




# Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en *Ochroma pyramidale* (balsa) en fase de vivero

Carmen Victoria Marín Cuevas<sup>1</sup>  Robinson J. Herrera-Feijoo<sup>1,2\*</sup>    
Mercedes Susana Carranza-Patiño<sup>1</sup>  Jaime Morante-Carriel<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), Quevedo Av. Quito km, 1 1/2 Vía a Santo Domingo de los Tsáchilas, Quevedo 120550, Ecuador

<sup>2</sup> Unidad de Posgrado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), Quevedo Av. Quito km, 1 1/2 Vía a Santo Domingo de los Tsáchilas, Quevedo 120550, Ecuador

 Correspondencia: [herreraf2@uteq.edu.ec](mailto:herreraf2@uteq.edu.ec)  + 593 0980563032

DOI/URL: <https://doi.org/10.53313/gwj62084>

**Resumen:** El presente estudio investiga la importancia de la inoculación de micorrizas arbusculares (HMA) en plantas de balsa (*Ochroma pyramidale*) en fase de vivero. Los HMA desempeñan un papel fundamental en la mejora de la absorción de nutrientes, el crecimiento de las plantas y la resistencia al estrés hídrico, lo que puede beneficiar la productividad y la sostenibilidad en la gestión forestal. Los objetivos del estudio fueron cuantificar las esporas, evaluar la colonización micorrízica y analizar variables dasométricas en plantas inoculadas. Se observaron diferencias significativas entre tratamientos, siendo el consorcio *Glomus spp.* el que presentó mayor densidad de colonización visual, longitud y peso de las raíces y porcentaje de pelos radiculares. El consorcio *Glomus spp.* fue el más eficaz para mejorar el crecimiento de la planta de balsa, seguido de *Acaulospora spp.* y *Scutellospora spp.* Recomendamos validar la eficacia a largo plazo de la inoculación en el lugar final del trasplante y considerar la diversidad de consorcios micorrízicos para aumentar los beneficios. Este estudio se suma al conocimiento científico de las interacciones AMF-planta y proporciona una valiosa herramienta para promover prácticas sostenibles en reforestación y gestión forestal, reduciendo la dependencia de fertilizantes químicos y conservando los recursos naturales.

**Palabras claves:** Esporas, Crecimiento vegetativo, Colonización micorrízica, Manejo forestal.

## Inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi on *Ochroma pyramidale* (balsa) in the nursery stage

**Abstract:** The present study investigates the importance of arbuscular mycorrhizal (AMF) inoculation in nursery stage balsa (*Ochroma pyramidale*) plants. AMF play a critical role in improving nutrient uptake, plant growth and resistance to water stress, which may benefit productivity and sustainability in forest management. The objectives of the study were to quantify spores, assess mycorrhizal colonisation and analyse dasometric variables in inoculated plants. Significant differences were observed between treatments, with the *Glomus spp.* consortium having the highest visual colonisation density, root length and weight, and percentage of root hairs. The *Glomus spp.* consortium was most effective in improving balsa plant growth, followed by *Acaulospora spp.* and *Scutellospora spp.* We recommend validating the long-term efficacy of inoculation at the



**Cite:** Marín Cuevas, C. V., Herrera-Feijoo, R. J., Carranza-Patiño, M. S., & Morante-Carriel, J. (2023). Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en *Ochroma pyramidale* (balsa) en fase de vivero. *Green World Journal*, 6(2), 84. <https://doi.org/10.53313/gwj62084>

**Received:** 02/Mar/2023  
**Accepted:** 29/Jul/2023  
**Published:** 05/Aug/2023

Prof. Carlos Mestanza-Ramón, PhD.  
Editor-in-Chief / CaMeRa Editorial  
[editor@greenworldjournal.com](mailto:editor@greenworldjournal.com)

**Editor's note:** CaMeRa remains neutral with respect to legal claims resulting from published content. The responsibility for published information rests entirely with the authors.



© 2023 CaMeRa license, Green World Journal. This article is an open access document distributed under the terms and conditions of the license.  
Creative Commons Attribution (CC BY).  
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

final transplant site and considering the diversity of mycorrhizal consortia to increase benefits. This study adds to the scientific knowledge of AMF–plant interactions and provides a valuable tool for promoting sustainable practices in reforestation and forest management, reducing dependence on chemical fertilisers and conserving natural resources.

**Keywords:** Spores, Vegetative growth, Mycorrhizal colonization, Forestry management

## 1. Introducción

El estudio de los hongos formadores de micorrizas ha suscitado un creciente interés desde el siglo XVIII, cuando M. Janse identificó micorrizas arbusculares en plantaciones de café en 1897[1–3]. La relevancia de estos hongos radica en sus múltiples funciones, como la captación de nutrientes[4,5], la modulación de la fisiología de las plantas[6,7] y su potencial para mejorar la productividad vegetal[8]. De la simbiosis entre las plantas y los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), surge una asociación simbiótica que beneficia a las plantas al mejorar la absorción de nutrientes, estimular el crecimiento foliar y aumentar la tasa fotosintética, además de fortalecer su capacidad para resistir el estrés hídrico[9–11].

Investigaciones previas, destacan los beneficios que las plantas obtienen al ser colonizadas por HMA, incluyendo un mejor enraizamiento y crecimiento, mayor captación de iones y nutrientes, capacidad de absorción de nutrientes poco móviles en el suelo y una mayor resistencia a la sequía y a patógenos radiculares[3,12–15]. Dichos beneficios no solo influyen en la productividad vegetal, sino que también tienen un impacto positivo en el medio ambiente, al contribuir al control de la erosión y la regeneración de la cobertura vegetal en suelos degradados[16–19]. Considerando la concepción de desarrollo sustentable, la gestión adecuada de los hongos micorrízicos se convierte en un factor esencial, promoviendo el uso racional de fertilizantes y plaguicidas y mejorando la estructura del suelo a través del micelio extraradical que se extiende en el suelo[20–28].

En el contexto ecuatoriano, se ha planteado un ambicioso plan nacional de forestación y reforestación para convertir al país en una potencia forestal[29]. Una de las especies seleccionadas para este propósito es la *Ochroma pyramidale*, conocida como Balsa, que cuenta con un alto valor comercial y un rápido crecimiento[30–33]. Sin embargo, para garantizar la calidad de los productos maderables y la propagación con calidad genética, es fundamental investigar el efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de Balsa en fase de vivero[32,34–36].

Por lo tanto, el presente estudio tiene como objetivo general analizar el efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de *Ochroma pyramidale* (Balsa) en fase de vivero. Para lograrlo, se plantean los siguientes objetivos específicos: 1) Cuantificar el número de esporas existentes en las plantas después de la inoculación; 2) Evaluar la infectividad micorrízica en las raíces de las plantas y 3) Determinar el crecimiento de las variables dasométricas de las mismas.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1 Área de estudio

Los análisis de las diferentes variables en plantas de *Ochroma pyramidale* (balsa) se llevaron a cabo en el laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal de la Universidad Tecnológica Equinoccial (UTEQ).

### 2.2 Fase de campo

En esta sección se realizó la inoculación de plantas de balsa con 30 esporas de hongos micorrízicos arbusculares previamente identificados a nivel de género. Las plantas se cultivaron en un sustrato compuesto por suelo más arena estéril y se regaron con agua destilada estéril. Luego de un período de 90 días desde las inoculaciones, se realizó una evaluación en la que se analizaron las siguientes variables: Altura de las plantas, Peso húmedo y seco del sistema foliar y radicular, Longitud total de las raíces (RL), Densidad radicular (RLv), Número de esporas de hongos micorrízicos presentes en 100 g de suelo húmedo (gsh-1) por maceta, Porcentaje de

densidad visual (micorrización) en las raíces, Presencia de pelos radicales. Estos parámetros se evaluaron con el fin de determinar el efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en el crecimiento y desarrollo de las plantas de balsa

### 2.3 Fase de laboratorio

Se utilizó el método descrito por Gerdemann y Nicolson [37], quienes proponen modificaciones para el aislamiento y conteo de esporas del suelo. En primer lugar, se pesaron 100 g de suelo y se colocaron en un vaso de precipitación, al que se añadió 1000 mL de agua y se agitó durante 3 a 5 minutos para disgregar los terrones, adaptando la duración según el tipo de suelo. Posteriormente, la suspensión se dejó reposar durante 2 minutos y se pasó a través de tamices con apertura de mallas de 425, 90 y 25  $\mu\text{m}$  para separar las esporas según su tamaño. Este proceso de agitación y decantación se repitió en tres ocasiones. Luego, el material atrapado en los diferentes tamices se recogió y se vertió en vasos de precipitación de 100 mL con 40 a 50 mL de agua destilada.

En tubos de centrifuga de 15 mL, se prepararon soluciones de sacarosa al 20% y al 60%. Primero se agregaron 5 mL de la solución al 20%, y luego se vertieron 5 mL de la solución al 60% en el fondo de la anterior, creando una gradiente de sacarosa. A continuación, se añadieron 5 mL de la solución del suelo recogido de los tamices, asegurándose de que la solución quedara por debajo del suelo suspendido en agua. Los tubos se sellaron con parafilm y se centrifugaron durante 3 minutos a 3000 r.p.m. Una vez terminada la centrifugación, los tubos se retiraron cuidadosamente, evitando romper la interfase agua-sacarosa. El contenido de los tubos se vertió en un tamiz de 25  $\mu\text{m}$  y se lavó con agua destilada para eliminar la sacarosa. Posteriormente, el contenido del tamiz se recogió en envases de vidrio y se agregó en cajas de Petri cuadrículadas, con aproximadamente 1,25 cm entre líneas, para realizar el conteo de esporas.

#### 2.3.1 Tinción de raíces

Para determinar el porcentaje de colonización micorrízica en las raíces de balsa, se utilizó el método propuesto por Phillips y Hayman [38]. Inicialmente, las raíces se lavaron con agua corriente y luego se trataron con solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% en un baño de María a 90°C durante 15 minutos. Después de eliminar el KOH y lavar nuevamente las raíces, se realizó un tratamiento adicional de blanqueo con peróxido de hidrógeno (3%) si las raíces presentaban pigmentación oscura. Posteriormente, se lavaron en solución de KOH al 10% mezclada con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 10% durante 10 minutos y se acidificaron con una solución de ácido clorhídrico (HCl) al 1N durante 10 minutos. Seguidamente, las raíces se tiñeron con Azul de Tripiano en lactoglicerol y se sometieron a un baño de María durante 15 minutos. Después del proceso de tinción, se lavaron en agua destilada y se dejaron reposar para eliminar el exceso de colorante. Luego, se montaron 50 segmentos de raíces en láminas portaobjetos con glicerol al 50% y se observaron al microscopio a 40x. La frecuencia (%) de colonización radicular se determinó considerando los segmentos colonizados y no colonizados, contabilizando las estructuras micorrízicas presentes para obtener el porcentaje de colonización micorrízica en las raíces de las plantas de balsa

#### 2.3.2 Diseño de tratamientos

En el marco de esta investigación, se emplearon cuatro tratamientos diferentes (inoculantes), cada uno de los cuales se replicó diez veces para asegurar robustez en los resultados. Los tratamientos utilizados fueron los siguientes:

T1: Consorcios micorrízicos del género *Glomus*.

T2: Consorcios micorrízicos del género *Acaulospora*.

T3: Consorcios micorrízicos del género *Scutellospora*.

T4: Testigo (Agua destilada estéril).

#### 2.3.3 Diseño experimental (comparación entre medias)

Los tratamientos se dispusieron en un Diseño Completamente al Azar (Tabla 1).

**Tabla 1.** Esquema del análisis de la varianza para el diseño experimental

Fuente de Variación	Grados de libertad
Tratamientos	$t-1 = 3$
Error	$t(r-1) = 36$
Total	$(t*r) - 1 = 39$

#### 2.3.4 Modelo matemática y estadístico.

El modelo matemático utilizado en cada experimento y que describe el comportamiento de las variables de respuesta es el siguiente:

$$Y_{ik} = \mu + T_i + \varepsilon_{ik}$$

$\mu$  = Media poblacional

$T_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo localidad

$\varepsilon_{ik}$  = Error experimental para cada observación.

Por otra parte, las comparaciones de medias se realizaron mediante la prueba de Tukey al 5 % de probabilidades de error. Los resultados se tabularon con el paquete estadístico INFOSTAT.

#### 2.3.5 Colonización micorrízica

La variable de colonización endomicorrízica se evaluó a los 90 días mediante el método de clarificación y tinción de raíces siguiendo la técnica de Phillips y Hayman [38], utilizando una escala de 0 a 5 propuesta por Giovannetti y Mosse [39]. Para ello, se distribuyeron homogéneamente muestras de raíces de peso conocido en placas de Petri reticuladas, después de ser decoloradas previamente con solución alcalina y sometidas a tinción en medio ácido. Luego, las raíces se observaron bajo un microscopio estereoscópico y se contabilizaron las raíces interceptadas por el reticulado de la placa siguiendo un recorrido ordenado. La frecuencia e intensidad de la micorrización se determinaron asignando un valor a la clase correspondiente.

El número de esporas por cada tratamiento se cuantificó utilizando el método descrito por Gerdemann y Nicolson [37], como se mencionó previamente.

Para medir la altura de las plantas, se midieron diez plantas de cada repetición desde la base de la planta (cuello) hasta la última hoja visible del extremo superior, utilizando una cinta métrica y expresando los valores en centímetros.

La producción de materia húmeda y seca foliar y radicular se determinó pesando el material fresco de las plantas y la masa radicular, respectivamente. Luego, se colocaron en una estufa a 75°C durante 48 horas y se registró el peso seco. Estas variables se evaluaron a los 90 días.

La evaluación de los pelos radicales siguió la metodología propuesta por Giovannetti y Mosse [39]. La longitud total de raíces por planta (RL) se calculó sumando todas las longitudes de cada raíz individual en cm, utilizando la fórmula propuesta por Jungk y Claassen [40]. Estas mediciones se realizaron a los 90 días después de la siembra.

$$RL = \frac{\text{Peso fresco raíces por maceta}}{\text{Número de plantas por maceta}} \times RLs$$

Donde RLs = Largo específico de la raíz

#### 2.3.6 Longitud de raíz por volumen de suelo (RLv)

Es el parámetro que estima la competición interradicular por nutrientes. Se expresa en  $\text{cm}^{-3}$ . A continuación, se detalla la ecuación que se empleó para su cálculo.

$$RL_v = \frac{RL \times (\text{número de plantas por maceta})}{(\text{Volumen de suelo} \div \text{densidad de suelo})}$$

### 3. Resultados

#### 3.1. Población de esporas de hongos MA

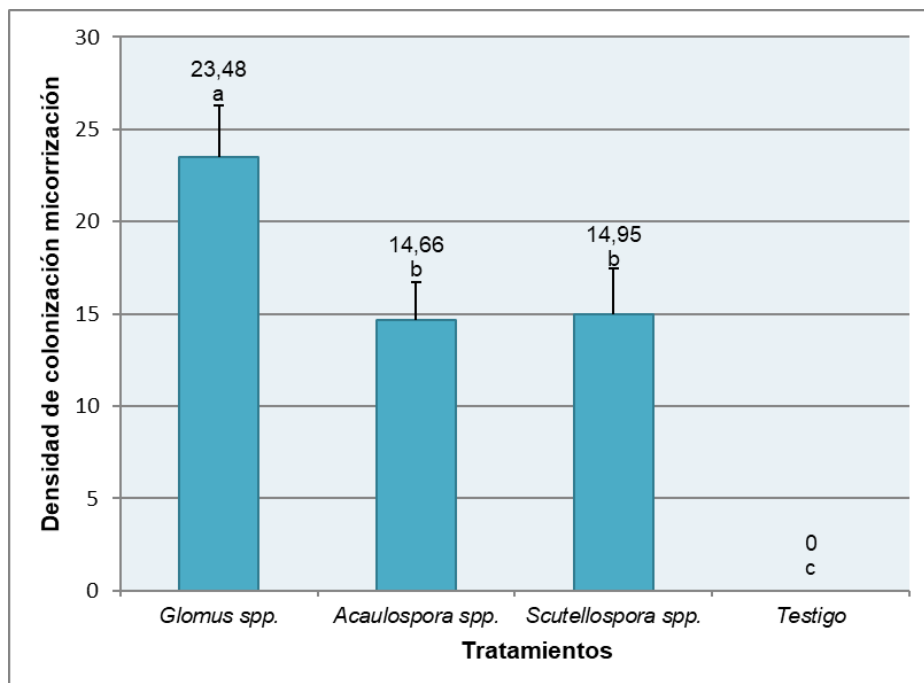
Se encontró que el tratamiento que contenía el consorcio micorrízico del género *Glomus* spp. presentó la mayor concentración de esporas, con un total de 450 esporas por cada 100 gramos de suelo húmedo (gsh-1). El siguiente tratamiento con mayor cantidad de esporas fue el que contenía el consorcio micorrízico del género *Acaulospora* spp., con un total de 252 esporas, mientras que el tratamiento con el consorcio micorrízico del género *Scutellospora* spp. mostró el menor número de esporas, con 126 esporas. Para la recolección de esporas, se emplearon cuatro tipos de tamices con diferentes aperturas de mallas, colocados en orden descendente de tamaño: 500, 425, 90 y 25  $\mu\text{m}$ , para separar las esporas de hongos micorrízicos arbusculares según su tamaño (Tabla 2).

**Tabla 2.** Población de esporas de hongos MA aisladas por cada 100 gramos de suelo húmedo (gsh-1), a los 90 días después de las inoculaciones en cuatro tipos de tamices con diferente apertura de malla 500, 425, 90 y 25  $\mu\text{m}$ , utilizando plantas de balsa.

Apertura de Tamiz	<i>Glomus</i> spp.	<i>Acaulospora</i> spp.	<i>Scutellospora</i> spp.
500 $\mu\text{m}$	2	13	0
425 $\mu\text{m}$	17	21	3
90 $\mu\text{m}$	156	96	48
25 $\mu\text{m}$	275	122	75
Total	450	252	126

#### 3.2. Densidad de colonización micorrízica en raíces

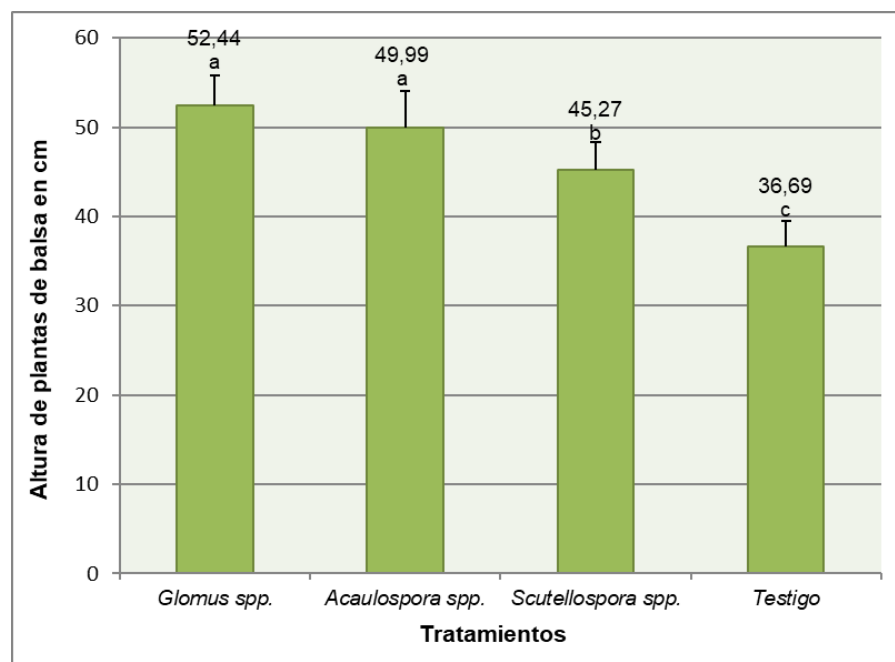
Se encontraron diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de densidad de colonización micorrízica en las raíces de balsa a los 90 días después de las inoculaciones entre los diferentes tratamientos. El tratamiento que contenía el consorcio micorrízico del género *Glomus* spp. demostró una alta capacidad de infección, mostrando una densidad visual de micorrización de 23,48%, la cual fue ampliamente superior a los demás tratamientos. Por otro lado, los tratamientos con consorcios micorrízicos de *Acaulospora* spp. y *Scutellospora* spp. no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre sí, obteniendo porcentajes de colonización micorrízica similares, con valores de 14,66% y 14,95%, respectivamente. El tratamiento testigo, que no recibió inoculación de hongos MA y permaneció en un suelo estéril durante todo el tiempo, no presentó colonización micorrízica como se esperaba (Figura 1).



**Figura 1.** Porcentaje de densidad de colonización micorrizica en raíces de balsa. Los valores representan la media de 150 raicillas evaluadas, con barras de desviación estándar.

### 3.3. Altura de las plantas

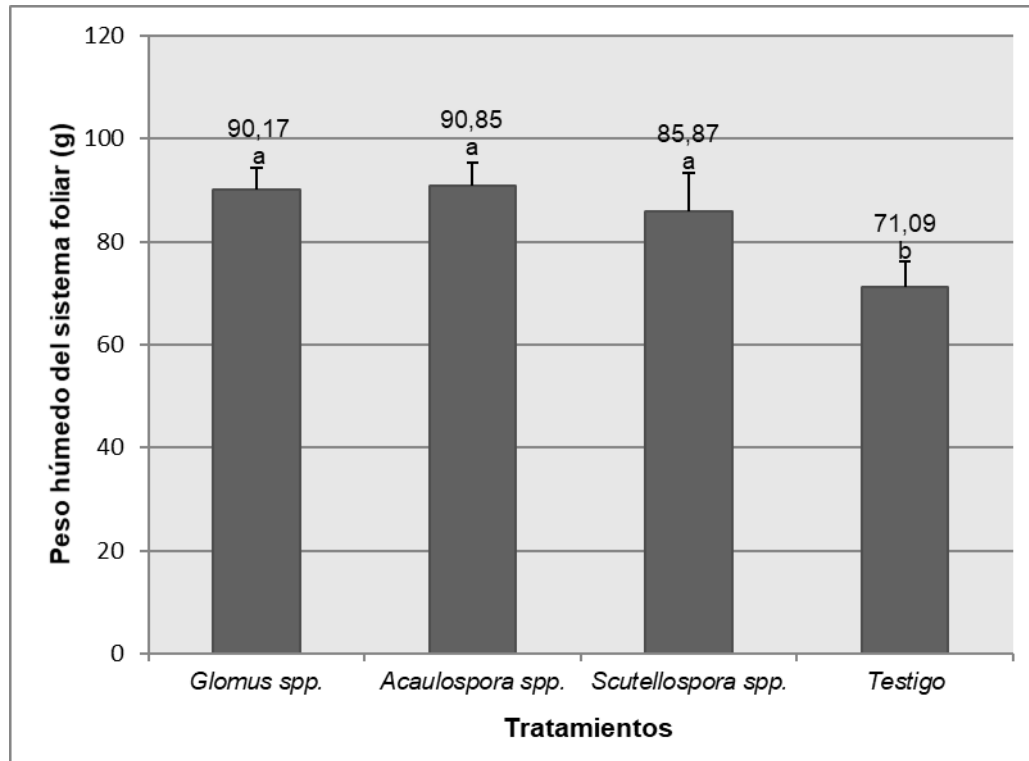
En relación a las variables dasométricas evaluadas en las plantas de balsa, se analizó la altura de las mismas, mostrando diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, tal como se evidencia en la figura 2. Los tratamientos más favorables fueron *Glomus* spp. y *Acaulospora* spp., con alturas de 52,44 cm y 49,99 cm, respectivamente, mostrando similitud estadística entre ellos, pero difiriendo significativamente del tratamiento que contenía hongos MA, es decir, *Scutellospora* spp., con una altura de 45,27 cm. Por otro lado, el tratamiento testigo, que no recibió inoculación de hongos MA, presentó la altura más baja con 36,69 cm para esta variable.



**Figura 2.** Altura de plantas de balsa usando cuatro tratamientos a los 90 días después de las inoculaciones con hongos MA. Los valores representan la media de diez repeticiones con barras de desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,05$ ).

### 3.4. Peso húmedo del sistema foliar

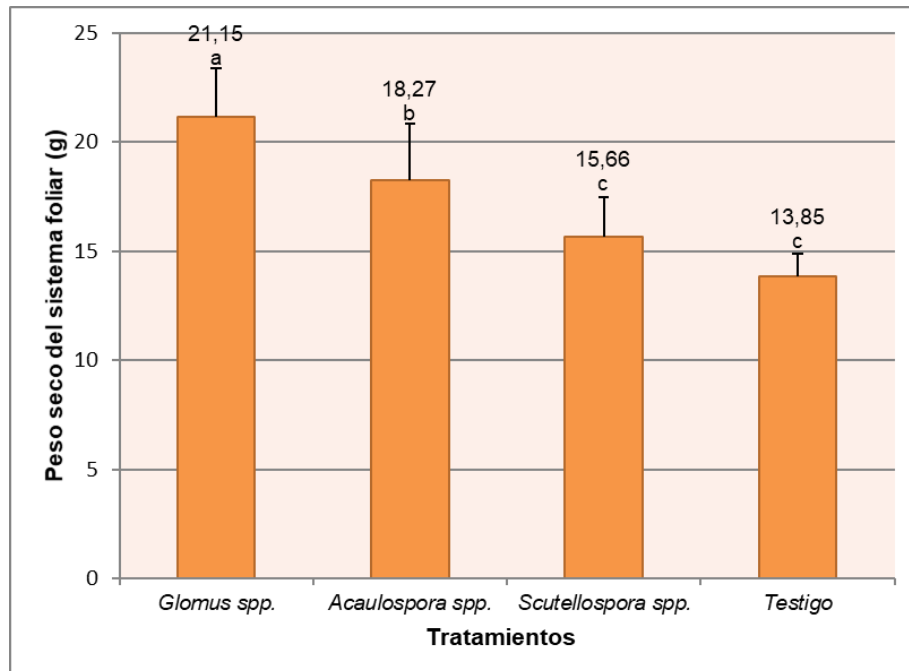
En relación al peso húmedo del área foliar de las plantas de balsa, se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos a los 90 días después de las inoculaciones con hongos MA, según el análisis ANOVA realizado. El tratamiento con *Acaulospora* spp. presentó el valor promedio más elevado de peso húmedo foliar, con 90,85 g/planta, aunque no mostró diferencias estadísticamente significativas con los tratamientos *Glomus* spp. y *Scutellospora* spp., que obtuvieron pesos húmedos foliares promedio de 90,17 g/planta y 85,87 g/planta, respectivamente. Por otro lado, el tratamiento Testigo (agua destilada estéril) obtuvo el valor más bajo en esta variable, con 71,09 g/planta, siendo estadísticamente significativamente menor (Figura 3).



**Figura 3.** Peso húmedo del sistema foliar de plantas de balsa usando cuatro tratamientos a los 90 días después de las inoculaciones. Los valores representan la media de diez repeticiones, con barras de desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,05$ ).

### 3.5. Peso seco del sistema foliar

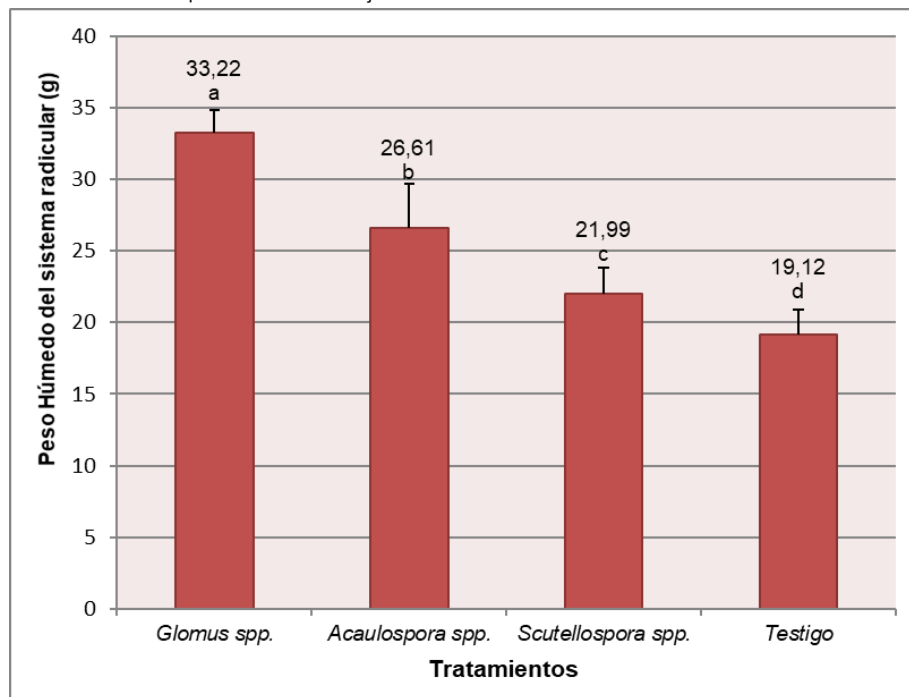
Se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos a los 90 días después de las inoculaciones con hongos micorrízicos arbusculares. El tratamiento que contenía el consorcio micorrízico *Glomus* spp. destacó significativamente, con un valor promedio de 21,15 g/planta, seguido del tratamiento *Acaulospora* spp. con 18,27 g/planta y *Scutellospora* spp. con 15,66 g/planta. En resumen, todos los tratamientos que contenían el inóculo de hongos MA mostraron un mayor peso seco del sistema foliar en comparación con el tratamiento Testigo, que solo obtuvo un promedio de 13,85 g/planta, constituyéndose como el valor más bajo (Figura 4).



**Figura 4.** Peso seco del sistema foliar de plantas de balsa usando cuatro tratamientos a los 90 días después de las inoculaciones. Los valores representan la media de diez repeticiones, con barras de desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,05$ ).

### 3.6. Peso húmedo del sistema radicular

La figura 5 muestra los resultados obtenidos después del análisis estadístico ANOVA para la variable "peso húmedo del sistema radicular" en plantas de balsa. A los 90 días después de las inoculaciones con hongos MA, se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. El tratamiento que contenía hongos MA del género *Glomus* alcanzó el mayor promedio con 33,22 g/planta, seguido de *Acaulospora* spp. con 26,61 g/planta y *Scutellospora* spp. con 21,99 g/planta. En contraste, el tratamiento Testigo, que no contenía hongos MA, obtuvo un valor más bajo de 19,12 g/planta, siendo este el menor valor entre todos los tratamientos utilizados en el presente trabajo.

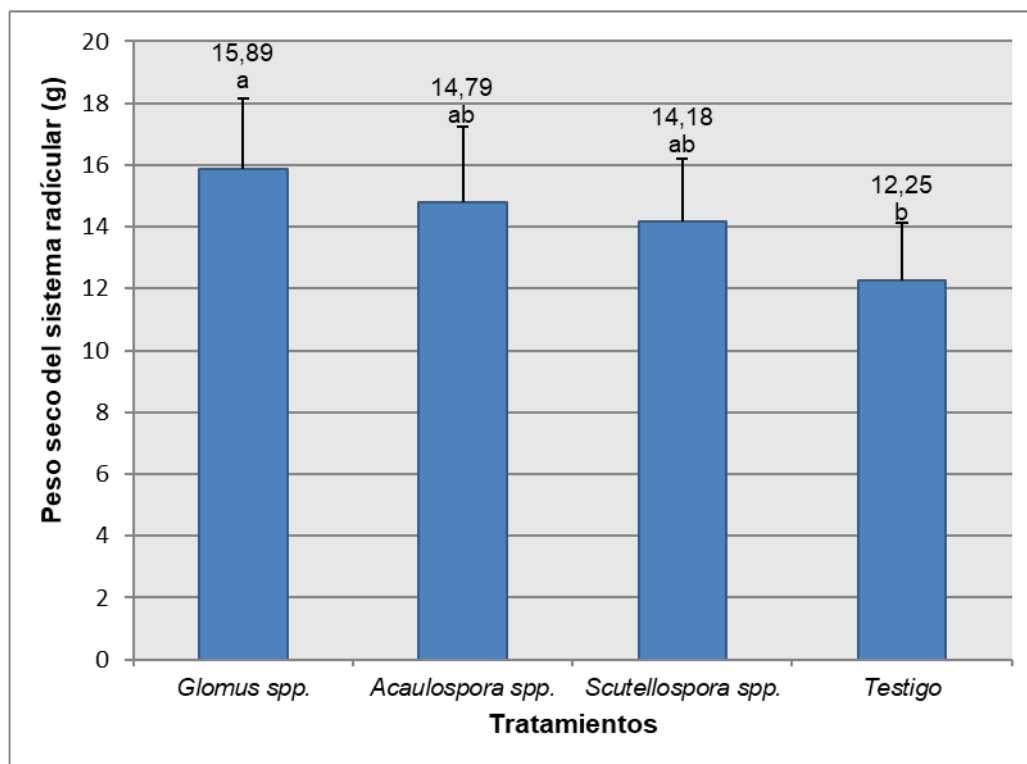




**Figura 5.** Peso húmedo del sistema radicular de plantas de balsa usando cuatro tratamientos a los 90 días después de las inoculaciones. Los valores representan la media de diez repeticiones, con barras de desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,05$ ).

### 3.7. Peso seco del sistema radicular

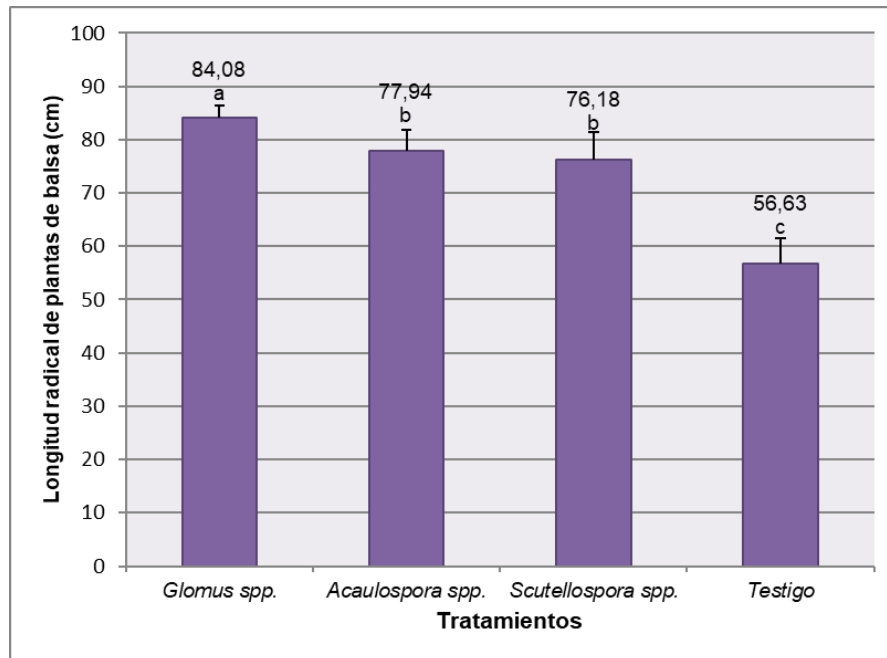
En la figura 6, se presenta el peso seco del sistema radicular de las plantas de balsa evaluado a los 90 días después de las inoculaciones con los cuatro tratamientos utilizados en la investigación. Se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. El tratamiento que contenía como inóculo la micorriza arbuscular *Glomus spp.* mostró un peso seco de 15,89 g/planta, siendo numéricamente superior a *Acaulospora spp.* y *Scutellospora spp.*, con valores de 14,79 y 14,18 g/planta, respectivamente, aunque no se reportaron diferencias estadísticas significativas entre ellos. Por otro lado, el tratamiento testigo, nuevamente presentó el promedio más bajo, con 12,25 g/planta, pero no mostró diferencias estadísticas significativas con los tratamientos *Acaulospora spp.* y *Scutellospora spp.*



**Figura 6.** Peso seco del sistema radicular de plantas de balsa usando cuatro tratamientos a los 90 días después de las inoculaciones. Los valores representan la media de diez repeticiones, con barras de desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,05$ ).

### 3.8. Longitud radical

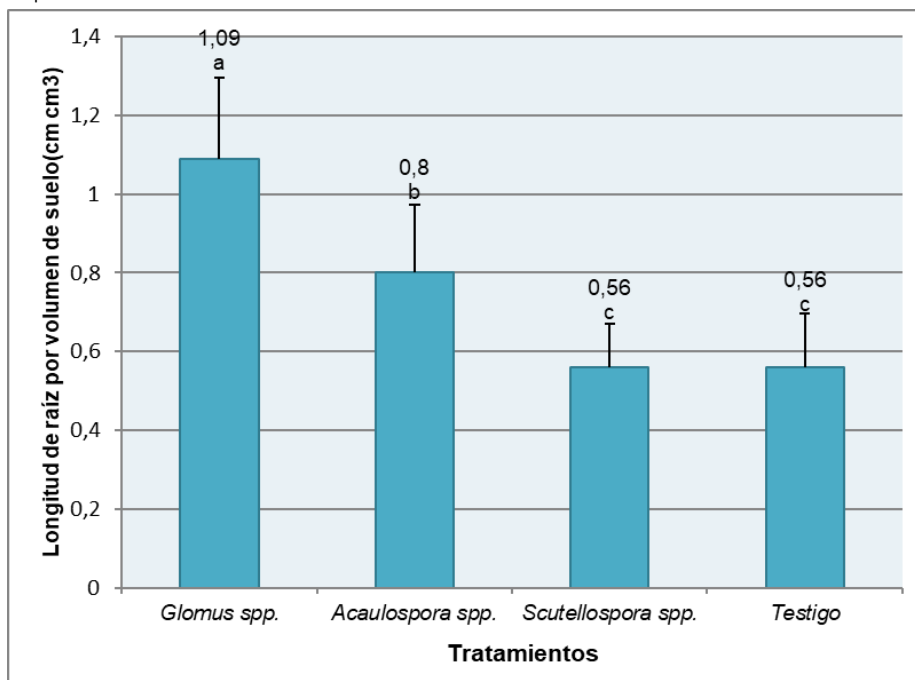
En el análisis de longitud radical realizado a las plantas de balsa a los 90 días después de las inoculaciones, se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (Figura 7). El tratamiento más efectivo fue *Glomus spp.*, que alcanzó una longitud promedio de 84,08 cm/planta. Los tratamientos que también recibieron inóculos de micorriza arbuscular mostraron comportamientos estadísticamente similares entre sí, pero fueron superiores al tratamiento testigo, que registró un promedio de 56,635 cm de raíz/planta. Los tratamientos con hongos MA *Acaulospora spp.* y *Scutellospora spp.* alcanzaron longitudes de raíz de 77,94 cm y 76,18 cm por planta, respectivamente. Estos resultados demuestran la capacidad de estos hongos para aumentar el área radicular en comparación con las plantas no inoculadas con hongos MA.



**Figura 7.** Longitud radical de plantas de balsa usando cuatro tratamientos a los 90 días después de las inoculaciones. Los valores representan la media de diez repeticiones, con barras de desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas.

### 3.9. Longitud de raíz por volumen de suelo (RLv)

Se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos a los 90 días después de las inoculaciones en las plantas de balsa, con respecto a la variable longitud de raíz por volumen de suelo. En la Figura 8 se observa que el tratamiento más efectivo de los cuatro utilizados en la presente investigación fue *Glomus spp.*, con un valor de 1,09  $\text{cm cm}^{-3}$ . Le siguió el tratamiento *Acaulospora spp.* con 0,8  $\text{cm cm}^{-3}$ . Por otro lado, los tratamientos *Scutellospora spp.* y el tratamiento testigo (agua destilada estéril) mostraron valores estadísticamente similares entre sí, ambos con un valor de 0,56  $\text{cm cm}^{-3}$ , siendo los valores más bajos para la variable longitud de raíz por volumen de suelo.

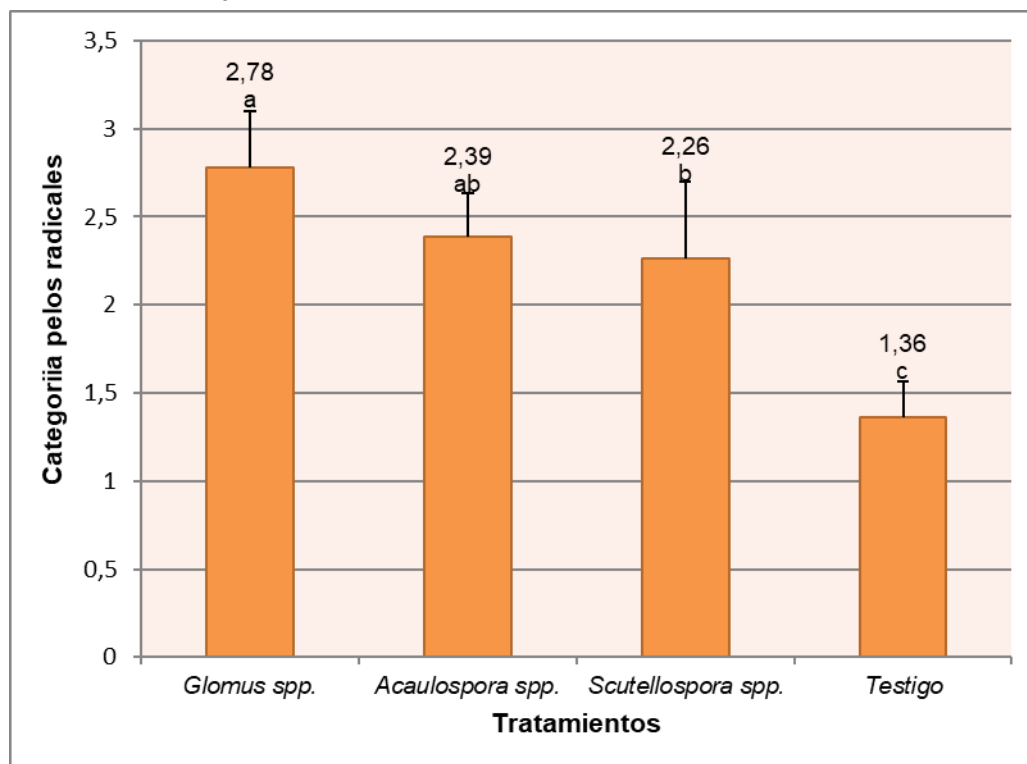


**Figura 8.** Longitud total de raíz por volumen de suelo (RLv) en plantas de balsa usando cuatro tratamientos a los 90 días después de las inoculaciones. Los valores representan la media de

cinco repeticiones, con barras de desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,05$ ).

### 3.10. Porcentaje de pelos radicales

La Figura 9 muestra un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) en el porcentaje de pelos radicales en plantas de balsa a los 90 días después de las inoculaciones. El tratamiento *Glomus spp.* presentó el mayor porcentaje de pelos radicales con un valor de 2,78%, aunque no difirió estadísticamente del tratamiento *Acaulospora spp.*, que alcanzó un porcentaje de 2,39% en la evaluación. El tratamiento *Scutellospora spp.* obtuvo un promedio de 2,26%, mientras que el tratamiento testigo, que no recibió inoculación de hongos micorrízicos arbusculares, tuvo un porcentaje de 1,36% de pelos radicales. Nuevamente, el tratamiento testigo reportó el valor más bajo, como ha sido la tendencia en las demás variables evaluadas.



**Figura 9.** Porcentaje de pelos radicales en plantas de balsa usando cuatro tratamientos a los 90 días después de las inoculaciones. Los valores representan la media de diez repeticiones, con barras de desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,05$ ).

## 4. Discusión

Los autores El análisis de varianza (ANOVA) realizado en esta investigación reveló la presencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Los valores de alta densidad visual sugieren que los consorcios micorrízicos se establecieron rápidamente en las raíces de las plantas de balsa (*Ochroma pyramidale*) a los 90 días después de las inoculaciones, lo que indica un proceso de infección veloz y una buena densidad de hongos dentro de las raíces. En contraste, estudios previos como el de Tobar-Franco [41] mostraron una infección lenta y escasa a los 180 días después de las inoculaciones, lo cual puede atribuirse a la especificidad evolutiva de los hongos hacia su huésped original. La especificidad ecológica de las micorrizas arbusculares implica que los monocultivos pueden seleccionar los hongos que necesitan, reduciendo así los beneficios potenciales para otras plantas [42,43].

La elección del género de planta utilizada como planta trampa también influye en los resultados, como señalan Morales y Durango [44], quienes obtuvieron mejores resultados con la propagación de esporas de hongos micorrízicos utilizando sorgo (*S. vulgare*). Además, durante la inoculación de los consorcios micorrízicos en las plantas trampa, puede haber presencia de

hongos saprófitos del suelo, como *Trichocladium* sp., lo que sugiere que este hongo puede vivir en la rizosfera asociado a gramíneas [44].

En relación a la población de esporas, todos los consorcios micorrízicos incrementaron su población micorrízica, siendo el consorcio micorrízico *Glomus* spp. el que alcanzó la mayor población de esporas con 450 esporas/100gss, un inóculo menor en comparación con el obtenido por Enríquez [45] de 20,400 esporas/100gss, pero suficiente para lograr los propósitos de inoculación. La esporulación no refleja directamente el nivel de colonización en las raíces de la planta, ya que la esporulación ocurre después de que la biomasa ha pasado el umbral crítico en la raíz, y su desarrollo continúa con el tiempo. Es importante incrementar el porcentaje de estructuras micorrízicas dentro de la raíz para producir una población de esporas alta.

La significancia estadística mostró diferencias para todas las variables evaluadas en esta investigación, lo que sugiere que los consorcios otorgaron cantidades diferentes de materia húmeda y seca a las plantas huésped debido a la alta densidad del endófito en las raíces, lo que a su vez contribuyó con cantidades distintas de nutrientes y marcó la diferencia en el crecimiento vegetativo de la planta. Entry et al. [46] mencionan que la colonización micorrízica resulta en el incremento del área foliar y la biomasa total y radical de las plantas asociadas, lo cual es alcanzado con una buena colonización micorrízica. La diversidad de los consorcios micorrízicos utilizados también influyó en el comportamiento diferencial de las plantas huésped, ya que no todos los consorcios poseían las mismas poblaciones de morfoespecies.

El análisis de ANOVA para la variable altura de planta reveló diferencias estadísticas significativas a los 90 días después de las inoculaciones. Esto concuerda con los resultados obtenidos por [47,48], quienes encontraron diferencias significativas a diferentes periodos después de la inoculación, lo que sugiere que el simbionte micorrízico requiere de un período inicial de incubación variable dependiendo del hospedero.

En cuanto a la variable longitud de raíz por planta (RL) y longitud de raíz por volumen de suelo (RLv), las plantas de balsa inoculadas con consorcios micorrízicos del género *Glomus*, *Acaulospora* y *Scutellospora* obtuvieron una longitud de raíz más grande que el testigo. Estos resultados son consistentes con los hallazgos encontrados por [49,50], que también encontraron incrementos en la longitud radicular de plantas con inoculación micorrízica.

## 5. Conclusiones

El presente estudio demostró que la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de Balsa en fase de vivero resulta altamente beneficiosa, mejorando significativamente las condiciones fenotípicas a los 90 días después de las inoculaciones. El consorcio micorrízico *Glomus* extraído de sistemas agroforestales con cacao de la zona de Quevedo mostró los mejores resultados para las variables evaluadas en las plantas de Balsa.

Este enfoque beneficiará a los productores forestales y la industria maderera al mejorar la calidad y el rendimiento de las plantaciones de Balsa, además de tener un impacto ambiental positivo al favorecer prácticas sostenibles en el manejo forestal y la conservación de suelos. La utilización de hongos micorrízicos como inoculantes puede reducir la dependencia de fertilizantes químicos y proteger los recursos naturales.

Además, este estudio enriquecerá el conocimiento científico sobre las interacciones entre hongos micorrízicos y plantas, permitiendo el desarrollo de estrategias más efectivas y sustentables en la agricultura y reforestación. Se recomienda evaluar las plantas inoculadas en el sitio de trasplante definitivo para validar la eficacia a largo plazo. Los actores beneficiados incluyen productores, agricultores, viveristas, tomadores de decisiones y la comunidad científica, quienes podrán aprovechar estos resultados para promover prácticas ambientalmente amigables y el desarrollo de políticas de manejo forestal sostenible.

**Contribución de autores:** conceptualización, C.V.M.C., R.J.H-F. y M.S.C-P.; metodología, C.V.M.C. y R.J.H-F.; software, M.S.C-P. y J.M-C.; validación, M.S.C-P. y J.M-C.; análisis formal, C.V.M.C., R.J.H-F. y M.S.C-P.; investigación, C.V.M.C., R.J.H-F., M.S.C-P. y J.M-C.; recursos, C.V.M.C. y R.J.H-F.; curaduría de datos, C.V.M.C. y R.J.H-F.; redacción-revisión y edición, C.V.M.C., R.J.H-F., M.S.C-P. y J.M-C.; visualización, C.V.M.C. y R.J.H-F.;

supervisión, M.S.C–P. y J.M–C.; administración de proyectos, C.V.M.C. y R.J.H–F.; adquisición de fondos, C.V.M.C. y R.J.H–F.

**Financiamiento:** Los autores financiaron a integridad el estudio.

**Conflictos de interés:** Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Referencias

1. Marro, N.; Grilli, G.; Soteras, F.; Caccia, M.; Longo, S.; Cofré, N.; Borda, V.; Burni, M.; Janoušková, M.; Urcelay, C. The Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Species and Taxonomic Groups on Stressed and Unstressed Plants: A Global Meta-analysis. *New Phytol.* **2022**, *235*, 320–332.
2. Weng, W.; Yan, J.; Zhou, M.; Yao, X.; Gao, A.; Ma, C.; Cheng, J.; Ruan, J. Roles of Arbuscular Mycorrhizal Fungi as a Biocontrol Agent in the Control of Plant Diseases. *Microorganisms* **2022**, *10*, 1266.
3. Bennett, A.E.; Groten, K. The Costs and Benefits of Plant–Arbuscular Mycorrhizal Fungal Interactions. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2022**, *73*, 649–672.
4. Chandrasekaran, M. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Mediated Enhanced Biomass, Root Morphological Traits and Nutrient Uptake under Drought Stress: A Meta-Analysis. *J. Fungi* **2022**, *8*, 660.
5. Xie, K.; Ren, Y.; Chen, A.; Yang, C.; Zheng, Q.; Chen, J.; Wang, D.; Li, Y.; Hu, S.; Xu, G. Plant Nitrogen Nutrition: The Roles of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *J. Plant Physiol.* **2022**, *269*, 153591.
6. Wang, Y.; Zou, Y.–N.; Shu, B.; Wu, Q.–S. Deciphering Molecular Mechanisms Regarding Enhanced Drought Tolerance in Plants by Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. **2023**, *308*, 111591.
7. Tisarum, R.; Samphumphuang, T.; Yooyoungwech, S.; Singh, H.P.; Cha–um, S. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Modulate Physiological and Morphological Adaptations in Para Rubber Tree (*Hevea Brasiliensis*) under Water Deficit Stress. *Biologia (Bratisl)*. **2022**, *77*, 1723–1736.
8. Kalamulla, R.; Karunaratna, S.C.; Tibpromma, S.; Galappaththi, M.C.A.; Suwannarach, N.; Stephenson, S.L.; Asad, S.; Salem, Z.S.; Yapa, N. Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Sustainable Agriculture. *Sustainability* **2022**, *14*, 12250.
9. Sarathambal, C.; Sivaranjani, R.; Srinivasan, V.; Alagupalamuthirsolai, M.; Subila, K.P.; Anamika, B. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Inoculation on Growth, Mineral Nutrient Uptake, Photosynthesis and Antioxidant Activities of Black Pepper Cuttings. *J. Plant Nutr.* **2023**, *46*, 2508–2524.
10. Ma, S.; Yue, J.; Wang, J.; Jia, Z.; Li, C.; Zeng, J.; Liu, X.; Zhang, J. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Alleviate Salt Stress Damage by Coordinating Nitrogen Utilization in Leaves of Different Species. *Forests* **2022**, *13*, 1568.
11. Khan, Y.; Shah, S.; Tian, H. The Roles of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Influencing Plant Nutrients, Photosynthesis, and Metabolites of Cereal Crops—A Review. *Agronomy* **2022**, *12*, 2191.
12. Wang, L.; Yang, D.; Ma, F.; Wang, G.; You, Y. Recent Advances in Responses of Arbuscular Mycorrhizal Fungi–Plant Symbiosis to Engineered Nanoparticles. *Chemosphere* **2022**, *286*, 131644.
13. Khaliq, A.; Perveen, S.; Alamer, K.H.; Zia Ul Haq, M.; Rafique, Z.; Alsudays, I.M.; Althobaiti, A.T.; Saleh, M.A.; Hussain, S.; Attia, H. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Symbiosis to Enhance Plant–Soil Interaction. *Sustainability* **2022**, *14*, 7840.
14. Noceto, P.–A.; Bettenfeld, P.; Boussageon, R.; Hériché, M.; Sportes, A.; van Tuinen, D.; Courty, P.–E.; Wipf, D. Arbuscular Mycorrhizal Fungi, a Key Symbiosis in the Development of Quality Traits in Crop Production, Alone or Combined with Plant Growth–Promoting Bacteria. *Mycorrhiza* **2021**, *31*, 655–669.
15. Ma, X.; Geng, Q.; Zhang, H.; Bian, C.; Chen, H.Y.H.; Jiang, D.; Xu, X. Global Negative Effects of Nutrient Enrichment on Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Plant Diversity and Ecosystem Multifunctionality. *New Phytol.* **2021**, *229*, 2957–2969.
16. Fall, A.F.; Nakabonge, G.; Ssekandi, J.; Founoune–Mboup, H.; Apori, S.O.; Ndiaye, A.; Badji, A.; Ngom, K. Roles of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Soil Fertility: Contribution in the Improvement of Physical, Chemical, and Biological Properties of the Soil. *Front. Fungal Biol.* **2022**, *3*.
17. Gou, X.; Ni, H.; Sadowsky, M.J.; Chang, X.; Liu, W.; Wei, X. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Alleviate Erosion–Induced Soil Nutrient Losses in Experimental Agro–Ecosystems. *Catena* **2023**, *220*, 106687.
18. Zheng, Y.; Chen, N.; Yu, K.; Zhao, C. The Effects of Fine Roots and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Soil Macropores. *Soil Tillage Res.* **2023**, *225*, 105528.
19. Matos, P.S.; Silva, C.F. da; Damian, J.M.; Cerri, C.E.P.; Pereira, M.G.; Zonta, E. Beneficial Services of Glomalin and Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Degraded Soils in Brazil. *Sci. Agric.* **2021**,

- 79.
20. Messa, V.R.; Savioli, M.R. Improving Sustainable Agriculture with Arbuscular Mycorrhizae. *Rhizosphere* **2021**, *19*, 100412.
  21. Bi, Y.; Xiao, L.; Guo, C.; Christie, P. Revegetation Type Drives Rhizosphere Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Soil Organic Carbon Fractions in the Mining Subsidence Area of Northwest China. *Catena* **2020**, *195*, 104791.
  22. Xiao, L.; Lai, S.; Chen, M.; Long, X.; Fu, X.; Yang, H. Effects of Grass Cultivation on Soil Arbuscular Mycorrhizal Fungi Community in a Tangerine Orchard. *Rhizosphere* **2022**, *24*, 100583.
  23. Liu, J.; Zhang, J.; Li, D.; Xu, C.; Xiang, X. Differential Responses of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities to Mineral and Organic Fertilization. *Microbiologyopen* **2020**, *9*, e00920.
  24. Rillig, M.C.; Aguilar-Trigueros, C.A.; Camenzind, T.; Cavagnaro, T.R.; Degruene, F.; Hohmann, P.; Lammel, D.R.; Mansour, I.; Roy, J.; van der Heijden, M.G.A. Why Farmers Should Manage the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *New Phytol.* **2019**, *222*, 1171–1175.
  25. Gujre, N.; Soni, A.; Rangan, L.; Tsang, D.C.W.; Mitra, S. Sustainable Improvement of Soil Health Utilizing Biochar and Arbuscular Mycorrhizal Fungi: A Review. *Environ. Pollut.* **2021**, *268*, 115549.
  26. Duan, H.-X.; Luo, C.-L.; Li, J.-Y.; Wang, B.-Z.; Naseer, M.; Xiong, Y.-C. Improvement of Wheat Productivity and Soil Quality by Arbuscular Mycorrhizal Fungi Is Density- and Moisture-Dependent. *Agron. Sustain. Dev.* **2021**, *41*, 1–12.
  27. Ferrol, N.; Azcón-Aguilar, C.; Pérez-Tienda, J. Arbuscular Mycorrhizas as Key Players in Sustainable Plant Phosphorus Acquisition: An Overview on the Mechanisms Involved. *Plant Sci.* **2019**, *280*, 441–447.
  28. Kuila, D.; Ghosh, S. Aspects, Problems and Utilization of Arbuscular Mycorrhizal (AM) Application as Bio-Fertilizer in Sustainable Agriculture. *Curr. Res. Microb. Sci.* **2022**, *3*, 100107.
  29. MAATE *Plan Nacional de Restauración Forestal 2019 – 2030*; Quito-Ecuador, 2019;
  30. González, B.; Oviedo, B.; Simba, L. Un Cultivo Resiliente Para Enfrentar El Cambio Climático, La Balsa (Ochroma Pyramidale Sw). *Rev. Científica Cienc. y Tecnol.* **2018**, *18*.
  31. Romero, E.J.; Franco, L.G.; Patiño, M.C.; Patiño, H.M.C.; Carriel, J.M.; Chévez, M.M. Germinación y Crecimiento de Ochroma Pyramidale (Cav. Ex Lam.) Urb. En Ecuador. *Sci. Agropecu.* **2017**, *8*, 243–250.
  32. Pinargote, C.B.; Apuntes, E.S.; Romero, O.D.; Navarrete, P.D.; Cando, M.G. Hongos de Micorriza Arbuscular Presentes En Ochroma Pyramidale (Cav. Ex Lam.) Urb.(Balsa) En Ecuador. *J. Sci. Res.* **2020**, *5*, 71–84.
  33. Osorio, B.G.; Fonseca, C.S.; Navarrete, E.D.T.; Simba, L.; Chancay, X.R. Caracterización Del Cultivo de Balsa (Ochroma Pyramidale) En La Provincia de Los Ríos-Ecuador. *Cienc. y Tecnol.* **2010**, *3*, 7–11.
  34. Tawaraya, K.; Turjaman, M. Use of Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Reforestation of Degraded Tropical Forests. In *Mycorrhizal Fungi: Use in Sustainable Agriculture and Land Restoration*; Springer, 2014; pp. 357–373.
  35. Kiers, E.T.; Lovelock, C.E.; Krueger, E.L.; Herre, E.A. Differential Effects of Tropical Arbuscular Mycorrhizal Fungal Inocula on Root Colonization and Tree Seedling Growth: Implications for Tropical Forest Diversity. *Ecol. Lett.* **2000**, *3*, 106–113.
  36. Pinargote, C.B.; Gill, D.C.; Benavides, O.P.; Tobar, R.L.; Apuntes, E.S.; Bone, F.M. Hongos Formadores de Micorriza Arbuscular Asociados a Plantaciones de Ochroma Pyramidale (Cav. Ex Lam.) Urb.(Balsa) En El Trópico Húmedo Ecuatoriano. *Cienc. y Tecnol.* **2019**, *12*, 57–63.
  37. Gerdemann, J.W.; Nicolson, T.H. Spores of Mycorrhizal Endogone Species Extracted from Soil by Wet Sieving and Decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **1963**, *46*, 235–244.
  38. Phillips, J.M.; Hayman, D.S. Improved Procedures for Clearing Roots and Staining Parasitic and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Rapid Assessment of Infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **1970**, *55*, 158–IN18.
  39. Giovannetti, M.; Mosse, B. An Evaluation of Techniques for Measuring Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Infection in Roots. *New Phytol.* **1980**, 489–500.
  40. Jungk, A.; Claassen, N. Ion Diffusion in the Soil-Root System. *Adv. Agron.* **1997**, 53–110.
  41. Franco, J.T. Selección En Invernadero de Inóculos de Micorriza Arbuscular (MA) Para El Establecimiento de La Alfalfa En Un Andisol de La Sabana de Bogotá. *Univ. Sci.* **2006**, *11*, 87–103.
  42. Blanco, F.; Salas, E. Micorrizas En La Agricultura: Contexto Mundial e Investigación Realizada En Costa Rica. *Agron. Costarric.* **1997**, *21*, 55–67.
  43. Gosling, P.; Hodge, A.; Goodlass, G.; Bending, G.D. Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Organic Farming. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2006**, *113*, 17–35.
  44. Morales, R.; Durango, W. Resultados En La Obtención de Inóculos Nativos de Hongos Micorrízicos En Cultivos de Cacao (Theobroma Cacao) y Soya (Glycine Max). In Proceedings of the XI Congreso

- Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo. Quito, Ecuador; 2008; pp. 1–9.
45. Enriquez Montes, W.G. Efecto de La Inoculación de Hongos Micorrízicos Arbusculares En Plantas de *Ochroma Pyramidale* (Balsa), En Fase de Vivero. **2013**.
  46. Entry, J.A.; Rygiewicz, P.T.; Watrud, L.S.; Donnelly, P.K. Influence of Adverse Soil Conditions on the Formation and Function of Arbuscular Mycorrhizas. *Adv. Environ. Res.* **2002**, *7*, 123–138.
  47. Motta, D.F.; Munévar, F. Respuesta de Plántulas de Palma de Aceite a La Micorrización. *Palmas* **2005**, *26*, 11–20.
  48. Cruz, E.A. Efecto de Mycoral® En Las Etapas de Previvero y Vivero Con Dos Niveles de Fertilización En Palma Africana (*Elaeis Guineensis*) En Atlántida, Honduras 2007.
  49. Moreta, D.E. Evaluación de Sustratos Inorgánicos Para La Exportación de Inoculante de Micorriza Vesículo–Arbuscular 2002.
  50. Castillo, C. Biodiversidad y Efectividad de Hongos Micorrízicos Arbusculares En Ecosistemas Agro–Forestales Del Centro Sur de Chile. *Univ. la Front. Temuco, Chile* **2005**.



© 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>