



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA  
AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: DIVERSIDAD DE HONGOS RIZOSFÉRICOS DE  
TRES ESPECIES ARBÓREAS PLANTADAS EN SUELOS  
PERTURBADOS POR LA ACTIVIDAD PETROLERA DE LA  
AMAZONÍA ECUATORIANA**

**AUTOR: QUINSASAMÍN ARMAS, JESSICA IRINA**

**DIRECTOR: Dr. CHIRIBOGA NOVILLO, CARLOS EDUARDO**

**SANGOLQUÍ**

**2019**



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

### CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, ***“DIVERSIDAD DE HONGOS RIZOSFÉRICOS DE TRES ESPECIES ARBÓREAS PLANTADAS EN SUELOS PERTURBADOS POR LA ACTIVIDAD PETROLERA DE LA AMAZONÍA ECUATORIANA”***, realizado por la señorita ***Quinsasamín Armas, Jessica Irina***, ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas-ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 26 de abril de 2019.

Dr. Carlos Eduardo Chiriboga Novillo

C.C: 706484613



## DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

### CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

#### AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Quinsasamín Armas, Jessica Irina*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: *“Diversidad de hongos rizosféricos de tres especies arbóreas plantadas en suelos perturbados por la actividad petrolera de la Amazonía ecuatoriana”*, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas-ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 26 de abril de 2019

.....  
Jessica Irina Quinsasamín Armas

C.C: 171979111-1



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

### AUTORIZACIÓN

*Yo, Quinsasamín Armas, Jessica Irina, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE publicar el trabajo de titulación “Diversidad de hongos rizosféricos de tres especies arbóreas plantadas en suelos perturbados por la actividad petrolera de la Amazonía ecuatoriana” en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.*

Sangolquí, 26 de abril de 2019

.....  
Jessica Irina Quinsasamín Armas

C.C: 171979111-1

## DEDICATORIA

*Por el amor incondicional, esfuerzo, consejos, confianza y paciencia brindada a lo largo de toda mi vida, esta investigación está dedicada*

*A Dios,*

*A mis padres Mónica Armas y Luis Quinsasamín,*

*A mis hermanos Jonathan y Stephanie Quinsasamín,*

*A mi tía, mi segunda madre, Marivel Armas.*

*Jessica Q.*

## AGRADECIMIENTOS

Mi profundo agradecimiento a Dios por hacer posible el cumplimiento de una de mis metas personales, por ser la fuerza y el pilar más importante dentro de mi hogar.

A mis padres, por ser el apoyo en todos los aspectos de mi vida, además de ser los responsables de ser la mujer que soy ahora; gracias al ejemplo de amor, responsabilidad, respeto y lealtad que me han brindado todos los días.

A mis abuelos, María Pillajo y José Quinsasamín, quienes me han guiado con sabiduría y apoyado tanto emocionalmente, como económicamente durante esta etapa de mi vida.

Al Dr. Carlos Chiriboga, por su inmensa amistad, confianza y buenas experiencias dentro del laboratorio, por su apoyo y conocimientos científicos brindados para el desarrollo de la tesis.

Al Dr. Wilmer E. Pozo-Rivera, quién me enseñó a ser mejor cada día como persona y profesional, por su amistad incondicional, confianza, momentos increíbles, conocimientos científicos brindados y risas eternas, por ser una persona excepcional como amigo, docente e investigador.

Al Dr. Jaime Villacís e Ing. Valeria Sosa, por sus conocimientos brindados durante el desarrollo de la investigación, por sus consejos y ayuda brindada dentro del laboratorio.

A mis compañeros y amigos Bryan Játiva, Karolina Yazán, Belén Ortiz, Mauricio Collaguazo, Antonio Gualle, Víctor Criollo y Estefanía Calvache por momentos espectaculares, por compartir clases, risas, alegrías, módulos, apoyo, consejos y viajes durante mi vida universitaria.

A la empresa Petroamazonas EP, por la oportunidad de poder realizar este trabajo y las facilidades brindadas durante la investigación.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

### CARÁTULA

CERTIFICACIÓN ..... i

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD ..... ii

AUTORIZACIÓN ..... iii

DEDICATORIA ..... iv

AGRADECIMIENTOS ..... v

ÍNDICE DE CONTENIDOS ..... vi

ÍNDICE DE TABLAS ..... x

ÍNDICE DE FIGURAS ..... xi

RESUMEN ..... xiii

ABSTRACT ..... xiv

### CAPÍTULO I

#### INTRODUCCIÓN

1.1 Objetivos ..... 3

1.1.1 General ..... 3

1.1.2 Específicos ..... 3

1.2 Hipótesis ..... 4

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

2.1	Suelos amazónicos .....	5
2.2	Sitios perturbados.....	5
2.3	Características de las especies arbóreas seleccionadas .....	6
2.3.1	Caoba ( <i>Platymiscium pinnatum</i> ).....	6
2.3.2	Chíparo ( <i>Zygia longifolia</i> ).....	7
2.3.3	Guarángo espinudo ( <i>Piptadenia pteroclada</i> ).....	7
2.4	La rizósfera .....	7
2.5	Hongos rizosféricos.....	8
2.6	Diversidad .....	9

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	Área de estudio.....	10
3.2	Selección de especies arbóreas .....	10
3.3	Selección de sitios de recolección de la muestra .....	10
3.4	Obtención de la muestra de suelo .....	11
3.5	Aislamiento y purificación de hongos .....	12
3.5.1	Homogenización de muestras.....	12

3.5.2	Esterilización de material de laboratorio.....	12
3.5.3	Preparación de medios de cultivo.....	12
3.5.4	Siembra de muestras de suelo.....	13
3.5.5	Purificación de medios.....	13
3.5.6	Identificación microscópica.....	13
3.6	Diseño experimental .....	13
3.7	Métricas de diversidad .....	15
3.8	Análisis estadístico.....	16

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1	Resultados .....	17
4.1.1	Diversidad alfa.....	17
4.1.1.1	Composición fúngica en especies arbóreas.....	17
4.1.1.2	Composición fúngica en tipos de suelo perturbado.....	19
4.1.2	Riqueza específica.....	24
4.1.3	Estructura de la comunidad.....	26
4.1.4	Similitud de morfoespecies fúngicas entre especies arbóreas y entre tipos de suelos perturbados.....	27

4.1.5	Diferencias de la diversidad fúngica de la rizósfera especies arbóreas en diferentes tipos de suelos perturbados.....	30
4.2	Discusión.....	32
4.2.1	Diversidad alfa.....	32
4.2.1.1	Composición de morfoespecies fúngicas.....	32
4.2.2	Riqueza específica.....	34
4.2.3	Estructura de la comunidad.....	36
4.2.4	Similitud de morfoespecies fúngicas entre especies arbóreas y entre tipos de suelos perturbados.....	37
4.2.5	Diferencias de la diversidad fúngica de la rizósfera especies arbóreas en diferentes tipos de suelos perturbados.....	38

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1	Conclusiones .....	40
5.2	Recomendaciones.....	41
5.3	Bibliografía .....	42

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> <i>Ubicación geográfica, condiciones climáticas y tipo de suelo perturbado de las parcelas experimentales</i> .....	11
<b>Tabla 2</b> <i>Composición de morfoespecies fúngicas por especie arbórea.</i> .....	18
<b>Tabla 3</b> <i>Composición de morfoespecies fúngicas por tipo de suelo perturbado</i> .....	19
<b>Tabla 4</b> <i>Composición de morfoespecies dentro del tipo de suelo perturbado Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros [PCPP].</i> .....	21
<b>Tabla 5</b> <i>Composición de morfoespecies dentro del tipo de suelo perturbado Celdas de lodos y rípios [CLR].</i> .....	22
<b>Tabla 6</b> <i>Composición de morfoespecies dentro del tipo de suelo perturbado Centro de gestión de pasivos [CGP].</i> .....	23
<b>Tabla 7</b> <i>Composición de morfoespecies dentro del tipo de suelo perturbado Potreros considerados testigos [POTR].</i> .....	24
<b>Tabla 8</b> <i>Análisis de estructura de la comunidad de acuerdo a las especies arbóreas.</i> .....	27
<b>Tabla 9</b> <i>Análisis de estructura de la comunidad de acuerdo a los tipos de suelo perturbado</i> ...	27
<b>Tabla 10</b> <i>Promedio <math>\pm</math> error estándar de abundancia y riqueza de las morfoespecies fúngicas encontradas de acuerdo al sitio perturbado y la especie arbórea</i> .....	31
<b>Tabla 11</b> <i>Promedio <math>\pm</math> error estándar de Índice de Shannon, Índice de Simpson y Equitatividad de Pielou de las morfoespecies fúngicas encontradas de acuerdo al sitio perturbado y la especie arbórea</i> .....	31

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Puntos de colección de las muestras .....	11
<b>Figura 2</b> Croquis experimental de la investigación.....	14
<b>Figura 3</b> Riqueza esperada vs. riqueza acumulada de especies fúngicas presentes en la rizósfera de Pl pi = <i>Platymiscium pinnatum</i> (a), Zi lo = <i>Zigia longifolia</i> (b), Pi pt = <i>Piptadenia pteroclada</i> (c).....	25
<b>Figura 4</b> Riqueza esperada vs. riqueza acumulada de especies fúngicas presentes en los tipos de suelo perturbados: PCPP = Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros (a), CLR = Celdas de lodos y ripios (b), POTR = potreros (testigos) (c) y CGP = Centro de gestión de pasivos (d). .....	26
<b>Figura 5</b> Similitud de morfoespecies fúngicas de la rizósfera de acuerdo a las especies arbóreas seleccionadas (a) y según los diferentes tipos de suelo perturbado (b). Pi Pt = <i>Piptadenia pteroclada</i> , Zi lo = <i>Zigia longifolia</i> y Pl pi = <i>Platymiscium pinnatum</i> , CGP = Centro de gestión de pasivos, POTR = potreros (testigos), PCPP = Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros y CLR = Celdas de lodos y ripios, el eje (y) representa el porcentaje de similitud de morfoespecies fúngicas y el eje (x) la clasificación de especies arbóreas y tipos de suelo perturbados respectivamente. ....	28
<b>Figura 6</b> Similitud de morfoespecies fúngicas de la rizósfera de especies arbóreas de acuerdo a los diferentes tipos de suelo perturbado: CLR = celdas de lodos y ripios (a), PCPP = Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros (b), POTR = Potreros (c), y CGP = Centro de gestión de pasivos (d), Pi pt = <i>Piptadenia pteroclada</i> , Zi lo = <i>Zigia longifolia</i> y Pl pi = <i>Platymiscium pinnatum</i> , el eje (y) representa el porcentaje de	

similitud de morfoespecies fúngicas y el eje (x) la clasificación de especies arbóreas  
y tipos de suelo perturbados respectivamente.....29

## RESUMEN

La extracción de petróleo y la intervención antrópica afectan la diversidad de hongos presentes en los suelos de la amazonia del Ecuador. Para contrarrestar estos efectos se han establecido plantaciones forestales sobre estos suelos afectados, con especies como *Platymiscium pinnatum*, *Zigia longifolia* y *Piptadenia pteroclada*. En este estudio se evaluó la diversidad de hongos rizosféricos presentes en estas especies arbóreas de seis años de edad. Para esto, se colectaron 480 muestras de la rizósfera de estos árboles plantados sobre tres tipos de suelos perturbados (plataformas que circunscriben a pozos petroleros, celdas de lodos y ripios, centro de gestión de pasivos) y un suelo no perturbado (potreros). De los aislamientos fúngicos se midió la abundancia, riqueza, estructura de la comunidad y similitud específica de hongos rizosféricos por especie arbórea y por tipo de suelo perturbado. Se registraron 35 morfoespecies de hongos, siendo *Trichoderma* spp. la más abundante. En todos los sitios evaluados, *Piptadenia pteroclada* presentó 21 morfoespecies de hongos, seguido de *Zigia longifolia* y *Platymiscium pinnatum* con 20 especies cada una. No se encontraron efectos significativos para la especie arbórea, el tipo de suelo perturbado, ni para su interacción. La mayoría de hongos rizosféricos estuvieron presentes en las tres especies arbóreas y en los cuatro tipos de suelos evaluados. Se concluye que la estructura de la comunidad de hongos rizosféricos, es similar en los suelos perturbados y no perturbados.

### Palabras clave:

- **INTERVENCIÓN ANTRÓPICA**
- **PLANTACIONES FORESTALES**
- **SUELOS AFECTADOS**
- **AISLAMIENTOS FÚNGICOS**
- ***Trichoderma* spp.**

## ABSTRACT

Oil extraction and other anthropic activities affect fungal diversity on Amazon Basin soils in Ecuador. Forest plantations with species such as *Platymiscium pinnatum*, *Zigia longifolia* and *Piptadenia pteroclada* have been established on disturbed soils, to counteract these negative effects. The fungal rhizospheric diversity on soils of tree species of 6 years old was evaluated. Four hundred eighty samples of rhizosphere of trees of three types of disturbed soils (oil platforms, mud and drill cutting cells, and oil liabilities management center) and non-disturbed soil (fodders) were collected. The abundance, richness, community structure and specific similarity of fungi by tree species and type of disturbed soil were measured. Thirty-five fungal species were recorded, and *Trichoderma* spp. were the most abundant. Twenty-one fungal species on *Piptadenia pteroclada*, 20 on *Zigia longifolia* and 20 on *Platymiscium pinnatum* in all sites were recorded. No significant effects for species, type of disturbed soil, and species  $\times$  type of disturbed soil interaction were found. All tree species in four soil types presented the majority of fungal rhizospheric found. It is concluded that fungal community structure is similar between disturbed and non-disturbed soils.

### Keywords:

- ANTHROPIC INTERVENTION
- FOREST PLANTATIONS
- AFFECTED SOILS
- FUNGAL ISOLATES
- *Trichoderma* spp.

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

Según Sevilla-Pérez (2013), la Amazonía ecuatoriana tiene una extensión de 118 422 km<sup>2</sup>. Esta región se caracteriza por presentar una alta diversidad biológica y es conocida por los beneficios que brinda al planeta (oxigenación, reserva de recursos biogenéticos y de otros recursos naturales) (López, Espíndola, Calles, & Ulloa, 2013). La riqueza biológica amazónica se debe a las abundantes precipitaciones, complejidad del suelo y abundancia de ríos (Ruiz-Mantilla, 1998). En el año 1990, la cobertura boscosa de la Amazonía ecuatoriana era de aproximadamente de 805 millones de ha, la que se ha visto gravemente afectada debido a actividades de extracción de crudo (García , 2005).

La producción Ecuatoriana de petróleo, está a cargo de empresas públicas y privadas, entre las cuales se encuentra la Empresa Pública de Exploración y Explotación de Hidrocarburos (Petroamazonas EP), la que tiene una producción anual de 148 millones de barriles (BCE, Petroamazonas EP, & ARCH, 2018). El proceso de explotación de crudo afecta a los bosques húmedos amazónicos y su biodiversidad, lo que ocasiona perturbación del suelo, interrupción de ciclos de vida en la fauna amazónica, derrames de crudo, *etc.* (Vogliano, 2009); (Yáñez & Bárcenas, 2012). Esta región es también afectada por otros tipos de industrias asentadas en la zona (extracción de madera, minería, implementación de agrosistemas e invasión de territorios ancestrales de sus poblaciones nativas) (Ruiz-Mantilla, 1998).

Petroamazonas EP a través del Proyecto Amazonia Viva (PAV), tiene entre sus principales objetivos la limpieza, remediación, reconfiguración y reforestación de áreas asumidas por Petroamazonas EP, en virtud del Decreto Ejecutivo 1351-A, publicado en el Segundo Suplemento del Registro Oficial No. 860, de 2 de enero de 2013, lugares donde se encuentran, fuentes de

contaminación derivadas de la actividad hidrocarburífera anteriores a la intervención de Petroamazonas EP, fundamentándose en los principios de prevención y precaución consagrados en los artículos 71 y 72 de la Constitución de la República del Ecuador, teniendo como resultado 1 200 098 m<sup>3</sup> de suelo remediados, 830 fuentes de contaminación eliminadas (Hidalgo, com. pers.)<sup>1</sup>, disminución de bloques de extracción de crudo y aumento de trabajo a habitantes de las áreas de influencia (Petroamazonas EP, 2018). El Proyecto Amazonía Viva auspicia investigaciones enfocadas al mejoramiento de procesos de remediación en la Amazonia ecuatoriana como la implementación de parcelas con especies forestales idóneas para la recuperación de los suelos (Villacís, Armas, Casanoves, & Hang, 2016a); (Villacís, Casanoves, Hang, Keesstra, & C, 2016b). En este proyecto se ha evaluado hasta el momento el efecto de las especies forestales sobre las características físicas y químicas del suelo (Espinoza-Montaluisa, 2018). Sin embargo aún no se han realizado estudios sobre los efectos sobre las comunidades organismos indicadores de calidad de sitio como los hongos.

El reino *Fungi* está conformado por organismos pluricelulares, los hongos, que cumplen la función de transformar restos orgánicos constituidos por moléculas complejas en sustancias más sencillas (Recio-Herrera & Maldonado-González, 2013). La mayoría de hongos se extienden por medio de sus micelios para la reproducción y creación de esporas; estos organismos pertenecen al grupo de degradadores aerobios de material vegetal en descomposición ya que pueden metabolizar celulosa, hemicelulosa, xilosa y ligninas, permitiendo restablecer un equilibrio dentro de los ecosistemas del suelo (Correa, 2013); además cuentan con habilidades saprófitas, parasíticas, simbióticas mutualistas y endófitas que ayudan a degradar y absorber compuestos orgánicos de

---

<sup>1</sup> Daniel Hidalgo, Ing. en Biotecnología, M Sc. Biothecnology in Enviromental Biothecnology, Supervisor de Laboratorio en Petroamazonas Ecuador S.A.

otros organismos (Piepenbring, López, & Cáceres, 2016). Por lo que los hongos son considerados como uno de los principales indicadores biológicos del estado de la conservación de un ecosistema natural (Terrón, 2008); (Cébron, y otros, 2011).

En cuanto a estudios microbiológicos, hasta ahora Proyecto de Amazonía Viva en convenio con la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, ha estudiado hongos presentes al interior de las raíces de árboles plantados en suelos perturbados con fines de remediación (Sosa-Vargas, 2018); debido a la falta de información y a la importancia de los hongos rizosféricos, el presente estudio pretende conocer la abundancia, riqueza y diversidad de hongos rizosféricos de las especies arbóreas que están presentes en suelos perturbados por la actividad petrolera en la Amazonía ecuatoriana.

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 General**

- Evaluar la diversidad de hongos presentes en la rizósfera de tres especies arbóreas plantadas en tres tipos de suelos perturbados por la actividad petrolera en la Amazonía ecuatoriana.

### **1.1.2 Específicos**

- Determinar la composición, abundancia, riqueza y estructura de la comunidad de hongos rizosféricos por especie arbórea y por tipo de suelo perturbado.
- Analizar la diversidad beta de hongos rizosféricos de tres especies arbóreas establecidas en el 2012 sobre suelos perturbados en la Amazonía ecuatoriana.
- Comparar la diversidad fúngica de la rizósfera presentes en especies arbóreas establecidas en diferentes tipos de suelos perturbados por la actividad petrolera.

## 1.2 Hipótesis

**H1:** La diversidad de los hongos rizosféricos presentes en suelos perturbados por la presencia de residuos de la actividad hidrocarburífera, es mayor a la diversidad presente en suelos no perturbados.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 Suelos amazónicos

La región Amazónica se compone de seis provincias (Orellana, Pastaza, Napo, Sucumbíos, Morona Santiago y Zamora Chinchipe) (Naranjo-Bautista, Calvas, & Rodríguez, 2016)

Uno de los componentes fundamentales del ambiente es el suelo, el mismo que está constituido por minerales, agua, aire, materia orgánica, macro y micro organismos que desempeñan procesos fundamentales importantes para la naturaleza y el humano (SIAC, 2017).

Los suelos Amazónicos son pobres en nutrientes, tienen un bajo potencial de retención de Ca, K y P esto, sumado a las altas temperaturas y altas precipitaciones existentes, generan baja fertilidad (Calvache-Ulloa, 2015). La mayoría del suelo de la región amazónica se clasifica dentro del orden de los Inceptisoles (43 %) y Oxisoles (-1 %) los cuales son suelos minerales con alto contenido de materia orgánica, con pH ácido, grandes acumuladores de arcillas que tiene malas condiciones de drenaje (Peña-Vanegas & Vanegas-Cardona, 2010). Además el suelo se divide también de acuerdo a su uso, en el cual encontramos suelos hidrocarburíferos, suelos mineros y suelos forestales (Calvache-Ulloa, 2015).

#### 2.2 Sitios perturbados

Los sitios que son evaluados en esta investigación son principalmente sitios que contienen suelos perturbados por la actividad petrolera. Los cuáles se clasifican en:

- a) Celdas de lodos y ripios (CLR): Piscinas, centros de acopio o celdas de tratamiento impermeabilizadas; en donde se acumulan los desechos de la perforación de suelo para la obtención de crudo (Ballesteros & Tapia, 2007)

- b) Centro de Gestión de Pasivos (CGP): Antiguamente denominadas Unidades de Tratamiento de Suelos Contaminados (Sosa-Vargas, 2018), es el lugar específico donde se construyen plataformas de tratamiento de hidrocarburos (lavado y secado de suelos) (Ulcuango, Villacís , & Basantes, 2014).
- c) Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros (PCPP): Plataforma base implantada alrededor del pozo para la extracción del crudo (Ulcuango, Villacís , & Basantes, 2014).

### **2.3 Características de las especies arbóreas seleccionadas**

Todas las especies arbóreas, de las que se obtuvieron los hongos rizosféricos pertenecen al phylum Magnoliophyta, clase Magnoliopsida, orden Fabales y familia Fabaceae.

#### **2.3.1 Caoba (*Platymiscium pinnatum*)**

Según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (2015), esta especie se distribuye desde América Central hasta el Norte de Sudamérica, incluyendo Colombia, Venezuela y Ecuador.

Son árboles que muestran características cilíndricas en cuanto al tronco, hojas compuestas imparipinnadas con tres a cinco folíolos ovados (IUCN, 2015). Su crecimiento ocurre en bosques secos y húmedos (Dezseo, 2014); adaptándose a sitios colinados y laderas de las montañas con diferentes tipos de suelo (IUCN, 2015).

Las condiciones óptimas para su establecimiento se encuentran desde 1 700 a 4 570 mm de precipitación por año, temperatura media anual de 22 a 26° C y 600 m.s.n.m. (IUCN, 2015).

Según Espinoza-Montaluisa (2018), los árboles alcanzaron 4,43 m de altura y 7,11 cm de DAP, después de cinco años de haber sido establecidos en suelos perturbados por la actividad petrolera en la Amazonía ecuatoriana.

### **2.3.2 Chíparo (*Zygia longifolia*)**

Esta especie se distribuye desde México hasta América del Sur (Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, las Guayanas y Venezuela) (IUCN, 2015).

Presenta un tronco ramificado y hojas alternas, compuestas y bipinnadas con folíolos de dos a tres pinnas (Britton & Rose, 2014). Árboles que a los cinco años de haber sido plantadas en la Amazonía ecuatoriana, con fines de remediación de suelo, presentaron una altura de 4,24 m y DAP de 10,78 m (Espinoza-Montaluisa, 2018).

### **2.3.3 Guarángo espinudo (*Piptadenia pteroclada*)**

Es un árbol nativo de Bolivia, Norte de Brasil, Colombia, Ecuador y Perú (Forzza, Zappi, & Souza, 2016).

Considerada como una especie heliófila durable que mantienen sus características que permiten mayor explotación; además de que contiene capacidad intermedia de fotosíntesis y crecimiento más rápido por lo que es usada para producción forestal tanto en bosques naturales como en plantaciones y sistemas agroforestales (Hernández Benalcázar, Gagnon, & Davidson, 2015). Presenta un crecimiento de 3,01 m de altura y 4,34 cm de DAP a los 5 años de ser plantadas en el bosque amazónico (Espinoza-Montaluisa, 2018).

## **2.4 La rizósfera**

Hartmann & Rothballer (2008) definen a la rizósfera como el término que se deriva de la palabra griega *rhiza* que significa “raíz” y esfera que significa “campo de influencia”. Zona del suelo inmediatamente adyacente a la raíz con gran actividad microbiológica, considerada desde los tres a cinco centímetros de la capa superior de suelo (Lugtenberg & Kamilova, 2009).

Según Radwan, Sorkoh, & El-Nemr (1995), la rizósfera está conformada por: el rizoplano (superficie de la raíz en la cual las partículas de suelo se adhieren), endorizósfera (tejido de la raíz),

ectorizósfera (zona externa inmediata a la raíz) y el suelo de sus alrededores; llegando a ser el área en donde existe una relación entre bacterias, hongos, algas, protozoos, nemátodos, insectos y ácaros.

El catabolismo de sustancias nocivas crea un ambiente complejo y dinámico que cuenta con la presencia de exudados (aminoácidos, carbohidratos, azúcares, vitaminas, mucilagos y proteínas) que dan como resultado la presencia de una capa rica en nutrientes para el desarrollo de plantas y mejoramiento del suelo (Radwan, Sorkoh, & El-Nemr, 1995). Su importancia radica en que, al ser un ambiente dinámico de gran interacción de microorganismos, es capaz de eliminar del suelo metales pesados y otros compuestos contaminantes como son los hidrocarburos derivados del petróleo ayudando a la remediación ambiental (Rocha-Bonilla, y otros, 2015).

## **2.5 Hongos rizosféricos**

Los hongos son organismos heterótrofos que se dispersan en la rizósfera por medio de esporas que favorecen una buena estructura del suelo ya que estabilizan los agregados del mismo envolviéndoles con sus redes de micelios y evitando que sean arrastrados por el agua de lluvia u otros agentes responsables de la erosión (Radwan, Sorkoh, & El-Nemr, 1995).

Además cuentan con habilidades saprófitas, parasíticas, simbióticas mutualistas y endófitas; para poder degradar y absorber compuestos orgánicos de otros organismos (Piepenbring, López, & Cáceres, 2016).

La incorporación de fauna desplazada e inoculación de hongos para la remediación de suelos, genera el rompimiento de la compactación de suelo, reincorporación de materia orgánica, control del crecimiento de malezas, oxigenación y construcción de humedales para aumentar la biodiversidad (Rocha, 2003).

Russell, y otros (2011), encontró el hongo amazónico *Pestalotiopsis microspora*, que genera enzimas que son capaces de degradar poliuretano (plástico común), obteniendo así, una alternativa ecológica de reducción de basura en el planeta.

## 2.6 Diversidad

La diversidad biológica corresponde a la variedad de la vida en un ecosistema (Moreno, 2001) la biodiversidad se la puede analizar mediante componentes alfa, beta y gamma; estos enfoques se dan por los cambios que se tienen en relación a la estructura del paisaje; por ende: a) la relación que las especies tienen dentro de una comunidad homogénea, se refiere a la biodiversidad alfa ( $\alpha$ ); b) la medida del grado de cambio de las especies entre diferentes comunidades de un paisaje, hace alusión a la biodiversidad beta ( $\beta$ ) y c) La riqueza total de especies en una región conformada por varias comunidades, es denominada diversidad gamma ( $\gamma$ ) (Pozo-Rivera, 2017).

La diversidad alfa ( $\alpha$ ), se puede medir a través de: la *riqueza de especies* que corresponde al número absoluto de especies registradas y que se evalúan mediante estimadores no paramétricos (Chao 2, Jackknife de primer orden, Bootstrap); la *estructura de la diversidad* que se evalúa con índices de diversidad [Shannon ( $H'$ ), 1-Simpson ( $1-D$ ) y con índices de equitatividad Pielou ( $J'$ )] (Pozo-Rivera, 2017).

La diversidad beta ( $\beta$ ) puede ser medida con la ayuda de dendrogramas elaborados a partir de índices de similitud y disimilitud de especies entre sitios (Bray-Curtis, Sorensen, Morrisita, Jaccard, entre otros) (Pozo-Rivera, 2017).

La diversidad gamma ( $\delta$ ) puede ser evaluada mediante los análisis de la diversidad  $\alpha$  de las comunidades individuales y del grado de diferenciación entre especies (Whittaker, 1972).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Área de estudio

El estudio se desarrolló en dos fases: una en el campo y otra en el laboratorio. La fase de campo tuvo lugar en las provincias de Sucumbíos y de Orellana, que corresponden a la zona de vida bosque húmedo tropical (Holdridge, 1957); y la formación de vegetación al bosque siempre verde de tierras bajas de la Amazonía ecuatoriana (Sierra, Cerón, & Valencia, 1999).

Mientras que la fase de laboratorio se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria - IASA I, perteneciente a la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE.

#### 3.2 Selección de especies arbóreas

Se seleccionaron tres especies arbóreas de un total de veinte especies plantadas sobre suelos perturbados de la Amazonía ecuatoriana hace seis años (*Platymiscium pinnatum*, *Zygia longifolia* y *Piptadenia pteroclada*).

Estas especies fueron las que presentaron mejor desempeño en cuanto a crecimiento y adaptación durante este periodo (Villacís, Armas, Casanoves, & Hang, 2016a); (Villacís, Casanoves, Hang, Keesstra, & C, 2016b) y (Espinoza-Montaluisa, 2018).

#### 3.3 Selección de sitios de recolección de la muestra

Los sitios seleccionados corresponden a zonas afectadas por actividades petroleras. Se eligieron ocho parcelas de 24 x 48 m (Tabla1); seis parcelas denominadas **suelos perturbados** (dos en centro de gestión de pasivos [CGP], dos en plataformas que circunscriben a los pozos petroleros [PCPP] y dos en celdas de lodos y rípios [CLR]), y dos parcelas en **suelos no perturbados** (potreros) como testigo.

**Tabla 1**

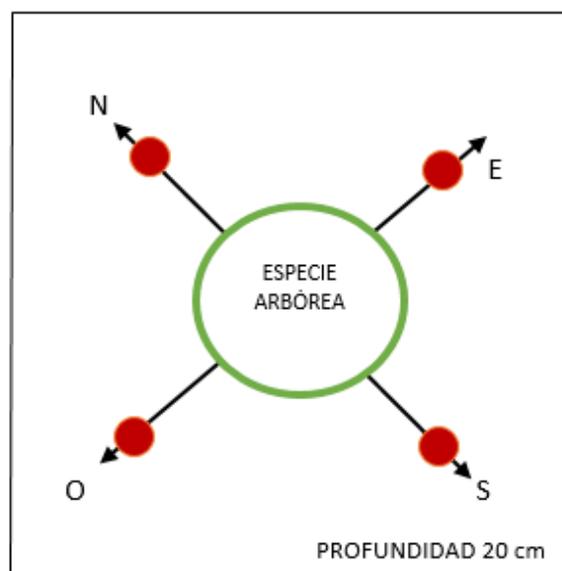
*Ubicación geográfica, condiciones climáticas y tipo de suelo perturbado de las parcelas experimentales*

Provincia	Sitio	Tipo de perturbación	Coordenadas		Altitud (m snm)	T (°C)	P (mm)
Orellana	Auca 02_D	CGP	E2901091	N9913436	255	24,8	3 319
	GCP Lago 19	CGP	E294572	N10014133	300	24,7	3 477
	Cuyabeno 02	PCPP	E357023	N10001631	205	25,6	2 943
	Sansahuari 02	PCPP	E356042	N10009231	205	25,6	2 943
Sucumbíos	Secoya 26	CLR	E322323	N10003990	241	251,1	3 202
	Shushufindi Est_40	CLR	E313661	N9981360	259	248,8	3 447
	Los Ribereños	Potrerros (testigo)	E300491	N10004661	300	247,7	3 447
	Secoya 2-3	Potrerros (testigo)	E323353	N10001430	241	251,1	3 202

T = Temperatura; P = Precipitación

### 3.4 Obtención de la muestra de suelo

En cada parcela se escogieron cinco individuos por especie arbórea, de cada uno se tomaron, muestras de suelo a 20 cm de profundidad, en forma de cruz y en sentido N-S y E-O (Figura 1). En total se obtuvieron 60 muestras en cada una de las ocho parcelas (480 muestras totales).



**Figura 1** Puntos de colección de las muestras de suelos alrededor de las especies arbóreas.

Las muestras de suelo se colocaron en tubos de ensayo con tapa, previamente esterilizado que contendrán 10 ml de agua destilada. Se tomó en cuenta que las muestras de suelos no presenten raíces, fauna de suelo, piedras, *etc.* Los tubos fueron mantenidos en una cadena de frío hasta llegar a las instalaciones del IASA para el aislamiento y purificación de hongos.

### **3.5 Aislamiento y purificación de hongos**

#### **3.5.1 Homogenización de muestras**

Las cuatro muestras que se obtuvieron del suelo, se unificaron en un vaso de precipitación de 50 ml. Estas nuevas muestras se homogeneizaron con la ayuda de un agitador Vortex Mixer de 300 rpm. Se extrajo 10 ml de la solución total en un nuevo tubo de ensayo y se colocó dentro del refrigerador.

#### **3.5.2 Esterilización de material de laboratorio**

Todos los materiales fueron esterilizados en una autoclave durante un periodo de tiempo aproximado de 45 minutos previos a su uso (Pérez, de Silóniz, Torralba, & Vázquez, 2010). Las cajas Petri fueron lavadas, empaquetadas con papel periódico (5 cajas c/paquete) y selladas con cinta adhesiva de papel; los vasos de precipitación fueron tapados con papel aluminio, y los tubos de ensayo fueron lavados, tapados individualmente y empaquetados en papel periódico.

#### **3.5.3 Preparación de medios de cultivo**

Se utilizó papa dextrosa agar (PDA) en una dosis de 40 g para 50 cajas en 1 000 ml de agua destilada estéril. Se pesó el PDA en una balanza de precisión y fue disuelto en agua tibia colocada en el matraz de 1 000 ml. Esta solución se trasvasó a un frasco ISO ECO tapón azul, se adicionó una pastilla de Ampibex ® de 500 mg y se autoclavó.

El PDA fue dispensado en las cajas Petri dentro de la cámara de flujo laminar donde se esperó su gelificación para luego ser almacenadas dentro de refrigerador.

### **3.5.4 Siembra de muestras de suelo**

Los tubos de ensayo con las muestras de suelo fueron agitados con el Vortex Mixer para su homogenización. Se colocó 1 ml de la muestra de suelo en la caja Petri con el PDA gelificado, el que fue esparcido con el asa de siembra sobre todo el medio y se dejó reposar aproximadamente 15 minutos. La caja Petri fue flameada en el mechero de Bunsen, para su posterior sellado con parafilm y marcado correspondiente.

Todas las cultivos fúngicos resultado de la siembra fueron llevadas a la incubadora a 30° C, para su crecimiento óptimo.

### **3.5.5 Purificación de medios**

Las cajas Petri sembradas se conservaron durante 72 h dentro de la incubadora a 30 °C. Se purificaron los cultivos contaminados con bacterias hasta obtener hongos puros y así facilitar su identificación.

### **3.5.6 Identificación microscópica**

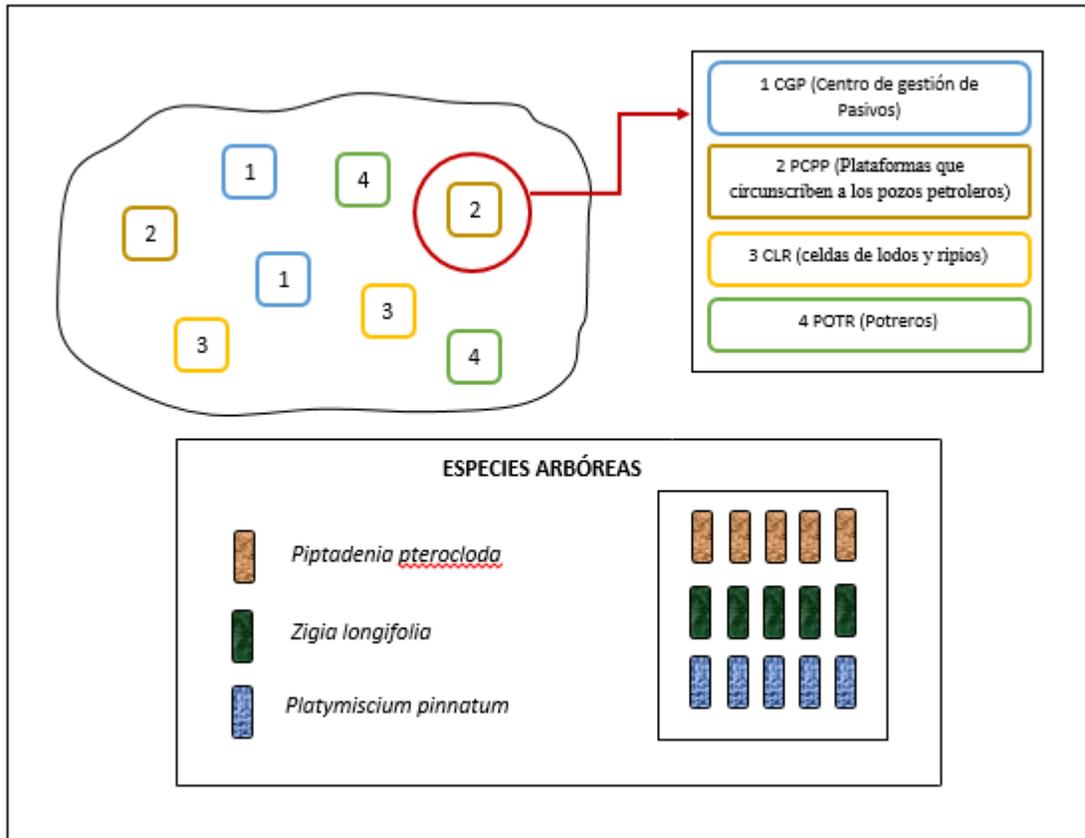
Para la identificación de los hongos se colocó una gota de la solución de Azul de Lactofenol o del reactivo KOH al 3 %, en el portaobjetos, estas soluciones ayudaron a que las esporas se hinchen para tener una mejor observación.

Las muestras de hongos a identificar se tomaron con cinta adhesiva transparente para llevarlas al portaobjetos. La identificación de los hongos se utilizó un microscopio compuesto y la clave dicotómica de Barnett & Hunter (1998).

## **3.6 Diseño experimental**

El experimento se dispuso bajo un diseño en bloques completamente al azar en parcela dividida, donde la parcela grande correspondió al tipo de suelo perturbado y la parcela pequeña a las especies arbóreas seleccionadas. La unidad experimental estuvo representada por cada

individuo de cada especie arbórea, dando un total de 120 unidades experimentales. El croquis experimental se muestra en la Figura 2.



**Figura 2** Croquis experimental de la investigación

El modelo matemático para este arreglo se define a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + \delta_{k(i)} + E_j + (SE)_{ij} + e_{ijk} ;$$

*Dónde:*

$Y_{ijk}$  = iversidad de hongos de la rizósfera

$\mu$  = Media general

$S_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo tipo de suelo

$\delta_{k(i)}$  = Error para el tipo de suelo

$E_j$  = Efecto de la  $j$ -ésima especie arbórea

$(SE)_{ij}$  = Efecto de la interacción Tipo de suelo x Especie arbórea

$e_{ijk}$  = Error para la especie arbórea

### 3.7 Métricas de diversidad

La diversidad fue medida mediante la diversidad alfa [composición de especies, la riqueza y la estructura de la comunidad] y la diversidad beta [similitud de especies]. Para su evaluación, se obtuvieron índices que representan la diversidad alfa y beta por especie arbórea y por tipo de suelo perturbado.

La *composición de especies fúngicas* se evaluó con la *abundancia proporcional de las especies*, lo que facilitó la detección de las especies con mayor frecuencia, este índice se calculó mediante la división de abundancia específica para la abundancia total por especie arbórea y tipo de suelo perturbado.

La *riqueza específica* [total de especies obtenidas], fue evaluada con tres estimadores no paramétricos los que estiman el total de especies esperadas frente a las obtenidas (Pozo-Rivera, 2017), estos fueron: Chao 2 [útil cuando las muestras son pequeñas], Jackknife de primer orden [estimación del número de especies reduciendo la subestimación del verdadero número de especies en un ecosistema] y Bootstrap [proporción de unidades de muestreo que contiene cada especie] (Moreno, 2001).

La *estructura de la comunidad*, se analizó mediante el uso de los índices de diversidad [Shannon ( $H'$ ) y 1-Simpson ( $1-D$ )] y de equitatividad [índice de Pielou ( $J'$ )] (Pozo-Rivera, 2017).

La *diversidad beta* se examinó mediante el porcentaje de similitud-disimilitud de especies presentes en los tipos de especies arbóreas y tipo de suelo perturbado, se calculó el índice de similitud de Bray-Curtis (McAleece, Gage, Lamshead, & Paterson, 1997), y con esta información

se elaboraron dendrogramas que representan la similitud-disimilitud entre especies arbóreas y sitios perturbados.

Para los cálculos de estos índices ecológico-matemáticos se utilizaron los programas EstimateS® 9.1.0, PAleontological STatistics® Version 3.22 y Biodiversity Pro® 2.0 (McAleece, Gage, Lamshead, & Paterson, 1997).

### **3.8 Análisis estadístico**

Las variables evaluadas fueron caracterizadas con estadística descriptiva (media, error estándar y coeficiente de variación). Para determinar diferencias de las variables entre tipos de especies y tipos de suelos se realizaron análisis de varianza para una parcela dividida, mediante modelos lineales mixtos. Los valores de los índices de diversidad de Shannon ( $H'$ ), 1-Simpson ( $1-D$ ) y de equitatividad de Pielou ( $J'$ ) fueron transformados a la raíz cuadrada + 1. El supuesto de normalidad fue evaluado usando QQ-plot y la prueba de Shapiro-Wilks. Para corregir la homocedasticidad de las variables abundancia, riqueza y equitatividad de Pielou, se aplicó la función varianzas independientes. Para seleccionar el mejor modelo se usaron los criterios de información AIC y BIC. Además se realizaron pruebas de comparación de medias DGC al 5 % para especies, sitios e interacciones. Todos los análisis fueron realizados en el software estadístico INFOSTAT (Di Rienzo, y otros, 2018).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Resultados

##### 4.1.1 Diversidad alfa

A continuación se detallan la composición de morfoespecies, riqueza específica y estructura de la comunidad fúngica de acuerdo con la especie arbórea [*Platymiscium pinnatum* -Pl pi-, *Zigia longifolia* -Zi lo-, y *Piptadenia pteroclada* -Pi pt-]; y por tipo de perturbación de suelo [Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros -PCPP-, unidad de tratamientos de suelos contaminados -CGP-, celdas de lodos y rипios -CLR-, y potreros -POTR-].

##### 4.1.1.1 Composición fúngica en especies arbóreas

Se encontraron 190 aislamientos, pertenecientes a 35 morfoespecies, 16 géneros y 3 divisiones (Ascomycota, Basidiomycota y Zygomycota) (Tabla 2 y Anexo 1). La familia Trychocomaceae con tres géneros y quince morfoespecies fue la más abundante, seguida de la familia Hypocreaceae con tres géneros y siete morfoespecies; las familias restantes presentaron una morfoespecie (Anexo 1).

El género *Aspergillus* presentó ocho morfoespecies seguido del género *Trichoderma* con cinco morfoespecies, el género *Paecilomyces* con cuatro y el resto de géneros presentaron entre tres y una morfoespecie (Tabla 2 y Anexo 2).

Según la especie arbórea, *Platymiscium pinnatum* presentó 21 morfoespecies representados por 62 aislamientos, mientras que *Piptadenia pteroclada* y *Zigia longifolia* presentaron 20 morfoespecies diferentes correspondientes a 53 y 75 aislamientos respectivamente (Tabla 2).

**Tabla 2***Composición de morfoespecies fúngicas por especie arbórea*

<b>DIVISIÓN</b>	<b>Familia</b>	<i>Platymiscium pinnatum ni(Pi)</i>	<i>Zigia longifolia ni(Pi)</i>	<i>Piptadenia pteroclada ni(Pi)</i>	<b>TOTAL ni(Pi)</b>
	<i>Morfoespecie</i>				
<b>ASCOMYCOTA</b>					
<b>Hypocreaceae</b>					
	<i>Trychoderma</i> sp. 1	22(0,355)	13(0,245)	14(0,187)	49(0,258)
	<i>Trychoderma</i> sp. 2	3(0,048)	8(0,151)	13(0,173)	24(0,126)
	<i>Trychoderma</i> sp. 3	-	2(0,038)	5(0,067)	7(0,037)
	<i>Trychoderma</i> sp. 4	6(0,097)	5(0,094)	11(0,147)	22(0,116)
	<i>Trychoderma</i> sp. 5	3(0,048)	3(0,057)	7(0,093)	13(0,068)
	<i>Acremonium</i> sp.	3(0,048)	1(0,019)	1(0,013)	5(0,026)
	<i>Cephalosporium</i> sp.	1(0,016)	1(0,019)	-	2(0,011)
<b>Dipodascaceae</b>					
	<i>Geotrichum</i> sp.	-	-	1(0,013)	1(0,005)
<b>Trychocomaceae</b>					
	<i>Aspergillus</i> sp. 1	2(0,032)	4(0,075)	1(0,013)	7(0,037)
	<i>Aspergillus</i> sp. 2	1(0,016)	1(0,019)	2(0,027)	4(0,021)
	<i>Aspergillus</i> sp. 3	3(0,048)	1(0,019)	-	4(0,021)
	<i>Aspergillus</i> sp. 4	1(0,016)	-	-	1(0,005)
	<i>Aspergillus</i> sp. 5	1(0,016)	1(0,019)	-	2(0,011)
	<i>Aspergillus</i> sp. 6	1(0,016)	4(0,075)	5(0,067)	10(0,053)
	<i>Aspergillus</i> sp. 7	-	-	1(0,013)	1(0,005)
	<i>Aspergillus</i> sp. 8	-	1(0,019)	-	1(0,005)
	<i>Penicillium</i> sp. 1	1(0,016)	1(0,019)	-	2(0,011)
	<i>Penicillium</i> sp. 2	1(0,016)	2(0,038)	-	3(0,016)
	<i>Penicillium</i> sp. 3	1(0,016)	-	-	1(0,005)
	<i>Paecilomyces</i> sp. 1	3(0,048)	-	3(0,040)	6(0,032)
	<i>Paecilomyces</i> sp. 2	2(0,032)	-	1(0,013)	3(0,016)
	<i>Paecilomyces</i> sp. 3	-	-	1(0,013)	1(0,005)
	<i>Paecilomyces</i> sp. 4	1(0,016)	-	-	1(0,005)
<b>Xylariaceae</b>					
	<i>Nodulosporium</i> sp.	-	1(0,019)	-	1(0,005)
<b>Plectosphaerellaceae</b>					
	<i>Verticillium</i> sp.	-	-	1(0,013)	1(0,005)
<b>Amphisphaeriaceae</b>					
	<i>Pestalotia</i> sp.	-	-	1(0,013)	1(0,005)
<b>Nectriaceae</b>					
	<i>Fusarium</i> sp.1	-	-	1(0,013)	1(0,005)
	<i>Fusarium</i> sp.2	1(0,016)	-	-	1(0,005)

CONTINÚA →

<b>Sclerotiniaceae</b>				
<i>Phymatotrichum</i> sp.	1(0,016)	-	-	1(0,005)
<b>BASIDIOMYCOTA</b>				
<b>Ceratobasidiaceae</b>				
<i>Rhizoctonia</i> sp. 1	4(0,065)	1(0,019)	-	5(0,026)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 2	-	1(0,019)	-	1(0,005)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 3	-	1(0,019)	-	1(0,005)
<b>ZIGOMYCOTA</b>				
<b>Mucoraceae</b>				
<i>Rhizopus</i> sp.	-	1(0,019)	4(0,053)	5(0,026)
<b>Cunninghamellaceae</b>				
<i>Cunninghamella</i> sp.	-	-	1(0,013)	1(0,005)
<b>S</b>	<b>21</b>	<b>20</b>	<b>20</b>	<b>35</b>
<b>N</b>	<b>62</b>	<b>53</b>	<b>75</b>	<b>190</b>

$S$  = Riqueza específica,  $N$  = Abundancia, ( $n_i$ ) = Número de individuos de la morfoespecie  $i$ ,  $P_i$  = Abundancia de la  $i$ -ésima morfoespecie (Abundancia proporcional),  $Pl\ pi$  = *Platymiscium pinnatum*,  $Zi\ lo$  = *Zigia longifolia*,  $Pi\ pt$  = *Piptadenia pteroclada*.

El género *Trichoderma* sp. presentó la mayor cantidad de individuos aislados, es así que la morfoespecie *Trichoderma* sp. 1 representa el 25,8 % continuando con las morfoespecies *Trichoderma* sp. 2 con el 12,6 %, *Trichoderma* sp. 4 con el 11,6 %, *Trichoderma* sp. 5 con el 6,8 %, *Aspergillus* sp. 6 con el 5,3 %, *Trichoderma* sp. 3 y *Aspergillus* sp. 1 con el 3,7 %, *Paecilomyces* sp. 1 con el 3,2 % seguido de las demás morfoespecies fúngicas que registran porcentajes menores a los mencionados (Tabla 2).

#### 4.1.1.2 Composición fúngica en tipos de suelo perturbado

En tres de los cuatro tipos de suelo perturbado se registró 19 morfoespecies diferentes representadas en 60 aislamientos en PCPP, 48 en POTR y 44 en CLR, mientras que en CGP se registraron 7 morfoespecies provenientes de 38 aislamientos (Tabla 3).

La morfoespecie más numerosa en los cuatro tipos de suelo perturbado fue *Trichoderma* sp. 1 (Tabla 3).

**Tabla 3***Composición de morfoespecies fúngicas por tipo de suelo perturbado*

<b>DIVISIÓN</b>	<b>Familia</b>	<b>PCPP ni(Pi)</b>	<b>CGP ni(Pi)</b>	<b>CLR ni(Pi)</b>	<b>POTR ni(Pi)</b>	<b>TOTAL ni(Pi)</b>
<i>Morfoespecie</i>						
<b>ASCOMYCOTA</b>						
<b>Hypocreaceae</b>						
	<i>Trychoderma</i> sp. 1	12(0,200)	16(0,421)	7(0,159)	14(0,292)	49(0,258)
	<i>Trychoderma</i> sp. 2	7(0,117)	5(0,132)	6(0,136)	6(0,125)	24(0,126)
	<i>Trychoderma</i> sp. 3	1(0,017)	4(0,105)	1(0,023)	1(0,021)	7(0,037)
	<i>Trychoderma</i> sp. 4	7(0,117)	8(0,211)	2(0,045)	5(0,104)	22(0,116)
	<i>Trychoderma</i> sp. 5	5(0,083)	3(0,079)	4(0,091)	1(0,021)	13(0,068)
	<i>Acremonium</i> sp.	1(0,017)	-	1(0,023)	3(0,063)	5(0,026)
	<i>Cephalosporium</i> sp.	-	-	2(0,045)	-	2(0,011)
<b>Dipodascaceae</b>						
	<i>Geotrichum</i> sp.	1(0,017)	-	-	-	1(0,005)
<b>Trychocomaceae</b>						
	<i>Aspergillus</i> sp. 1	3(0,050)	1(0,026)	2(0,045)	1(0,021)	7(0,037)
	<i>Aspergillus</i> sp. 2	3(0,050)	-	1(0,023)	-	4(0,021)
	<i>Aspergillus</i> sp. 3	4(0,067)	-	-	-	4(0,021)
	<i>Aspergillus</i> sp. 4	-	-	-	1(0,021)	1(0,005)
	<i>Aspergillus</i> sp. 5	1(0,017)	-	1(0,023)	-	2(0,011)
	<i>Aspergillus</i> sp. 6	2(0,033)	-	5(0,114)	3(0,063)	10(0,053)
	<i>Aspergillus</i> sp. 7	-	-	1(0,023)	-	1(0,005)
	<i>Aspergillus</i> sp. 8	-	-	-	1(0,021)	1(0,005)
	<i>Penicillium</i> sp. 1	2(0,033)	-	-	-	2(0,011)
	<i>Penicillium</i> sp. 2	-	-	-	3(0,063)	3(0,016)
	<i>Penicillium</i> sp. 3	-	-	-	1(0,021)	1(0,005)
	<i>Paecilomyces</i> sp. 1	5(0,083)	-	1(0,023)	-	6(0,032)
	<i>Paecilomyces</i> sp. 2	2(0,033)	-	1(0,023)	-	3(0,016)
	<i>Paecilomyces</i> sp. 3	-	-	1(0,023)	-	1(0,005)
	<i>Paecilomyces</i> sp. 4	1(0,017)	-	-	-	1(0,005)
<b>Xylariaceae</b>						
	<i>Nodulosporium</i> sp.	1(0,017)	-	-	-	1(0,005)
<b>Plectosphaerellaceae</b>						
	<i>Verticillium</i> sp.	-	-	-	1(0,021)	1(0,005)
<b>Amphisphaeriaceae</b>						
	<i>Pestalotia</i> sp.	-	-	-	1(0,021)	1(0,005)
<b>Nectriaceae</b>						
	<i>Fusarium</i> sp.1	-	-	1(0,023)	-	1(0,005)
	<i>Fusarium</i> sp.2	1(0,017)	-	-	-	1(0,005)

CONTINÚA 

<b>Sclerotiniaceae</b>					
<i>Phymatotrichum</i> sp.	-	-	-	1(0,021)	1(0,021)
<b>Helotiaceae</b>					
<i>Varicosporium</i> sp.	1(0,017)	-	-	-	1(0,005)
<b>BASIDIOMYCOTA</b>					
<b>Ceratobasidiaceae</b>					
<i>Rhizoctonia</i> sp. 1	-	1(0,026)	2(0,045)	2(0,042)	5(0,026)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 2	-	-	-	1(0,021)	1(0,005)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 3	-	-	-	1(0,021)	1(0,005)
<b>ZIGOMYCOTA</b>					
<b>Mucoraceae</b>					
<i>Rhizopus</i> sp.	-	-	4(0,091)	1(0,021)	5(0,026)
<b>Cunninghamellaceae</b>					
<i>Cunninghamella</i> sp.	-	-	1(0,023)	-	1(0,005)
<b>S</b>	<b>19</b>	<b>7</b>	<b>19</b>	<b>19</b>	<b>35</b>
<b>N</b>	<b>60</b>	<b>38</b>	<b>44</b>	<b>48</b>	<b>190</b>

$S$  = Riqueza específica,  $N$  = Abundancia,  $(ni)$  = Número de individuos de la morfoespecie  $i$ ,  $Pi$  = Abundancia de la  $i$ -ésima morfoespecie (Abundancia proporcional), PCPP = Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros, CGP = Centro de gestión de pasivos, CLR = Celdas de lodos y rípios, POTR = Potrereros [testigo]

En los suelos de PCPP, la especie arbórea con mayor número de morfoespecies fúngicas fue *Piptadenia pteroclada*, con 11 morfoespecies identificadas a partir de 26 colonias (Tabla 4).

**Tabla 4**

*Composición de morfoespecies dentro del tipo de suelo perturbado - Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros [PCPP]*

<b>MORFOESPECIES FÚNGICAS</b>	<i>Platymiscium pinnatum</i>	<i>Zigia longifolia</i>	<i>Piptadenia pteroclada</i>	<b>TOTAL</b>
<i>Acremonium</i> sp.	-	1	-	1
<i>Aspergillus</i> sp. 1	2	-	1	3
<i>Aspergillus</i> sp. 2	1	1	1	3
<i>Aspergillus</i> sp. 3	3	1	-	4
<i>Aspergillus</i> sp. 5	-	1	-	1
<i>Aspergillus</i> sp. 6	-	1	1	2
<i>Fusarium</i> sp. 2	1	-	-	1
<i>Geotrichum</i> sp.	-	-	1	1
<i>Nodulosporium</i> sp.	-	1	-	1
<i>Paecilomyces</i> sp. 1	3	-	2	5
<i>Paecilomyces</i> sp. 2	2	-	-	2
<i>Paecilomyces</i> sp. 4	1	-	-	1
<i>Penicillium</i> sp. 1	1	1	-	2

CONTINÚA 

<i>Trychoderma</i> sp. 1	5	3	4	12
<i>Trychoderma</i> sp. 2	-	1	6	7
<i>Trychoderma</i> sp. 3	-	-	1	1
<i>Trychoderma</i> sp. 4	-	3	4	7
<i>Trychoderma</i> sp. 5	1	-	4	5
<i>Varicosporium</i> sp.	-	-	1	1
<b>S</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>19</b>
<b>N</b>	<b>20</b>	<b>14</b>	<b>26</b>	<b>60</b>

*S* = Riqueza específica, *N* = Abundancia, *Pl pi* = *Platymiscium pinnatum*, *Zi lo* = *Zigia longifolia*, *Pi pt* = *Piptadenia pteroclada*.

La especie arbórea con mayor número de morfoespecies fue *Piptadenia pteroclada* plantadas en CLR, que presenta 15 morfoespecies que corresponden a 23 colonias (Tabla 5).

La morfoespecie más numerosa dentro de este tipo de suelo perturbado fue *Trychoderma* sp. 1 con siete colonias, seguido de *Trychoderma* sp. 2 con seis colonias y *Aspergillus* sp. 6 con cinco colonias (Tabla 5).

### Tabla 5

Composición de morfoespecies dentro del tipo de suelo perturbado - Celdas de lodos y ripios [CLR]

MORFOESPECIES FÚNGICAS	<i>Platymiscium pinnatum</i>	<i>Zigia longifolia</i>	<i>Piptadenia pteroclada</i>	TOTAL
<i>Acremonium</i> sp.	-	-	1	1
<i>Aspergillus</i> sp. 1	-	2	-	2
<i>Aspergillus</i> sp. 2	-	-	1	1
<i>Aspergillus</i> sp. 5	1	-	-	1
<i>Aspergillus</i> sp. 6	-	2	3	5
<i>Aspergillus</i> sp. 7	-	-	1	1
<i>Cephalosporium</i> sp.	1	1	-	2
<i>Cunninghamella</i> sp.	-	-	1	1
<i>Fusarium</i> sp. 1	-	-	1	1
<i>Paecilomyces</i> sp. 1	-	-	1	1
<i>Paecilomyces</i> sp. 2	-	-	1	1
<i>Paecilomyces</i> sp. 3	-	-	1	1
<i>Rhizoctonia</i> sp. 1	2	-	-	2
<i>Rhizopus</i> sp.	-	1	3	4
<i>Trychoderma</i> sp. 1	1	3	3	7
<i>Trychoderma</i> sp. 2	1	2	3	6
<i>Trychoderma</i> sp. 3	-	-	1	1

CONTINÚA →

<i>Trychoderma</i> sp. 4	1	-	1	2
<i>Trychoderma</i> sp. 5	1	2	1	4
<b>S</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>15</b>	<b>19</b>
<b>N</b>	<b>8</b>	<b>13</b>	<b>23</b>	<b>44</b>

*S* = Riqueza específica, *N* = Abundancia, *Pl pi* = *Platymiscium pinnatum*, *Zi lo* = *Zigia longifolia*, *Pi pt* = *Piptadenia pteroclada*.

En los suelos de CGP, la especie arbórea con mayor abundancia de hongos fue *Piptadenia pteroclada* con cinco morfoespecies del género *Trychoderma*, representadas por 13 colonias, sin embargo en *Platymiscium pinnatum* se registraron cuatro morfoespecies fúngicas representadas por 14 colonias (Tabla 6).

Considerando las tres especies arbóreas, la morfoespecie *Trychoderma* sp. 1 fue la más numerosa con 16 colonias seguido de la morfoespecie *Trychoderma* sp. 4 con ocho colonias y *Trychoderma* sp. 2 con cinco colonias (Tabla 6).

**Tabla 6**

*Composición de morfoespecies dentro del tipo de suelo perturbado Centro de gestión de pasivos [CGP]*

MORFOESPECIES FÚNGICAS	<i>Platymiscium pinnatum</i>	<i>Zigia longifolia</i>	<i>Piptadenia pteroclada</i>	TOTAL
<i>Aspergillus</i> sp. 1	-	1	-	1
<i>Rhizoctonia</i> sp. 1	1	-	-	1
<i>Trychoderma</i> sp. 1	8	6	2	16
<i>Trychoderma</i> sp. 2	-	3	2	5
<i>Trychoderma</i> sp. 3	-	1	3	4
<i>Trychoderma</i> sp. 4	4	-	4	8
<i>Trychoderma</i> sp. 5	1	-	2	3
<b>S</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>7</b>
<b>N</b>	<b>14</b>	<b>11</b>	<b>13</b>	<b>38</b>

*S* = Riqueza específica, *N* = Abundancia, *Pl pi* = *Platymiscium pinnatum*, *Zi lo* = *Zigia longifolia*, *Pi pt* = *Piptadenia pteroclada*.

En suelos de POTR, *Zigia longifolia* fue la especie arbórea con el mayor número de morfoespecies fúngicas, con 12 morfoespecies de 15 colonias, sin embargo en *Platymiscium pinnatum* se registraron a 10 morfoespecies de 20 colonias (Tabla 7).

La morfoespecie *Trychoderma* sp. 1 fue la más numerosa con 14 colonias, seguido de *Trychoderma* sp. 2 con seis colonias y *Trychoderma* sp. 4 con cinco colonias (Tabla 7).

**Tabla 7**

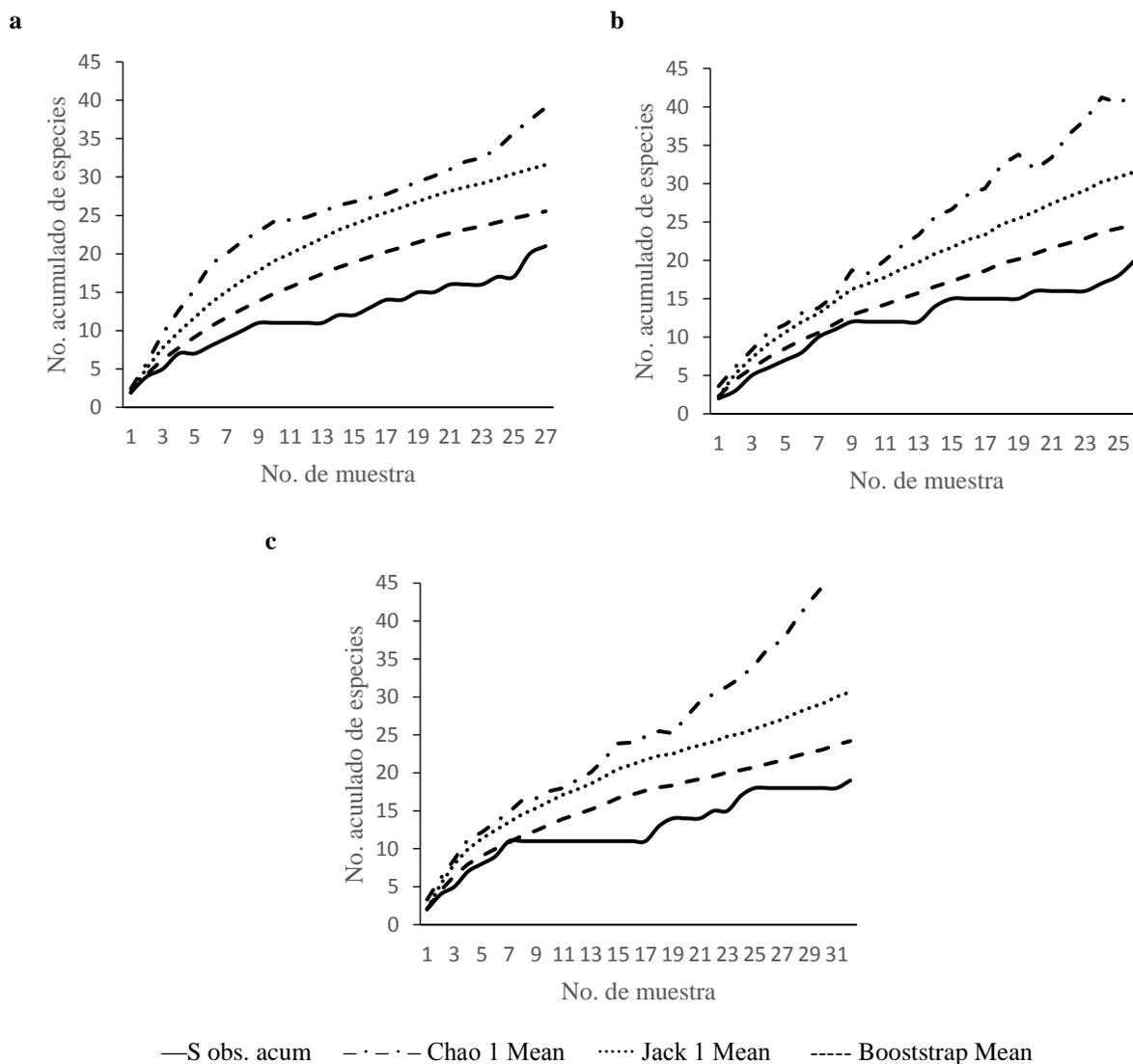
*Composición de morfoespecies dentro del tipo de suelo no perturbado Potreros considerados testigos [POTR]*

MORFOESPECIES FÚNGICAS	<i>Platymiscium pinnatum</i>	<i>Zigia longifolia</i>	<i>Piptadenia pteroclada</i>	TOTAL
<i>Acremonium</i> sp.	3	-	-	3
<i>Aspergillus</i> sp. 1	-	1	-	1
<i>Aspergillus</i> sp. 4	1	-	-	1
<i>Aspergillus</i> sp. 6	1	1	1	3
<i>Aspergillus</i> sp. 8	-	1	-	1
<i>Penicillium</i> sp. 2	1	2	-	3
<i>Penicillium</i> sp. 3	1	-	-	1
<i>Pestalotia</i> sp.	-	-	1	1
<i>Phymatotrichum</i> sp.	1	-	-	1
<i>Rhizoctonia</i> sp. 1	1	1	-	2
<i>Rhizoctonia</i> sp. 2	-	1	-	1
<i>Rhizoctonia</i> sp. 3	-	1	-	1
<i>Rhizopus</i> sp.	-	-	1	1
<i>Trychoderma</i> sp. 1	8	1	5	14
<i>Trychoderma</i> sp. 2	2	2	2	6
<i>Trychoderma</i> sp. 3	-	1	-	1
<i>Trychoderma</i> sp. 4	1	2	2	5
<i>Trychoderma</i> sp. 5	-	1	-	1
<i>Verticillium</i> sp.	-	-	1	1
<b>S</b>	<b>10</b>	<b>12</b>	<b>7</b>	<b>19</b>
<b>N</b>	<b>20</b>	<b>15</b>	<b>13</b>	<b>48</b>

*S* = Riqueza específica, *N* = Abundancia, *Pl pi* = *Platymiscium pinnatum*, *Zi lo* = *Zigia longifolia*, *Pi pt* = *Piptadenia pteroclada*.

#### 4.1.2 Riqueza específica

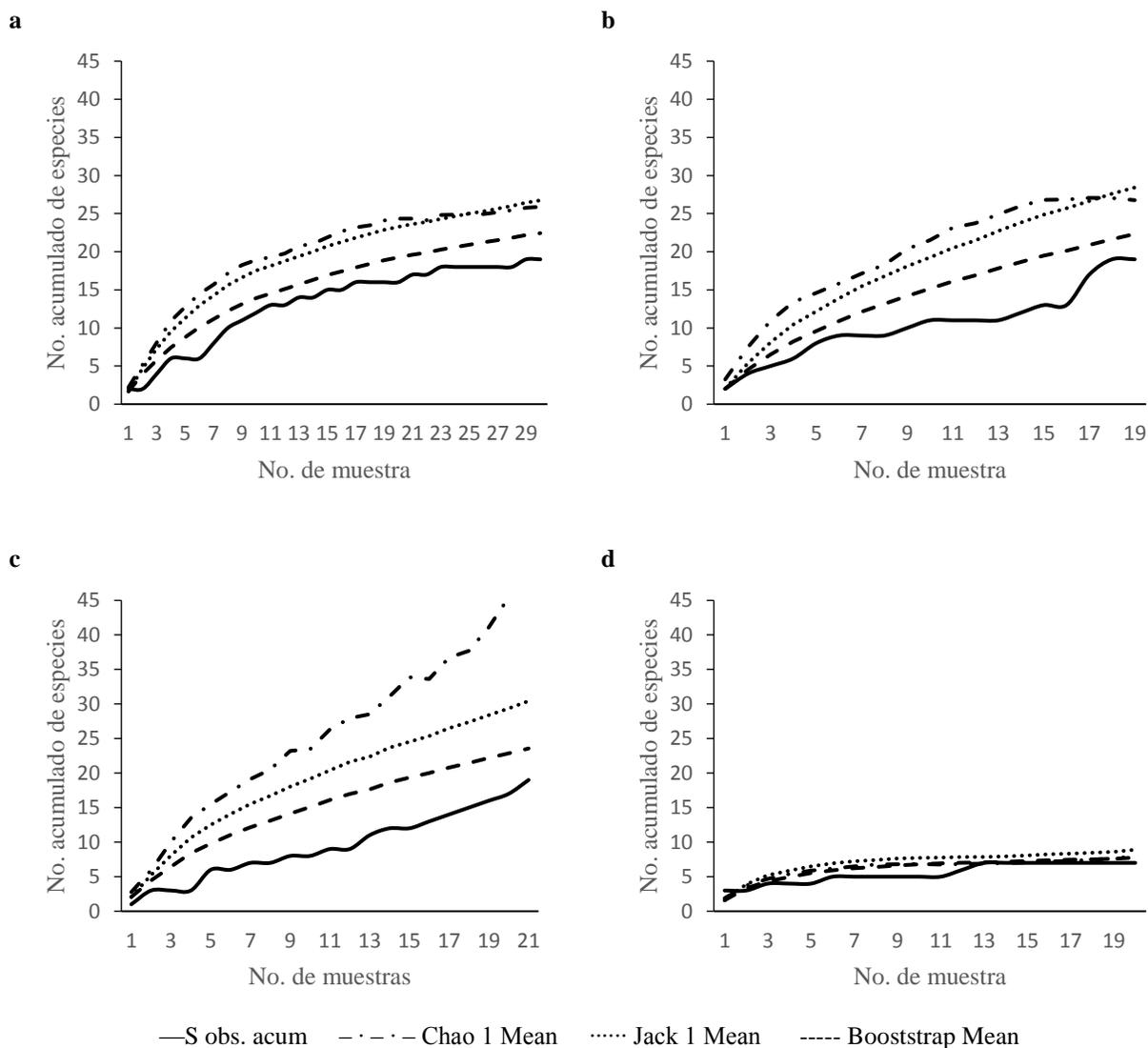
La riqueza fúngica estuvo representada por 21 especies en *Platymiscium pinnatum*, 20 en *Zigia longifolia*, y 20 en *Piptadenia pteroclada*, lo que de acuerdo a los estimadores de riqueza esperada representan entre el 40 y el 54 % según Chao 1, entre el 62 y 67 % acorde con Jackknife de primer orden, y entre el 79 y el 82 % de acuerdo con Bootstrap (Figura 3a, b, c, Anexo 1).



**Figura 3** Riqueza esperada vs. riqueza acumulada de especies fúngicas presentes en la rizósfera de *Pl pi* = *Platymiscium pinnatum* (a), *Zi lo* = *Zigia longifolia* (b), *Pi pt* = *Piptadenia pteroclada* (c).

Considerando el tipo de suelo perturbado, la riqueza fúngica fue representada por 19 especies en PCPP, CLR, y POTR, mientras que en CGP se presentaron 7 especies.

Estos datos representan entre el 37 y 88 % para el estimador no paramétrico de riqueza específica Chao 1, entre el 62 y 79 % para Jackknife de primer orden y finalmente entre el 81 y 90 % para el estimador Bootstrap (Figura 4 a, b, c, d, Anexo1).



**Figura 4** Riqueza esperada vs. riqueza acumulada de especies fúngicas presentes en los tipos de suelo perturbados: PCPP = Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros (a), CLR = Celdas de lodos y ripios (b), POTR = potreros (testigos) (c) y CGP = Centro de gestión de pasivos (d).

#### 4.1.3 Estructura de la comunidad

La estructura de la diversidad fúngica expresada por 1-*D* fue alta, ya que se comportó de igual manera en la rizósfera de las tres especies arbóreas evaluadas (Tabla 8).

**Tabla 8***Análisis de estructura de la comunidad de acuerdo a las especies arbóreas*

ÍNDICES DE DIVERSIDAD	<i>Platymiscium Pinnatum</i>	<i>Zigia Longifolia</i>	<i>Piptadenia Pteroclada</i>
<i>S</i>	21	20	20
<i>N</i>	62	53	75
<b>1-D</b>	0,843	0,886	0,889
<i>H'</i>	2,457	2,552	2,496
<i>J'</i>	0,556	0,641	0,607

*S* = Riqueza específica, *N* = Abundancia, *I-D* = índice de Simpson, *H'* = índice de Shannon, *J'* = Equitatividad de

Pielou, *Pl pi* = *Platymiscium pinnatum*, *Zi lo* = *Zigia longifolia*, *Pi pt* = *Piptadenia pteroclada*.

Tomando en cuenta los tipos de suelo perturbado, los potreros presentaron menores valores de riqueza, abundancia y diversidad (Tabla 9), la equitatividad de especies (*J'*) fue parecida en los cuatro ecosistemas evaluados.

**Tabla 9***Análisis de estructura de la comunidad de acuerdo a los tipos de suelo perturbado*

ÍNDICES DE DIVERSIDAD	PCPP	CGP	CLR	POTR
<i>S</i>	19	19	19	7
<i>N</i>	44	60	48	38
<i>I-D</i>	0,913	0,901	0,870	0,742
<i>H'</i>	2,669	2,603	2,475	1,588
<i>J'</i>	0,760	0,711	0,625	0,699

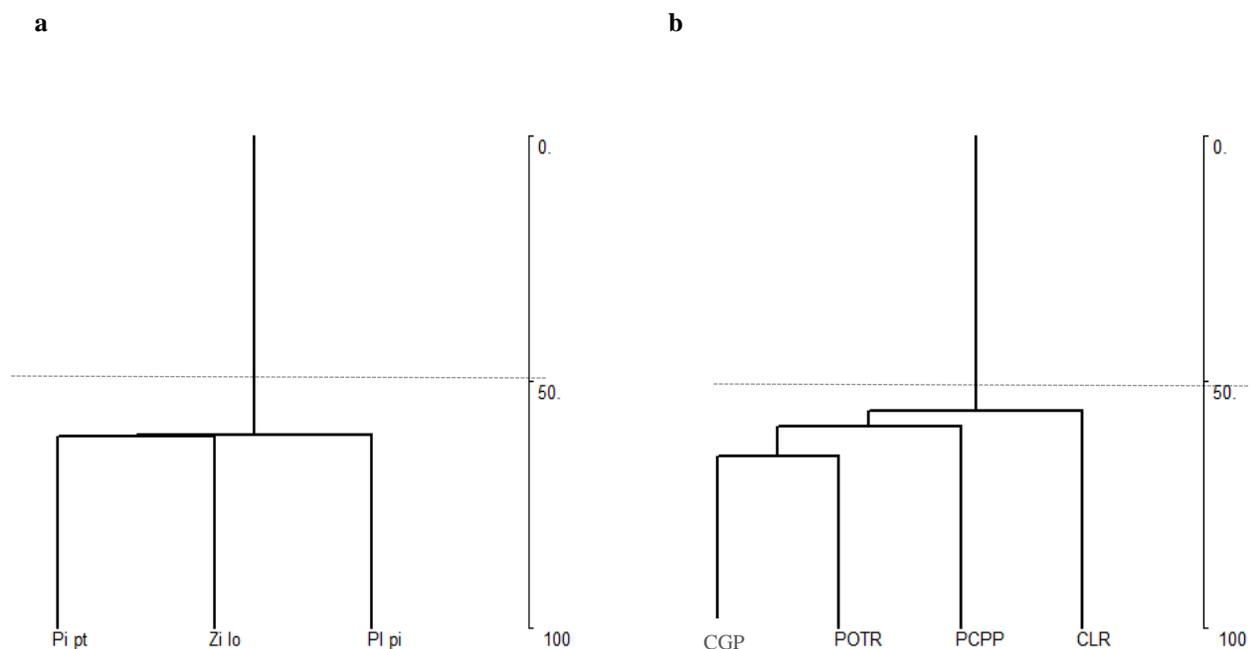
*S* = Riqueza específica, *N* = Abundancia, *I-D* = índice de Simpson, *H'* = índice de Shannon, *J'* = Equitatividad de

Pielou, CGP = Centro de gestión de pasivos, POTR = potreros (testigos), PCPP = Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros y CLR = Celdas de lodos y rípios

#### 4.1.4 Similitud de morfoespecies fúngicas entre especies arbóreas y entre tipos de suelos perturbados

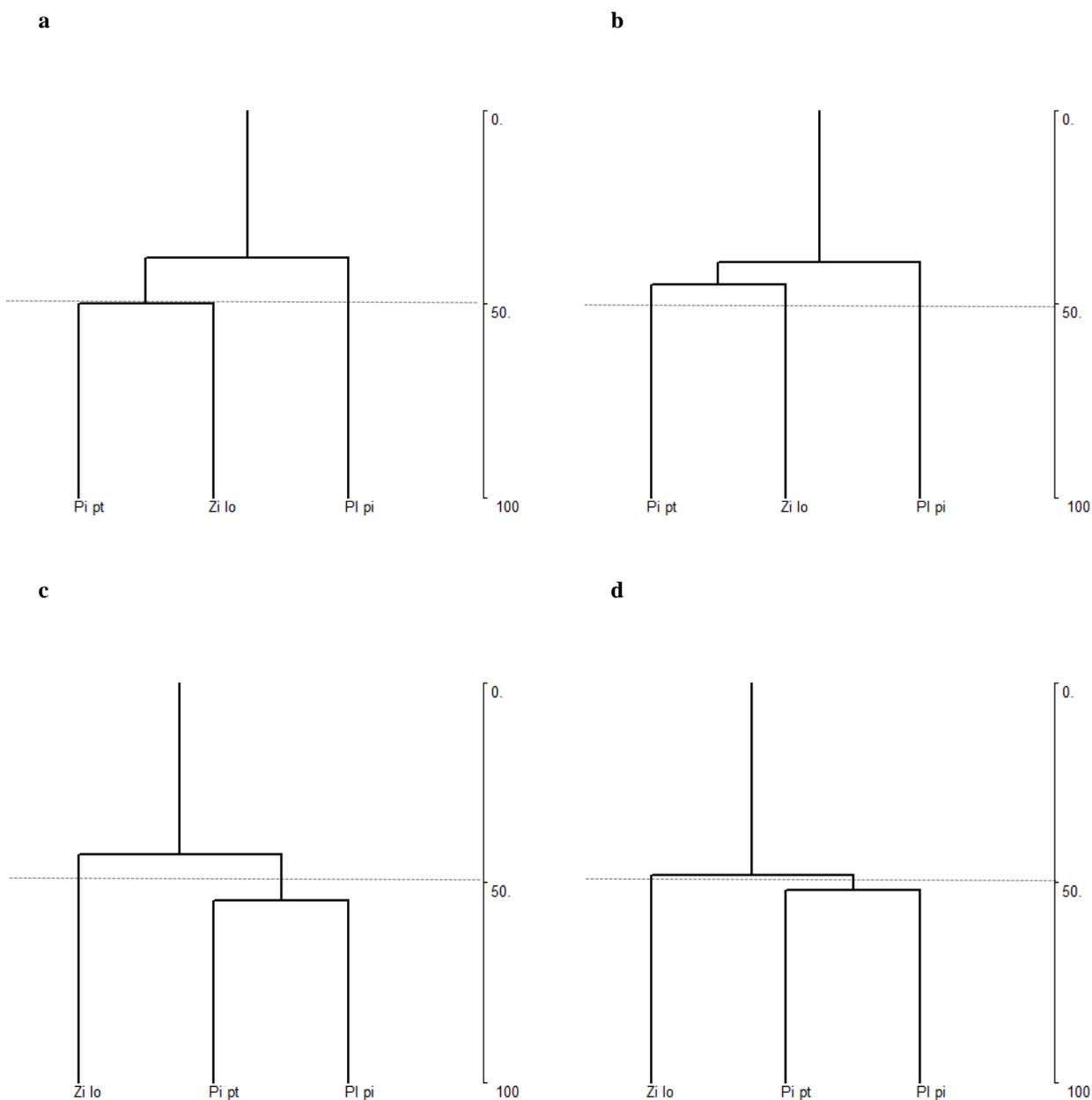
De acuerdo a la especie arbórea, *Piptadenia pteroclada* y *Zigia longifolia* fueron similares en un 60,93 %, este grupo presentó a su vez un 60,81 % de similitud con *Platymiscium pinnatum* (Figura 5a, Anexo 4).

En base al índice de Bray-Curtis, los tipos de suelo perturbado más similares fueron CGP y POTR (testigos) con 65 % de similitud, además este grupo fue similar en un 59 % con PCPP y en un 56 % con CLR (Figura 5b, Anexo 4).



**Figura 5** Similitud de morfoespecies fúngicas de la rizósfera de acuerdo a las especies arbóreas seleccionadas (a) y según los diferentes tipos de suelo perturbado (b). *Pi Pt* = *Piptadenia pteroclada*, *Zi lo* = *Zigia longifolia* y *Pl pi* = *Platymiscium pinnatum*, CGP = Centro de gestión de pasivos, POTR = potreros (testigos), PCPP = Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros y CLR = Celdas de lodos y ripios, el eje (y) representa el porcentaje de similitud de morfoespecies fúngicas y el eje (x) la clasificación de especies arbóreas y tipos de suelo perturbados respectivamente.

Tanto en CLR y en PCPP, las especies arbóreas más similares, en cuanto a morfoespecies fúngicas, fueron *Piptadenia pteroclada* y *Zigia longifolia* (Figuras 6a, 6b, Anexo2).



**Figura 6** Similitud de morfoespecies fúngicas de la rizósfera de especies arbóreas de acuerdo a los diferentes tipos de suelo perturbado: CLR = celdas de lodos y ripios (a), PCPP = Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros (b), POTR = Potreros (c), y CGP = Centro de gestión de pasivos (d), *Pi pt* = *Piptadenia pteroclada*, *Zi lo* = *Zigia longifolia* y *Pl pi* = *Platymiscium pinnatum*, el eje (y) representa el porcentaje de similitud de morfoespecies fúngicas y el eje (x) la clasificación de especies arbóreas y tipos de suelo perturbados respectivamente.

Por otro lado en los tipos de suelo perturbados, POTR (testigos) y CGP, se encontró que las especies arbóreas más similares fueron *Piptadenia pteroclada* y *Platymiscium pinnatum* en un 55 y 52 % respectivamente, que a su vez presentan similitud con *Zigia longifolia* en 43 y 48 % cada uno (Figura 6c, 6d, Anexo 4).

#### **4.1.5 Diferencias de la diversidad fúngica de la rizósfera especies arbóreas en diferentes tipos de suelos perturbados**

No se encontró un efecto significativo de la interacción tipo de suelo perturbado × especie arbórea para las variables abundancia ( $F=0,90$ ;  $p=0,5016$ ), riqueza ( $F=0,86$ ;  $p=0,5316$ ), índice de Shannon ( $F=0,79$ ;  $p=0,5827$ ), 1-Simpson ( $F=0,67$ ;  $p=0,6742$ ) y equitatividad de Pielou ( $F=1,25$ ;  $p=0,2921$ ). Tampoco se encontró un efecto significativo para los factores tipo de suelo perturbado y especie arbórea para ninguna de las variables de diversidad.

Los suelos de la rizósfera de los individuos de *Piptadenia pteroclada* de las CLR tendieron a presentar mayores valores de abundancia, riqueza, índice de Shannon, índice de Simpson y Equitatividad de Pielou que los suelos del resto de especies plantadas en los otros sitios perturbados (Tabla 10 y 11).

Los valores del índice 1 – Simpson tendieron a ser mayores en los suelos de la rizósfera de los individuos de *Platymiscium pinnatum* dentro de los potreros.

Finalmente el índice de equitatividad de Pielou tendió a ser mayor en los suelos de los individuos de *Zigia longifolia* presentes sobre los cuatro tipos de suelos perturbados, y en los suelos de los individuos de *Piptadenia pteroclada* de las celdas de lodos y ripios y los potreros (Tabla 11).

**Tabla 10**

*Promedio ± error estándar de abundancia y riqueza de las morfoespecies fúngicas encontradas de acuerdo al sitio perturbado y la especie arbórea*

TIPO DE SUELO PERTURBADO	ESPECIE ARBÓREA	N	S
PCPP	<i>Piptadenia pteroclada</i>	2,60 ± 0,40 a	1,90 ± 0,23 a
PCPP	<i>Zigia longifolia</i>	2,14 ± 0,26 a	2,00 ± 0,31 a
PCPP	<i>Platymiscium pinnatum</i>	2,50 ± 0,60 a	2,13 ± 0,35 a
CGP	<i>Piptadenia pteroclada</i>	1,86 ± 0,34 a	1,71 ± 0,29 a
CGP	<i>Zigia longifolia</i>	1,83 ± 0,31 a	1,67 ± 0,33 a
CGP	<i>Platymiscium pinnatum</i>	2,00 ± 0,37 a	1,50 ± 0,22 a
<b>CLR</b>	<b><i>Piptadenia pteroclada</i></b>	<b>2,88 ± 0,55 a</b>	<b>2,75 ± 0,59 a</b>
CLR	<i>Zigia longifolia</i>	2,17 ± 0,40 a	2,00 ± 0,45 a
CLR	<i>Platymiscium pinnatum</i>	1,33 ± 0,33 a	1,33 ± 0,33 a
POTR [Testigo]	<i>Piptadenia pteroclada</i>	2,00 ± 0,45 a	1,67 ± 0,49 a
POTR [Testigo]	<i>Zigia longifolia</i>	2,00 ± 0,33 a	1,88 ± 0,35 a
<b>POTR [Testigo]</b>	<b><i>Platymiscium pinnatum</i></b>	<b>2,86 ± 0,40 a</b>	<b>2,43 ± 0,37 a</b>

Medias con letras diferentes en la misma columna difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ );  $N$  = Abundancia,  $S$  = Riqueza específica, PCPP = Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros, CGP = Centro de gestión de pasivos, CLR = Celdas de lodos y ripios, POTR = potreros [testigos].

**Tabla 11**

*Promedio ± error estándar de Índice de Shannon, Índice de Simpson y Equitatividad de Pielou de las morfoespecies fúngicas encontradas de acuerdo al sitio perturbado y la especie arbórea*

TIPO DE SUELO PERTURBADO	ESPECIE ARBÓREA	$H'$	$1-D$	$J'$
PCPP	<i>Piptadenia pteroclada</i>	0,53 ± 0,13 a	0,35 ± 0,08 a	0,96 ± 0,02 a
PCPP	<i>Zigia longifolia</i>	0,61 ± 0,17 a	0,40 ± 0,11 a	1,00 ± 0,00 a
PCPP	<i>Platymiscium pinnatum</i>	0,65 ± 0,16 a	0,42 ± 0,10 a	0,99 ± 0,01 a
CGP	<i>Piptadenia pteroclada</i>	0,45 ± 0,17 a	0,30 ± 0,11 a	0,99 ± 0,01 a
CGP	<i>Zigia longifolia</i>	0,41 ± 0,19 a	0,28 ± 0,13 a	1,00 ± 0,00 a
CGP	<i>Platymiscium pinnatum</i>	0,33 ± 0,15 a	0,23 ± 0,10 a	0,98 ± 0,01 a
<b>CLR</b>	<b><i>Piptadenia pteroclada</i></b>	<b>0,85 ± 0,22 a</b>	<b>0,49 ± 0,11 a</b>	<b>1,00 ± 0,00 a</b>
CLR	<i>Zigia longifolia</i>	0,58 ± 0,21 a	0,38 ± 0,13 a	1,00 ± 0,00 a
CLR	<i>Platymiscium pinnatum</i>	0,35 ± 0,15 a	0,25 ± 0,11 a	0,83 ± 0,17 a
POTR [Testigo]	<i>Piptadenia pteroclada</i>	0,35 ± 0,24 a	0,21 ± 0,14 a	1,00 ± 0,00 a
POTR [Testigo]	<i>Zigia longifolia</i>	0,50 ± 0,19 a	0,31 ± 0,12 a	1,00 ± 0,00 a
<b>POTR [Testigo]</b>	<b><i>Platymiscium pinnatum</i></b>	<b>0,79 ± 0,17 a</b>	<b>0,50 ± 0,09 a</b>	<b>0,98 ± 0,01<sup>a</sup></b>

Medias con letras diferentes en la misma columna difieren estadísticamente ( $p < 0,05$ );  $1-D$  = índice de Simpson,  $H'$  = índice de Shannon,  $J'$  = Equitatividad de Pielou, PCPP = Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros, CGP = Centro de gestión de pasivos, CLR = Celdas de lodos y ripios, POTR = potreros [testigos].

## 4.2 Discusión

La información obtenida en la presente investigación, detalla las morfoespecies fúngicas encontradas en la rizósfera de tres diferentes especies arbóreas plantadas hace seis años, en diferentes tipos de suelo perturbado por extracción de crudo en la Amazonía Ecuatoriana. La diversidad de hongos de la rizósfera de *Platymiscium pinnatum*, *Zigia longifolia* y *Piptadenia pteroclada* fue similar en suelos perturbados y no perturbados.

### 4.2.1 Diversidad alfa

#### 4.2.1.1 Composición de morfoespecies fúngicas

Algunas de las morfoespecies fúngicas encontradas en la presente investigación, han sido registradas en estudios previos (Arias-Cifuentes & Piñeros-Espinoza, 2008); (Zambrano-Cevallos, 2017); (Sosa-Vargas, 2018); estas, forman una cubierta micelar alrededor de las raíces de la planta (rizósfera) (Aponte-Perales, Marañon, García-Fernández, & Gardes, 2009).

La división Ascomycota, taxón donde se agruparon la mayoría de hongos registrados, así como Basidiomycota y Zigomycota, agrupan a especies que participan en la relaciones benéficas suelo-planta (Smith & Read, 2009), y en formación de estructuras especializadas en el intercambio de nutrientes (Taylor & Alexander, 2005); un estudio reciente con hongos presentes al interior de raíces de las especies arbóreas evaluadas en esta investigación también encontró las mismas Divisiones taxonómicas (Sosa-Vargas, 2018).

El 83 % de las especies fúngicas registradas en este estudio fueron también reportadas recientemente al interior de la raíz de las mismas especies arbóreas en los mismos tipos de suelos perturbados (Tabla 10) (Sosa-Vargas, 2018). Para una adecuada determinación específica, en estudios macrofúngicos de la Amazonía colombiana se sugieren análisis moleculares de las colonias encontradas para una adecuada comprensión diversidad ecológica y funcional de la

microbiota (López-Quintero , Straatsma , Franco-Molan, & Boekhout, 2012), por lo que un estudio molecular de los morfoespecies registradas en este trabajo y en el de Sosa-Vargas (2018) permitiría verificar la identidad genética de las morfoespecies.

El 61 % de las colonias aisladas pertenecen al género *Trichoderma*, que según Fernandez-Brito (2018), se encuentra comúnmente en la rizósfera debido a su gran capacidad de predominar y colonizar ecosistemas terrestres, y a tener características micro-parasíticas y antibióticas, convirtiéndose en un excelente controlador biológico. Autores como Score & Palfreyman (1994), Rivera-Cruz, Ferrera-Cerrato, Volke, Rodríguez, & Fernández (2002) y Argumedo-Delir, Alarcón , Ferrera-Cerrato, & Peña-Cabriales (2009), reportan que *Trichoderma* spp. participa en la degradación de compuestos orgánicos contaminantes depositados en el suelo; además favorece la degradación de hidrocarburos saturados y aromáticos presentes en aceites comestibles (Argumedo-Delira, Alarcón, Ferrera-Cerrato, & Peña-Cabriales, 2009). Por lo tanto, se advierte que este género representa el mayor valor de abundancia en ecosistemas alterados por afecciones petroleras y que mejoran la calidad del suelo en los ecosistemas evaluados (Argumedo-Delira, Alarcón, Ferrera-Cerrato, & Peña-Cabriales, 2009).

Los géneros *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp., se han aislado con técnicas *in vitro* en medio enriquecido con crudo pesado (Hernández-Acosta, y otros, 2003) y además crecen rápidamente en suelos contaminados con petróleo, formando hifas muy densas (April , Foght, & Currah , 2000), que degradan entre el 35 % de hidrocarburos saturados y aromáticos, el 13 % de resinas y asfaltenos (Oudot, Dupont, Haloui , & Roquebert, 1993) y otros constituyentes del petróleo, por lo que son considerados organismos biorremediadores (Paul & Clark, 1996). *Trichoderma* spp. y *Aspergillus* spp., aislados en la presente investigación, provienen de suelos de las raíces de árboles plantados en suelos perturbados por actividad petrolera (Villacís, Armas,

Casanoves, & Hang, 2016a); (Villacís, Casanoves, Hang, Keesstra, & C, 2016b), por lo tanto se infiere que son hongos normalmente presentes en la rizósfera de especies arbóreas plantadas en suelos afectados por la extracción de crudo, pero que sin embargo pueden degradar sus constituyentes, por esta razón la dosificación de estos hongos benéficos podría ser una solución para poder remediar no solo suelos contaminados con petróleo sino también suelos contaminados con plaguicidas o pesticidas, *etc.*

Los géneros *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., y *Fusarium* sp., también fueron registrados en el estudio de Sosa-Vargas (2018) los que según Radwan, Sorkoh, & El-Nemr (1995) y April , Foght, & Currah (2000), son morfoespecies cuyo micelio cubren el 100 % del sustrato sembrados en medios de cultivo con el 1 % de petróleo, lo que demuestra que en ambientes contaminados su crecimiento puede ser mayor (Van Loosdrecht , Lyklema , Norde , & Zehnder, 1990); y (Hernández-Acosta, y otros, 2003).

Así mismo la presencia *Rhizopus* spp. y *Acremonium* spp., se debe a que este tipo de hongos también se encuentran en la rizósfera de zonas contaminadas por la acción petrolera (Radwan, Sorkoh, & El-Nemr, 1995); (Rivera-Cruz, Ferrera-Cerrato, Volke, Rodríguez, & Fernández, 2002); (Solís-Mardones , 2005); y (Vásquez, Guerrero Figueroa, & Quintero, 2010). Además *Rhizopus* spp. puede degradar constituyentes del petróleo (Solís-Mardones , 2005), por lo que su presencia podría también estar favoreciendo la descontaminación de los suelos perturbados.

#### **4.2.2 Riqueza específica**

La rizósfera de *Piptadenia pteroclada* plantada en tres de los cuatro tipos de suelo perturbado presentó la mayor riqueza fúngica. Por otro lado, el hongo saprófito (Latgé, 1999), *Aspergillus* sp., presentó la mayor riqueza morfoespecífica, esto puede deberse a que prevalece en nichos ecológicos que contienen materia orgánica (Latgé, 1999). Varias especies de este género

han sido registrados en la rizósfera de pasto cabezón (*Paspalum virgatum*) contaminado con petróleo (Rivera-Cruz, Ferrera-Cerrato, Volke, Rodríguez, & Fernández, 2002), lo que corrobora la alta tasa de crecimiento de este hongo a casusa de que poseen potencial para la limpieza de suelos contaminados.

Varios autores sostienen que además *Aspergillus* sp. es considerado un hongo hidrocarbonoclasta, es decir que es un degradador de contaminantes orgánicos (McCarty, 1991) ; Paul & Clark, 1996; (Rivera-Cruz, Ferrera-Cerrato, Volke, Rodríguez, & Fernández, 2002); y (Hernández-Acosta, y otros, 2003).

En los suelos de CLR, CGP y POTR, la mayor riqueza fúngica fue similar tanto al interior de las raíces arbóreas (Sosa-Vargas, 2018), como en la rizósfera de las especies arbóreas. Sin embargo, en los suelos de PCPP, el árbol con mayor riqueza fúngica al interior de las raíces fue *Z. longifolia* (Sosa-Vargas, 2018), a diferencia de *P. pteroclada* que fue la especie con mayor riqueza de hongos rizosféricos. Por lo tanto la riqueza de hongos puede cambiar dependiendo del sitio en el que se tome la muestra.

Espinoza-Montaluisa (2018) demostró que en los suelos de CGP la cantidad de TPH's es menor a 10mg/L, y que existe presencia de metales pesados como Ni y Pb, que reflejan la contaminación del suelo (Muñiz Ugarte, y otros, 2015). Cabe recordar que precisamente en los suelos de CGP se presentó la menor riqueza absoluta, de ahí que la baja cantidad especies en estos tipos de suelos contaminados pueden atribuirse a la presencia de estos contaminantes; razón por la cual se debe estudiar el movimiento de estos metales pesados en los hongos rizosféricos para poder comprobar la remediación de los suelos contaminados.

Ninguno de los estimadores de riqueza utilizados demostraron que las especies fúngicas encontradas representaron el 100 % de especies esperadas, un estudio reciente de escarabajos en el

Oriente Ecuatoriano (Quiloango-Chimarro, 2019), demostró que las curvas de acumulación de especies observadas no llegan a la asíntota, no solamente por la deficiencia en el muestreo sino también por efectos de contaminación ambiental. Tomando en cuenta que en los sitios evaluados contienen suelos que fueron perturbados por la extracción petrolera, se concuerda con Quiloango-Chimarro (2019), que los porcentajes encontrados por los estimadores de riqueza son causadas por la contaminación ambiental ya que el número de muestras fue alto (Figuras 3 y 4).

El estimador de riqueza Bootstrap, fue el indicador que mejor se ajustó a la asíntota, demostrando que la riqueza de especies fúngicas representan más del 75 % y del 80 % en las especies arbóreas y tipos de suelo perturbado respectivamente. A pesar de presentar la menor riqueza absoluta, en CGP se encontraron los mayores porcentajes de estimación de riqueza debido a que la forma de las curvas dependen de la extrapolación del número de especies acumuladas (Magurran, 2005).

#### **4.2.3 Estructura de la comunidad**

Según el índice  $1-D$ , tanto la rizósfera de las tres especies arbóreas como los de diferentes tipos de suelo evaluados, contienen alta diversidad fúngica (Moreno, 2001). Además el índice  $J'$ , muestra que las abundancias de las morfoespecies fueron igualmente distribuidas entre especies arbóreas y entre sitios perturbados (Moreno, 2001).

Cuando los cambios de la estructura de la comunidad resultan complicados de interpretar con los índices de diversidad y equitatividad (Halfert, Soberón, Melic, Koleff, & Moreno, 2005), por lo que conviene volver a los valores de riqueza y abundancia proporcional (Moreno, 2001). Considerando este precepto, la diversidad y equitatividad de los hongos ectorizosféricos y endorizosféricos, son similares; riqueza comparada con el estudio de Sosa-Vargas (2018) que registró 31 morfoespecies dentro de las raíces de árboles plantados en suelos contaminados.

#### **4.2.4 Similitud de morfoespecies fúngicas entre especies arbóreas y entre tipos de suelos perturbados**

Considerando que la similitud de especies rizosféricas sobrepasó el 50 % (Bray & Curtis, 1957), se advierte que la mayoría de especies fúngicas se comparten entre las especies arbóreas mejor establecidas (Villacís, Casanoves, Hang, Keesstra, & C, 2016b), así como entre tipos de suelo perturbados.

Tan solo cuatro de cada 10 especies no fueron semejantes entre especies arbóreas, efecto similar al trabajo de Sosa-Vargas (2018) con hongos endorizosféricos en las mismas especies arbóreas. Por lo tanto la diversidad beta de hongos rizosféricos y endorizosféricos es similar.

Cabe aclarar que, a pesar del parecido en el porcentaje de similitud entre el presente trabajo y el de Sosa-Vargas (2018), los géneros fúngicos si son diferentes. Por ejemplo en el presente estudio el género más común entre especies arbóreas fue *Thrychoderma* sp., mientras que para el trabajo de Sosa-Vargas (2018) fue *Fusarium* sp.; estas diferencias pueden deberse a que el crecimiento de las raíces en la rizósfera altera las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo cambiando la presencia de varias géneros y especies de hongos (Cunningham, Anderson, Schwab , & Hsu, 1996), ya que existe mayor interacción entre plantas, microorganismos y contaminantes del suelo (Hernández-Acosta, y otros, 2003).

Los resultados del presente trabajo demuestran que CLR fue más disímil que el resto de tipos de suelo perturbado. Por otra parte, tomando en cuenta los hongos endorizosféricos los tipos de suelo más disímiles fueron PCPP (Sosa-Vargas, 2018). Estos resultados pueden deberse a las diferentes ecosistemas evaluados y sus cambios en las características físico-químicos dentro del suelo (Espinoza-Montaluisa, 2018). El estudio de Pérez-Hernández, Ochoa-Gaona, Pérez-Hernández, & Urrieta-Saltijeral (2015) menciona que la rizósfera proporciona condiciones

nutricionales favorables para el aumento de poblaciones y la diversidad de microorganismos del suelo, mientras que dentro de las raíces existen principalmente asociaciones raíz-planta (micorrizas) que comparten nutrientes y azúcares para el crecimiento tanto de la planta como del hongo (Piepenbring, López, & Cáceres, 2016).

*Platymiscium pinnatum* fue la especie arbórea con menor similitud fúngica en los ecosistemas evaluados, a diferencia de *Piptadenia pteroclada* que presentó tal característica en estudio de Sosa-Vargas (2018). Cabe mencionar que la riqueza fúngica de *P. pinnatum* es equivalente al doble de morfoespecies fúngicas de *P. pteroclada* (Sosa-Vargas, 2018), resultados que pueden atribuirse a las diferencias en los niveles de MO, conductividad eléctrica, N y P de los cuatro ecosistemas evaluados (Öpik, Moora, Liira, & Zobel, 2006); (Espinoza-Montaluisa, 2018).

#### **4.2.5 Diferencias de la diversidad fúngica de la rizósfera especies arbóreas en diferentes tipos de suelos perturbados**

Tanto para el presente estudio como para el de (Sosa-Vargas, 2018) la riqueza fúngica no presentó diferencias significativas considerando la especie arbórea ni tipo de suelo perturbado. Los hongos endorizosféricos presentaron diferencias en los índices de abundancia y en estructura de la comunidad fúngica (Sosa-Vargas, 2018), variables que en el presente estudio tampoco fueron diferentemente significativas.

Además de las diferencias microecosistémicas evidentes, los contrastes se atribuyen a cambios en la composición específica de los hongos si la muestra proviene de la raíz o de la rizósfera (Gil-Cardesa & Gómez, 2014); (Sosa-Vargas, 2018); debe recordarse que la especie fúngica más abundante cambió dentro y fuera de la raíz de las especies arbóreas evaluadas.

Ambos estudios no encontraron efectos significativos de la interacción sitio perturbado × especie arbórea; sin embargo, en el presente estudio *Piptadenia pteroclada* establecida en CLR

presentó los valores más alto de riqueza, abundancia y estructura de la comunidad fúngica rizósferica ( $H'$ ,  $1-D$  y  $J'$ ) a diferencia de los valores medios de diversidad fúngica presentados dentro de la raíz de la misma especie arbórea en el mismo ecosistema (Sosa-Vargas, 2018). *P. pteroclada* en PCPP presentó los valores más bajos de la diversidad fúngica (Sosa-Vargas, 2018), lo que ratifica que el tipo de suelo perturbado influye en la respuesta de la comunidad fúngica asociada a las raíces o a la rizósfera de las especies arbóreas. Esto concuerda con a Öpik, Moora , Liira, & Zobel (2006), quienes sostienen que la composición de las comunidades de hongos está ligada directamente al sitio de origen de la muestra.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- La rizósfera de *Platymiscium pinnatum*, *Piptadenia pteroclada* y *Zigia longifolia* establecidas en plataformas que circunscriben a los pozos petroleros, celdas de lodos y ripios, centro de gestión de pasivos y potreros contienen 35 morfoespecies fúngicas, de las cuales *Trychoderma* spp. presentó la mayor abundancia.
- En los distintos tipos de suelo perturbado *Piptadenia pteroclada* es la especie arbórea con mayor riqueza fúngica, misma que equivale entre el 75 y 80 % de las especies esperadas por el estimador de riqueza Bootstrap.
- La estructura de la comunidad de hongos rizosféricos está representada por una diversidad alta y por una abundancia proporcional equitativa entre especies arbóreas y tipos de suelo perturbado.
- Las especies arbóreas y los distintos tipos de suelo perturbado comparten un alto porcentaje de similitud de especies fúngicas de la rizósfera pero, tomando en cuenta el tipo de suelo donde fueron establecidas las especies arbóreas, dicha similitud disminuye.
- A pesar de las diferencias de la composición de especies, la abundancia, riqueza, diversidad y equitatividad de los hongos de la rizósfera no cambian con el tipo de suelo perturbado donde las especies arbóreas se establecen.

## 5.2 Recomendaciones

- Realizar estudios moleculares de los hongos radicales reportados para *Platymiscium pinnatum*, *Zigia longifolia* y *Piptadenia pteroclada*, establecidos en suelos perturbados por la actividad petrolera, para determinar la identidad genética de las morfoespecies.
- Evaluar los beneficios de la inoculación de los hongos radicales en especies forestales, utilizadas en procesos de remediación de suelos afectados por actividades de la extracción de crudo.
- Estudiar el movimiento de TPH's, Ni y Pb hacia los hongos endorizosféricos y rizosféricos de las tres especies arbóreas establecidas en los ecosistemas perturbados.

### 5.3 Bibliografía

- Aponte-Perales, C., Marañón, P., García-Fernández, L., & Gardes, M. (2009). La comunidad de hongos micorrícicos en un bosque de quercíneas Mediterráneo. En Sociedad Española de Ciencias Forestales, & Junta de Castilla y León (Ed.), *5º Acta Congreso Forestal Español*, (págs. 2-12). Sevilla, España.
- April, T., Foght, J., & Currah, R. (February de 2000). Hydrocarbon-degrading filamentous fungi isolated from flare pit soils in northern and western Canada. *Canadian Journal of Microbiology*, 46(1), 38-49. doi:10.1139/w99-117
- Argumedo-Delira, R., Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., & Peña-Cabriales, J. J. (2009). El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 25(4), 257-269.
- Arias-Cifuentes, E. L., & Piñeros-Espinoza, P. A. (2008). *Aislamiento e Identificación de hongos filamentos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde*. Bogotá, Colombia : Tesis de grado, Facultad de Ciencias, Carrera de Microbiología Industrial, Pontificia Universidad Javeriana .
- Ballesteros, C., & Tapia, D. (2007). *Evaluación de diferentes sistemas para el tratamiento de residuos de perforación en el campo tarapoa operado por la empresa Andes Petroleum S.A.* Guayaquil, Ecuador : Tesis de grado, Facultad de Ingeniería en Ciencias de la Tierra, Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL).
- Barnett, H., & Hunter, B. B. (1998). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi (Fourth edition)*. St. Paul, Minn:APS Press.
- BCE, B. C., Petroamazonas EP, E. p., & ARCH, A. d. (30 de Junio de 2018). Análisis de Combustibles. *Recurso - La Revista Hidrocarburiífera del Ecuador*, 22, 23.

- BCE, B. C., Petroamazonas EP, E. p., & ARCH, A. d. (29 de Mayo de 2018). La producción petrolera nacional aumentó a 522 372 barriles diarios. *El Comercio*.
- Bray , R., & Curtis, J. (February de 1957). An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. *Ecological Society of America*, 325-349. doi:10.2307/1942268
- Britton & Rose. (2014). *Zygia longifolia*. Obtenido de Catálogo virtual de flora del valle de aburrá, Universidad EIA: <https://catalogofloravalleaburra.eia.edu.co/species/47>
- Calvache-Ulloa, A. M. (Octubre de 2015). El suelo y la productividad agrícola en la Sierra del Ecuador. *XIV Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo*, 38-40.
- Cébron, A., Cortet, J., Criquet, S., Biaz, A., Calvert, V., Caupert, C., . . . Leyval , C. (9 de February de 2011). Biological functioning of PAH-polluted and thermal desorption-treated soils assessed by fauna and microbial bioindicators. *Research in Microbiology*, 162, 896-907. doi:10.1016/j.resmic.2011.02.011
- Correa, O. S. (2013). Los microorganismos del suelo y su rol indiscutido en la nutrición vegetal. En *Aportes de la microbiología a la producción de cultivos*. Argentina: Tercera jornada del Instituto de investigaciones en Bociencias agrícolas y ambientales.
- Cunningham, S., Anderson, T., Schwab , A., & Hsu, F. (1996). Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Advances in Agronomy* , 56, 55-114.
- de la Torre, L. H. (2008). *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*. Herbario QCA & Herbario AAU. Quito, Ecuador.
- Derguy, M., Drozd, A., Arturi, M., Martinuzzi, S., Toledo, L., & Frangi, J. (11 de Noviembre de 2016). Aplicación del modelo de clasificación ecologica de Holdridge a partir de análisis espacial de datos. *XVII Simposio Internacional en Percepción Remota y Sistemas de Información Geográfica*, 475-488.

- Dezzeo, N. (2014). *Especies forestales nativas de la Amazonía ecuatoriana con potencial para uso en sistemas agroforestales*. Caracas-Venezuela : Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzales, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2018). *Grupo InfoStat, FCA*. Argentina, Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba. Obtenido de <http://www.infostat.com.ar>
- Espinoza-Montaluisa, E. G. (2018). *Relaciones entre las características edafológicas y las variables dasométricas de tres especies arbóreas plantadas en suelos perturbados por la actividad petrolera*. Sangolquí, Ecuador: Tesis de grado, Carrera de Ingeniería Agropecuaria, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Fernandez-Brito , T. (2018). *Biorremediación con Penicillium spp, Phanerochaete spp y Trichoderma spp de suelos contaminados con DDT. Moyobamba- 2016*. Perú.
- Forzza, R., Zappi, D., & Souza, V. (2016). *Piptadenia pteroclada Benth.* (Kew Science - Plants of the world online, Ed.) Obtenido de IPNI (The international Plant Names Index): <http://www.ipni.org/ipni/idPlantNameSearch.do?id=514434-1>
- García , J. (2005). *Informe de la subregión amazónica*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Departamento de Montes. Roma: ESFAL (Estudio de tendencias y perspectivas del sector forestal en América Latina).
- Gil-Cardesa, M., & Gómez, E. (Diciembre de 2014). Hongos Micorrícicos Arbusculares y su potencial uso como Agentes Biorremediadores en suelos con elevado contenido de metales pesados. *Agromensajes* , 40 , 35- 39.

- Halfert , G., Soberón, J., Melic, A., Koleff, P., & Moreno, C. E. (2005). *Sobre Diversidad Biológica: Significado biológico de las diversidades Alfa, Beta y Gamma* (Vol. 4). Zaragoza, España: SEA.
- Hartmann, A., Rothballer, M., & Schmid, M. (Noviembre de 2008). Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology. *Plant and Soil*, 312(1), 7–14. doi:10.1007/s11104-007-9514-z
- Hernández Benalcázar, H., Gagnon, D., & Davidson, R. (28 de Junio de 2015). Growth and initial production of 15 tropical tree species from the Ecuadorian Amazonia with different successional stages. *Siembra* , 2(1), 69-75.
- Hernández-Acosta, E., Ferrera-Cerrato, R., Gutiérrez-Castorena, M., Rodríguez-Vázquez, R., Rubiños-Panta, J., & Fernández-Linares, L. (2003). Hydrocarbonoclastic Bacteria and Fungi of the Rhizosphere of Bean and Corn, in a Soil with Petroleum Pollution. 21(4), 493-502.
- Holdridge, L. R. (1957). Life zone ecology. *Tropical Science Centre*, 206 pp.
- IUCN, U. I. (6 de Enero de 2015). *Platymiscium pinnatum* (Jacq.) Dugand. Obtenido de Especies de Restauración: *Platymiscium pinnatum* (Jacq.) Dugand
- IUCN, U. I. (2015). *Zygia longifolia*. Obtenido de Especies para Restauración: [http://www.especiesrestauracion-uicn.org/data\\_especie.php?sp\\_name=Zygia20longifolia](http://www.especiesrestauracion-uicn.org/data_especie.php?sp_name=Zygia20longifolia)
- Latgé, J. P. (12 de April de 1999). *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(2), 310–350.
- López, V., Espíndola, F., Calles, J., & Ulloa, J. (2013). *Amazonía ecuatoriana bajo presión* . Quito, Ecuador : RAISG (Red Amazónica de información Socio Ambiental Georeferenciada).

López-Quintero , C., Straatsma , G., Franco-Molan, A., & Boekhout, T. (13 de April de 2012).

Macrofungal diversity in Colombian Amazon forests varies with regions and regimes of disturbance. *Biodiversity and Conservation*, *21*, 2221–2243. doi:10.1007/s10531-012-0280-8

Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (Junio de 2009). Plant growth promoting Rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, *63*, 541–56. doi:10.1146/annurev.micro.62.081307.162918

Magurran, A. E. (2005). *Mesuring Biological Diversity*. Oxford, Union Kingdom: Blackwell Science Ltd.

McAleece, N., Gage, J., Lambshead, P., & Paterson, G. (1997). *BioDiversity Professional statistics analysis software. Jointly developed by the Scottish Association for Marine Science and the Natural History Museum London*.

McCarty, P. L. (1991). Engineering concepts for in situ bioremediation. *Journal of Hazardous Materials*, *28*, 1-11. doi:10.1016/0304-3894(91)87002-J

Moreno, C. (2001). *Métodos para medir la biodiversidad* (Vol. 1 ). Zaragoza, España: M&T - Manuales y Tesis SEA.

Muñiz Ugarte, O., Alfaro, M., Álvarez, A.-M., Álvarez, J., Aguiar Accioly, A., & Do Nascimento, C. (2015). Nickel in soils and plants of Cuba. *Cultivos Tropicales*, *36*, 25-33.

Naranjo-Bautista, S., Calvas, J. E., & Rodríguez, S. (2016). *PLAN INTEGRAL PARA LA AMAZONÍA*. Instituto para el Ecodesarrollo Regional Amazónico , Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, Quito .

Öpik, M., Moora , M., Liira, J., & Zobel, M. (2006). Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *Journal of Ecology*, *94*, 778–790. doi:10.1111/j.1365-2745.2006.01136.x

- Oudot, J., Dupont, S., Haloui, & Roquebert, M. (Septiembre de 1993). Biodegradation potential of hydrocarbon-assimilating tropical fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, 25(9), 1167-1173. doi:10.1016/0038-0717(93)90211-S
- Paul, E., & Clark, F. (1996). En *Soil microbiology and biochemistry, Second Edition*. San Diego: Academic Press.
- Peña-Vanegas, C., & Vanegas-Cardona, G. (2010). *Dinámica de los suelos amazónicos: Procesos de degradación y alternativas para su recuperación*. Colombia: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas –Sinchi, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial.
- Pérez, B., de Silóniz, I., Torralba, B., & Vázquez, C. (2010). Metodología de esterilización en el laboratorio microbiológico. *Reduca (Biología). Serie Microbiología*, 3(5), 1-14.
- Pérez-Hernández, V., Ochoa-Gaona, S., Pérez-Hernández, I., & Urrieta-Saltijeral, J. M. (2015). Efecto del petróleo sobre microorganismos cultivables de la rizosfera de árboles tropicales. *Área Libre*, 2-11.
- Petroamazonas EP. (2017). *Proyecto Amazonía Viva, de Petroamazonas EP, alcanza un millón de metros cúbicos de suelo remediado*. Obtenido de Noticias: <https://www.petroamazonas.gob.ec/?p=7895>
- Petroamazonas EP. (2018). *Memoria de Gestión*. Obtenido de Proyecto Amazonía Viva.
- Piepenbring, M., López, F., & Cáceres, O. (2016). La importancia de los Hongos en los Ecosistemas: Información para Educación Ambiental. *Puente Biológico*, 8, 57-91.
- Pozo-Rivera, W. E. (2017). *Relaciones de la diversidad arbórea y la estructura del paisaje agrícola tropical ecuatoriano con la biodiversidad de murciélagos filostómidos*. La

Habana: Disertación Doctoral, Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas, Departamento de Biología Animal y Humana, Universidad de La Habana.

Probanza-Lobo, A. (2012). *La rizosfera: un "criptoecosistema" vital. Aspectos básicos y aplicados.*

Venezuela: CONAMA (Congreso Nacional del Medio Ambiente), Universidad CEU San Pablo.

Quiloango-Chimarro, C. A. (2019). *Diversidad de coleópteros Scarabaeidae, Scarabaeinae de áreas rehabilitadas en suelos agrícolas y ecosistemas sensibles a procesos de extracción petrolera en la Amazonía ecuatoriana.* Quito-Ecuador: Tesis de grado, Carrera de Ingeniería Agropecuaria, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

Radwan, S., Sorkoh, N., & El-Nemr, I. (1995). *Rhizospheric hydrocarbon-utilizing microorganisms as potential contributors to phytoremediation for the oil Kuwaiti desert.* Londres, Inglaterra : Nature London.

Recio-Herrera , G. M., & Maldonado-González , S. G. (2013). *Hongos y Algas.* La Habana, Cuba: Félix Varela.

Rivera-Cruz, M., Ferrera-Cerrato, R., Volke, H., Rodríguez, R., & Fernández, L. (2002). *Adaptation and Selection of Autochthonous Microorganisms in Culture Media Enriched with Crude Petroleum . Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal, 423-434.*

Rocha, C. (2003). *Restauración ambiental.* Universidad Simón Bolívar, Departamento de Biología Celular. Venezuela: Biodiversidad en Venezuela.

Rocha-Bonilla, G., Santoyo, Y., Bustillos, R., Muñoz, J., Perez y Terrón, R., Muñoz, A., . . . Munive, J. A. (2015). Los microorganismos del suelo y su importancia biotecnológica en la agricultura y el ambiente. *RD-ICUAP, 1, 1-8.*

- Roskov Y., O. G. (25 de March de 2019). *Piptadenia pteroclada Benth.* Obtenido de Species 2000 & ITIS Catalogue of Life: <http://www.theplantlist.org/tpl/record/ild-14721>
- Ruiz-Mantilla, L. (1998). *Amazonía ecuatoriana escenario y actores del 2000*. Quito, Ecuador: Flacso Los Andes, EcoCiencia.
- Russell, J., Huang, J., Anand, P., Kucera, K., Sandoval, A., & Dantzler, K. (September de 2011). Biodegradation of Polyester Polyurethane by Endophytic Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(17), 6076–6084. doi:10.1128/AEM.00521-11
- Score, A., & Palfreyman, J. (1994). Biological control of the dry rot fungus *Serpula lacrymans* by *Trichoderma* species: The effects of complex and synthetic media on interaction and hyphal extension rates. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 33(2), 115-128. doi:10.1016/0964-8305(94)90031-0
- Sevilla-Pérez, A. M. (2013). *El Ecuador en sus mapas: Estado y nación desde una perspectiva espacial*. IGM (Instituto Geográfico Militar), Cartografía República del Ecuador. Quito-Ecuador: FLACSO.
- SIAC, S. d. (2017). *Suelo*. Obtenido de SIAC (Sistema de Información Ambiental de Colombia): <http://www.siac.gov.co/suelo>
- Sierra, R., Cerón, C., & Valencia, R. (January de 1999). Propuesta preliminar de un sistema de clasificación de vegetación para el Ecuador Continental. *Proyecto INEFAN/GEF-BIRF y EcoCiencia*. doi:10.13140/2.1.4520.9287
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2009). Mycorrhizal Symbiosis Third Edition. *Soil Science Society of America Journal*, 73(2), 694. doi:10.2136/sssaj2008.0015br

- Solís-Mardones , L. P. (2005). *Degradación de petróleo por hongos aislados desde suelos de la XII región de Chile contaminados con hidrocarburos*. Valdivia , Chile: Tesis de grado, Universidad Austral de Chile.
- Sosa-Vargas, V. S. (2018). *Diversidad de hongos presentes en raíces de tres especies arbóreas plantadas en el suelos perturbados por la actividad petrolera de la Amazonía ecuatoriana*. Sangolquí, Ecuador : Tesis de grado, Carrera de Ingeniería Agropecuaria, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Taylor , A. F., & Alexander, I. A. (August de 2005). The ectomycorrhizal symbiosis: life in the real world. (Mycologist, Ed.) *Mycologist*, 19(3), 102-112. doi:10.1017/S0269-915X(05)00303-4
- Terrón, A. A. (14 de Mayo de 2008). *Los hongos son los mejores indicadores del estado de conservación de un ecosistema natural*. Obtenido de DiYCT (Agencia Iberoamericana para la difusión de la Ciencia y la Tecnología): <http://www.dicyt.com/noticias/los-hongos-son-los-mejores-indicadores-del-estado-de-conservacion-de-un-ecosistema-natural>.
- Ulcuango, K., Villacís , J., & Basantes, E. (2014). *Estudio de las variables de crecimiento de 20 especies forestales y las características edafológicas de plataformas y celdas de lodos y ripios de la EP Petroecuador*. Sangolquí, Ecuador : Tesis de grado, Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE.
- Van Loosdrecht , M., Lyklema , J., Norde , W., & Zehnder, A. (March de 1990). Influence of Interfaces on Microbial Activity. *Microbiological Reviews* , 54(1), 75-87.
- Vásquez, M., Guerrero Figueroa, J., & Quintero, A. (Julio de 2010). Bioremediation of sludge contaminated with used lubricant. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XII, 1, 141-157.

- Villacís, J., Armas, C., Casanoves, F., & Hang, S. (10 de Octubre de 2016a). Selection of adequate species for degraded areas by oil exploitation industry as a key factor for recovery forest in the Ecuadorian Amazon. *Land Degradation & Development*, 27(7), 1771–1780. doi:10.1002/ldr.2511
- Villacís, J., Casanoves, F., Hang, S., Keesstra, S., & C, A. (2016b). Selection of forest species for the rehabilitation of disturbed soils in oil fields in the Ecuadorian Amazon. *Science of The Total Environment*, 566–567: 761–770. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.05.102
- Vogliano, S. (10 de Mayo de 2009). *Extracción petrolera en la Amazonia - Conflictos Socioecológicos-Combustibles fósiles*. Obtenido de Proyecto Cultura y Ambiente: [http://multitud.culturambiente.es/wp-content/uploads/2012/06/ECUADOR\\_combustibles\\_n22.pdf](http://multitud.culturambiente.es/wp-content/uploads/2012/06/ECUADOR_combustibles_n22.pdf)
- Whittaker , R. H. (3 de May de 1972). Evolution and Measurement of Species Diversity. *International Association for Plant Taxonomy (IAPT)*, 21(2), 213-251.
- Yáñez, P., & Bárcenas, M. (2012). Determinación de los niveles de tolerancia a hidrocarburos y potencial y fitrremediación de cuatro especies vegetales del sector Baeza-El Chaco. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 15(1), 27-48.
- Zambrano-Cevallos , B. R. (2017). *Diversidad fúngica asociada a raíces de tres especies de árboles del género Matisia, que presentan distintos patrones de agregación en el Parque Nacional Yasuní*. Quito, Ecuador : Tesis de grado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.