta simbiosis micorrícica. Se encontró que las endomicorrizas del género *Glomus*, son las que tienen mayor presencia en la zona de estudio, así mismo, son consideradas como un banco de reserva importante de HFMA en las chagras y huertos habitacionales (Cardona et al., 2008).

## **2.2 Estado Actual del problema**

A nivel mundial la agricultura convencional por medio del modelo de producción agrícola intensiva tiene la finalidad de aumentar los rendimientos de cultivos, por ello utiliza insumos de síntesis química como son los fertilizantes, plaguicidas y herbicidas, a pesar de que los agroquímicos tienen efectos nocivos tanto para la salud de las personas como para el ambiente.

Debido a que genera el desgaste de los recursos naturales y los servicios ecosistémicos por la emisión de contaminantes al ambiente, llegando a un extremo preocupante pues compromete la calidad de vida y la supervivencia de las generaciones presentes y futuras; así como el propio crecimiento económico, por la forma que tenían frente al manejo de estos insumos agrícolas. (Calderón, et al., 2019). Frente al apuro del hombre por aumentar la frontera agrícola, a generado la utilización en mayor proporción los insumos químicos en la búsqueda mejorar la fertilidad del suelo, sin embargo, estos tienden a perderse en gran proporción por efecto de lixiviación o volatilización, ocasionando consigo incremento exagerado en la contaminación ambiental del medio (Cabrales, et al., 2017).

Así mismo el manejo agrícola sufre varios problemas ambientales por la descomunal aplicación de fertilizantes químicos, que por lixiviación, infiltración entre otros llegan a generar afectación en los cuerpos de agua y causando su eutrofización debido al desconocimiento de la diversidad de microorganismos que posee el suelo y su posible uso como alternativas nutricionales y de protección en estos sistemas productivos. La implementación de fertilizantes sin el análisis previo que se le debe realizar al suelo para poder conocer las condiciones en que se encuentra y las necesidades nutricionales del mismo ha conducido a un desbalance iónico de estos, dificultando a su vez el desarrollo para las especies vegetales que viven en dicho suelo y sus todos los microorganismos asociados a este. La asociación entre las micorrizas arbusculares y las plantas, pueden generar múltiples beneficios ya que tiene la capacidad de optimizar el crecimiento de la raíz debido a la unión de estas con las micorrizas, aumentando así la superficie de absorción del sistema radicular, permitiendo la acumulación de nutrientes, solubilización de minerales poco solubles como el fósforo, cobre y zinc, generando así un mejor funcionamiento en las raíces alimentadoras, además de producir una mayor resistencia a enfermedades y plagas (León, 2006; Sánchez, et al., 2009).

Uno de los retos dentro de la agricultura, es abastecer con suficiente cantidad de nutrientes los sistemas agrícolas, de tal manera que se pueda asegurar altos rendimientos en la producción, generando el menor impacto para el ambiente. Asimismo, se requiere seguir evaluando la integración entre los (HFMA) con las plantas (Cruz et al., 2014), ya que se conoce que estos organismos que están presentes en el suelo desempeñan un papel preponderante en el desarrollo

agrícola. De acuerdo con lo anterior, se hace necesario conocer las especies nativas con las que se cuenta en los suelos de los llanos orientales y así poder implementar alternativas con un enfoque agroecológico, utilizando microorganismos benéficos para los sistemas productivos, pues estos contribuyen en la mitigación de impactos ambientales, ayuda también a la disminución de costos de producción, permitiendo a su vez mejorar la calidad y cantidad del producto, haciéndolos más rentables, al disminuir el consumo de energía, también favorecen el antagonismo como el control biológico de organismos fitopatógenos y garantizan el bienestar social de las familias y comunidades bajo una agricultura amigable con el ambiente, asegurando alimentos no tóxicos o mínimamente tóxicos.

### ***2.2.1 Preguntas problemas***

¿Cuáles son las especies de hongos formadores de micorrizas arbusculares asociadas a pastos *Brachiaria* y el bosque en la granja agroecológica Uniminuto?

¿Existe diferencia entre la diversidad de hongos formadores de micorrizas arbusculares entre la zona donde se encuentra pasto *Brachiaria* con respecto al bosque de la granja Uniminuto?

¿Qué relación tiene la composición fisicoquímica de los suelos de las zonas de estudio, con respecto a la abundancia y permanencia de los HFM, presentes en estos?

## CAPÍTULO III

### 3 Justificación

Esta investigación nace a partir de la poca información que hay sobre los hongos formadores de micorrizas con los que cuentan los suelos en la región de los llanos orientales, y es así cómo se genera la necesidad de caracterizar las poblaciones de hongos formadores de micorrizas arbusculares nativos; asociados a dos zonas con diferente grado de intervención antrópica en la granja Agroecológica EKONUÑO. Determinando los morfo tipos encontrados e identificando los géneros nativos que se encuentran asociados a la zona de pasturas (pasto *Brachiaria* sp) y la zona de bosque secundario.

Los sistemas de producción agropecuaria tienen efectos en el medio ambiente, pues la producción en las plantas se ve limitada por exceso de metales pesados en los suelos ya que hay baja fertilidad, en especial el fósforo (P). El cual está sujeto a fenómenos de fijación, por ello, el acceso de las plantas a los fosfatos es corto por la presencia de aluminio que no permite el crecimiento de las especies vegetales generando toxicidad. (Dominguez, 2018)

De acuerdo con lo anterior, los hongos formadores de micorrizas arbusculares son microorganismos del suelo importantes dentro de los agroecosistemas ya que estos hongos pueden realizar asociaciones mutualistas hasta con un 90% de especies vegetales y así contribuir en el crecimiento de las plantas, aumento de la biomasa y reduciendo también las deficiencias nutricionales, la protección contra patógenos que se transmiten por el suelo y en la mejora de la estabilidad del suelo y aumento de la biomasa. (Tao, *et al.*, 2004; Suchitra, *et al.*, 2012 y Trejo. *et al.*, 2013).

A si mismo esta relación vesiculo- arbuscular con los suelos de distintos agroecosistemas ha sido la base de varias investigaciones con el fin de obtener alternativas de fertilización de manera ecológica y a su vez ampliar el conocimientos sobre estos hongo beneficiosos para ayudar a la nutrición de la planta y en general, su crecimiento, absorción de nutrientes poco móviles y

producción. Además, crea un manto en la raíz de planta para que tenga mayor tolerancia al estrés hídrico y ataque a patógenos (Medina y Azcon, 2010; Dominguez, 2018)

Como futuros ingenieros agroecólogos es de gran importancia investigar y trabajar con organismos como las micorrizas que cubren un enfoque agroecológico, cumplen roles como controladores biológicos y biorremediadores; a través del control de plagas y enfermedades y permitiendo mejoras en la absorción de minerales, nutrientes y el agua dentro de los sistemas agrícolas. Otra de las razones que nos motiva en esta investigación es generar un banco de esporas de hongos formadores de micorrizas nativas que pueda ser utilizado en procesos prácticos y otras investigaciones a futuro. Es por ello por lo que con este estudio queremos contribuir con el germoplasma que puede ser aplicado en otros sistemas agrícolas de la granja UNIMINUTO y así incentivar el buen uso de estos microorganismos en la agricultura de nuestro departamento.

## CAPÍTULO IV

### 4 Marco teórico

#### 4.1 La rizosfera

Según lo descrito por Reyes (2011), la rizosfera es considerada la zona de interacción dinámica entre la micro, meso y macrofauna, el suelo y la zona radicular de las plantas del medio, creando simbiosis favorables entre sí; como lo es el crecimiento poblacional de los microorganismos presentes de hasta dos y tres veces mayor a suelo no rizosférico, el aumento y disponibilidad de nutrientes asimilables para las plantas, factores considerables que se destacan de suelos con poca vida edáfica.

Las consideraciones del uso alternativo de la simbiosis que coexiste entre planta y hongo permiten alternativas tangibles de rehabilitación del medio en el que interactúan, tal y como lo expresa Gardezi *et al.*, (2015) los HFM fomentan el establecimiento de la relación simbiótica con la mayoría de las plantas y de esta coexistencia se da como resultado la optimización de la nutrición mineral de la misma, se ayuda con el control a patógenos, se permite tolerancia a sequías, estimula la productividad y cuando las micorrizas se relacionan con bacterias fijadoras de nitrógeno y leguminosas, estas fomenta la biorremediación, el control biológico (nematodos y hongos patógenos); permitiendo una favorabilidad en la agricultura, permitiendo alcanzar una producción sostenible y más ecológica.

#### 4.2 ¿Qué son las micorrizas arbusculares?

Las micorrizas, en su connotación gramatical griego, (mico- myces = hongo y rrizas - rhiza = raíz) resultante de una relación de simbiosis entre un hongo y raíces de una planta (relación micobionte / fitobionte); descrita así, por Albert Bernard F. en 1885, Botánico Alemán. La planta le proporciona microclima y carbohidratos al hongo, a su vez éste le complementa y facilita la captación de agua y nutrientes a la planta huésped; esa correlación del medio biológico, raíces y edáfico, forman una zona denominada rizosfera, esta zona de interrelación se sincroniza a tal punto

que brinda mejoras en sus propiedades físicas y químicas del suelo, mejorando las condiciones del medio. (Sánchez de Prager, 2010).

### **4.3 Clasificación de las micorrizas morfología y fisiología**

Según Sánchez de Prager (2010) afirma que, “la agrupación de micorrizas se da, en base a la colonización en plantas simbióticas, estas se pueden clasificar como: ectomicorrizas, endomicorrizas, ectendomicorrizas, ericoides y las micorrizas arbusculares (MA) y representa una simbiosis en el 80% de las plantas de todos los biomas de nuestro planeta y de ese 80% (fitobionte), un 95% lo constituyen las micorrizas arbusculares”. (p. 45).

Los hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA), presentan ciclos de vida caracterizados por esporas de origen sexual, de micelio externo (extrarradical), micelio interno (intrarradical), forma apresorios, vesículas (algunos géneros), arbúsculos, celulares auxiliares (algunos géneros) y entre otras estructuras únicas de función específica. (Schübler & caminante, 2010, como se citó en Álvarez, 2018, p. 1), las cuales son utilizadas comúnmente para la identificación y clasificación de estas, teniendo cuenta una serie de caracteres diagnósticos como; la forma de hifas ya que estas son diversas, coloración, tamaño y formas. Núñez, (2020).

Recopilando conceptos y publicaciones de los diversos tipos de clasificación de micorrizas arbusculares, tal como lo reporta Gerderman (1970), Harley (1992), Trappe (1996), Siqueira y Franco (1998), citados por Sanchez de Prager (2007), El cual refiere a “dos grandes grupos; la ectomicorriza y la endomicorriza, un tercero en un punto medio, algunos escritores lo definen como ectendomicorrizas.

Las Ectomicorrizas, comprende los bosques de climas templados y boreales, en regiones tropicales y subtropicales, comprendiendo maderables, algunas herbáceas y gramíneas perennes; el cual está constituidas principalmente por Gimnospermas y algunas Angiospermas. Las principales características de las Ectomicorrizas (ECM), presentes en los HMA, son:

A). Algunas Hifas del hongo simbiote, que envuelven externamente los segmentos de raíces colonizadas entretejiéndose alrededor de ellas, formando el denominado manto.

B). Algunas Hifas del hongo simbiote, penetran hasta el interior de la raíz, colonizando los espacios intercelulares de las células corticales, formando así una red de micelio denominada, red de Hartig.

C). Algunos ECM, mediante la formación del manto, conforman los rizomorfos, que se dispersan en el área de la rizosfera.

D). Captura de solutos del suelo, mediante las hifas dispuestas desde el manto en zonas cercanas, pero cuando son distantes, los rizomorfos asumen dicha función, estos a su vez producen cuerpos fructíferos (hipogeos, epigeos) en Basidiomicetos.

Dicho intercambio de solutos entre simbiote y fitobionte se da en las células corticales, a través de la red de Hartig (p. 119).

Las Endomicorrizas, son las de mayor presencia en los distintos biomas conocidos y a su vez este grupo es más cosmopolita en regiones tropicales y subtropicales como en pastizales, árboles con abundante ciclaje de materia orgánica y el fósforo es limitado, sus principales características en las Endomicorrizas están:

A). Por su colonización de las células corticales por el micosimbiote, este vive entre ellas y/o dentro de ellas (Intra - Inter) celular.

B). Hay ausencia del manto en la formación y/o modificación anatómica y citológicas que le deje ver diferenciado fácilmente, caso contrario de la característica de la ectomicorriza.

C). Los micobiontes son de cada phylum diferente, clase y familia. (dependiendo del tipo de endomicorriza).

Así mismo los diversos tipos de endomicorrizas y las presente en las especies vegetales son las micorrizas vesículo - arbusculares (MVA) o también conocidas como Micorrizas arbusculares (MA) entre otras formas especiales como lo son, las orquidoides y Ericoides. (p. 120)

Las Ectendomicorrizas, son un tipo de micorrizas con características de las ectomicorrizas, ejerciendo una relación intraespecífica en células corticales, por medio de las hifas septadas. Sus principales características son:

A). Las Ectendomicorrizas están asociadas a coníferas, plantas de vivero del orden Ericales y de géneros *Mono Tropas*, *Arbutus* y *Arctostaphylos*.

B). Estos hongos son conocidos como los formadores de Ectomicorrizas.

Caso especial designado a la función simbiótica de la ectendomicorriza. (p. 122).

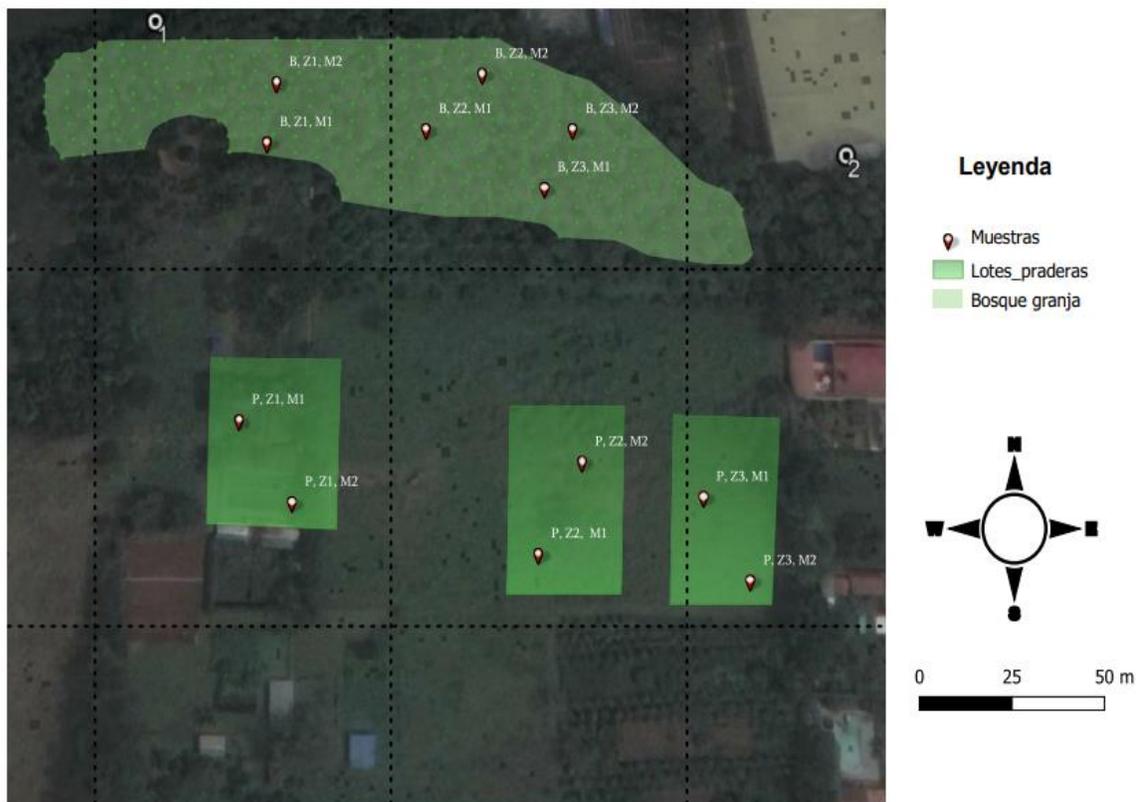
Los tipos de micorrizas, de acuerdo con su morfología y estructura, se clasifican; por hongos Ascomycetes Basidiomycetes y endomicorrizas (Ericoides, Orquidioides, Ectendomicorrizas, Arbusculares) formado por Basidiomycetes y Glomeromycetes (Fernández, 2018).

## CAPITULO V

### 5 Materiales y métodos

#### 5.1 Área de estudio

La investigación se llevó a cabo en la Granja agroecológica de la Corporación Universitaria Minuto de Dios-UNIMINUTO, ubicada en la vereda Barcelona, en Villavicencio- Meta (Colombia), la cual se encuentra ubicada en los puntos cardinales  $4^{\circ}07' 092 \text{ N} - 73^{\circ} 58' 582 \text{ W}$ , a 386 msnm en promedio (**Ver figura 1**). Según la clasificación del clima publicada por Köppen - Geiger es Aw (2022), precisa para Villavicencio una temperatura promedio de  $24^{\circ}\text{C}$ , con precipitaciones de 1120 mm/año y la menor precipitación ocurre en enero hasta con 32 mm y la de mayor precipitación se da en abril, con hasta un promedio de 176 mm.



**Figura 1.** Vista del área de la Granja agroecológica UNIMINUTO, diferenciando las zonas muestreadas y los diferentes puntos en los cuales se tomaron las muestras de suelo. Nomenclatura utilizada para el marcaje de los puntos **B**: Zona de Bosque, **P**: zona de pastizal, **Z1**: Sector 1, **Z2**: Sector 2, **Z3**: Sector 3, **M1**: Muestra 1, **M2**: Muestra 2. Autores (2022).

## 5.2 Subdivisión y descripción de las zonas de estudio

Las muestras de suelo se recolectaron en dos zonas ubicadas en la granja agroecológica: La Zona de Pasto (P) está constituida por 10.500 m<sup>2</sup> de praderas donde predominaba pasto *Brachiaria* sp, la cual es utilizada para la cría y manutención de ganado a baja escala (03 individuos/hectárea) distribuidos en manejo rotacional en seis potreros. La segunda zona estudiada fue el área de la Zona de Bosque (B), la cual comprendió un área aproximada de 600 m<sup>2</sup> de bosque secundario en recuperación, en donde se encuentran principalmente plantas de Yarumo (*Cecropia peltata*), Pimienta (*Piper* sp), Casco de vaca (*Bauhinia picta*), Yopo (*Anadenanthera peregrina*), entre otras variedades de nativas maderables y algunos frutales amazónicos. Cada zona se subdividió en tres sectores, en los cuales, se tomaron dos muestras, es decir, por zona se tomó un total de 6 muestras de suelo.

## 5.3 Muestreo de suelos.

Se realizaron tomas de muestras de suelo rizosférico asociado a zona de pasto *Brachiaria* y zona de bosque presente en la granja agroecológica, la selección estuvo basada en la relación simbiótica que presenta la especie de pasto con los HMA y su densidad basada en el análisis de diversidad y cantidad de los HMA presentes en el bosque de la granja estudio. De las zonas de pasturas (P) y zonas de bosque (B) seleccionadas, se tomaron doce muestras de 1 kg de suelo rizosférico a una profundidad aproximada entre 0-20 cm, como se evidencia en la (Figura 2), el suelo se depositó en bolsas de plástico, se rotularon y se conservaron en una caja (cartón) para su posterior traslado al Laboratorio. Para cada punto de muestreo de suelo se generó una codificación de la siguiente forma: Zona de bosque o pastizal; sector 1, 2 o 3; Muestra 1 o 2. Ejemplo: P-Z1-M2, es el código que representa una muestra de suelo tomada en la zona de Pastizal, sector 1 de 3 y corresponde a la muestra 2.



**Figura 2.** Toma de muestras del suelo rizosférico para la extracción de esporas y el análisis químico: (A y B) en zona de pasturas, (C y D) en zona de Bosque. Autores. (2022).

Posteriormente, se tomó muestras en las mismas zonas estudio para realizar análisis de suelo tanto en la zona de bosque como la zona de praderas, determinando así, las condiciones diferenciales como lo son valores de pH, macro y micronutrientes y entre otras variables para comprender la dinámica de las esporas en dicho medio con incidencia antrópica y en ausencia de esta.

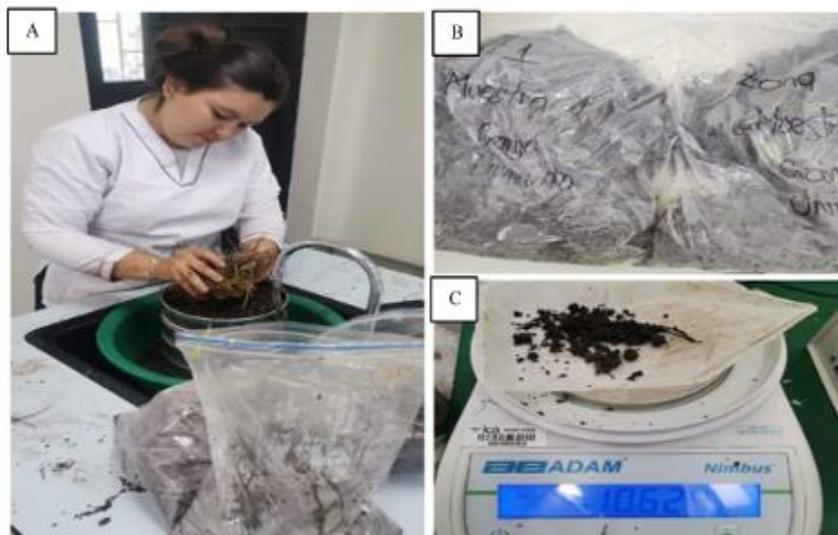
#### **5.4 Análisis químico de los suelos y cálculo del índice de relación de los parámetros con el número de esporas.**

El análisis químico de las muestras fue realizado por la corporación colombiana de investigación agropecuaria (AGROSAVIA), por cada muestra se envió 1 kg de suelo correspondiente por cada sector, (pasturas – bosque) y se determinó niveles de pH, conductividad eléctrica, capacidad de

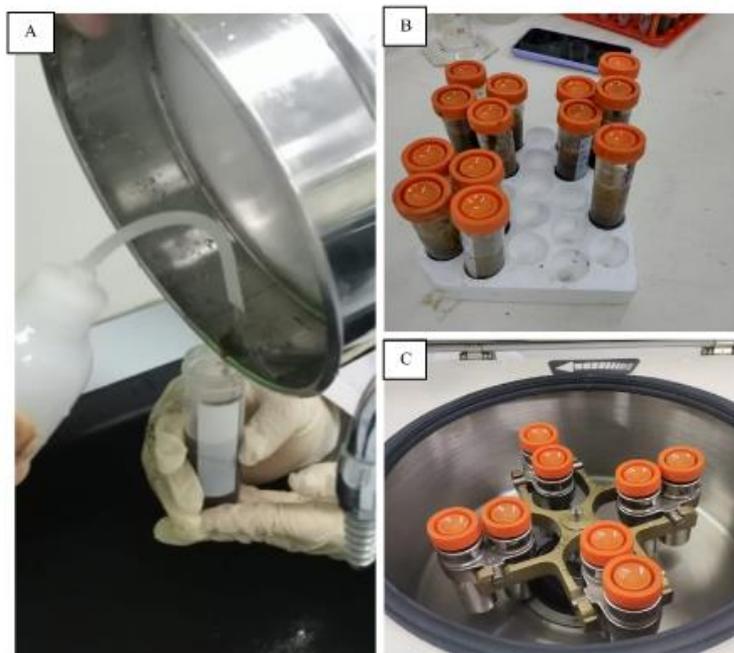
intercambio catiónico porcentaje de materia orgánica (MO) y cantidades de elementos mayores y menores presentes en este suelo. Una vez obtenidos los valores de los parámetros químicos evaluados se procedió a realizar la determinación de la relación entre el número de esporas y los parámetros químicos del suelo mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Spearman.

### **5.5 Extracción de esporas de las muestras de suelo.**

Como se mencionó anteriormente, se recolectaron dos (2) muestras de suelo rizosférico por cada sector de las zonas estudio, para un total de 6 kg por Zona. Estas muestras, fueron debidamente rotuladas, una vez recepcionado el material de trabajo en el laboratorio, se procedió a realizar el proceso de extracción de esporas mediante el método de tamizado en húmedo y decantación, descrito por Sieverding (1993), con modificaciones de Sánchez de Prager et al. (2010), el cual define los siguientes pasos: Se pesaron 100 g de suelo y mediante el método de tamizado en húmedo y decantación como se evidencia en la Figura 3, pasando así por los 3 tamices superpuestos con poros de tamaños (425, 105 y 38  $\mu\text{m}$ ), utilizando abundante agua con el fin de eliminar impurezas, partículas de tamaño inferior y facilitando la separación de las esporas. Se recolectó el suelo que quedó en el tamiz de 38  $\mu\text{m}$  y el de 105  $\mu\text{m}$ , traspasando este material a un tubo Falcón de 50 ml, con la ayuda de una espátula de punta fina, un frasco lavador y agua (Figura 4), luego se adiciona solución azucarada al 70% hasta completar 40 o 45 ml del tubo y se agitó el material y la solución. Se llevaron los tubos a la centrífuga, para realizar la separación de las esporas del suelo mediante el centrifugado a 3250 rpm, por 4 minutos.



**Figura 3.** Proceso inicial de la extracción de esporas de HMA. **A)** Tamizaje de suelo. **B).** Rotulado de muestras. **C).** Pesaje de 100 g/suelo. Autores, (2022).



**Figura 4.** Proceso de recolección de suelo tamizado para separación de esporas de HMA por gradiente de concentración. **A)** Traspaso de material en tubos de falcón **B)** Adición de solución azucarada **C)** Centrifugación. Autores, (2022).

## 5.6 Clasificación e identificación de esporas.

El conteo de esporas se llevó a cabo después de centrifugada la muestra (**Figura 4**), se rescató la fracción que contenía las esporas, previa a un proceso de lavado y retiro del exceso de solución azucarada. Estas fueron depositadas en cajas Petri y llevadas para observación y conteo al estereoscopio (**Figura 5**). Se realizó conteo de esporas, basado en la ecuación propuesta por (Silverding 1984; Gonzales, 1993; Gómez, 1997), expuesta en la guía de Sánchez de Prager *et al.*, (2010).

### **Fórmula utilizada.**

$$N^{\circ} \text{ Esporas} = ((\text{Esporas contadas}) / (\text{Peso de muestra})) \times P_i / P_f \times 100$$

### **Donde:**

**Peso de muestra** = Peso de la muestra de donde se extraen las esporas.

**Pi** = Peso inicial de la muestra usada para determinar la humedad.

**Pf** = Peso final de la muestra usada para determinar la humedad.

Una vez se realizó en conteo total de las esporas en cada muestra, se procedió a separar mediante pesca/succión con jeringa por morfotipos, luego se pasan por alícuotas a la cámara neubauer y se observan al microscopio (**Figura 5**).



**Figura 5.** Proceso de selección de esporas y conteo al estereoscopio. A) Observación, conteo y pesca/succión de morfotipos de esporas de HMA, B) Separación de morfotipos de esporas y ubicación en tubos eppendorf de 2ml. Autores (2022).

Posterior al proceso de aislamiento de esporas, estas se fijaron en placas portaobjetos para su posterior identificación. Se realizaron montajes semipermanentes de las diferentes morfoespecies encontradas, con alcohol polivinílico lactoglicerol (PVLG), con y sin reactivo de Melzer (Schenck y Pérez, 1990). Así mismo como lo describe Moinat *et al.*, (2018) en su técnica de fijación que posteriormente con ayuda de un microscopio realiza la observación y su respectiva identificación de las esporas micorrizas

La identificación de los géneros de hongos micorrícicos arbusculares se basó en las características morfológicas de las esporas, primordialmente el tamaño, el color, conexión hifal, el modo de formación de la espora, formación de o ausencia de sáculos esporíferos, pared y capas, grosor de las hifas, presencia o ausencia de escudos, vesículas, células axilares y forma de la colonización que presentan, entre otros. Siguiendo la metodología expuesta por Sánchez de Prager *et al.*, (2010)

### 5.7 Generación del banco de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares.

Se realizó la recolección del material para la elaboración de sustrato, para crear un banco de bioaumentado de HMA, este material fue recolectado de una zona de cultivo donde estuvo establecido un sistema productivo de maíz, el cual se depositó en bolsas plásticas de 4 kg se recolectaron alrededor de 24 bolsas con material para el sustrato, posteriormente, se trasladó al laboratorio para su desinfección por medio de la autoclave, siendo sometidas a una temperatura de 121°C y 15 lbs/pulg<sup>2</sup> por una hora, (Ver figura 6).



**Figura 6.** Recolección del material para la generación del sustrato del banco de esporas de HMA. **A)** Empacado de suelo en bolsas para esterilización. **B)** Esterilización del suelo en autoclave tipo olla.

Al siguiente día se repitió el mismo procedimiento, con el autoclave con el fin de eliminar cualquier tipo de microorganismo que estuviera presente. Luego se dejó reposar dejándolo regado sobre un mesón cubierto con papel Kraft y posteriormente se envasó dicho suelo en las macetas

ya esterilizadas. Se prepararon 12 macetas por cada zona estudio y la capacidad de estas macetas fue de aproximadamente 5 kg (Ver figura 7).



**Figura 7.** Materia prima y preparación de macetas para posterior siembra, propagación y establecimiento de banco de esporas HMA. A). Sustrato esterilizado. B). Semillas. C). Siembra Autores. (2022).

Después se procedió a realizar la elección de las semillas de las plantas hospederas de HMA, en esta ocasión la especie seleccionada fue la gramínea *Brachiaria decumbens*, de esta especie se seleccionaron las semillas con mejor tamaño. Y se procedió al diseño y establecimiento del banco de esporas mediante la inoculación de esporas HMA y siembra de las semillas de la *Brachiaria decumbens* para la colonización de raíces de la planta hospedera sembrada (ver figura 7).

## 5.8 Diseño experimental

Una vez se seleccionó y se subdividieron las zonas de estudio (Zona de pasturas y la Zona de Bosque) como se describe en el ítem 4.2, se estableció un diseño y un muestreo de suelo completamente al azar en las dos áreas a trabajar. En total de cada zona se obtuvieron 6 muestras de suelo rizosférico. De cada muestra se realizaron 3 eventos de extracción de esporas (3 repeticiones) para desarrollar el análisis de número de esporas en 100 g de suelo tamizado, siguiendo la técnica de extracción y aislamiento de esporas de HMA a partir de suelo y montaje de placas, descrito por Sánchez de Prager (2010). Se realizaron análisis de medias, mediante el análisis estadístico de U Mann Whitney, para comparar si existen diferencias significativas entre el número de esporas de la zona de pasto con respecto a la de bosque.

Para el caso de la medición de pH, está si se realizó en cada una de los 6 puntos donde se tomó las muestras de suelo, por lo que con este dato se realizó la correlación de spearman con respecto al número de esporas. Para el resto de parámetros del suelo, la correlación se realizó con los resultados arrojados por el análisis químico reportado por AGROSAVIA. Dichos procesos o análisis estadísticos se realizó con el programa PAST 4.0.

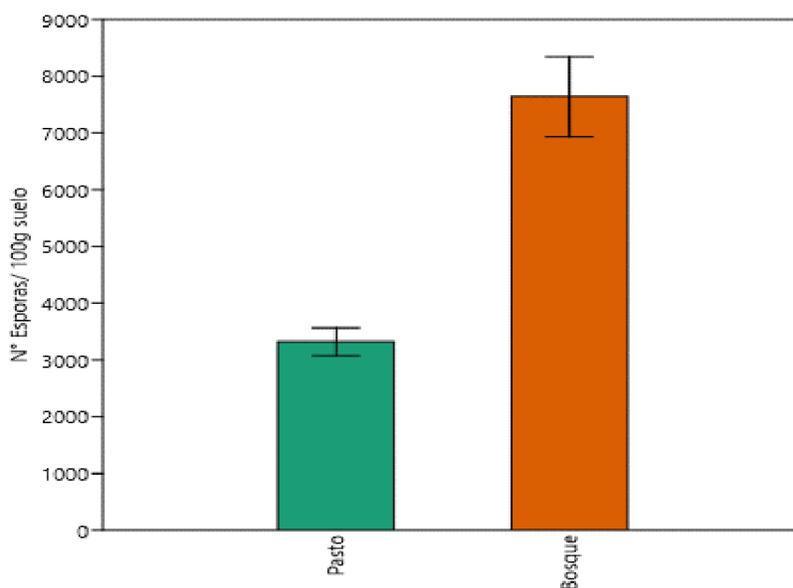
El motivo de selección de las pruebas estadísticas U Mann Whitney y Correlación de Spearman obedeció al comportamiento de los datos obtenidos y el diseño experimental, el cual presentó un modelo no paramétrico, con un tamaño de muestra menor o cercano a 30, según datos, presenta una distribución no Normal, es una comparación de grupos independientes según la clasificación estadística descrita por Flores *et al.*, (2017).

## CAPITULO VI

### 6 Resultados y discusión

#### 6.1 Cuantificación de la densidad de esporas de HMA de suelo rizosférico

Los resultados encontrados posterior a realizar el cálculo del promedio y la desviación estándar del número de esporas de micorrizas encontradas en las 3 repeticiones evaluadas de las 6 submuestras de cada zona tanto de pasturas como las de bosque (36 repeticiones totales en el estudio), indican que de manera general en el bosque se puede encontrar una densidad de 7640,5 esporas/ 100 g de suelo, mientras que en la pradera la densidad es de 3323,1 esporas/ 100 g de suelo (ver **Figura 8**).

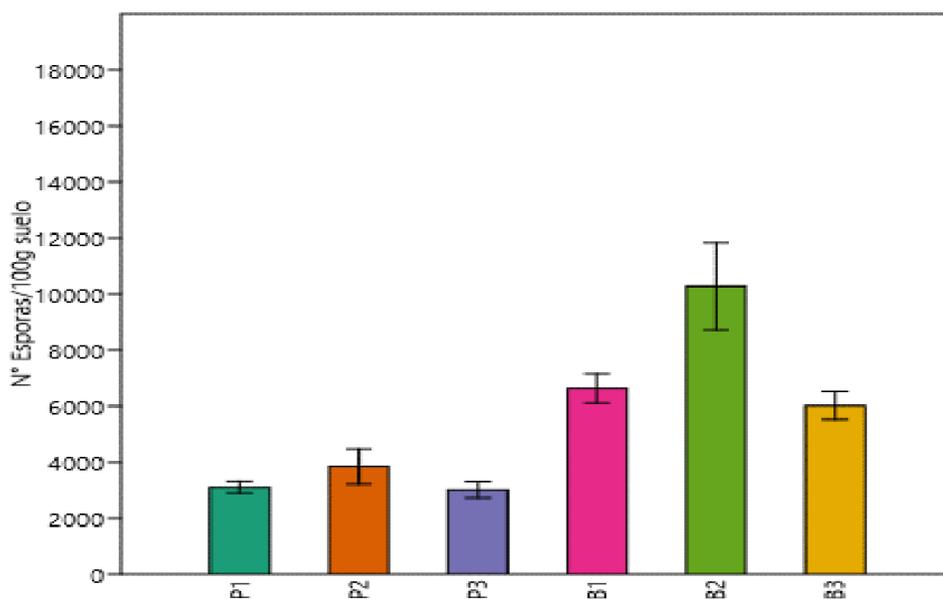


**Figura 8.** Comparación del número promedio de esporas en 100 g de suelo, entre la zona de Bosque y Pastizal de la granja agroecológica UNIMINUTO. Autores, (2022).

**Tabla 1.** Coordenadas y altitud sobre el nivel del mar de los distintos puntos de toma de muestra en las zonas de estudio. Resultados de pH y número de esporas en 100 g de suelo. Autores. (2022).

<b>Localidad/ Zona</b>	<b>Coordenadas</b>	<b>Altura- msnm</b>	<b>pH suelo</b>	<b>N° espora/100 g suelo Promedio ±Desviación estándar</b>
<b>Granja-Pasto-Zona 1- Muestra 1 (P-Z1-M1)</b>	N 04.07149°; W 073.58588	396	4,36	2910 ± 512,6
<b>Granja-Pasto-Zona 1- Muestra 2 (P-Z1-M2)</b>	N 04.07132°; W 073.58584	396	6,01	3297 ± 509,7
<b>Granja-Pasto-Zona 2- Muestra 1 (P-Z2-M1)</b>	N 04.07124°; W 073.58535	397	5,04	2969 ± 743,1
<b>Granja-Pasto-Zona 2- Muestra 2 (P-Z2-M2)</b>	N 04.07142°; W 073.58515	399	5,65	4730 ±1755,7
<b>Granja-Pasto-Zona 3- Muestra 1 (P-Z3-M1)</b>	N 04.07135°; W 073.58489	393	5,86	3035 ±373,7
<b>Granja-Pasto-Zona 3- Muestra 2 (P-Z3-M2)</b>	N 04.07108°; W 073.58459	395	4,90	2997,7 ±1046,7
<b>Granja-Bosque-Zona 1- Muestra 1 (B-Z1-M1)</b>	N 04.07212°; W 073.58554	402	5,14	6024 ±1561,7
<b>Granja-Bosque-Zona 1- Muestra 2 (B-Z1-M2)</b>	N 04.07220°; W 073.58551	402	4,79	7229,3 ±767
<b>Granja-Bosque-Zona 2- Muestra 1 (B-Z2-M1)</b>	N 04.07250°; W 073.58574	404	4,43	7497 ±2008,8
<b>Granja-Bosque-Zona 2- Muestra 2 (B-Z2-M2)</b>	N 04.07243°; W 073.58564	401	4,49	13058 ±2943
<b>Granja-Bosque-Zona 3- Muestra 1 (B-Z3-M1)</b>	N 04.07212°; W 073.58519	405	4,64	6903 ±611,5
<b>Granja-Bosque-Zona 3- Muestra 2 (B-Z3-M2)</b>	N 04.07224°; W 073.58515	403	4,69	5131,7 ±985,2

Después de hacer la comparación de los grupos estudiados mediante la prueba de (U Mann Whitney), se observó que había diferencias estadísticamente significativas ( $p$  valor: 0,0001) entre la densidad de esporas presentes en las muestras analizadas, teniendo en cuenta que en cualquiera de los tres sectores de la zona del bosque se presenta un mayor número de esporas en comparación con cualquiera de los tres sectores de la pradera o pastizal (**ver Figura 9**).



**Figura 9.** Número promedio de esporas en 100 g de suelo, encontrado en cada uno de los tres sectores de las dos zonas de estudio Autores, (2022).

Como se puede observar en la **figura 9** y **tabla 1**, la muestra que presentan mayor densidad de esporas corresponde al Bosque-zona 2 -muestra 2, con valores de esporas), mientras que la de menor densidad fue la de Pasto-zona 1 - muestra 1(R1: 3072) (R2: 2336) (R3: 3322).

La presencia de esporas en la rizosfera de la granja UNIMINUTO ubicada en la altillanuras, se evidenciaron gran diversidad y números de esporas de micorrizas arbusculares, para pradera la densidad es de 3323,1 esporas/ 100 g de suelo, mientras que para bosque se puede encontrar una

densidad de 7640,5 esporas/ 100 g de suelo. Al ver la **figura 9**, se observa que los puntos con mayor densidad de esporas fueron: el codificado como P2 (pastizal sub zona 2) y B2 (Bosque sub zona 2), con 4000 y 10 000 unidades de esporas en cada 100 gramos (**Tabla 1**).

Estos datos, son superiores a los reportados por Pérez *et al.*, (2012), quienes encontraron rangos entre 1500 a 6000 esporas de HMA en suelos de pastos colosua en el municipio de Corozal Sucre, en Colombia. Así mismo Pérez *et al.*, (2013), encontró un máximo de  $1000 \pm 1800$  esporas de HMA en fincas ganaderas del municipio de Tolú, Sucre-Colombia.

Situación similar, en una localidad distinta a Colombia, se encontró lo descrito por Pimentel *et al.*, (2020), en república dominicana en donde en cada una de las 12 fincas evaluadas no se encontró más de 44.45 esporas en promedio en suelos bajo sistema de pastoreo.

## 6.2 Géneros de hongos formadores de micorrizas arbusculares nativos encontrados en las zonas de estudio.

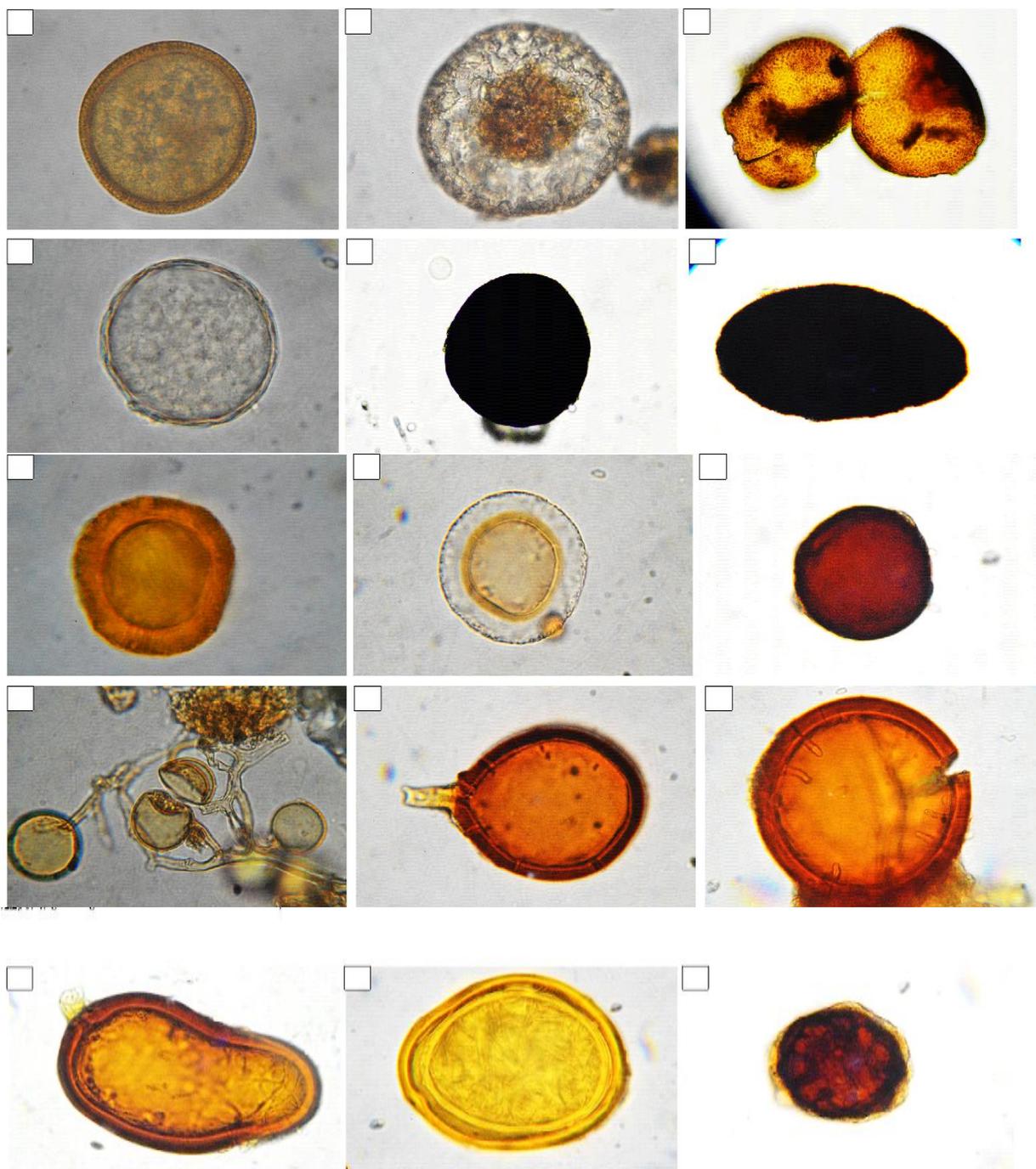
Luego de realizar la separación y posterior identificación, se encontró un total de 46 especies de esporas de HMA en los 12 puntos de muestreo de la granja agroecológica UNIMINUTO (**Ver tabla 2**). Estas morfoespecies se encontraban clasificadas taxonómicamente en tres órdenes (Diversisporales, Glomerales, Paraglomerales). De igual forma se encontró que el género *Glomus* presentó el mayor número de morfos con (16), seguido de *Acaulospora* (12), *Gigaspora* (7), *Scutellospora* (4), *Claroideoglomus* (2), *Sclerocystis* (2) y *Funneliformis* con una (1) morfoespecie (**Ver tabla 2**).

**Tabla 2.** Especies/morfoespecies encontradas en cada una de las zonas de estudio. Clasificación taxonómica e información de la figura que representa la espora de la morfoespecie. Autores. (2022).

Clasificación/identificación			Zona de estudio		Figura
Orden	Familia	Especie/morfoespecie	Bosque	Pastizal	
<b>Diversisporales</b>	<b>Acaulosporaceae</b>	<i>cf Acaulospora denticulata</i>	X	x	10A
		<i>cf Acaulospora scrobiculata</i>	X		11A
		<i>Acaulospora</i> sp. 1	X		11B
		<i>Acaulospora</i> sp. 2	X	x	10B
		<i>Acaulospora</i> sp. 3	X		11C
		<i>Acaulospora</i> sp. 4	X		11D
		<i>Acaulospora</i> sp. 5	X		11E
		<i>Acaulospora</i> sp. 6	X		11F
		<i>Acaulospora</i> sp. 7	X	x	10C
		<i>Acaulospora</i> sp. 8	X		11G
		<i>Acaulospora</i> sp. 9	X		11H
		<i>Acaulospora</i> sp. 10	X		11I
	<b>Gigasporaceae</b>	<i>Gigaspora</i> sp. 1	X		11J
		<i>Gigaspora</i> sp. 2	X	X	10D
		<i>Gigaspora</i> sp. 3	X	X	10E
		<i>Gigaspora</i> sp. 4	X	X	10F
		<i>Gigaspora</i> sp. 5	X		11K
		<i>Gigaspora</i> sp. 6		X	12A
		<i>Gigaspora</i> sp. 7		X	12B
		<i>Scutellospora</i> sp. 1	X		11L
<i>Scutellospora</i> sp. 2		X		11M	
<i>Scutellospora</i> sp. 3			X	12C	
<i>Scutellospora</i> sp. 4		X	12D		
<b>Glomerales</b>	<b>Claroideoglomeraceae</b>	<i>Claroideoglomus</i> sp. 1	X	X	10G
		<i>Claroideoglomus</i> sp. 2	X	X	10H
	<b>Glomeraceae</b>	<i>Funneliformis</i> sp. 1	X	X	10I
		<i>cf Glomus geosporum</i>		X	12E
		<i>Glomus</i> sp. 1	X	X	10J
		<i>Glomus</i> sp. 2	X		11N

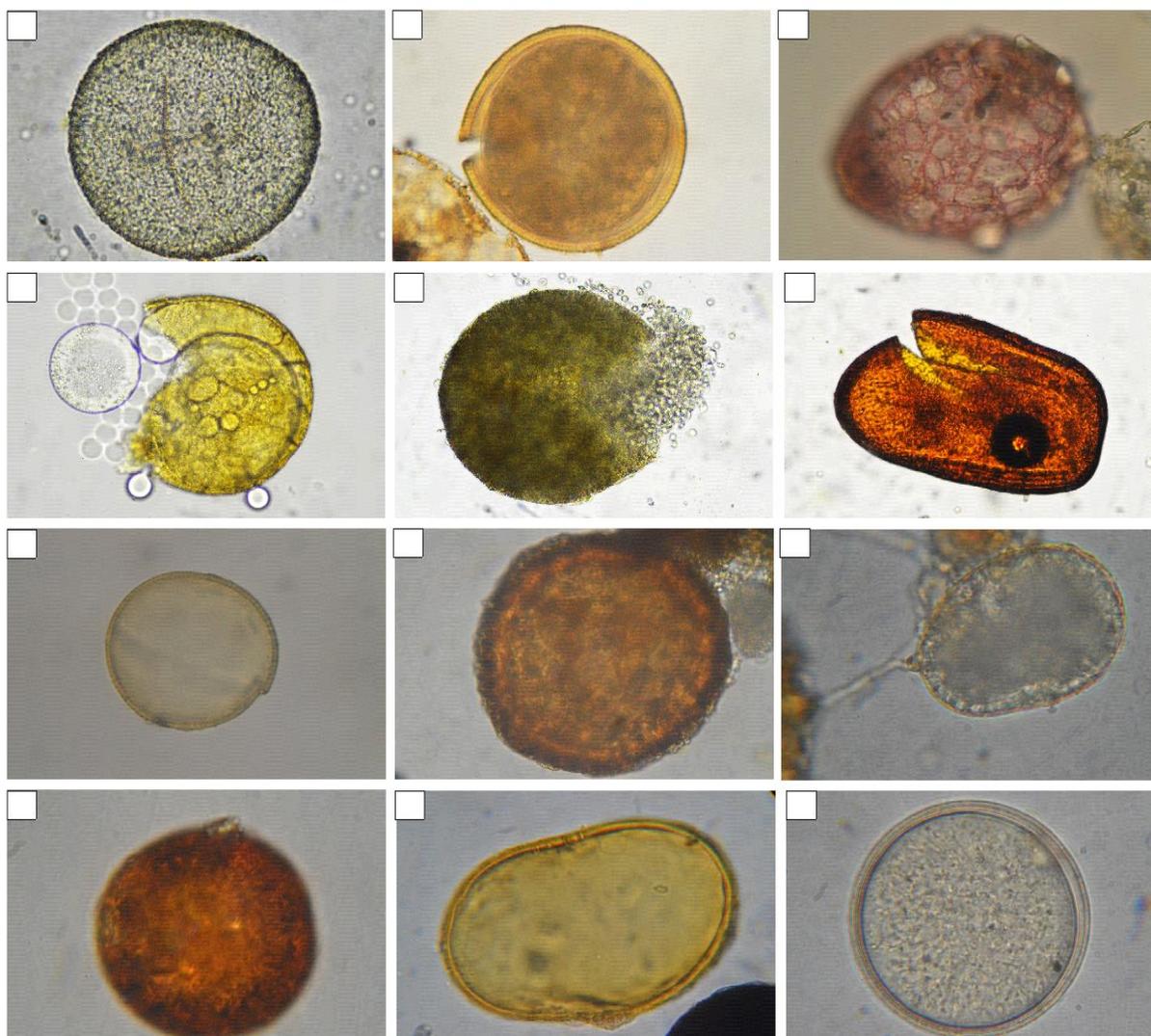
		<i>Glomus</i> sp. 3	X	X	10K
		<i>Glomus</i> sp. 4	X		11Ñ
		<i>Glomus</i> sp. 5	X		11O
		<i>Glomus</i> sp. 6	X		11P
		<i>Glomus</i> sp. 7	X	X	10L
		<i>Glomus</i> sp. 8	X	X	10M
		<i>Glomus</i> sp. 9	X		11Q
		<i>Glomus</i> sp. 10	X		11R
		<i>Glomus</i> sp. 11	X		11S
		<i>Glomus</i> sp. 12	X	X	10N
		<i>Glomus</i> sp. 13		X	12F
		<i>Glomus</i> sp. 14		X	12G
		<i>Glomus</i> sp. 15		X	12H
		<i>Sclerocystis</i> sp. 1	X		11T
		<i>Sclerocystis</i> sp. 2	X	X	10Ñ
<b>Paraglomerales</b>	<b>Paraglomeraceae</b>	<i>Paraglomus</i> sp. 1	X		11U
		<i>Paraglomus</i> sp. 2	X		11V

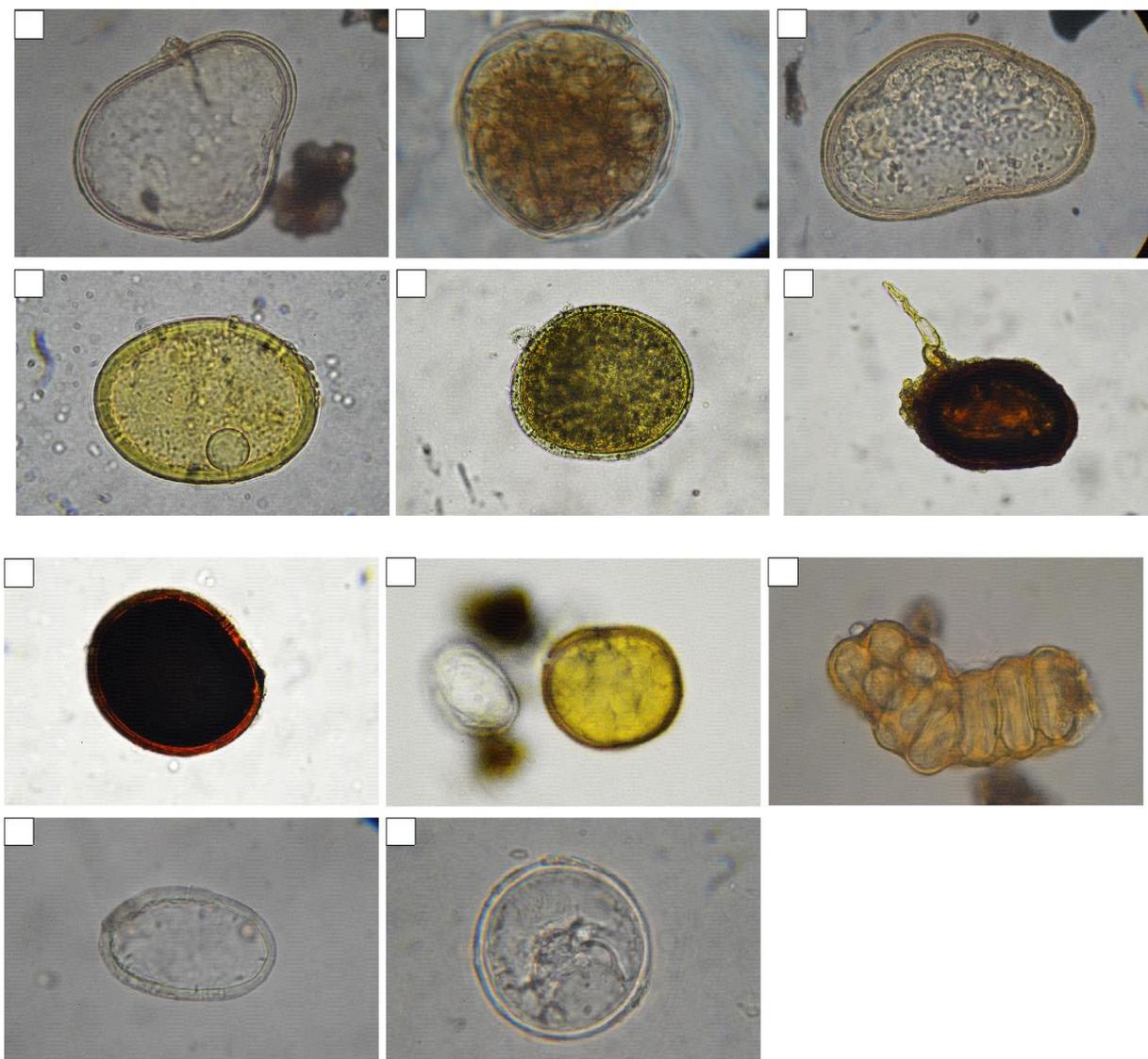
La zona con mayor riqueza de especies/morfoespecies encontrada en la granja obedece a la zona de Bosque dado que presentó 40 morfotipos distintos en comparación con la pradera (23). Así mismo, como se observa en la **Tabla 2** y **Figura 10**, *cf. Acaulospora denticulata*, *Acaulospora* sp. 2, *Acaulospora* sp. 7, *Gigaspora* sp. 2, *Gigaspora* sp. 3, *Gigaspora* sp. 4, *Claroideoglomus* sp. 1, *Claroideoglomus* sp. 2, *Funneliformis* sp. 1, *Glomus* sp. 1, *Glomus* sp. 3, *Glomus* sp. 7, *Glomus* sp. 8, *Glomus* sp. 12 y *Sclerocystis* sp. 2, son las 15 morfoespecies que se encontraron tanto en la zona de bosque como de pastizal.



**Figura 10.** Esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares encontradas asociadas a ambas zonas de estudio: A) *cf Acaulospora denticulata*, B) *Acaulospora* sp. 2, C) *Acaulospora* sp. 7, D) *Gigaspora* sp. 2, E) *Gigaspora* sp. 3, F) *Gigaspora* sp. 4, G) *Claroideoglosum* sp. 1, H) *Claroideoglosum* sp. 2, I) *Funneliformis* sp. 1, J) *Glomus* sp. 1, K) *Glomus* sp. 3, L) *Glomus* sp. 7, M) *Glomus* sp. 8, N) *Glomus* sp. 12, Ñ) *Sclerocystis* sp. 2. **Autores. (2022).**

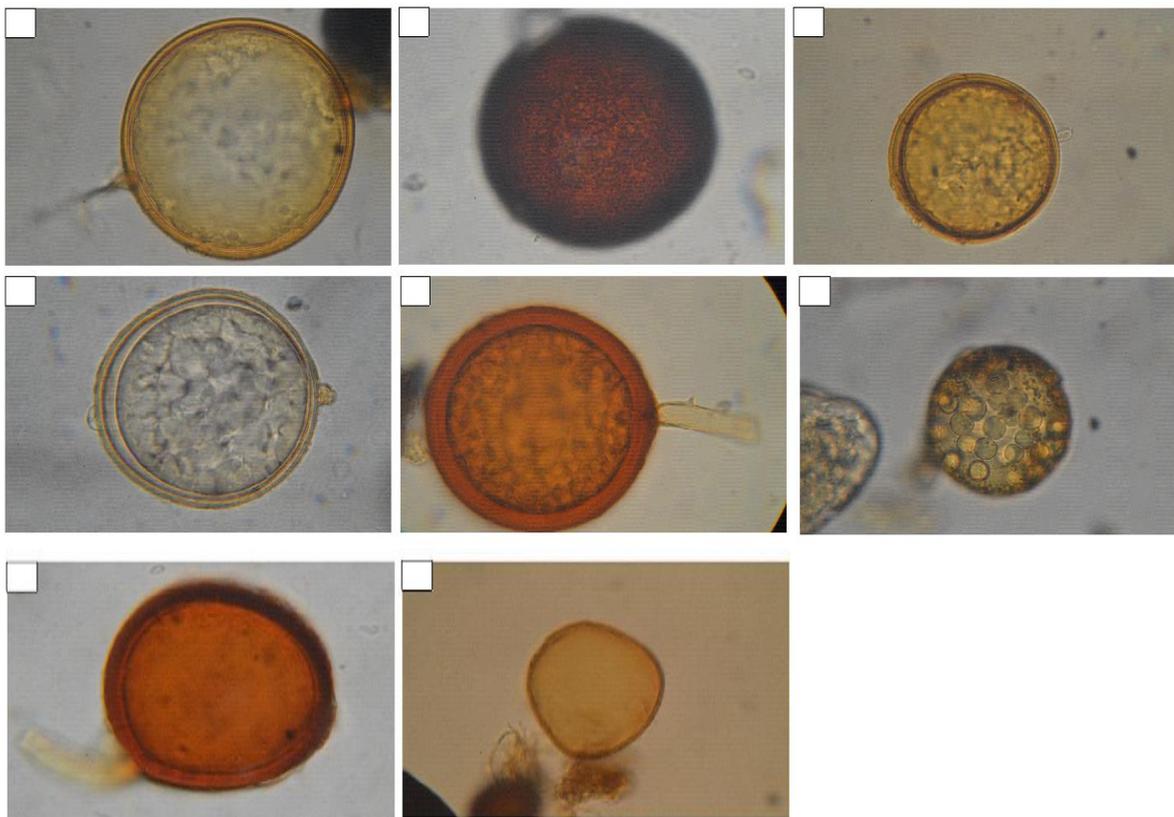
De las 46 especies totales, *cf Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora* sp. 1, *Acaulospora* sp. 3, *Acaulospora* sp. 4, *Acaulospora* sp. 5, *Acaulospora* sp. 6, *Acaulospora* sp. 8, *Acaulospora* sp. 9, *Acaulospora* sp. 10, *Gigaspora* sp. 1, *Gigaspora* sp. 5, *Scutellospora* sp. 1, *Scutellospora* sp. 2, *Glomus* sp. 2, *Glomus* sp. 4, *Glomus* sp. 5, *Glomus* sp. 6, *Glomus* sp. 9, *Glomus* sp. 10, *Glomus* sp. 11, *Sclerocystis* sp. 1, *Paraglomus* sp. 1 y *Paraglomus* sp. 2, son las 23 morfoespecies que se encontraron de manera exclusiva en la zona de bosque (**ver figura 11**).





**Figura 11.** Esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares encontradas de manera exclusiva en zona de Bosque: A) *cf Acaulospora scrobiculata*, B) *Acaulospora* sp. 1, C) *Acaulospora* sp. 3, D) *Acaulospora* sp. 4, E) *Acaulospora* sp. 5, F) *Acaulospora* sp. 6, G) *Acaulospora* sp. 8, H) *Acaulospora* sp. 9, I) *Acaulospora* sp. 10, J) *Gigaspora* sp. 1, K) *Gigaspora* sp. 5, L) *Scutellospora* sp. 1, M) *Scutellospora* sp. 2, N) *Glomus* sp. 2, Ñ) *Glomus* sp. 4, O) *Glomus* sp. 5, P) *Glomus* sp. 6, Q) *Glomus* sp. 9, R) *Glomus* sp. 10, S) *Glomus* sp. 11, T) *Sclerocystis* sp. 1, U) *Paraglomus* sp. 1, V) *Paraglomus* sp. 2. **Autores. (2022).**

Por último, *Gigaspora* sp. 6, *Gigaspora* sp. 7, *Scutellospora* sp. 3, *Scutellospora* sp. 4, cf *Glomus geosporum*, *Glomus* sp. 13, *Glomus* sp. 14, *Glomus* sp. 15, son las ocho morfoespecies que se encontraron de manera exclusiva en la zona de pastizal (ver figura 11).



**Figura 12.** Esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares encontradas de manera exclusiva en zona de Pastizal o pradera: A) *Gigaspora* sp. 6, B) *Gigaspora* sp. 7, C) *Scutellospora* sp. 3, D) *Scutellospora* sp. 4, E) cf *Glomus geosporum*, F) *Glomus* sp. 13, G) *Glomus* sp. 14, H) *Glomus* sp. 15. **Autores. (2022).**

Comparando los resultados de la investigación con los de Arancibia *et al.*, (2022), se encuentra una similitud de resultados en cuanto a los géneros predominantes en suelo rizosférico a una profundidad de 0-20 cm, siendo las esporas de HMA del género *Glomus* sp y *Acaulospora* sp., las más abundantes en número y diversidad en el lugar de investigación, sitio la “Quebrada el Gallo” ubicada en el Noreste de Valparaíso de la zona central de Chile, teniendo como referente la condiciones edafoclimáticas como principal incidencia en la densidad poblacional de las esporas

micorrízicas arbusculares en el medio. Así mismo, con lo reportado por Pimentel *et al.*, 2020 y Pérez *et al.*, 2012, en el que se reporta a *Glomus* como el género con mayor representación en número de especies o morfos en las muestras analizadas.

### **6.3 Caracterización química del suelo y determinación de la relación de los parámetros del suelo con el número de esporas encontrado.**

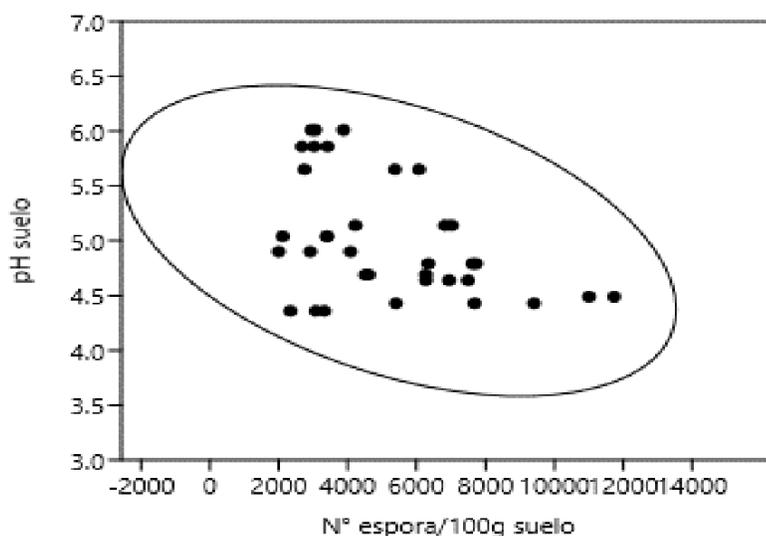
Un total de 3 zonas de pasturas y 3 zonas de bosque nativo, subdivididas en 2 submuestras de cada una; con suelos moderadamente intervenidos fueron muestreadas en la granja agroecológica minuto de Dios en Villavicencio Meta. De acuerdo con los resultados de los análisis fisicoquímicos de los suelos pasturas y de bosque nativo, se encontró que presentan los siguientes valores (**Tabla 3**). En la muestra tomada en las zonas de pasturas nos arrojó un pH, general de 5,3 fuerte a extremadamente ácido y en las zonas de bosque arrojó un resultado de 4,9 también valorado como fuerte a extremadamente alto. Mientras que la conductividad eléctrica estuvo entre 0,08 en pasturas a 0,06 en bosque; que corresponde a niveles no salinos, el porcentaje de materia orgánica fue de 3,81 (pasturas) y 3,21 (Bosque) lo cual se interpreta como con alta presencia de MO en las zonas analizadas. En lo que respecta a los niveles de (CO) Carbón orgánico están en 2,21 y 1,86. Los niveles de Fósforo (P) variaron según el sector encontrándose entre 7,60 y 2,12 mg/kg, aunque los niveles de fósforo presentan una diferencia notoria se reconoce como bajo. Otros parámetros tomados en cuenta fueron azufre (S) el cual arrojó 1,56 en pasturas y 1,32, la capacidad de intercambio catiónico fue de: 4,11 y 5,13, el boro (B) disponible fue de 0,15 y 0,13, el nivel de acidez estuvo en; 1,62 y 3,35, aluminio (Al) intercambiable está en 1,16 y 2,38, los niveles de calcio (Ca) fueron; 1,71 y 1,18, magnesio (Mg) disponible está en 0,65 y 0,49, el hierro (Fe) se presentó en 278,67 y 199,77, manganeso (Mn) que se encontró disponible estaba en 2,33 y 1,00 y la saturación de (Ca, Mg, K y Al). Con el fin de conocer si estos parámetros influyen con el aumento y la presencia de HMA en los sectores estudiados.

**Tabla 3.** Resultados del análisis de suelo y del cálculo de correlación de Spearman, valor de la correlación y probabilidad de esta. Autores. (2022).

Determinación analítica	Unidad	Valor muestra de Pasturas	Valor muestra de bosque	Correlación con N° Esporas/100 g suelo	P valor
Ph (1;2,5)	Unidades de Ph	5.30 (Fuerte a extremadamente ácido)	4.94 (Fuerte a extremadamente ácido)	-0,41363	p=0,012
Conductividad eléctrica (CE) (1:5)	dS/m	0.08 (No salino)	0.06 (No salino)	-0,86905	p<0,05
Materia Orgánica (MO)	g/100g	3.81 (Alto)	3.21 (Alto)	-0,86905	p<0,05
Carbono Orgánico (CO)	g/100g	2.21	1.86	-0,86905	p<0,05
Fósforo (P) Disponible	mg/kg	7.60 (Bajo)	2.12 (Bajo)	-0,86905	p<0,05
Azufre (S) Disponible	mg/kg	1.56 (Bajo)	1.32 (Bajo)	-0,86905	p<0,05
Capacidad Interc Catiónico Efect	cmol (+)/kg	4.11 (Baja)	5.13 (Baja)	0,86905	p<0,05
Boro (B) Disponible	cmol (+)/kg	0.15 (Bajo)	0.13 (Bajo)	-0,86905	p<0,05
Acidez (Al+H)	cmol (+)/kg	1.62 (No indica)	3.35 (No indica)	0,86905	p<0,05
Aluminio (Al) Intercambiable	cmol (+)/kg	1.16 (Con restricción)	2.38 (Con restricción)	0,86905	p<0,05
Calcio (Ca) Disponible	cmol (+)/kg	1.71 (Bajo)	1.18 (Bajo)	-0,86905	p<0,05
Magnesio (Mg) Disponible	cmol (+)/kg	0.65 (Bajo)	0.49 (Bajo)	-0,86905	p<0,05
Potasio (K) Disponible	cmol (+)/kg	0.09 (Bajo)	< 0.09 (Bajo)	No calculada	-
Sodio (Na) Disponible	cmol (+)/kg	< 0.14 (Normal)	< 0.14 (Normal)	No calculada	-
Hierro (Fe) olsen Disponible	mg/kg	278.67 (Alto)	199.77 (Alto)	-0,86905	p<0,05
Cobre (Cu) olsen Disponible	mg/kg	< 1.00 (Bajo)	< 1.00 (Bajo)	No calculada	-
Manganeso (Mn) olsen Disponible	mg/kg	2.33 (Bajo)	< 1.00 (Bajo)	-0,86905	p<0,05
Zinc (Zn) Olsen Disponible	mg/kg	< 1.00 (Bajo)	< 1.00 (Bajo)	No calculada	-

Saturación de Calcio	%	42 (Medio)	23 (Bajo)	-0,86905	p<0,05
Saturación de Magnesio	%	16 (Medio)	10 (Bajo)	-0,86905	p<0,05
Saturación de Potasio	%	2 (Medio)	1 (Bajo)	-0,86905	p<0,05
Saturación de Sodio	%	1 (Normal)	1 (Normal)	No calculada	-
Saturación de Aluminio	%	28 (Restrictivo)	55 (Restrictivo)	0,86905	p<0,05

Como se observa en la (**Tabla 3**), al realizar el cálculo de la correlación de spearman para cada uno de los parámetros del suelo, se observó que dichos parámetros presentan correlación con la densidad de esporas, a excepción del pH del suelo, No existe una correlación (-0,41363) entre el pH y en N° de esporas, es decir con una probabilidad de  $p=0,012$  no se evidencia una correlación entre el número de esporas y el pH del suelo en las dos zonas de la granja. Aunque se observa una tendencia a que a mayor pH del suelo menor número de esporas, la relación no siempre es constante o clara (**ver figura 13**). Para el resto de parámetro la correlación es fuerte debido a que el valor de correlación es cercano a 1 (**Ver tabla 3**).



**Figura 13.** Resultado del cálculo de correlación de spearman entre el N° de esporas y el pH del suelo en la zona de estudio. Autores. (2022).

Teniendo en cuenta las condiciones de nuestra altillanura, donde la presencia de hierro y aluminio son muy altos, por ende el pH tiende a ser elevado. Este hecho se pudo constatar con lo encontrado en los resultados del análisis de suelo realizado en las dos zonas de estudio, según datos obtenidos, tal como se evidencia en la **Tabla 3.**, hay alto contenido de materia orgánica (MO) y un elevado porcentaje de hierro (Fe) en la ambas zonas.

El área estudio, presentó climas ligeramente variados y una marcada intervención antrópica entre la zona de bosque y los pastizales, arrojando diferencias significativas en diversos parámetros que han sido reportados como relevantes para el establecimiento y proliferación de los HFMA como se observa en la tabla 3, sin embargo en lo relacionado con el pH del suelo y la correlación con el número de esporas, aunque se observa una tendencia que mayor pH del suelo se presentan menor número de esporas, esta relación no siempre es constante o clara (**Tabla 3**). Evidentemente, lo encontrado concuerda con lo reportado por Posada *et al.*, (2012) y Garzón, (2016), en el que se menciona que las especies predominantes, el pH, la humedad del suelo, la conductividad, el contenido de fósforo, nutrientes y metales pesados, materia orgánica entre otros, influye sobre la presencia y distribución de los hongos micorrízicos.

De acuerdo con lo descrito por Peña-Venegas *et al.* (2007). El pH puede generar un efecto negativo en la densidad poblacional de las esporas HMA presente en el suelo, a causa de concentraciones particularmente en elementos como; aluminio (Al), hierro (Fe), Calcio (Ca), aunque en dicha investigación se obtuvo menor densidad de esporas en 100 g /suelo, se presentó correlación en el género *Glomus*, como la de mayor presencia en la rizosfera con un valor de hasta el 50% de los resultados de esporas en cada muestra analizada. El hecho que en la granja agroecológica se hubiese presentado un número alto de esporas por cada 100g de suelo a pesar de haber tenido suelos fuerte a extremadamente ácidos (5,3 y 4,94 respectivamente), se debe en gran parte a la capacidad de adaptación de los HFMA, las cuales pueden tolerar condiciones adversas de pH (Pérez *et al.*, 2011; Restrepo *et al.*, 2019).

Por otro lado, el pH encontrado en la zona de estudio, pudo haber influido en la estructura de la comunidad de hongos presentes en la granja y también explica el que se presentaran 12 morfoespecies del género *Acaulospora*, ya que como lo señalan González *et al.*, (2012) y Raya *et*

*al.*, (2019), es más frecuente encontrar esporas del género en mención, en suelos con pH que se acerquen más a 7.

#### 6.4 **Generación del banco de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares.**

Como se observa en la **figura 14** y **figura 15**, se logró de manera iniciar el banco de esporas de Hongos formadores de Micorrizas arbusculares, el cual se estableció con las esporas de las 46 morfoespecies encontradas y presentes en los puntos muestreados de la granja. Este hecho resulta relevante como aporte para la agricultura ya que, según lo descrito por Noda, Yolai. (2009), las limitantes en nuestra agricultura colombiana, está dada en la aclimatación, adaptación y multiplicación de nuestras semillas/cultivos enfocados bajo una visión productiva y sostenible, por eso, la preservación y adaptación a la transición a una agricultura más equilibrada y sana, contribuye un papel fundamental la preservación, multiplicación y uso de los microorganismos y biofertilizantes a base de micorrizas arbusculares, como en esta investigación, permitiendo alcanzar mejoras productivas, aclimatación, nutrición, por ello se adelantó en Cuba, varias investigaciones con el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) en cultivos de importancia económica como: Soja, frijol, guisantes, maíz, arroz, sorgo, girasol, trigo, algodón, plátano, raíces y tubérculos, hortalizas, posturas de cafeto, frutales y pastos, donde se evidencia rendimientos entre un 15 y 50% en rendimientos, resistencia a sequía, asimilación y aprovechamiento de nutrientes, optimización de fertilizantes tanto en pequeña, mediana extensiva escala productiva. (p. 5).



**Figura 14.** Establecimiento Banco de esporas de HMA en la Granja agroecológica UNIMINUTO. A) materiales para establecimiento del banco de esporas HMA. B) Suelo estéril para inóculo de esporas HMA. C) Siembra en semilla de *B. decumbes*. D) Inóculo de esporas HMA. E) Sellado con suelo estéril el inóculo y semilla. F) Banco de espора establecido. G) Germinado de *B. decumbes* con el inoculo de espора HMA. A sus 4 días de pregerminado. Autores. (2022).

Otras de las bondades y motivos por el cual se debe fomentar las prácticas y procesos bioaumentativos de las esporas de HMA en la rizosfera del suelo según lo descrito por Arroyo, (2018) el que se manifiesta que el uso de estas, permite una germinación más rápida en semillas, incremento en la germinación, genera disponibilidad de aguas, nutrientes y sobre todo que permite la inoculación en los bancos de tierras y de esta a su medio natural, estructurados en la rizosfera,

permitiendo de allí una mayor adaptación a los factores climáticos a la especie que se asocian simbióticamente. (p. 4).

Por lo anterior es que resulta tan importante este proceso de generación de bioinoculantes con microorganismos nativos para procesos de conservación e investigaciones futuras que permitan la reducción de aplicación de productos químicos de síntesis industrial que tanto están perjudicando la salud humana y el ambiente.



**Figura 15.** Banco de bioaumentación de esporas HMA en el hospedero *Brachiaria decumbes* establecido en la granja agroecológica UNIMINUTO. Autores. (2022).

## CAPITULO VII

### 7 Conclusiones

- La presencia de los géneros *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Claroideoglomus*, *Sclerocystis* y *Funneliformis* en las dos Zonas de la granja son una muestra de la gran diversidad de esporas de HMA presente en la Orinoquia Colombiana, que permite incentivar la conservación de la biodiversidad y los suelos.
- La presencia de mayor número de morfoespecies de HMA en los suelos o puntos de muestreo ubicados en el bosque es una muestra de que el uso y/o transformación del suelo para ganadería, así sea de baja escala, disminuye sustancialmente la diversidad y abundancia de esporas en los suelos intervenidos.
- La obtención de los parámetros químicos de los suelos evaluados en las dos zonas de estudio se constituye como información base para generar acciones de mejora y enmiendas que conlleven a un correcto establecimiento de cultivos enmarcados en procesos pedagógicos y de investigación que se pretendan generar en la granja.
- El banco de micorrizas establecido en la Granja UNIMINUTO es el punto de inicio para la generación de bioinoculantes propios que contribuirán al desarrollo de labores culturales y de fertilización enmarcadas en los principios de la agroecología.

## CAPITULO VIII

### 8 Referencias.

- Arancibia, R., Flores, M.E., Cabrera, T., Sanchez, J., Obando, J. (2022). Evaluación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en la rehabilitación ecológica de ecosistemas con actividad minera. *Ecosistemas* 31(2): 2304. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2304>
- Barbaro, G., Andrada, H., Gonzalez, V., Alurralde, A., Del Valle, E. y Brandran, C. (2017). Micorrizas arbusculares y hongos septados oscuros nativos en topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) en Catamarca, Argentina. *Rev. Cienc. Agri.* 34(2): 98 - 106. Doi: <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.173402.75>.
- Bernola, L., Cange, G., Way, M., Gore, J., Hardke, J. y Stoud, M. (2018). Natural Colonization of Rice by Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Different Production Areas *Sciencedirect*. Vol 25. 1(1), 169-174 <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2018.02.006>
- Blancol, F., & Salas E. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. 1997. *Agronomía Costarricense* 21(1): 55-67.  
<https://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Micorrizas%20y%20nutricion%20mineral.pdf>.
- Cabrales, E., Toro, M. y López, D. (2017). Efecto de las micorrizas nativas y fósforo en los rendimientos de maíz en Guairo, Venezuela.
- Calderón, F., Castro, W. y Orlando, D. (2019). Impacto ambiental provocado por el inadecuado uso de fertilizantes químicos en cultivos de maíz. *Rev. Científica multidisciplinaria* Vol (3) 1 pg 61-72.  
<https://revistas.unesum.edu.ec/index.php/unesciencias/article/view/128/90>
- Cardona, G., Peña, C. y Arcos, A. (2008). Ocurrencia de hongos formadores de micorriza arbuscular asociados a ají (*Capsicum* sp.) en la Amazonia colombiana. *Agronomía Colombiana* 26(3), 459-470.  
<http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v26n3/v26n3a11.pdf>

Cruz, Y., García, M., León, Y. y Acosta, Y. (2014). Influencia de la aplicación de micorrizas arbusculares y la disminución del fertilizante mineral en plántulas de tabaco, Rev. INCA, Cultivos tropicales. Vol (35) 1 pg. 21-24.

<http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v35n1/ctr03114.pdf>

Díaz, G. y Honrubia, M. (1993). Notes on Glomales from Spanish semiarid lands. Nova Hedwigia. 57, 159-168.

Díaz, G., Torres, P., Sanchez F., García, G. y Carrillo, C. (2016). Primera tesis doctoral sobre micorrizas. Revista Eubacteria. [https://www.um.es/eubacteria/Primeras\\_Tesis\\_Doctorales\\_sobre\\_Micorrizas.pdf](https://www.um.es/eubacteria/Primeras_Tesis_Doctorales_sobre_Micorrizas.pdf)

Domínguez, H. (2018). *Efecto de tres fuentes de fósforo en el desarrollo de micorrizas y el incremento de la fertilidad en cinco ecosistemas terrestres de tingo María* [Trabajo de grado, Universidad Nacional Agraria De La Selvas]. Repositorio Alicia concytec. [http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/1487/HGDC\\_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/1487/HGDC_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Flores, E; Miranda, M. & Villasis, M. El protocolo de investigación VI: cómo elegir la prueba estadística adecuada. Estadística inferencial. Rev. alerg. Méx. [online]. 2017, vol.64, n.3, pp.364-370. ISSN 2448-9190.

<https://doi.org/10.29262/ram.v64i3.304>.

García Basurto, Roselia A. (2021). *Micorrizas arbusculares y su interacción con especies forestales del bosque protector Pedro Franco Dávila del recinto Jauneche, cantón Palenque, provincia de Los Ríos*. [Trabajo de grado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo] UTEQ. 74p. Repositorio institucional de uteq.edu.ec. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6337/1/T-UTEQ-183.pdf>

Gardezi, K., Berber, M., & Garay, V. (2015). Los usos y beneficios de las micorrizas en la agricultura. Desarrollo y tecnología. Pag 234-265. Tomado de: [https://www.researchgate.net/profile/Elizabeth-Acosta-2/publication/280114658\\_Sistema\\_Agrof](https://www.researchgate.net/profile/Elizabeth-Acosta-2/publication/280114658_Sistema_Agrof)

- Garzón L. P. (2016). Importancia de las micorrizas arbusculares (ma) para un uso sostenible del suelo en la amazonia colombiana. *Revista Luna Azul (On Line)*, (42), 217 - 234. Recuperado a partir de <https://revistasoj.s.ucaldas.edu.co/index.php/lunazul/article/view/1616>.
- González, J., Vega, M., Varela, L., Martínez, M., Carreón, Y. & Gavito, M. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities and land use change: the conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico. *Fungal Ecol.* 5(1):16-23.
- Jiang, Y., Wang, W., Xie, Q., Liu, L., Zhang, C., Yang, C., Cheng, X., Tang, D. y Wang, E. (2017). Plants transfer lipids to sustain colonization by mutualistic mycorrhizal and parasitic fungi. *Science*. Vol 356. DOI: 10.1126/science.aam9970
- Koppen - Geiger (2022,05,15). Climate-Data.ORG- clima y temperatura Villavicencio- Meta - Colombia. sitio web. <https://es.climate-data.org/america-del-sur/colombia/meta/villavicencio-5327/>.
- Landinez, A., Becerra, J., Tosi, S y Nicola, L. (2020). Soil microfungi of the Colombian natural regions. Article in international journal of environmental research and public health [https://www.researchgate.net/publication/346813539\\_Soil\\_Microfungi\\_of\\_the\\_Colombian\\_Natural\\_Regions](https://www.researchgate.net/publication/346813539_Soil_Microfungi_of_the_Colombian_Natural_Regions)
- León, D. (2006). Evaluación y caracterización de micorrizas, asociadas a yuca (*Manihot esculenta sp*) en dos regiones de la amazonia colombiana. <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis296.pdf>.
- Luginbuehl, L., Menard, G., Kurup, S., Van, H., Radhakrishnan, G., Breakspear, A., Oldroyd, G. y Eastmond, P. (2017). Fatty acids or arbuscular mycorrhizal fungi are synthesized by the host plant. *Science*. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aan0081>
- Medina, A. y Azcon, R. (2010). Effectiveness of the application of arbuscular mycorrhiza fungi and organic amendments to improve soil quality and plant performance under stress conditions. *Journal of soil science and plant nutrition*. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162010000100009>

- Mahecha, G. (2015). *Diversidad alfa, beta y gamma en hongos de micorriza arbuscular (HMA) en el cultivo de banano (musa paradisiaca) en Colombia*. [Trabajo de grado], Corporación Universitaria Minuto de Dios]. Repositorio UNIMINUTO <http://hdl.handle.net/10656/3772>
- Moina, E., Oviedo, R., Nieto, S., Herrera, P. y Barcos, M. (2018). Evaluación de los hongos micorrícicos arbusculares de zonas del trópico húmedo de Ecuador. Revista en línea. <http://revistabionatura.com/files/2018.03.01.9.pdf>
- Naranjo, J., Mora, A., Oviedo, R., Naranjo, H., Florez, J. & Barcos M. (2022). Estudio preliminar de micorrizas arbusculares presentes en *Phytelephas aequatorialis* localizado en tres agroecosistemas costeros. CIENCIA UNEMI, 15(39), 65-75. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol15iss39.2022pp65-75p>.
- Noda, Y. (2009). Las Micorrizas: Una alternativa de fertilización ecológica en los pastos. *Pastos y Forrajes*, 32(2), 1. Central de España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942009000200001&lng=es&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942009000200001&lng=es&tlng=pt).
- Núñez, P., Reyes, Y., Soto., Wagner, B., Pimentel, E., Bueno, A. & Mercano, I. (2020). Caracterización de micorrizas autóctonas en suelo y raíces provenientes de fincas ganaderas en Montecristi, República Dominicana. *Revista Agropecuaria y Forestal, APF - Vol 09, (01): 61: 74*. <http://sodiaf.org.do/apf/index.php/apf/article/view/114>.
- Pérez, A., Botero, C. y Cepero, M. (2012). Diversidad de micorrizas arbusculares en pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus de fincas ganaderas del municipio de Corozal-Sucre. Revista MVZ Córdoba, 17(2). <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/237>
- Pérez, A., & Peroza, V. (2013). Micorrizas arbusculares asociadas al pasto angleton (*Dichathium aristatum* Benth) en fincas ganaderas del municipio de Tolú, Sucre-Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 18(1), 3362-3369.

Retrieved August 01, 2022, from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-02682013000100015&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682013000100015&lng=en&tlng=es).

Pérez, C., & Vertel, M. (2010). Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L.) A. Camus. *Revista MVZ Córdoba*, 15(3), 2165-2174. Recuperado en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-02682010000300004&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682010000300004&lng=en&tlng=es).

Pérez, Y., Álvarez, J., Mendoza, J., Pat, J., Gómez, R., Cuevas, L. (2012). Diversidad de hongos micorrícicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México. *Gayana. Botánica*, 69 (1): 46-56.

Pimentel, E., Bueno, A., González, N., Bueno, A., Pineda, M., Wagner, B., Marcano, I., & Núñez, P.(2021). Identificación de cepas autóctonas de micorrizas bajo sistemas de pastoreo en Valverde Mao, República Dominicana. *APF*, 9(1), 49-60. Recuperado a partir de <https://sodiaf.org.do/apf/index.php/apf/article/view/113>

Posada, H., Madriñán, S. y Rivera, L. (2012). Relationships between the litter colonization by saprotrophic and arbuscular mycorrhizal fungi with depth in a tropical forest. *Fungal Biology*, 116(7), 747-755.

Raya, Y., Apáez, P., Aguirre, S., Vargas, M., Paz, R., & Lara, M. (2019). Identificación de hongos micorrizógenos arbusculares en huertos de aguacate de Uruapan, Michoacán. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(spe23), 267-276. Epub 20 de noviembre de 2020. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i23.2026>

Restrepo, K., Montoya, M., Henao, P., Gutiérrez, Lina., & Molina, L. (2019). Caracterización de hongos micorrícicos arbusculares de suelos ganaderos del trópico alto y trópico bajo en Antioquia, Colombia. *Idesia (Arica)*, 37(1), 35-44. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292019005000301>

- Reyes, I., Chimal, E., Salmeron, J., Vasquez, N. y Varela, L. (2019). Comunidad de hongos micorrizógenos arbusculares (*Glomeromycota*) asociada con agaves mezcaleros de Oaxaca y su relación con algunas propiedades edáficas. *Revista Mexicana de biodiversidad*. Vol 90. (3), 1-15  
<http://revista.ib.unam.mx/index.php/bio/article/view/2777/2001>
- Reyes, J. (2011). Las micorrizas arbusculares (MA) centro de la rizosfera: comunidad microbiológica dinámica del suelo. *Revista Contactos*, Volumen (81), pp 17 - 23pp.
- Sanchez de Prager, M., Posasa, R., Velásquez, D., & Narváez, M. (2010). *Metodologías Básicas para el trabajo con micorriza arbuscular y hongos formadores de micorriza arbuscular*. Universidad nacional de Colombia Sede Palmira  
[https://www.researchgate.net/publication/271507112\\_Metodologias\\_basicas\\_para\\_el\\_trabajo\\_con\\_Micorriza\\_Arbuscular\\_y\\_Hongos\\_Formadores\\_de\\_Micorriza\\_Arbuscular](https://www.researchgate.net/publication/271507112_Metodologias_basicas_para_el_trabajo_con_Micorriza_Arbuscular_y_Hongos_Formadores_de_Micorriza_Arbuscular)
- Sanchez, C., Caballero, D., Cupull, R., Gonzalez, C., Rivera, R. & Urquiaga, S. (2009). Los bonos verdes y la inoculación micorrízica de las plántulas *Coffea arabica* sobre suelos cambisoles y gleyicos. *Rev SciELO*. Vol (30) 1.  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362009000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362009000100007)
- Sanchez De P., Posada, R., Velásquez, D., & Narváez, M. (2010) *Metodologías básicas para el trabajo con micorrizas arbusculares y hongos formadores de micorrizas arbusculares*. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. (p. 139).
- Sanchez, de P., Gómez, L., Muñoz, F., Barrios, E., Prager, M., Bravo, O., El-Sharkawi, M., Pérez, S., Asakawa, N., Marmolejo, De la T., Cadavid, F., Quintero, D., Miranda, V., Mier, E., Torres, R., Reyes, T., Zapata, F., Tofiño, R., Benjumea, P., Diaz, G., ...*et al* Vargas, N. (2007). *Las Endomicorrizas: Expresión bioedáfica de importancia en el trópico*. Universidad Nacional de Colombia - Sede Palmira.
- Suchitra, R., Kumuta, K. y Balachandar, D. (2012). Morpho- Typing and Molecular Diversity of Arbuscular Mycorrhizal fungi in Sub-Tropical Soils of coimbatore Region, Tamil Nadu, India. *Indian J Microbiol*.  
<https://doi.org/10.1007/s12088-011-0206-2>

- Smith, S.E. & Read, D.J. (2010). *Mycorrhizal Symbiosis*. Third Edition. [https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=qLciOJaG0C4C&oi=fnd&pg=PP1&ots=zrwSjZWDoH&sig=oVIQusNSInL0fCvaikpxCkTC0-c&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=qLciOJaG0C4C&oi=fnd&pg=PP1&ots=zrwSjZWDoH&sig=oVIQusNSInL0fCvaikpxCkTC0-c&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
- Tao, L., Jianping, L. & Zhiwei, Z. (2004). Arbuscular mycorrhizas in a valley- tipe savanna in southwest China. Researchgate. [https://www.researchgate.net/publication/9033121\\_Arbuscular\\_mycorrhizas\\_in\\_a\\_valley-type\\_savanna\\_in\\_southwest\\_China](https://www.researchgate.net/publication/9033121_Arbuscular_mycorrhizas_in_a_valley-type_savanna_in_southwest_China)
- Trejo, D., Lara, L., Maldonado, I., Zuleta, R., Sangrabriel, W., Mancera, M., Negrete, S., Barois, I. (2013). Pérdida de diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en cultivos trampa durante el subcultivo a largo plazo. [https://www.researchgate.net/publication/260376245\\_Loss\\_of\\_arbuscular\\_mycorrhizal\\_fungal\\_diversity\\_in\\_trap\\_cultures\\_during\\_long-term\\_subculturing](https://www.researchgate.net/publication/260376245_Loss_of_arbuscular_mycorrhizal_fungal_diversity_in_trap_cultures_during_long-term_subculturing)
- Vega, M.V. (2011). *Identificación de Micorrizas Vesiculo-Arbusculares en Especies Agrícolas y Forestales en la Zona de Tingo María*. [Trabajo de grado, Universidad Nacional Agraria De La Selvas]. Repositorio Alicia concytec. <http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/137/AGR-581.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Yvonne Pérez., NC Schenck. (1990) Un código único para cada especie de hongos micorrízicos Va, *Mycología*, 82:2, 256-260, DOI: [10.1080/00275514.1990.12025872](https://doi.org/10.1080/00275514.1990.12025872)

## 9 ANEXOS

<b>Localidad/ Zona</b>	<b>Repetición</b>	<b>Localidad/ zona</b>	<b>N° espora/100g suelo</b>
<b>Granja- Pasto-Zona 1- Muestra 1</b>	<b>R1</b>	<b>P1</b>	<b>3072</b>
	<b>R2</b>	<b>P1</b>	<b>2336</b>
	<b>R3</b>	<b>P1</b>	<b>3322</b>
<b>Granja- Pasto-Zona 1- Muestra 2</b>	<b>R1</b>	<b>P1</b>	<b>2949</b>
	<b>R2</b>	<b>P1</b>	<b>3060</b>
	<b>R3</b>	<b>P1</b>	<b>3882</b>
<b>Granja- Pasto-Zona 2- Muestra 1</b>	<b>R1</b>	<b>P2</b>	<b>2111</b>
	<b>R2</b>	<b>P2</b>	<b>3400</b>
	<b>R3</b>	<b>P2</b>	<b>3396</b>
<b>Granja- Pasto-Zona 2- Muestra 2</b>	<b>R1</b>	<b>P2</b>	<b>5375</b>
	<b>R2</b>	<b>P2</b>	<b>2743</b>
	<b>R3</b>	<b>P2</b>	<b>6072</b>
<b>Granja- Pasto-Zona 3- Muestra 1</b>	<b>R1</b>	<b>P3</b>	<b>3020</b>
	<b>R2</b>	<b>P3</b>	<b>3416</b>
	<b>R3</b>	<b>P3</b>	<b>2669</b>
<b>Granja- Pasto-Zona 3- Muestra 2</b>	<b>R1</b>	<b>P3</b>	<b>1997</b>
	<b>R2</b>	<b>P3</b>	<b>2911</b>
	<b>R3</b>	<b>P3</b>	<b>4085</b>
<b>Granja- Bosque-Zona 1- Muestra 1</b>	<b>R1</b>	<b>B1</b>	<b>4224</b>
	<b>R2</b>	<b>B1</b>	<b>6830</b>
	<b>R3</b>	<b>B1</b>	<b>7018</b>

<b>Granja- Bosque-Zona 1- Muestra 2</b>	<b>R1</b>	<b>B1</b>	<b>7726</b>
	<b>R2</b>	<b>B1</b>	<b>7616</b>
	<b>R3</b>	<b>B1</b>	<b>6346</b>
<b>Granja- Bosque-Zona 2- Muestra 1</b>	<b>R1</b>	<b>B2</b>	<b>5403</b>
	<b>R2</b>	<b>B2</b>	<b>7680</b>
	<b>R3</b>	<b>B2</b>	<b>9408</b>
<b>Granja- Bosque-Zona 2- Muestra 2</b>	<b>R1</b>	<b>B2</b>	<b>11007</b>
	<b>R2</b>	<b>B2</b>	<b>11737</b>
	<b>R3</b>	<b>B2</b>	<b>16430</b>
<b>Granja- Bosque-Zona 3- Muestra 1</b>	<b>R1</b>	<b>B3</b>	<b>6272</b>
	<b>R2</b>	<b>B3</b>	<b>7493</b>
	<b>R3</b>	<b>B3</b>	<b>6944</b>
<b>Granja- Bosque-Zona 3- Muestra 2</b>	<b>R1</b>	<b>B3</b>	<b>4517</b>
	<b>R2</b>	<b>B3</b>	<b>4610</b>
	<b>R3</b>	<b>B3</b>	<b>6268</b>