



**Determinación de la diversidad ecológica y funcional de micorriza arbuscular de la rizosfera de sitios
de historial de deposición de municiones.**

Reina Recalde, Andrea Mishell

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Trabajo de Integración Curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

Duchicela Escobar, Jessica Ivonne PhD

15 de Febrero del 2023

Informe de originalidad

NOMBRE DEL CURSO

Revisión Tesinas

NOMBRE DEL ALUMNO

ANDREA MISHELL REINA RECALDE

NOMBRE DEL ARCHIVO

ANDREA MISHELL REINA RECALDE - Documento sin título



Firmado electrónicamente por:
JESSICA IVONNE
DUCHICELA ESCOBAR

SE HA CREADO EL INFORME

28 feb 2023

Resumen

| | | |
|--------------------------------------|---|-------|
| Fragmentos marcados | 0 | 0 % |
| Fragmentos citados o entrecomillados | 2 | 0,7 % |

Coincidencias de la Web

| | | |
|----------------------|---|-------|
| espe.edu.ec | 1 | 0,6 % |
| semantic scholar.org | 1 | 0,1 % |

1 de 2 fragmentos

Fragmento del alumno **ENTRECOMILLADO**

Certifico que el trabajo de integración curricular: "Determinación de la diversidad ecológica y funcional de micorriza arbuscular de la rizosfera de sitios de historial de deposición de municiones" ...

Mejor coincidencia en la Web

Certifico que el trabajo de titulación: «Título» fue realizado por el/los señor/señores Apellidos, Nombres completos; **el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y...**

Trabajos de titulación - Biblioteca ESPE <https://biblioteca.espe.edu.ec/wp-content/uploads/2022/04/FormatosTrabajosdeTitulacion2022.docx>

2 de 2 fragmentos

Fragmento del alumno **ENTRECOMILLADO**

...detonación, PRDF: pre-deflagración, PSDT: post- detonación, PSDF: post-deflagración. **R1: réplica 1, R2: réplica 2, R3: réplica 3.** T150: tamiz de 150 µm, T38: tamiz de 38...

Mejor coincidencia en la Web

AL (Consumo total de ácido sulfúrico) a diferentes tiempos **r1: réplica 1; r2: réplica 2; r3: réplica 3.**
Page 7 ...

Biolixiviación de mineral cuarzo por Acidithiobacillus ferrooxidans
... <https://pdfs.semanticscholar.org/560c/a22d6b879018fe1fa6952577ceb210e82260.pdf>



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: **“Determinación de la diversidad ecológica y funcional de micorriza arbuscular de la rizosfera de sitios de historial de deposición de municiones”** fue realizado por la señorita **Reina Recalde, Andrea Mishell**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 28 de febrero de 2023



Firmado electrónicamente por:
**JESSICA IVONNE
DUCHICELA ESCOBAR**

Duchicela Escobar, Jessica Ivonne Ph.D

C. C: 1710463835



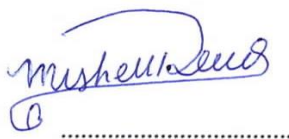
Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Reina Recalde, Andrea Mishell**, con cédula de ciudadanía n° 1723664270, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **“Determinación de la diversidad ecológica y funcional de micorriza arbuscular de la rizosfera de sitios de historial de deposición de municiones”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 28 de febrero de 2023



.....

Reina Recalde, Andrea Mishell

C.C.: 1723664270



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo **Reina Recalde, Andrea Mishell**, con cédula de ciudadanía n°1723664270, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **“Determinación de la diversidad ecológica y funcional de micorriza arbuscular de la rizosfera de sitios de historial de deposición de municiones”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 28 de febrero de 2023

Reina Recalde, Andrea Mishell

C.C.: 1723664270

Dedicatoria

A mis padres, mis hermanos, mi sobrina y mis perros Leia y Jack.

Agradecimientos

A la Ing. Jessica Duchicela, directora de la Carrera Agropecuaria (IASA I) de las Fuerzas Armadas ESPE, por ser una excelente tutora y guiarme en la realización práctica y escrito de este proyecto, por el tiempo que me dedicó en el laboratorio. Además, por haberme permitido hacer uso del Laboratorio de Botánica- IASA para la realización del estudio.

Al Proyecto de Investigación Multidisciplinario: “Biodegradación de Contaminantes Derivados de Municiones por Inóculos Nativos de Micorriza.PIM-03” con Resolución ESPE-CA-RES-2022-019 el 22 de marzo de 2022, y el Grupo de Almacenamiento de Material Bélico, GAMABE.

Al Ing. Ramiro Guerrón por su ayuda en el análisis estadístico.

Al Ing. Juan Giacometti, técnico del laboratorio de Botánica- IASA, por su apoyo en el uso de los equipos.

Al Laboratorio del Fitopatología de AGROCALIDAD por facilitarnos los microscopios para la toma de fotografías.

A los docentes que me formaron con sabiduría durante mi carrera universitaria, por su paciencia y por sus valiosos conocimientos brindados.

A Estefanía Vaca, mi compañera de tesis y amiga, que hizo que las idas al laboratorio sean mucho más divertidas, y que las salidas no sean tan solitarias. A Josué, Majito y a todos los compañeros y amigos que fui conociendo, los cuales simplificaron y amenizaron toda esta trayectoria universitaria.

Finalmente agradezco a Pedro y Sonia por haberme guiado en este camino universitario y por haberme apoyado en todo sentido. También lo dedico a mi hermano Andrés por ser un ejemplo

para mí y por darme a la sobrina más hermosa del mundo. De igual forma, dedico este trabajo a Pablo, mi hermano, una de las personas que más admiro en el mundo por toda su constancia, dedicación y esfuerzo que siempre ha mostrado en todo sentido, además por ser mi confidente y mejor amigo. Y a mis perritos que hicieron que el escrito de este trabajo sea mucho más alegre con su presencia.

Índice de contenido

| | |
|--|-----------|
| <i>Resultados análisis Google Assignments</i> | 2 |
| <i>Certificación</i> | 3 |
| <i>Responsabilidad de autoría</i> | 4 |
| <i>Autorización de publicación</i> | 5 |
| <i>Dedicatoria</i> | 6 |
| <i>Agradecimientos</i> | 7 |
| <i>Índice de Tablas</i> | 13 |
| <i>Índice de Figuras</i> | 13 |
| <i>Índice de ecuaciones</i> | 14 |
| <i>Listado de abreviaturas</i> | 14 |
| <i>Resumen</i> | 15 |
| <i>Abstract</i> | 16 |
| <i>Capítulo I: Introducción</i> | 17 |
| Formulación del problema | 17 |
| Justificación del problema | 18 |
| Objetivos | 19 |
| Objetivo general | 19 |

| | |
|---|-----------|
| | 10 |
| Objetivos específicos | 19 |
| Capítulo II: Marco Teórico | 20 |
| Generalidades de las Micorrizas | 20 |
| Clasificación de las Micorrizas | 22 |
| Ectomicorrizas..... | 23 |
| Ectendomicorrizas | 23 |
| Endomicorrizas | 23 |
| Biodiversidad de las asociaciones micorrízicas | 23 |
| Esporas de los HMA | 23 |
| Especies de micorrizas..... | 25 |
| Taxonomía y clasificación de los HMA..... | 25 |
| Contaminación del suelo por material militar | 25 |
| Importancia de las micorrizas en suelos contaminados | 27 |
| Hipótesis | 27 |
| Capítulo III: Materiales y Métodos..... | 28 |
| Muestreo..... | 28 |
| Análisis físico-químico del suelo | 30 |
| Porcentaje Medio de Infección (MIP)..... | 30 |
| Germinación de Sorgo (planta trampa) | 31 |

| | |
|--|-----------|
| | 11 |
| Preparación de la arena de río..... | 31 |
| Montaje del experimento | 31 |
| Tinción y montaje de raíces | 32 |
| Determinación del MIP | 32 |
| Extracción de esporas | 33 |
| Combinación de muestras | 33 |
| Preparación de sacarosa al 70% | 33 |
| Tamizaje en húmedo | 33 |
| Identificación de morfoespecies | 34 |
| Descripción Morfológica..... | 35 |
| Análisis estadístico..... | 36 |
| Capítulo IV: Resultados | 37 |
| Análisis físico-químicos de muestras de suelo | 37 |
| Taxonomía de los HMA | 42 |
| Densidad de esporas..... | 42 |
| Identificación de morfoespecies | 46 |
| Comparación de morfoespecies | 49 |
| Abundancia y diversidad de los géneros de HMA | 51 |
| Índice de Shannon (H) y Simpson (S) | 52 |

| | |
|--|-----------|
| | 12 |
| Análisis Estadísticos | 53 |
| <i>Capítulo V: Discusión.....</i> | 55 |
| Caracterización de las muestras de suelo | 55 |
| MIP | 56 |
| Taxonomía de morfoespecies | 58 |
| Influencia de la actividad militar en la densidad de esporas..... | 60 |
| Abundancia y diversidad de los géneros de HMA | 60 |
| Análisis estadísticos | 61 |
| Comparación en suelos remanentes | 62 |
| <i>Capítulo VI: Conclusiones</i> | 63 |
| <i>Capítulo VII: Recomendaciones.....</i> | 64 |
| <i>Referencias bibliográficas</i> | 65 |

Índice de Tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Ubicaciones del muestreo..... | 28 |
| Tabla 2. Análisis físico-químico de muestras de suelo con disposición de material bélico..... | 37 |
| Tabla 3. Cálculo del MIP de los puntos de inserción en raíces..... | 38 |
| Tabla 4. Conteo y caracterización del color de esporas observadas en estereoscopio | 43 |
| Tabla 5. Número de esporas recolectadas por cada morfoespecie | 46 |
| Tabla 6. Características morfológicas observadas en las esporas..... | 48 |

Índice de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1 Estructuras principales de los HMA..... | 22 |
| Figura 2 Ubicación geográfica del lugar de muestreo | 30 |
| Figura 3 Ejemplo de obtención de muestra compuesta..... | 35 |
| Figura 4 MIP en los distintos tipos de disposición de material bélico..... | 40 |
| Figura 5 Diversas estructuras de HMA asociadas con raíces..... | 41 |
| Figura 6 Puntos de inserción en raíces sin presencia de colonización micorrízica..... | 42 |
| Figura 7 Comparación del número de esporas antes y después de la dotonación/deflagración . | 46 |

| | |
|--|----|
| | 14 |
| Figura 8 Imágenes en estereoscopio de esporas..... | 49 |
| Figura 9 Esporas de HMA en suelo de historial de deposición de municiones | 50 |
| Figura 10 Diversidad de morfoespecies encontradas..... | 52 |
| Figura 11 Diferencias de las morfoespecies en suelos de historial de deposición de municiones | 53 |
| Figura 12 Diferencias estadísticas del No. de esporas en las muestras del suelo estudiado | 54 |

Índice de ecuaciones

| | |
|--|----|
| Ecuación 1. Ecuación para la determinación del MIP..... | 32 |
|--|----|

Listado de abreviaturas

HMA: Hongo micorrízico arbuscular

AMF: Arbuscular Mycorrhizal Fungi

MIP: Porcentaje medio de infección

INIAP: Instituto de Investigaciones Agropecuarias

INVAM: International Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi

CICG: Colección Internacional de Cultura de *Glomeromycota*

EPT: Elemento potencialmente tóxico

UI: Unidad de Infección

Resumen

Las HMA son asociaciones mutualistas presentes en un gran número de especies de plantas, poseen una importante función ecológica e influencia en la estabilidad de los ecosistemas. Se ha destacado su rol en la degradación de compuestos tóxicos como el TNT, RDX, HMX, etc, en el suelo como consecuencia del uso de material bélico durante los ejercicios militares. La caracterización de los HMA es esencial para reconocer sus mecanismos degradadores. Se realizó la extracción de esporas de micorrizas presentes en el suelo contaminado con municiones, obteniéndose 8 morfoespecies. Adicionalmente, se realizaron cálculos de los índices de diversidad de los géneros de esporas obtenidos. Además, se determinó el MIP de las raíces desarrolladas en suelos contaminados para evaluar su capacidad de colonización micorrízica. Se realizaron análisis estadísticos como la prueba U de Mann-Whitney y la prueba t independiente para ver si hay diferencias significativas en las muestras con respecto al historial y tiempo de disposición de material bélico. De acuerdo con las características morfológicas las morfoespecies pertenecieron a los géneros *Glomus*, *Septoglomus*, *Rhizophagus* y *Acaulospora*. El género más diverso fue *Glomus* debido a su capacidad para persistir en suelos contaminados. El MIP determinó que el suelo de todos los sitios de muestreo es capaz para producir colonización micorrízica. Los análisis estadísticos mostraron que existen diferencias significativas en las muestras pre y post (detonación/ deflagración) con respecto al número de esporas.

Palabras clave: esporas, MIP, tamizaje en húmedo, material bélico.

Abstract

The AMF are mutualistic associations present in a large number of plant species, which have an important ecological function and influence on the stability of ecosystems. Its role in the degradation of toxic military compounds such as TNT, RDX, HMX, etc., in the soil as a consequence of the use of war material during exercises, has been highlighted. The characterization of AMF is essential to recognize their degrading mechanisms. The extraction of mycorrhizal spores present in the soil contaminated with ammunition was carried out, obtaining 8 morphospecies. Additionally, calculations of the diversity indices of the genera of spores obtained were made. In addition, the IPM roots of those developed in contaminated soils will be developed to evaluate their mycorrhizal colonization capacity. Statistical analyzes such as the Mann-Whitney U test and the independent t test were performed to see if there are significant differences in the samples regarding the history and time of disposition of war material. According to the morphological characteristics, the morphospecies belonged to the genera *Glomus*, *Septoglomus*, *Rhizophagus* and *Acaulospora*. The most diverse genus was *Glomus* due to its ability to persist in contaminated soils. The IPM will reduce that the soil of all sampling sites is capable of producing mycorrhizal colonization. The statistical analyzes showed that there are significant differences in the pre and post samples (detonation/deflagration) with respect to the number of spores.

Key words: spores, MIP, wet sieving, war material.

Capítulo I: Introducción

Formulación del problema

Términos militares, económicos y geopolíticos son los que definen el poder de las naciones, y estos han tenido un rol en el medio ambiente y los recursos naturales. Debido a que el poder militar es la pieza elemental del poder nacional, se puede usar para establecer efectos militares estratégicos (Fernandez-Lopez et al., 2022) Las operaciones militares generan impactos negativos en el suelo, tanto por la utilización de municiones como por el espacio que supone estas actividades. Mundialmente se estima que entre 750000 y 15000000 Km² de suelo son utilizados con este propósito, lo que impide que sea utilizado con otros propósitos como la agricultura, preservación de ecosistemas, entre otros (Gonzales Garrido, 2017).

El riesgo ambiental que supone las operaciones militares afecta de manera particular a las condiciones naturales del suelo (Certini et al., 2013). Las consecuencias más importantes de estas acciones sobre el suelo incluyen carga ambiental, modificación física e hidrológica de las características del suelo, cambios en su estructura mecánica, contaminación con metales pesados y plásticos, muchas de estas son causadas por la aplicación de municiones en la actividad militar (Stadler et al., 2022).

Los HMA son un importante grupo funcional de microorganismos del suelo que funcionan bajo una relación simbiótica con la planta. Un sinnúmero de investigaciones ha comprobado importancia de estos microorganismos en los suelos contaminados (Sun et al., 2023). Se ha demostrado que las plantas con HMA constituyen un posible plan de recuperación de suelos contaminados con metales pesados y otros contaminantes provenientes de actividades militares, y podría llegar a considerarse como una táctica obligatoria de restauración en el futuro (Silva-Castro et al., 2022).

La determinación de la diversidad de HMA en suelos contaminados con material bélico en Ecuador ha sido muy limitada y dada la importancia que representan los HMA en el equilibrio ecológico de los ecosistemas y en la recuperación de los mismos se ha planteado estudiar su diversidad ecológica y funcional y como esta se ha visto afectada por la actividad militar.

Justificación del problema

Debido al aumento de las operaciones militares, y reconociendo su papel en la contaminación del suelo, cada vez hay una necesidad mayor por minimizar el peligro que constituye estas actividades hacia la biodiversidad terrestre (Fernandez-Lopez et al., 2022).

Diversos estudios corroboran que la inoculación de HMA podría acelerar la tasa de recuperación de un ecosistema degradado, además, aumentan la tasa de supervivencia y optimizan el crecimiento de sus hospederos en suelos contaminados. En virtud a estos beneficios se considera a los HMA como un elemento esencial para la recuperación y restauración de ecosistemas degradados (Pilco Pomagualli, 2015).

La identificación de especies de HMA asociadas a la rizosfera en sitios contaminados con material bélico es importante para el monitoreo ecológico, el seguimiento de las tendencias de la población de HMA, las evaluaciones de salud de los ecosistemas terrestres, implementar y examinar los planes de manejo de las poblaciones y, orientado a este trabajo, para informar y evaluar acciones de biorremediación de suelos (Austen et al., 2016).

Este estudio contribuye a la determinación de la diversidad ecológica y funcional de micorriza arbuscular en sitios que han sido contaminados con material bélico debido a actividades militares, sitios que albergan un sinnúmero de especies de flora y fauna y que podrían ser utilizados con otros propósitos orientados a la preservación de ecosistemas. La

información que resulta de este estudio podría proporcionar una guía para futuros estudios sobre diversidad de micorriza arbuscular y como podría utilizarse para recuperación de suelos contaminados.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la diversidad ecológica y funcional de micorriza arbuscular de la rizosfera de sitios de historial de deposición de municiones.

Objetivos específicos

- Muestrear los sitios contaminados, mediante un diseño experimental de los sitios de repeticiones para obtener muestras de micorriza arbuscular.
- Caracterizar morfológicamente al menos 4 ecotipos de micorrizas detectadas en el sitio de estudio por medio de una metodología morfológica basada en la espora para poder identificar y definir géneros de hongos de micorriza arbuscular.
- Determinar el Potencial Micorrízico del suelo a partir del método de porcentaje medio de infección (MIP) a fin de determinar la capacidad que tiene el suelo de producir colonización micorrízica.

Capítulo II: Marco Teórico

Generalidades de las Micorrizas

Las asociaciones mutualistas entre un gran número de especies de plantas superiores (incluidas las principales especies de cultivos de producción como trigo, maíz y sorgo) con hongos que forman arbusculos dentro de las células de las plantas son denominadas micorrizas arbusculares (Cuenca et al., 2007). Los HMA tiene sus raíces ubicuas y gracias a ellas se permite el intercambio de carbono y fósforo entre el hongo y la planta (Aguirre et al., 2012).

Entre un 5-20% del carbono fotosintético es destinado por las plantas para formar exudados radicales elementales para mantener a los simbioses de las raíces. Resulta menos costoso energéticamente para la planta establecer relaciones con los simbioses que producir raíces (Carrillo-Saucedo et al., 2022). Además, es bien reconocido que las plantas micorrizadas a diferencia de las no micorrizadas presentan ventajas en cuanto a la mejora de la nutrición de las plantas huésped, tolerar estrés por sequía, metales pesados, patógenos, contaminantes (Teste et al., 2020). En general, los HMA se distinguen por su sustancial función ecológica y pueden tener una alta influencia en la estabilidad de los ecosistemas (Restrepo Giraldo et al., 2019).

El suelo, al ser un entorno diverso y complejo, las asociaciones resultan no ser tan simples como aparentan, en concreto una planta es capaz de formar asociaciones micorrízicas con varias especies de hongos y un hongo puede hacer simbiosis con diferentes plantas, de manera que se tornan muy variadas las posibles combinaciones (Carrillo-Saucedo et al., 2022). De igual forma, los micelios de los HMA pueden extenderse desde las raíces de una planta hasta las raíces de otra planta y así formar redes micorrízicas comunes influyendo en la competencia entre plantas y en la diversidad y dinámica de la población vegetal (He et al., 2003).

Los HMA establecen asociaciones con alrededor del 80-95% de las familias de plantas que existen. Algunas estructuras como los arbusculos son esenciales para el intercambio de elementos entre el hongo y la planta, en algunos casos se desarrollan estructuras que sirven como reserva para el hongo ubicadas en el micelio interno, denominadas vesículas (Cué García & Torres García, 2019). El carbono fotosintético producido por las plantas es recibido por los hongos micorrizicos a cambio de los recursos del suelo, principalmente nitrógeno y fósforo (Gehring & Bennett, 2009). Además, solubilizan los nutrientes del suelo que se encuentran inmóviles para ponerlos a disposición de la planta y así ayudarla con su crecimiento (Restrepo Giraldo et al., 2019).

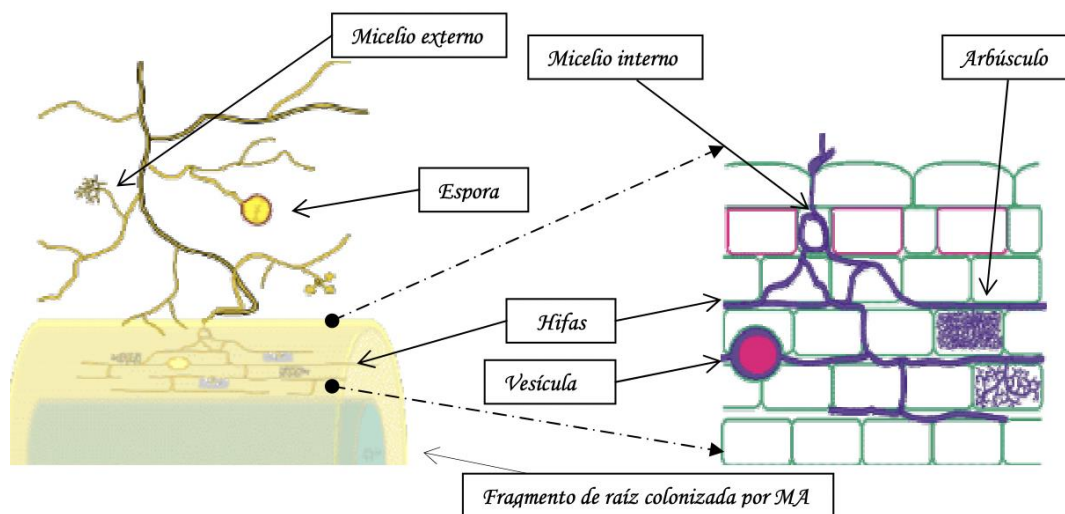
Por lo regular la diversidad de especies de plantas está determinada por la presencia de los hongos micorrizicos en el suelo, de igual forma, se ha comprobado que las comunidades micorrizicas influyen directamente en las interacciones entre la planta y la microbiota del suelo (Restrepo Giraldo et al., 2019).

Dentro de las principales estructuras observadas en las micorrizas arbusculares está el sistema micelial, el cual está compuesto por dos fases; el micelio externo, que coloniza el suelo y que se puede extender considerablemente , y el micelio interno que se sitúa dentro de la corteza de las raíces (Aranda, 2005). Las esporas, son estructuras que contienen el material genético del microorganismo y son responsables de la reproducción asexual de los hongos (Ortiz et al., 2018). Además, son el punto de inicio de colonización de la planta cuando las condiciones son favorables. La hifas se generan a partir de las esporas y son filamentos que en conjunto formarán el micelio, las hifas forman ramificaciones laterales que se extienden a través de las paredes de las células de la planta rodeándolas completamente, estas estructuras son

denominadas arbuscúlos (Gómez et al., 2007). Las vesículas son estructuras esféricas de almacenamiento que se forman en la parte terminal de las hifas (Berdugo, 2009).

Figura 1

Estructuras principales de los HMA.



Nota. Tomado de (Aranda, 2005).

Clasificación de las Micorrizas

Existe una clasificación de las micorrizas que está en función de las estructuras que los hongos desarrollan en las raíces cuando interactúan y modifican su morfología. Esto ayuda a que las plantas tengan un mejor rendimiento, productividad y a optimizar el ciclo de nutrientes.

(Díaz et al., 2016).

Ectomicorrizas

En este tipo de micorrizas la raíz es ocupada por el micelio sin que haya una penetración intracelular, las hifas se colocan alrededor de las raíces y se pueden ver a simple vista (Moposita, 2020).

Ectendomicorrizas

Esta micorriza tiene las mismas particularidades de la ectomicorriza al tiempo que hay una penetración intracelular por el micelio (Carrillo Sánchez, 2015).

Endomicorrizas

En este tipo de micorrizas el micelio invade la raíz sin formar un manto externo, la invasión es originalmente, pero después entra en el interior de las células radicales (Carrillo Sánchez, 2015).

Biodiversidad de las asociaciones micorrízicas

En el mundo de las plantas existe una extensa diversidad de asociaciones micorrízicas, se estima que alrededor del 74% de todas las especies del planeta forman alianzas con los HMA del clado Glomeromycota, 2% de las plantas forman asociaciones con ectomicorrizas, 9% de las plantas forman micorrizas orquídeas y el 1% forma micorrizas ericoide. Los álamos, los eucaliptos y algunas otras especies de plantas tienen la particularidad de formar asociaciones simbióticas duales (van der Heijden et al., 2015).

Esporas de los HMA

Son los propágulos infectivos de nuevos hospederos, además que son la única fase independiente del micobionte. Son estructuras de forma redondeada con una pared celular gruesa y un diámetro promedio entre 50 y 100 μm , pero pueden llegar a medir hasta 500 μm de

diámetro (Garg & Chandel, 2010). Su interior está constituido por una gran cantidad de lípidos de reserva, carbohidratos y paredes reforzadas de quitina, características primordiales al momento de resistir hasta que las condiciones sean las adecuadas para su germinación, su supervivencia se debe en parte a su capacidad de dispersión (Parra et al., 2019).

El proceso de colonización cuando las esporas hallan un posible hospedero se divide en 5 etapas: 1) germinación de la espora; se han detectado condiciones ambientales que inician este proceso entre ellos está el pH, la temperatura, humedad, los nutrientes minerales y orgánicos, los microorganismos, entre otros (Mugnier & Mosse, 1987), 2) formación del tubo germinal; es el primer crecimiento multicelular, aquí comienza el proceso de diferenciación. 3) fase hifa; el tubo germinal empieza a transformarse en hifas que después van a ser clave para la recopilación de nutrientes y energía, las hifas liberarán enzimas que ayudarán a descomponer los alimentos para aumentar el crecimiento (Sayner, 2021), 4) colonización de la raíz; las hifas invaden la raíz y dependiendo del tipo de hongo micorrízico y crean una red interna de estructuras fúngicas dentro de las células radiculares como los arbuscúlos y las vesículas, 5) expansión de las hifas; en esta etapa las hifas se encargan de ocupar todo el área de suelo que más puedan, llegando a cubrir hasta 700 veces más área de suelo que las propias raíces de las plantas (Phohlo, 2021).

Las esporas pueden persistir por mucho tiempo, pero su presencia está determinada por varios factores como las condiciones ambientales, la estimación de vida de cada especie de HMA, la fenología de la planta hospedera, el grado de perturbación del suelo, entre otras (Ruiz, 2020).

Especies de micorrizas

Taxonomía y clasificación de los HMA

La taxonomía y clasificación de los HMA hasta finales del siglo XX se basaba en el análisis morfológico de las paredes de esporas diferenciadas en estos hongos. A principios, de este siglo, los rasgos genéticos se utilizaron para proponer nuevas clasificaciones y nuevos taxones, y como resultado la taxonomía y clasificación de los HMA ha pasado por un periodo de debate y cambios (Luiz Stürmer, 2023).

La clasificación de los HMA está basada comúnmente en la estructura de sus esporas. La morfología de las esporas producidas por los hongos micorrízicos son el fundamento para poder realizar la identificación de especies. Algunas de los criterios tomados en cuenta son: la forma, el tamaño, el color, el número y el grosor de las paredes de las esporas (Bolaños-B et al., 2000).

Existe una diversidad de propuestas de clasificaciones de HMA, para los taxones superiores a la familia, depende el individuo decidir que esquema seguir, sin embargo, para familias e inferiores, el sistema publicado por Stürmer (2012) se ajusta a una filogenia natural. En este sistema se propone cuatro clases (*Zygomycetes*, *Glomeromycetes*, *Archaeosporomycetes* y *Paraglomeromycetes*), seis órdenes (*Endogonales*, *Glomerales*, *Diversisporales*, *Paraglomerales*, *Archaeosporales* y *Gigasporales*), 15 familias y 29 géneros.

Contaminación del suelo por material militar

Las operaciones militares repercuten considerablemente en la condición natural del suelo. Las consecuencias más importantes de estas acciones incluyen: carga medioambiental, modificación de sus características físicas e hidrológicas, cambios en su estructura mecánica, contaminación con metales pesados, contaminación química, radioactiva y microbiana, entre

otras (Stadler et al., 2022). Como resultado, las zonas con intenso flujo de actividades militares son consideradas, incluidos los lugares de eliminación de explosivos se consideran entre las principales fuentes de contaminación para los ecosistemas terrestres (Broomandi et al., 2020).

Los contaminantes orgánicos introducidos al suelo por actividades militares se han agrupado como compuestos potencialmente tóxicos (PTCs), compuestos energéticos (ECs), agentes de guerra química (CWAs) y compuestos químicos militares. La concentración de estos componentes en el suelo enfocado en áreas militares es excesivamente alta y junto con su alta toxicidad y persistencia, esto podría acarrear a tener considerables problemas ambientales (Fernandez-Lopez et al., 2022).

Los sitios militares contaminados con compuestos explosivos como el 2,4,5-trinitrotolueno (TNT) o el hexahidro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazina (RDX) están muy diseminados y presentan problemas medioambientales persistentes. Estos explosivos son altamente estables y tienden a mezclarse con la materia orgánica del suelo, contaminándola. Estudios toxicológicos realizados a múltiples organismos, como plantas y hongos han comprobado los efectos tóxicos y mutagénicos de estos explosivos militares comúnmente usados (Aguero & Terreux, 2019).

La contaminación se puede efectuar durante su transporte, almacenamiento de municiones obsoletas y operaciones de deflagración y detonación (Thijs et al., 2018). La primera etapa del ingreso y dispersión de estos contaminantes en el ambiente subterráneo es la disolución de TNT, RDX y HMX de los residuos de fase sólida, que se han expandido alrededor de los campos militares después de los eventos de detonación, estos residuos cuando entran en contacto con los eventos de precipitación se disuelven por flujo de escorrentía superficial o por la filtración de poros en el suelo (Wang et al., 2012).

Los efectos indirectos de las actividades militares en el suelo son mucho más grandes, por ejemplo, el incremento de la erosión por la aplicación de defoliantes químicos y cuya propagación es mucho más rápida en superficies empinadas e incineradas (Stadler et al., 2022). Además, debido a la formación de una capa hidrofóbica provocada por el fuego a poca profundidad que previene o limita la infiltración, estas zonas son altamente propensas a la escorrentía y la erosión pudiendo provocar deslizamientos de tierra y flujo de escombros (Broomandi et al., 2020). Asimismo, la deforestación como consecuencia de bombardeos ha causado mucha preocupación, no solo por los problemas medioambientales que trae consigo, sino también por la pérdida del hábitat de millones de especies (Stadler et al., 2022).

Importancia de las micorrizas en suelos contaminados

Con el aumento de la contaminación por metales pesados y compuestos tóxicos provenientes de las actividades militares, se ha intentado descifrar como el suelo logra sobrellevar este problema, pues, las micorrizas juegan un papel sumamente importante, ya que no solo suministran nutrientes a las plantas, sino que también mejoran las propiedades físico-químicas del suelo y actúan como filtros para bloquear xenobióticos dentro de su micelio (Riaz et al., 2021). Los hongos micorrízicos imparten tolerancia a los metales pesados a causa de su capacidad para sobrevivir en entornos estresantes (Garg & Cheema, 2021).

Hipótesis

No existen diferencias en la diversidad ecológica y funcional de micorriza arbuscular de la rizosfera entre los tipos de disposición de material bélico.

Capítulo III: Materiales y Métodos

Muestreo

La recolección de muestras del presente trabajo se llevó a cabo en la brigada militar “El Corazón”, depósito conjunto de municiones, ubicado en la provincia de Pichincha en el cantón Mejía. La recolección se realizó en dos fechas: la primera el 24 de octubre, previo a la detonación de municiones y la segunda el 2 de diciembre, después de la detonación.

Para recolección de muestras de suelo se visitó los lugares destinados para la detonación y deflagración de material bélico en la brigada militar, se escogió dos sitios de principal relevancia; el primero fue la zona de detonación de municiones y explosivos en donde se recogió muestras de 4 puntos específicos en un radio de 5 mts, con la ayuda de un barreno se recolectaron las muestras de suelo de aproximadamente 30 cm de profundidad, la segunda fue la zona de deflagración de pirotecnia y cartuchos, en esta zona se tomaron 3 muestras del centro de las fosas de incineración respectivamente, de igual manera se utilizó el barreno para hacer un agujero y se recogió suelo de aproximadamente 30 cm de profundidad. Las muestras se recolectaron en bolsas ziploc debidamente etiquetadas y se las almacenó en un lugar fresco y seco hasta su análisis en el laboratorio.

Tabla 1

Ubicaciones del muestreo

| <i>Punto</i> | <i>Ubicación</i> | <i>Coordenadas</i> | <i>Altitud</i> |
|--------------|--------------------|-------------------------|----------------|
| 0 | Zona de detonación | 0°30'02.6"S78°37'48.6"W | 3505 m.s.n.m. |

| | | | | |
|------------------------|---|----------------------|--------------------------|---------------|
| Pre-detonación | 1 | Zona de detonación | 0°30'02.6"S 78°37'48.7"W | 3505 m.s.n.m. |
| | 2 | Zona de detonación | 0°30'02.6"S 78°37'48.6"W | 3505 m.s.n.m. |
| | 3 | Zona de detonación | 0°30'02.5"S 78°37'48.5"W | 3505 m.s.n.m. |
| | 1 | Zona de deflagración | 0°30'00.0"S 78°37'52.8"W | 3514 m.s.n.m |
| | 2 | Zona de deflagración | 0°29'59.5"S 78°37'52.7"W | 3512 m.s.n.m |
| | 3 | Zona de deflagración | 0°29'59.4"S 78°37'52.2"W | 3510 m.s.n.m |
| Post-detonación | 1 | Zona de detonación | 0°30'02.6"S 78°37'48.6"W | 3505 m.s.n.m. |
| | 2 | Zona de detonación | 0°30'02.6"S 78°37'48.6"W | 3505 m.s.n.m. |
| | 1 | Zona de deflagración | 0°30'00.0"S 78°37'52.8"W | 3514 m.s.n.m |
| | 2 | Zona de deflagración | 0°29'59.5"S 78°37'52.7"W | 3512 m.s.n.m |

Nota. Coordenadas tomadas con GPS

Figura 2

Ubicación geográfica del lugar de muestreo.



Nota. Tomado de Perdomo (2020)

Análisis físico-químico del suelo

Se tomaron y se juntaron las muestras de pre-detonación en una sola muestra conjunta, las de deflagración se dividieron en la zona de cartuchos y pirotecnia y se obtuvieron un total de 7 muestras. Se mandaron a los laboratorios del INIAP para que se les realicen análisis físico-químicos.

Porcentaje Medio de Infección (MIP)

Para la implementación del ensayo de determinación del potencial micorrízico del suelo se utilizó el método descrito por Tester *et al* (1986).

Germinación de Sorgo (planta trampa)

Se colocó las semillas de sorgo en una superficie plana que tenía una base húmeda y se dejó germinar por aproximadamente 2 semanas, se procuró mantener siempre húmeda la base. Una vez que emergió el embrión se colocó la semilla germinada en un semillero con arena húmeda estéril para asegurar su crecimiento. Se regó las plantas aproximadamente 2 veces por semana.

Preparación de la arena de río

Se recogió la arena tratando de retirar rocas grandes y se llenó en 3 beakers de 2000 ml, se tapó con papel aluminio, se llevó los beakers a la autoclave a 121 °C por 2 horas. Se realizaron dos ciclos de autoclavado con intervalo de descanso de 24 horas.

Montaje del experimento

Se prepararon 11 muestras, y por cada muestra se realizó 3 replicas, dando un total de 33 ensayos. Se utilizó una dilución 1:10 suelo de campo: sustrato de arena de río estéril por lo que se midió 45 mL de arena de río en un tubo falcon y 5 ml de cada muestra y se colocó en un vaso de 3 oz. por cada muestra y réplica respectivamente. Se mezcló la arena con la muestra de estudio, se cambió de implementos en cada muestra para evitar una posible contaminación. Se obtuvieron un total de 33 ensayos, en cada uno de ellos se colocó la “planta trampa” que en este caso era el sorgo (*Sorghum spp.*) y se la dejó crecer por 21 días, se regó las plantas mínimo 2 veces por semana. Una vez culminado los 21 días se retiró las raíces de las plantas trampa, se quitó toda la tierra con la ayuda de agua y un colador, se las dejó envueltas en papel filtro.

Tinción y montaje de raíces

Para la tinción de raíces se adaptó el método establecido por Phillips & Hayman (1970) y Aldrich-Wolfe *et al* (2020). Se colocó las raíces envueltas en papel filtro en una solución de KOH al 10% por un día, luego se lavó las raíces con agua destilada y se las sumergió en una solución de HCL al 1% por 15 minutos, se retiró las raíces y sin lavar se metió las raíces en una solución de azul de metileno al 0,05% por un día. Pasado el tiempo se hizo varios lavados de las raíces con agua destilada hasta que el agua salió sin residuos de colorante.

Las raíces lavadas se colocaron en portaobjetos de forma paralela con la ayuda de unas pinzas limpias, se verificó que las raíces se encuentren los más extendidas posible y se cubrió con cubreobjetos.

Determinación del MIP

Las placas obtenidas se visualizaron en un microscopio óptico utilizando el objetivo 10X y 40 X, se establecieron 20 puntos de inserción en cada placa y se contabilizó el número de puntos de inserción que presentó colonización micorrízica. Se tomó en cuenta la presencia del micelio externo e interno. El número de puntos de inserción con colonización se dividió para el total de puntos de inserción (20) y se multiplicó por 100 (Ecuación 1), siguiendo el método de McGONIGLE *et al* (1990). El potencial micorrízico fue calculado mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 1

Ecuación para la determinación del MIP (%).

$$\% \text{ Infección (MIP)} = \frac{\text{No. campos infectados (promedio)}}{\text{Total de campos observados}} \times 100$$

Extracción de esporas

Se siguió el método de extracción de esporas mediante tamizaje en húmedo y decantación de Gerdemann & Nicolson (1963).

Combinación de muestras

Las muestras se combinaron según la ubicación y tiempo; es decir se combinó 50 cc de cada punto en la zona de detonación, 50 cc de cada punto en la zona de deflagración, para las muestras post-detonación se combinó 100 cc por cada punto. Todas estas muestras compuestas se colocaron en un beaker, respectivamente. De cada beaker se realizó 3 réplicas cada una con 50 cc de muestra combinada y se colocó en otro beaker de 2L, se obtuvo un total de 12 réplicas (Figura 3).

Preparación de sacarosa al 70%

Se preparó una solución de sacarosa al 70%, se usó 140 g de azúcar común y se depositó en un matraz que tenía 200 mL de agua destilada, se colocó un agitador magnético y se puso el matraz en una plancha de calentamiento a 30 °C para que se disuelva el azúcar. El proceso demoró aproximadamente 15 minutos hasta que se disuelva el azúcar, se tapó con papel aluminio la boquilla del matraz y se guardó en la refrigeradora para posterior uso.

Tamizaje en húmedo

La extracción de esporas se realizó mediante el método de tamizaje en húmedo, a cada réplica se le añadió 2 L de agua y se mezcló con una varilla de agitación asegurándose de quitar todos los grumos, se agitó y se dejó asentar las partículas gruesas mínimo 10 minutos. Por otro lado, se utilizó un juego de tamices de 1000 μm , 150 μm y 38 μm , respectivamente,

colocándolos en orden descendente según su abertura, la mezcla se dejó pasar a través del juego de tamices evitando pasar la parte de la tierra que se asentó, se hizo lavados constantes con una piseta con agua destilada asegurándose que no quede ninguna partícula retenida. Se colectó la fracción de los tamices de 150 μm y 38 μm en un tubo falcon de 50 mL, respectivamente, ayudándose de una piseta para recolectar todo. Al tubo se le añadió la solución de sacarosa al 70%, hasta completar los 35- 45 mL aproximadamente. Se pesó los tubos individualmente asegurándose que tengan el mismo peso, se llevó los tubos a la centrifuga a 2500 rpm por 3 minutos.

Al terminar la centrifugación se observó en los tubos las fases de precipitado y sobrenadante, posteriormente se volvió a pasar la interfase de agua y sacarosa de cada tubo por los tamices de 150 μm y 38 μm y se lavó el exceso de sacarosa con una piseta de agua destilada, se colectaron las esporas retenidas en cada fracción en cajas Petri rotuladas.

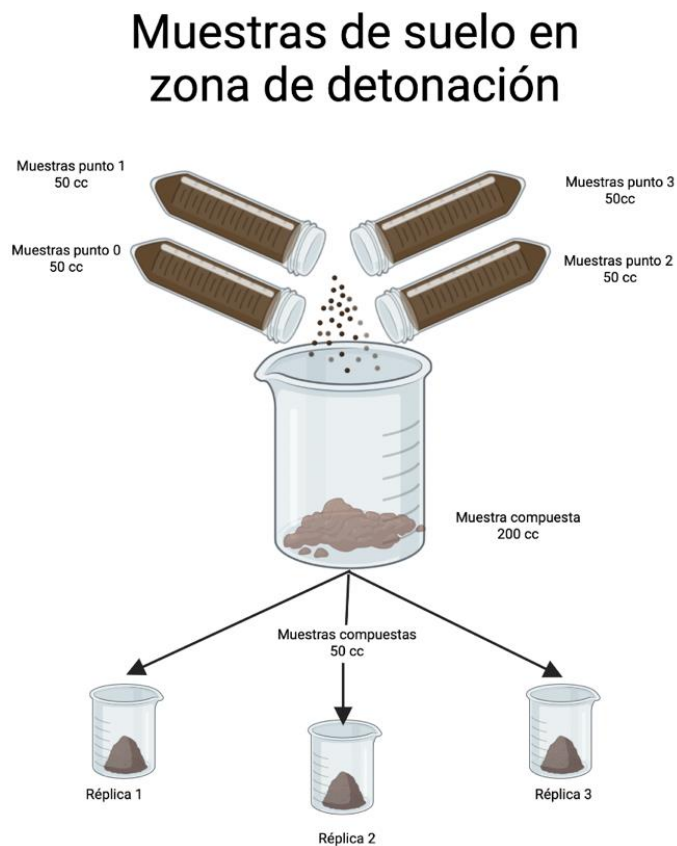
Este proceso se realizó con las 12 réplicas de los dos sitios, antes y después de la detonación.

Identificación de morfoespecies

Las esporas aisladas y depositadas en las cajas Petri se llevaron al estereoscopio y se observaron. Se realizó el conteo de las esporas encontradas en 50 cc de suelo, se agrupó en una tabla de acuerdo a su forma, color, el # del tamiz y el código. Con la ayuda de un tubo capilar se recolectaron al menos 6 esporas respectivamente de las distintas morfoespecies encontradas y se las colocó en portaobjetos para ser observadas en un microscopio, posteriormente.

Figura 3

Ejemplo de obtención de muestra compuesta.



Nota. Creado en Biorender

Descripción Morfológica

Se consideró características como la forma, diámetro, el color presentado al observar en el microscopio, la coloración de las capas y de las láminas de la espora al reaccionar con el reactivo de Melzer, simetría. El criterio que se consideró para definir los diferentes morfotipos fue el color de la espora.

Para realizar la descripción basado en los criterios morfológicos antes mencionados, se contrastaron los resultados utilizando las claves de INVAM (2023), las descripciones originales

de Stürmer (2023), los criterios de la morfología de la espora de Brundrett *et al* (1996) y en los criterios publicados en Redecker *et al* (2013).

Se hizo uso de los microscopios ópticos del laboratorio de fitopatología de Agrocalidad, se utilizó un objetivo de 40x para fotografiar las esporas, a excepción de las esporas grandes cuyo diámetro sobrepasaba el enfoque, en ese caso se utilizó el objetivo 10x. Se utilizó el software y cámara Olympus para las fotografías y para la medición del diámetro de la espora.

Análisis estadístico

Se utilizó el programa Jamovi, y se realizó una prueba de U de Mann-Whitney ($P \leq 0,05$) para analizar los datos y estimar diferencias entre el MIP de las muestras pre/post-detonación/deflagración. Adicionalmente se realizó la prueba t de student para corroborar si hay diferencias significativas en el MIP de las muestras. Las variables que se analizaron fueron el MIP (%) con el tipo de disposición del material bélico (detonación y deflagración), del mismo modo, el MIP(%) con el tiempo (pre y post).

Los datos de densidad de esporas fueron comparados mediante la prueba de independencia Mann-Whitney U ($P \leq 0.05$). Las variables comparadas fueron el número de esporas con el tipo de disposición del material bélico (detonación y deflagración) y, de igual manera el número de esporas con el tiempo (pre y post). Se realizó gráficos descriptivos de los dos análisis.

Capítulo IV: Resultados

Análisis físico-químicos de muestras de suelo

Los análisis al perfil del suelo de la brigada militar “El Corazón” mostraron altos niveles de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, zinc, cobre y hierro en las muestras de pre-detonación/deflagración y post-detonación/deflagración. Los niveles de manganeso se mantuvieron entre medios y altos en todas las muestras. El pH prácticamente neutro en las muestras pre/post-detonación, mientras que en las muestras pre-deflagración permanecieron altos. En las muestras post-deflagración el pH resultó ligeramente ácido para el punto 1 (cartuchos) y medianamente alcalino para el punto 2 (pirotecnia) (Tabla 2.).

Tabla 2.

Análisis físico-químico de muestras de suelo con disposición de material bélico.

| Muestra de suelo | Punto de | N | P | K | Ca | Mg | Zn | Cu | Fe | Mn | pH |
|-------------------|----------|--------|--------|-------|-------|------|-------|-------|-----|------|-------|
| | | | | | | | | | | | |
| Pre-Detonación | 1-4 | 221,7 | 26,16 | 0,62 | 10,07 | 2,03 | 10,8 | 31,5 | 331 | 6,8 | 6,64 |
| Pre-Deflagración | 1 | 77,38 | 153,08 | 5,83 | 14,93 | 1,4 | 12,8 | 26 | 78 | 13,5 | 10,85 |
| Pre-Deflagración | 2 | 70,92 | 163,88 | 13,99 | 21,4 | 2,69 | 104,4 | 46,7 | 130 | 23,7 | 10,91 |
| Pre-Deflagración | 3 | 90,77 | 174,71 | 8,19 | 13,95 | 1,66 | 15 | 55 | 64 | 19,8 | 9,95 |
| Post-Detonación | 1-2 | 273,75 | 28,22 | 0,52 | 10,41 | 2,03 | 15,1 | 46,9 | 395 | 6,8 | 6,76 |
| Post-Deflagración | 1 | 248,92 | 24,81 | 0,59 | 10,44 | 2,24 | 17,1 | 27,3 | 454 | 8,5 | 6,37 |
| Post-Deflagración | 2 | 72,58 | 26,9 | 2,16 | 22,37 | 3,76 | 17,7 | 115,7 | 93 | 15,3 | 8,05 |

Nota. Datos tomados de análisis en INIAP.

En cuanto al %MIP (Tabla 3), los valores resultantes muestran valores similares entre cada punto, siendo los valores de MIP más bajos de 53,3% correspondiente al punto 2 del suelo pre-detonación, seguido del 55% y 56,7% respectivo al punto 2 de la muestra post-detonación y al punto 1 de la muestra pre-deflagración, respectivamente. Los valores más altos se relacionaron con el punto 2 del suelo post-deflagración con un MIP del 85%, seguido del punto 1 de la muestra de pre-detonación.

Tabla 3

Cálculo del MIP de los puntos de inserción en raíces.

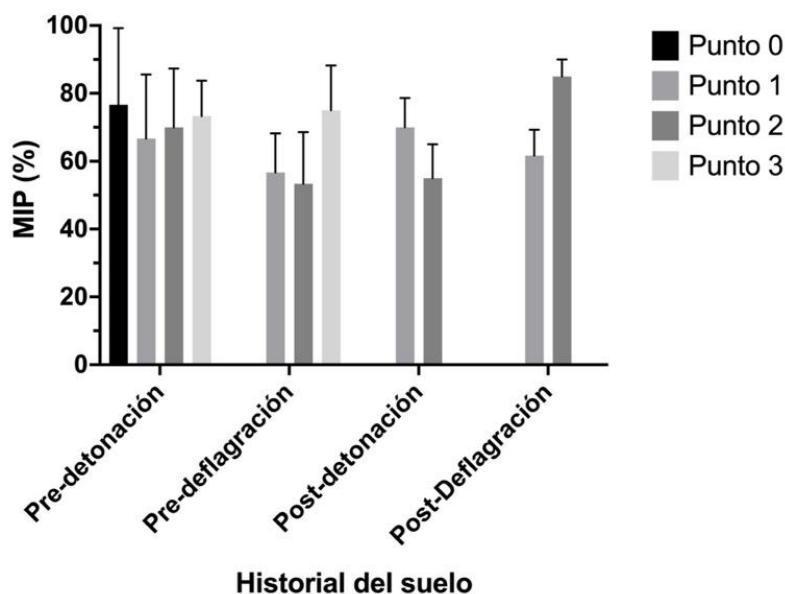
| Punto de muestreo | Historial del suelo | Conteo de puntos de inserción | | | Promedio Puntos de inserción | MIP promedio (%) | Ln del MIP |
|-------------------|---------------------|-------------------------------|----|----|------------------------------|------------------|------------|
| | | R1 | R2 | R3 | | | |
| P0 | Pre-Detonación | 11 | 20 | 15 | 15,3 | 76,7 | 4,34 |
| P1 | Pre-Detonación | 15 | 9 | 16 | 13,3 | 66,7 | 4,20 |
| P2 | Pre-Detonación | 16 | 16 | 10 | 14,0 | 70,0 | 4,25 |
| P3 | Pre-Detonación | 14 | 13 | 17 | 14,7 | 73,3 | 4,30 |
| P1 | Pre- Deflagración | 14 | 10 | 10 | 11,3 | 56,7 | 4,04 |
| P2 | Pre- Deflagración | 8 | 14 | 10 | 10,7 | 53,3 | 3,98 |
| P3 | Pre- Deflagración | 16 | 17 | 12 | 15,0 | 75,0 | 4,32 |

| | | | | | | | |
|-----------|-------------------|----|----|----|------|------|------|
| P1 | Post- Detonación | 13 | 16 | 13 | 14,0 | 70,0 | 4,25 |
| P2 | Post- Detonación | 13 | 11 | 9 | 11,0 | 55,0 | 4,01 |
| P1 | Post-Deflagración | 14 | 11 | 12 | 12,3 | 61,7 | 4,12 |
| P2 | Post-Deflagración | 18 | 17 | 16 | 17,0 | 85,0 | 4,44 |

Al realizar una comparación entre los porcentajes de MIP con respecto al tipo de disposición del material bélico, el MIP promedio en los sitios de detonación es 68.6%, en tanto que en el sitio de deflagración es de 66,3%. Si se hace una comparación del tiempo (pre/post) se tiene que el promedio de MIP antes de la detonación/deflagración es de 67,4%, mientras que después de la detonación/deflagración es de 67,9%.

Figura 4

MIP en los distintos tipos de disposición de material bélico.



Nota. Realizado en programa Prism 9.

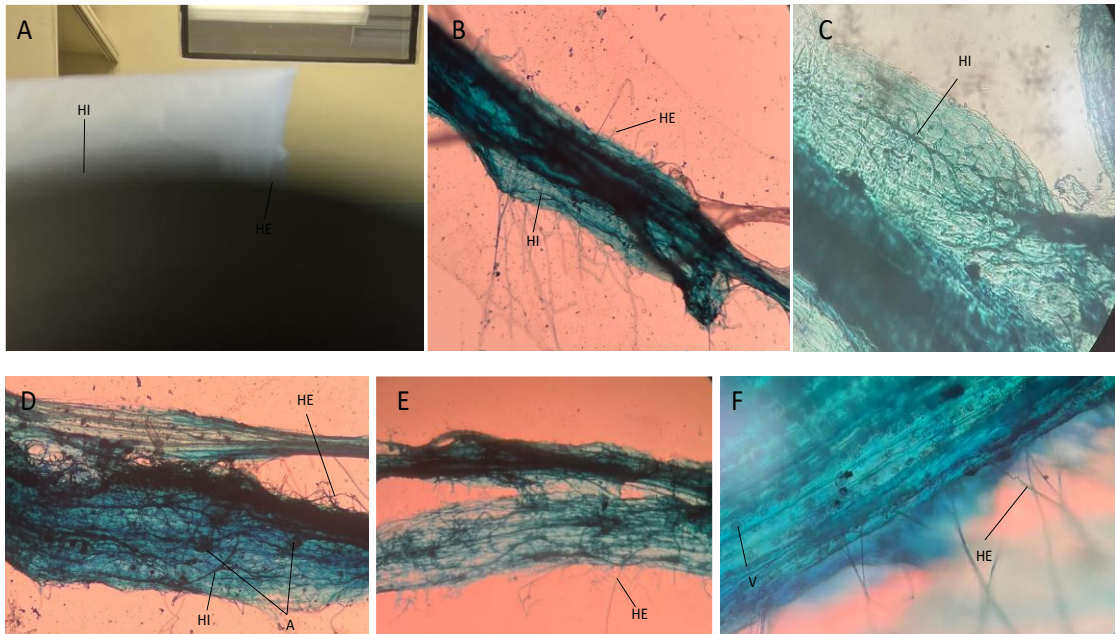
En el cálculo del logaritmo del MIP en los distintos tipos de disposición de material bélico los valores se mantienen en un rango mínimo de 4.01 a un máximo de 4.44.

Con el fin de confirmar la presencia de HMA en las muestras y de determinar el MIP se analizó las raíces teñidas. Se encontró colonización micorrízica en todas las muestras de las raíces colectadas. Además, se pudo visualizar estructuras como arbusculos, esporas, vesículas, el micelio interno y externo (Figura 5).

El análisis de 20 puntos de inserción permitió divisar algunos fragmentos de la raíz que no tenían la presencia de HMA (Figura 6), solo se observó las paredes celulares intactas.

Figura 5.

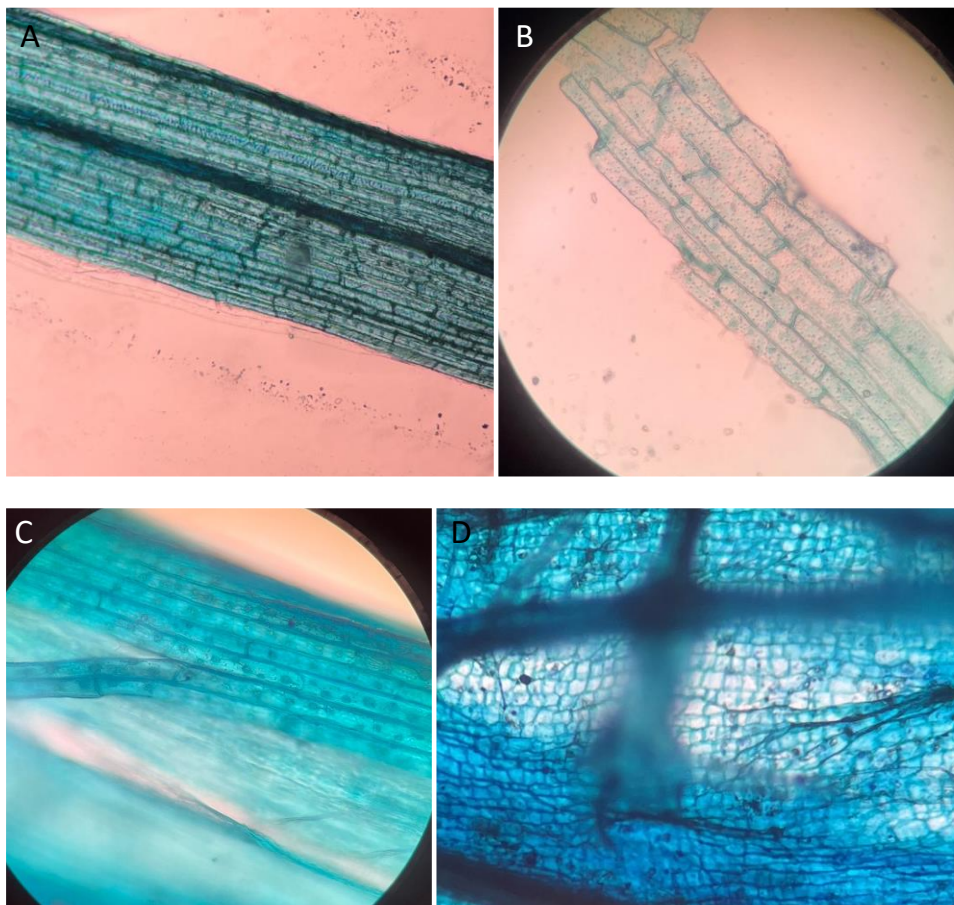
Diversas estructuras de HMA asociadas con raíces.



Nota. Imágenes obtenidas con microscopio óptico. **A-B,E.** Raíz mostrando hifas externas (HE) e hifas internas (HI). Objetivo 10x. **C.** fragmento de raíz con hifas internas. Objetivo 10x. **D.** Raíz muy colonizada con hifas internas y externas y con presencia de arbusculos (A). Objetivo 10x. **F.** Fragmento de raíz con hifas externas e internas y presencia de vesículas (V). Objetivo 40x.

Figura 6

Puntos de inserción en raíces sin presencia de colonización micorrízica.



Nota. Imágenes obtenidas con microscopio óptico. Se puede observar las fotografías de las raíces donde se diferencia su pared celular sin ningún tipo de hifa externa e interna. **A-D** Objetivo 10x. **B-C** objetivo 40x.

Taxonomía de los HMA

Densidad de esporas

Las réplicas obtenidas del tamizaje en húmedo de cada muestra de suelo mostraron cantidades variables de esporas (Tabla 4), el número máximo de esporas que se logró encontrar fue de 12 de esporas en 50 g de suelo correspondiente al sitio pre- detonación, seguido de 8

esporas para las muestras 7 y 8 pertenecientes a al suelo pre- deflagración. En muestra 3 y 21 del suelo pre-detonación y del suelo post-deflagración, respectivamente, no se logró observar ningún tipo de espora. Los colores de las esporas visualizadas en el estereoscopio fueron negras, verdes, gris traslucido, tomates, amarillas, cafés y rojas. Se logró recolectar esporas tanto del tamiz de 150 μm como del de 38 μm . El número de esporas colectadas de las muestras de detonación (pre y post) fue mayor (50) en comparación al número de esporas colectadas en la zona de deflagración (37).

Tabla 4.

Conteo y caracterización del color de esporas observadas en estereoscopio.

| <i>Muestra</i> | <i>Código*</i> | <i>Tamiz</i> | <i>Color</i> | <i># de esporas</i> |
|-----------------------|-----------------------|---------------------|--------------------------------|----------------------------|
| 1 | PRDT-R1-T150 | 150 μm | Café | 2 |
| 2 | PRDT-R1-T38 | 38 μm | Café, Roja y negra | 5 |
| 3 | PRDT-R2-T150 | 150 μm | No hay | 0 |
| 4 | PRDT-R2-T38 | 38 μm | Café y negra | 6 |
| 5 | PRDT-R3-T150 | 150 μm | Café, gris traslúcido y tomate | 8 |
| 6 | PRDT-R3-T38 | 38 μm | Tomate y café | 12 |

| | | | | |
|----|--------------|-------------------|--|---|
| 7 | PRDF-R1-T150 | 150 μm | Roja, tomate, verde y amarilla | 8 |
| 8 | PRDF-R1-T38 | 38 μm | Roja, café y amarilla | 8 |
| 9 | PRDF-R2-T150 | 150 μm | Café y gris translúcida | 5 |
| 10 | PRDF-R2-T38 | 38 μm | Gris translúcido | 1 |
| 11 | PRDF-R3-T150 | 150 μm | Gris translúcido | 1 |
| 12 | PRDF-R3-T38 | 38 μm | Café, gris translúcido, roja y tomate | 5 |
| 13 | PSDT-R1-T150 | 150 μm | Roja y gris translúcida | 4 |
| 14 | PSDT-R1-T38 | 38 μm | Amarilla y café | 3 |
| 15 | PSDT-R2-T150 | 150 μm | Café | 3 |
| 16 | PSDT-R2-T38 | 38 μm | Amarilla y café | 3 |
| 17 | PSDT-R3-T150 | 150 μm | Café | 2 |
| 18 | PSDT-R3-T38 | 38 μm | Café y gris translúcida | 2 |

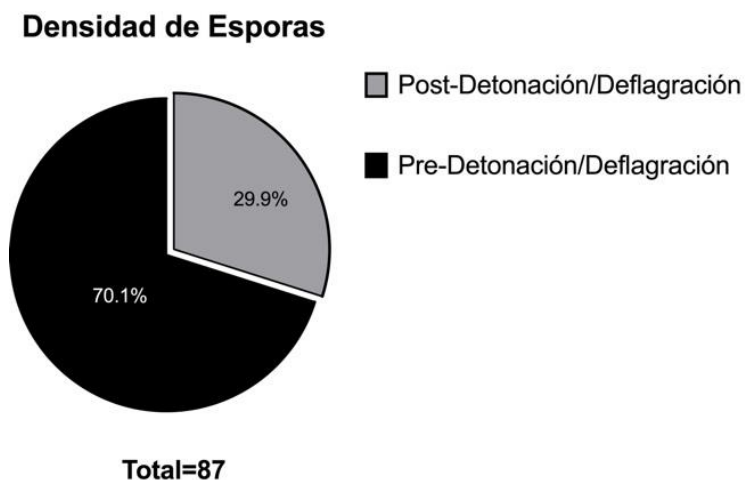
| | | | | |
|--------------|--------------|-------------------|----------------------------|-----------|
| 19 | PSDF-R1-T150 | 150 μm | Amarilla | 1 |
| 20 | PSDF-R1-T38 | 38 μm | Tomate | 2 |
| 21 | PSDF-R2-T150 | 150 μm | No hay | 0 |
| 22 | PSDF-R2-T38 | 38 μm | Gris traslúcido y amarilla | 3 |
| 23 | PSDF-R3-T150 | 150 μm | Gris traslúcido | 2 |
| 24 | PSDF-R3-T38 | 38 μm | Gris traslúcido | 1 |
| Total | | | | 87 |

Nota: *PRDT: pre- detonación, PRDF: pre-deflagración, PSDT: post- detonación, PSDF: post-deflagración. R1: réplica 1, R2: réplica 2, R3: réplica 3. T150: tamiz de 150 μm , T38: tamiz de 38 μm .

Se encontró un porcentaje mayor de esporas (70,1%) en las muestras que se recolectaron del suelo antes de la disturbación con material bélico, mientras que en la muestra de suelos post-detonación/deflagración el porcentaje de esporas se redujo considerablemente (29.9%). Algunas esporas de las muestras post-detonación/deflagración estaban muy deterioradas por lo que no se las consideró en el conteo. Solo se consideró las esporas que estuviesen completas o parcialmente completas.

Figura 7.

Comparación del número de esporas antes y después de la detonación/deflagración.



Nota. Realizado en programa Prism 9.

Identificación de morfoespecies

Cada morfoespecie se identificó con un género de HMA, de las cuales predominaba el género *Glomus* con 41 esporas, seguido del género *Septoglomus* con 15 esporas, *Rhizophagus* con 5 esporas, y por último el género *Acaulospora* con 1 espora (apéndice 1). Hubo una morfoespecie que por sus características no pudo ser identificada.

Tabla 5

Número de esporas recolectadas por cada morfoespecie.

| Morfoespecie | Género de HMA | Número de esporas |
|----------------|--------------------|-------------------|
| Morfoespecie 1 | <i>Septoglomus</i> | 10 |

| | | |
|----------------|--------------------|----|
| Morfoespecie 2 | - | 1 |
| Morfoespecie 3 | <i>Glomus</i> | 18 |
| Morfoespecie 4 | <i>Glomus</i> | 4 |
| Morfoespecie 5 | <i>Septoglomus</i> | 5 |
| Morfoespecie 6 | <i>Rhizophagus</i> | 5 |
| | | 44 |
| Morfoespecie 7 | <i>Glomus</i> | 1 |
| Morfoespecie 8 | <i>Acaulospora</i> | |

Las

características

morfológicas se observaron bajo un microscopio óptico y se encontraron 7 colores diferentes de acuerdo con la carta de colores para hongos Glomelanos de Brundrett *et al* (1996). La forma de las esporas también fue considerada, la mayoría tenía globosa. Además, su reacción al reactivo de Melzer, la cual se consideró como positiva si se teñía las paredes internas de la espora y negativa de no haber coloración. También se distinguió el tamaño del tamiz del que provenía cada morfoespecie siendo este de 150 μm o 38 μm .

Tabla 6.*Características morfológicas observadas en las esporas.*

| Morfoespecie | Diámetro | Color* | Forma | Reacción al reactivo de Melzer | Género | Identificación |
|--------------|------------|-------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------|----------------|
| 1 | 112-192 µm | Negra (60,100,80) | Globosa | Negativo | <i>Septoglomus</i> | Figura 9 (A-D) |
| 2 | 102 µm | Verde (30,60,0) | Globosa a ovoide | Negativo | - | Figura 9 (W-X) |
| 3 | 41-167 µm | Rojo (40,90,80) | Globosa a ovoide irregular | Negativo | <i>Glomus</i> | Figura 9 (E-H) |
| 4 | 58-96 µm | Tomate (0,40,20) | Ovoide | Negativo | <i>Glomus</i> | Figura 9 (M-P) |
| 5 | 32 µm | Gris (20,20,20) | Globosa a ovoide irregular | Negativo | <i>Septoglomus</i> | Figura 9 (U-V) |
| 6 | 89-113 µm | Amarilla (0,50,0) | Globosa a Ovoide | Negativo | <i>Rhizophagus</i> | Figura 9 (Q-T) |
| 7 | 10-118 µm | Café (40,80,60) | Globosa a Ovoide | Negativo | <i>Glomus</i> | Figura 9 (J-L) |
| 8 | 85 µm | Café (40,80,60) | Globosa | Positivo | <i>Acaulospora</i> | Figura 9 (I) |

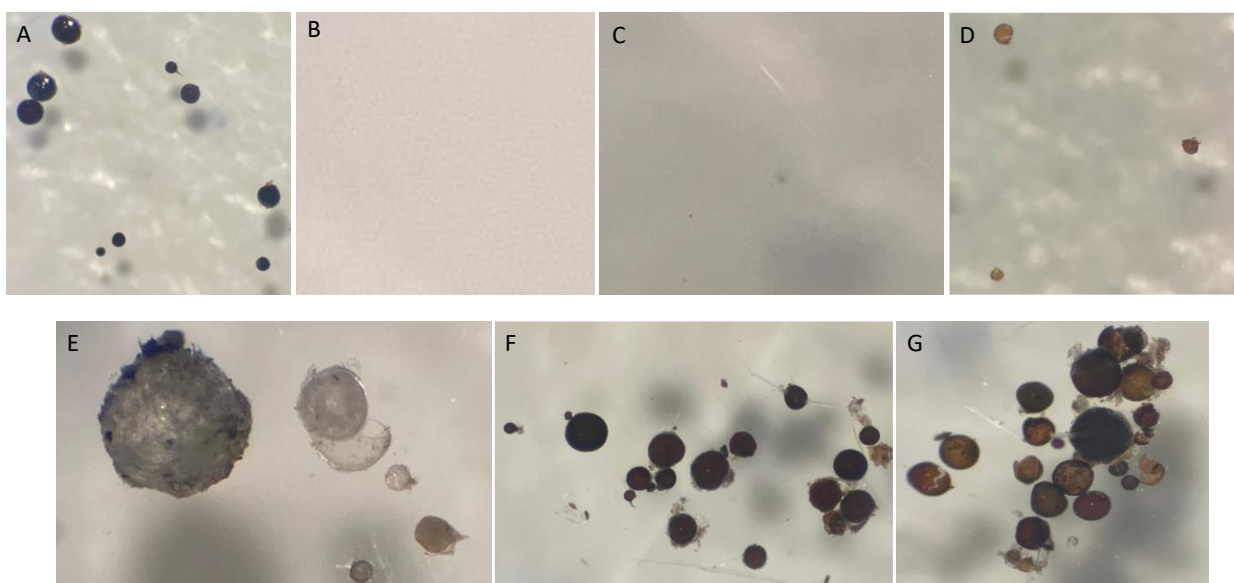
Nota: *Spore colour chart for Glomalean Fungi de Brundrett et al (1996).

Comparación de morfoespecies

La diversidad de morfoespecies de HMA encontradas fueron 8, con diferentes colores característicos y de tamaños variados. La mayoría de las formas de las esporas varían entre globosa y ovoide, pero también se pudo encontrar formas elipsoidales (Figura 9 R) e irregulares (Figura 9 P). Además, se puede visualizar en unas esporas la hifa. Se aplastó las esporas con ayuda del cubreobjetos para que los reactivos tiñan las paredes, dependiendo de la especie. Una sola morfoespecie dio positivo al reactivo de Mezler (Figura 9 I). Se puede visualizar la presencia de lípidos internos en algunas esporas (Figura 9 F,B). También, a nivel de la pared celular se reflejan paredes gruesas y delgadas.

Figura 8

Imágenes en estereoscopio de esporas.

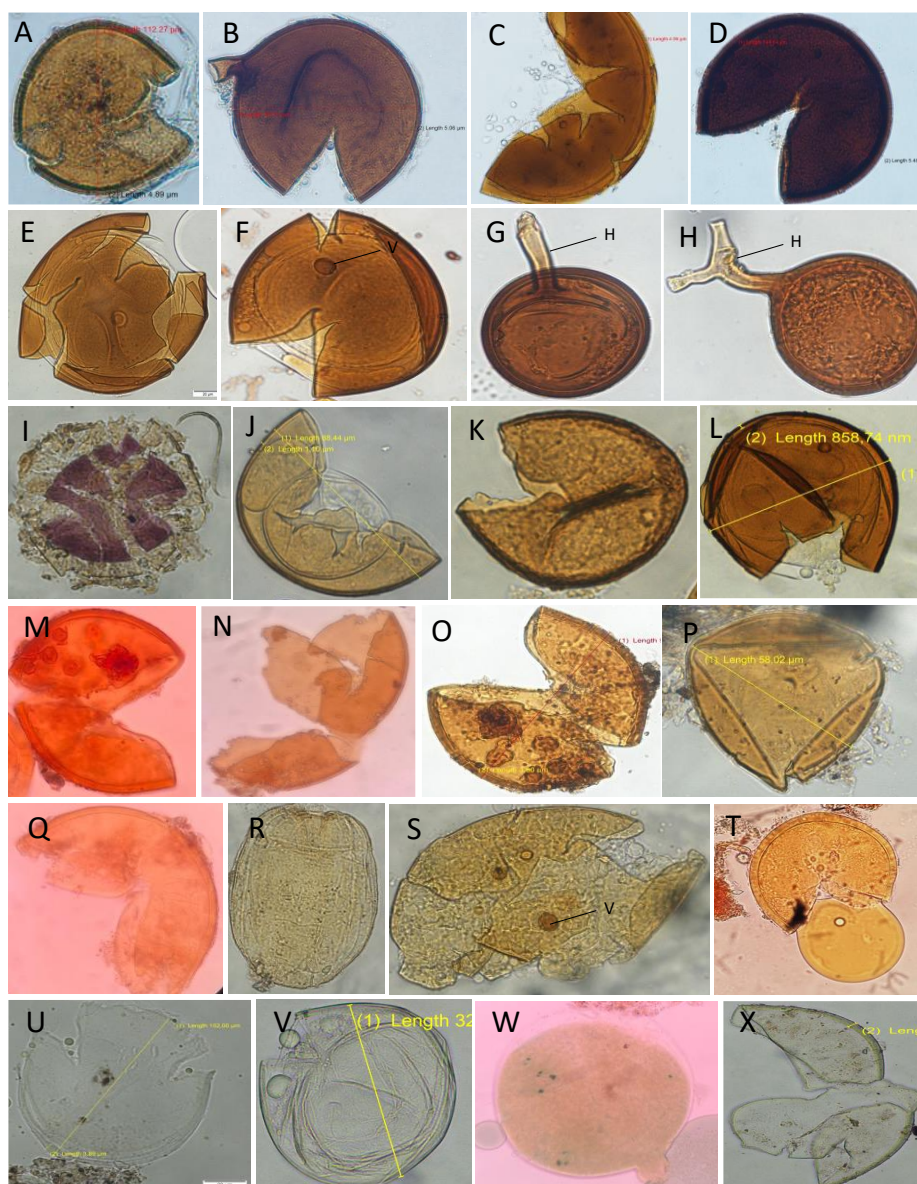


Nota. Imágenes de las esporas de HMA detectadas en las muestras de suelo de los sitios pre/post-detonación/deflagración. **A:** Morfoespecie negra (*Septogloimus*). **B:** Morfoespecie verde (género no

identificado). **C:** Morfoespecie amarilla (*Rhizophagus*). **D:** Morfoespecie tomate (*Glomus*). **E:** Morfoespecie gris (*Septoglomus*). **F:** Morfoespecie roja (*Glomus*). **G:** Morfoespecie café (*Glomus*).

Figura 9

Esporas de HMA en suelo de historial de deposición de municiones.

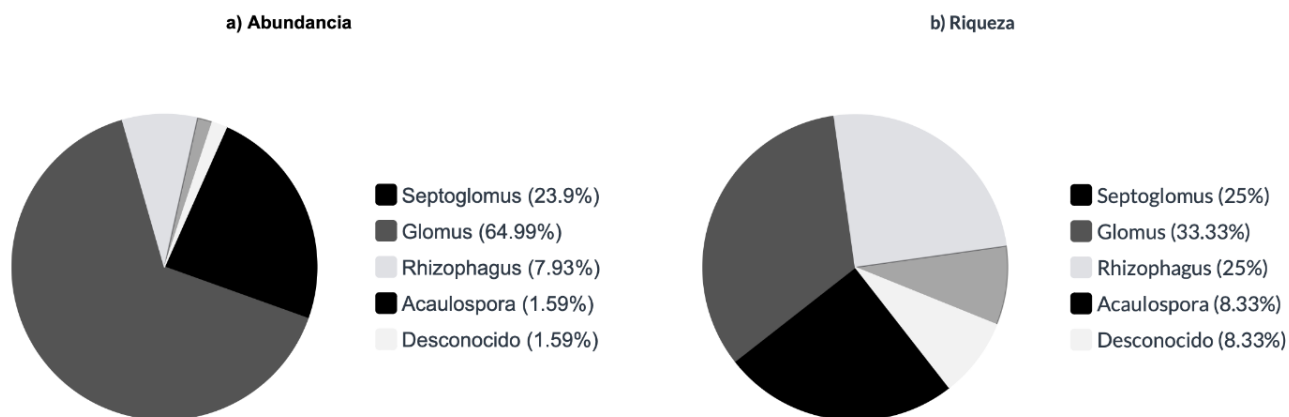


Nota. Imágenes de morfoespecies de HMA detectadas en la rizosfera del área de estudio. Objetivo 10x y 40x.

A-B: Morfoespecie negra (*Septoglomerus*) en reactivo de mezler. **C-D:** Morfoespecie negra en PVLG. **E-F:** Morfoespecie roja (*Glomerus*) en reactivo de mezler. **G-H:** Morfoespecie roja en PVLG. Hifa (H). **I:** Morfoespecie café (*Acaulospora*) en reactivo de mezler, **J:** Morfoespecie café (*Glomerus*) en reactivo de mezler. **K-L:** Morfoespecie café en PVLG. **M-N:** Morfoespecie tomate (*Glomerus*) en reactivo de mezler. **O-P:** Morfoespecie tomate en PVLG. **Q-R:** Morfoespecie amarilla (*Rhizophagus*) en reactivo de mezler. **S-T:** Morfoespecie amarilla en PVLG. **U:** Morfoespecie gris (*Septoglomerus*) en reactivo de mezler. **V:** Morfoespecie gris en PVLG. **W-X:** Morfoespecie verde (género no identificado) en reactivo de mezler.

Abundancia y diversidad de los géneros de HMA

A lo largo del estudio se identificaron un total de 87 esporas de diferentes géneros, 61 para las muestras analizadas antes de la detonación/deflagración y 26 para las muestras posteriores a la detonación/deflagración. De estas 86 pertenecían a 4 géneros descritos. La Morfoespecie 7 fue la más común, constituyendo el 53.4% de la comunidad, seguida de la morfoespecie 1 con un 18.39%, la menos abundante fue la morfoespecie 2 y 8 con <2%. Basado en la abundancia de esporas, el género más común es el *Glomerus* constituyendo el 64.99% del total, seguido del género *Septoglomerus* con un 23.9%, *Rhizophagus* con un 7.93% y *Acaulospora* con 1.59%, Solo el 1,59% de las morfoespecies no pudieron asignarse a un género de HMA descrito.

Figura 10*Diversidad de morfoespecies encontrada*

Nota. Abundancia relativa (a) y riqueza (b) de géneros de HMA de un total de 12 muestras de suelo de pre/post-detonación/deflagración. Realizado en el programa Prism 9.

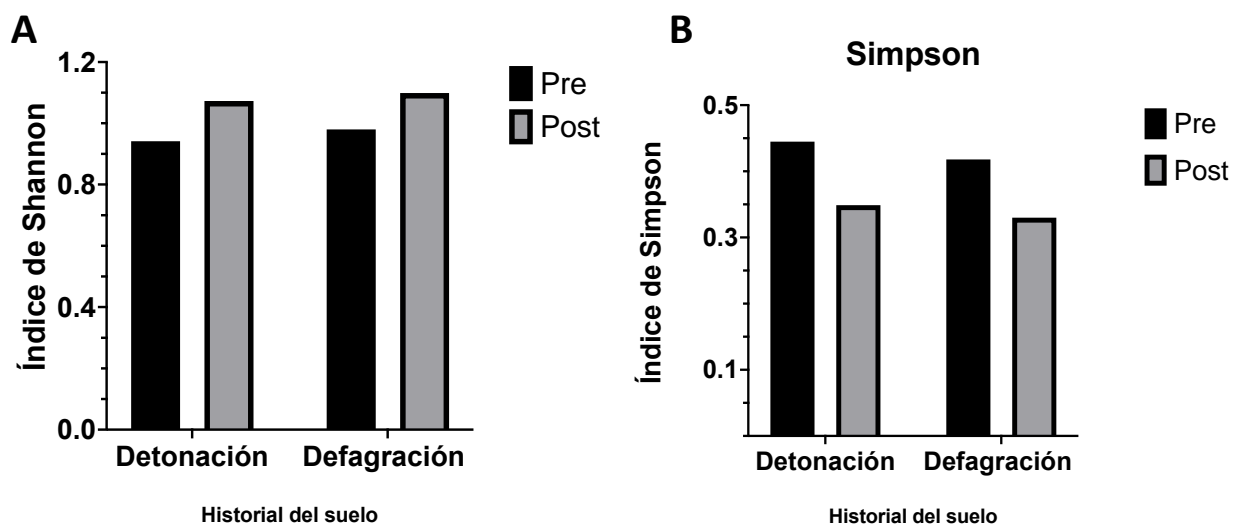
Índice de Shannon (H) y Simpson (S)

El índice de Shannon tuvo diferencias insignificantes entre las muestras de detonación y deflagración. En relación al tiempo, las muestras post-detonación/deflagración muestran un índice (H) relativamente más alto que las muestras pre-detonación/deflagración.

Respecto al índice de Simpson existe una diferencia parcial entre los índices resultantes de las muestras post-detonación/deflagración y pre-detonación/deflagración, siendo el último el índice más elevado.

Figura 11

Diferencias de las morfoespecies en suelos de historial de deposición de municiones.



Nota. Realizado en el programa Prism 9. **A:** Diferencias entre los índices de Shannon en los lugares con historial de deposición de municiones antes y después de la actividad militar. **B:** Diferencias entre los índices de Simpson en los lugares con historial de deposición de municiones antes y después de la actividad militar.

Análisis Estadísticos

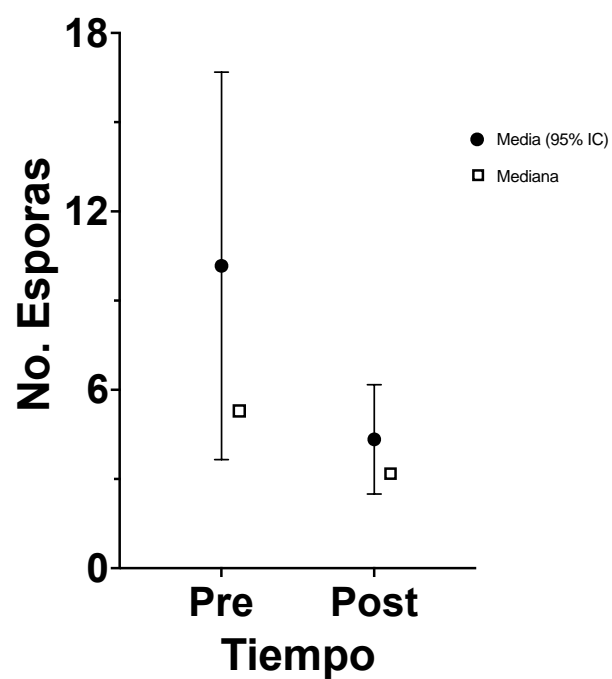
Para establecer las diferencias que existen entre las muestras de los sitios de estudio con respecto al MIP se utilizó la prueba de Mann-Whitney U ($P \leq 0,05$), el cual reveló diferencias no significativas entre los tiempos pre-detonación/deflagración y post-detonación/deflagración ($P=0.925$) y en relación a las diferencias entre las muestras de detonación y deflagración tampoco se vieron diferencias significativas ($P=0.670$).

Analizando los datos de número de esporas entre las muestras de los sitios de estudio mediante la prueba de Mann-Whitney U ($P \leq 0,05$) no se halló diferencias significativas entre los suelos de detonación y deflagración ($P=0.162$). Sin embargo, un cambio significativo fue

detectado en el número de esporas entre las muestras pre y post detonación/deflagración (P=0.040).

Figura 12

Diferencias estadísticas del No. Esporas las muestras del suelo estudiado.



Nota. Gráfico realizado en Prism 9.

Capítulo V: Discusión

La diversidad ecológica de HMA en este estudio se refiere a la variedad de morfoespecies encontradas, Bravo-Nuñez (1991) señala que estas incluyen diferencias en los patrones y variaciones de las comunidades, y como estas se componen, además abundancia y abundancia relativa de cada morfoespecie. En cambio la diversidad funcional de HMA según Canimas Brugué (2015) abarca la estabilidad, salud y viabilidad, en este caso el MIP, porque esto nos indica la funcionalidad de las micorrizas que se encuentran en el suelo. De igual manera evidencia la capacidad de ciertos suelos para inducir la formación de micorrizas. De cierto modo también indica la influencia de factores bióticos y abióticos en las poblaciones de micorrizas nativas (Azcón-Aguilar et al., 2003).

Caracterización de las muestras de suelo

La contaminación en suelos de zonas de impacto militar usualmente depende de la actividad militar que se está ejecutando, las propiedades del suelo, el tiempo de exposición del componente bélico en el suelo y el clima (Broomandi et al., 2020). Aguilar Sánchez & Cubas Irigoín (2021) señala que un pH alcalino en los suelos se debe al exceso de fósforo, potasio, calcio, carbono, etc. Según (ATSDR, 1997) en las actividades militares se usa el fósforo blanco para las municiones y para producir humo, por lo que el fósforo se va a acumular en el suelo con este tipo de disposición. Lo cual corresponde a los resultados obtenidos en la caracterización del suelo en donde se obtuvo niveles >150 ppm de P y >10 meq/100m de Ca en las zonas de deflagración destinadas a la quema de pirotecnia y cartuchos.

La relación que tienen las micorrizas con el suelo es que suponen una gran unión mediante la cual la planta se ve beneficiada en términos de supervivencia como de funcionamiento por lo que los niveles de nutrientes y elementos en la rizosfera van a afectar las

interacciones planta-hongo (Fertibox, 2019). De hecho Bolaños *et al* (2000) señala que los niveles de fósforo, calcio, potasio y en general la fertilidad del suelo influyen sobre la población de HMA. Los valores elevados del contenido de estos elementos en el suelo disminuyen la dependencia micorrízica de las plantas y al mismo tiempo establece una menor presencia de este tipo de simbiontes. Esta información hace relación a la proporcionada por Brundrett *et al* (1996) que plantea que el control de los niveles de fósforo es el más crítico para la producción de inóculo, niveles altos de este pueden influir negativamente en el desarrollo de HMA sin son demasiado altos.

Otros EPT como el Zn son liberados al suelo por residuos de armas en zonas de impacto militar lo que causa un exceso de estos metales pesados en el suelo (Broomandi *et al.*, 2020)

MIP

En la presente investigación se demostró la capacidad que tiene el suelo de colonizar un hospedero, este caso la “planta trampa”. La selección de plantas hospedantes utilizadas para propagar HMA en cultivos puede tener una gran repercusión en la esporulación y formación de raíces micorrízicas y por lo tanto en los niveles de infectividad obtenidos. Especies de *Sorgo* son comúnmente utilizadas como plantas huésped debido a su extensivo sistema de raíces que produce más formación micorrízica (Brundrett *et al.*, 1996).

Sin embargo, la investigación de Tenzin *et al* (2022) señala que la eficacia de propagación micorrízica en cultivos de plantas trampa depende de las interacciones entre el genotipo de planta, el medio ambiente, los HMA y la gestión del agroecosistema. Si bien en este estudio se encontró altos y medianos porcentajes de MIP en todos los ensayos con raíces el estado del suelo afectado por la actividad humana (uso de material bélico) y la ausencia de cobertura vegetal contribuyen a la erosión del suelo y, por lo tanto, reducen el número de

propágulos (Sangabriel-Conde et al., 2010), lo que influye en la colonización y al mismo tiempo en el número de esporas producidas por hongos formadores de micorrizas arbusculares (Pérez & Vertel, 2010).

Los HMA son organismos biótrofos cuya hifa germinativa al entrar en contacto con las raíces adecuadas forman estructuras de infección que invaden las células huésped (Giovannetti & Citernesi, 1993). En el presente estudio se logró ver la formación micorrízica a los 21 días (3 semanas). La formación micorrízica cesa después de unas 2-4 semanas en la mayoría de plantas (Garg & Chandel, 2010), pero depende de la tasa de crecimiento de las raíces de las especies y las cantidades de propágulos micorrízicos en el suelo (Brundrett et al., 1996). Lo que es consistente con los hallazgos de Kilpeläinen *et al* (2020) que vio resultados a las 3 semanas en plántulas de *Populus agustifolia* pero puede llegar a tardar hasta 7 semanas.

El procedimiento utilizado en la tinción de raíces determina el tipo de estructura observada, de modo que la tinción con azul de metileno posibilita la determinación del potencial micorrízico y la densidad visual de HMA (Valencia & Zúñiga, 2015). El protocolo utilizado para teñir raíces en esta investigación permitió diferenciar varias estructuras micorrízicas, sin embargo, algunas muestras tenían un exceso de azul de metileno por lo que fue difícil distinguir algunas estructuras o en general si había colonización micorrízica. Por el contrario, el protocolo descrito por Bárcenas *et al* (2013) en donde, previo a la clarificación con KOH sumerge las raíces en H₂O₂ al 3% y utiliza una concentración de KOH al 15%, además reduce el tiempo de pre-tinción con HCl a 5 minutos, adicionalmente la decoloración la realiza con lactoglicerol y deja reposar las raíces por 8 días antes de visualizar en el microscopio, permitió obtener mejores resultados para una observación anatómica de raíces micorrízicas.

El potencial micorrízico es un término utilizado en muchos estudios como indicador de la densidad de propágulos existentes en un suelo y de su viabilidad estos incluyen esporas, fragmentos de raíz colonizada y micelio externo (Robles Martínez, 2006). Aquello permite evaluar la calidad e infectividad del inóculo del suelo, así como su uso como indicador biológico (Andrango et al., 2016).

Por lo daños mecánicos hubo una disminución en el número de esporas de HMA (García et al., 2019), que era un resultado esperado, sin embargo también se esperó ver una disminución en los porcentajes de MIP, esto se puede justificar comparando el método empleado con método de la UI el cual mide la colonización micorrízica primaria (14 días) antes de que suceda otro tipo de colonización secundaria posiblemente por otro tipo de endófitos (Bever et al., 2023). Por otro lado, se podría realizar un tratamiento control en los que usar solo la matriz “estéril” (arena de río) en el montaje del experimento podría ayudar a comprobar la no viabilidad de ese suelo para producir colonización micorrízica (Gryndler et al., 2018).

Taxonomía de morfoespecies

La fase inicial de la taxonomía de los HMA considera pocas variables como color, diámetro, forma, entre otras, sin embargo Kehri *et al* (2018) acota que luego se añadieron más parámetros como las capas de la pared celular, el grosor de la pared celular, la ontología de la espora del HMA, además, luego se orientó la identificación con la serología, ELISA, y otras técnicas de biología molecular.

El resultado de identificación de morfoespecies arrojó 3 géneros distintos de HMA: *Glomus*, *Septoglomus* y *Rhizophagus*. El INVAM proporcionó una base sólida para el establecimiento de la taxonomía de los HMA. Schüßler & Walker (2010) menciona que *Glomus* es genero con esporas glomoideas, cuya pared externa se desprende conforme la edad de la

espora, además esta capa tiene la propiedad de correlacionarse con una reacción de dextrinoide (rojo) en el reactivo mezler. Los colores de las esporas de este género varían desde hialino a blanco, a amarillo, rojo, café y negro. El tamaño varía considerablemente dentro de la misma especie por lo que las esporas maduras e inmaduras se tienen en cuenta al describir la especie (Rodrigues & Rodrigues, 2020). Bever et al (2023) reporta esporas del género *Glomus* de diámetro entre 40 y 220 μm , lo cual es consistente con los resultados obtenidos en este estudio.

A partir del análisis morfológico de las esporas aisladas, se encontró el género *Septoglomus*, las características principales de este género incluyen una pared de 2-3 capas, una hifa subyacente cilíndrica, colores que van desde el amarillo pálido, paja pálida a negro, con una superficie opaca. En este tipo de género ninguna de las capas de la pared se mancha en el reactivo de mezler (Błaszowski et al., 2014). El diámetro varía entre los 50-190 μm (Bever et al., 2023). Esto guarda relación con las características de las esporas observadas en este estudio perteneciente al género *Septoglomus*.

El género *Rhizophagus* corresponde a esporas glomoideas individuales o en racimos pequeños y tiene el mismo desarrollo esporulativo que *Glomus*, los tamaños comprenden desde los 40 a los 360 μm , usualmente tienen colores hialinos y blancos pero puede llegar a colores marrones y marrones naranja oscuro (Bever et al., 2023).

Cabe aclarar que la identificación basada únicamente en la morfología de las esporas requiere de personal altamente capacitado al igual que años de experiencia visual, por lo que estas pautas ahora se complementan con la realización de técnicas moleculares, herramientas valiosas y rentables para estos fines (Medina et al., 2010).

Influencia de la actividad militar en la densidad de esporas

Con el paso de los años el suelo se ha contaminado con diferentes EPT como metales pesados entre los que se encuentra el arsénico (As), cadmio (Cd), plomo (Pb), mercurio (Hg), entre otros. Esto debido a la acción humana, las actividades militares toman asunto en esta problemática con el uso de material bélico generando un impacto negativo en el medio ambiente (McNeill & Painter, 2022). Con el fin de enfrentar estas condiciones estresantes, la microbiota del suelo, en particular los HMA imparten tolerancia a este tipo de contaminantes y logran sobrevivir a estos entornos estresados. Con base a los estudios de Garg & Cheema (2021) se sabe que un conjunto de hongos HMA como *Glomus*, *Gigaspora* y *Entrophospora* suelen tener más éxito de supervivencia y habitan en suelos contaminados por metales pesados y con alta incidencia de estrés. Estos datos corresponden a los datos obtenidos en esta investigación al haber obtenido el mayor número de esporas identificadas dentro del género *Glomus*.

En comparación con las muestras post-detonación/deflagración, el número de esporas en las muestras pre-detonación/deflagración fue notoriamente superior. Los análisis presentados por Jami Gómez (2016) señalan que los suelos del destacamento “El corazón” están contaminados en gran parte por explosivos militar como el TNT, RDX, HMX, pentolita, dinamita, entre otros, y esto perjudica la salud del suelo e induce a su erosión. Los resultados obtenidos por Lozano Sánchez *et al* (2015) apuntan a que el número de esporas disminuye en áreas de bosque y suelo erosionado a diferencia de suelos con manejo agroecológico.

Abundancia y diversidad de los géneros de HMA

En la caracterización de comunidades de HMA en los suelos de historial de deposición de municiones se encontró que las medidas de riqueza general no difieren entre los tiempos (pre y post) y los tipos de disposición del material bélico. El número de morfoespecies diferentes

encontradas fue 7, la riqueza en el género de esporas de la zona pre-detonación fue inferior (2) con las otras zonas (3). El género más diverso en términos de riqueza fue *Glomus* esto podría explicarse con base a lo planteado por Salgado Salomón *et al* (2009), quien señala que no todos los HMA reaccionan de igual manera frente a los cambios en la composición del suelo influenciado en este caso por material bélico, hay géneros que prevalecen más que otras en ciertas circunstancias.

Glomus presentó la mayor abundancia con 66 esporas a comparación de *Septoglomus* (15) y *Rhizophagus* (5). Los análisis resultantes de la investigación de Lozano Sánchez *et al* (2015) sostienen que al ser *Glomus* el género con mayor número de *Glomeromycetos* es, por lo tanto, el más significativo. Añadiéndole la capacidad que tienen para sobrevivir a entornos sanos como perturbados.

Acaulospora solo se encontró en un caso, y se la identificó por su coloración dextrinoide en la pared germinal interna, tinción característica de este género de HMA (Bever *et al.*, 2023).

Los índices de Shannon y Simpson son una respuesta no solo del a riqueza de especies, sino también de que tan equitativas se distribuyen las poblaciones de dichas especies en la comunidad (Lozano Sánchez *et al.*, 2015).

Análisis estadísticos

La prueba U de Mann-Whitney es una prueba no paramétrica que se utiliza como alternativa a la prueba t independiente para comparar dos medias muestrales que provienen de la misma población, así mismo sirve para analizar si dos medias muestrales se asemejan (Narvaez, 2022). La prueba U de Mann-Whitney reveló diferencias significativas en el número de esporas obtenidas con respecto al tiempo (pre y post). De acuerdo con Bolaños-B *et al.* (2000) a

pesar de que las esporas son muy resistentes a situaciones adversas, su viabilidad tiende a disminuir en suelos con algún tipo de perturbación, en este caso los componentes tóxicos de las municiones y los metales pesados disrumpen la subsistencia de la comunidad micorrízica.

Comparación en suelos remanentes

El estudio de MIP y taxonomía de la espora se realizó por Vaca (2023) en sitios remanentes. En el que se encontró mas riqueza de HMA (6) y el porcentaje de MIP fue ligeramente entre el 76-95%. Estos resultados se justifican por los daños, disrupciones mecánicas, contaminates, EPTs, metales pesados, entre otros, que se encuentran en sitios con actividad militar (TUV, 2022), en donde la viabilidad de los HMA se ve perjudicada.

Capítulo VI: Conclusiones

En el presente proyecto de investigación se determinó la taxonomía por medio de la morfología de las esporas de HMA obtenidas en sitios con historial de disposición de municiones de la brigada militar “El corazón”, obteniendo 8 ecotipos diferentes de micorriza.

Las características morfológicas de las esporas (color, diámetro, forma, reacción al reactivo de mezler) de HMA indican que pertenecen a los géneros: *Glomus*, *Septoglomus*, *Rhizophagus* y *Acaulospora*.

Las esporas de HMA están presentes tanto en los sitios de pre-detonación/deflagración como en los de post-detonación/deflagración, siendo este último, el lugar con una diferencia estadísticamente significativa en el número de esporas, presuntamente por la acción militar ejercida.

Glomus fue el género más diverso en términos de riqueza y abundancia posiblemente por su capacidad y prevalencia para hacer frente a los cambios en la composición de suelos contaminados con material bélico.

La aplicación del método de MIP permitió determinar el potencial micorrízico de los suelos con historial de deposición de material bélico, donde estadísticamente no se encontró diferencias significativas para el MIP entre los sitios, además el potencial micorrízico del suelo fue superior al 50%.

Capítulo VII: Recomendaciones

Las actividades militares con material bélico son procedimientos que afectan al medio ambiente, en el suelo causan erosión y afectan su microbiota, por lo que su cuidado no se debe descuidar, mucho menos si se utilizan compuestos de explosivos como el TNT, RDX y HDM, por lo que se recomienda realizar constantemente fitorremediaciones de este tipo de suelos.

Morfológicamente los géneros de las esporas de HMA son visualmente difícil de diferenciar, criterios como el número y diámetro de las capas de la pared de la spora permiten una mejor exactitud al momento de diferenciar cada género pudiendo incluso llegar a la especie en particular, se recomienda trabajar con microscopios y softwares que permitan la determinación de estos parámetros a la hora de la caracterización de la spora. Además, se recomienda complementar con técnicas moleculares que permitan más certeza en la identificación de HMA

Se debe considerar que al momento de la determinación del MIP es importante poder diferenciar bien las estructuras de micorrizas en el microscopio para definir con exactitud el potencial micorrízico del suelo, se recomienda aplicar metodologías optimizadas que permitan verificar estos parámetros.

Existen muy pocos estudios sobre la diversidad de HMA en zonas de páramo, por lo que se recomienda ampliar el campo de investigación para que pueda ser utilizado en futuros estudios.

Referencias bibliográficas

- Aguero, S., & Terreux, R. (2019). Degradation of High Energy Materials Using Biological Reduction: A Rational Way to Reach Bioremediation. *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES*, 20(22). <https://doi.org/10.3390/ijms20225556>
- Aguilar Sánchez, J. de D., & Cubas Irigoín, N. (2021). Contaminación de suelos por el uso de aguas residuales. *revistaalfa*, 5(14), 132–144.
<https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v5i14.104>
- Aguirre, W., Fischer, G., & Miranda, D. (2012). Tolerancia a metales pesados a través del uso de micorrizas arbusculares en plantas cultivadas. *Rev. Colomb. Cienc. Hortic.*, 5(1), 141–154.
<https://doi.org/10.17584/rcch.2011v5i1.1260>
- Aldrich-Wolfe, L., Black, K. L., Hartmann, E. D. L., Shivega, W. G., Schmaltz, L. C., McGlynn, R. D., Johnson, P. G., Asheim Keller, R. J., & Vink, S. N. (2020). Taxonomic shifts in arbuscular mycorrhizal fungal communities with shade and soil nitrogen across conventionally managed and organic coffee agroecosystems. *Mycorrhiza*, 30(4), 513–527.
<https://doi.org/10.1007/s00572-020-00967-7>
- Andrango, C., Cueva, M., Viera, W., & Duchicela, J. (2016). *EVALUATION OF METHODS TO ESTIMATE MYCORRHIZAL INOCULUM POTENTIAL IN FIELD SOILS*. 18(3), 329–352.
<https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/3609/1/iniapscCD85.pdf>
- Aranda, A. L. (2005). *EFFECTO DE LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES Y LA APLICACIÓN DE FÓSFORO EN Vicia faba (HABA) A NIVEL DE INVERNADERO* [Universidad Nacional Autónoma de México]. <http://132.248.9.195/pd2005/0601557/0601557.pdf>

ATSDR. (1997). White Phosphorus. In *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*.

<https://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tfacts103.pdf>

Austen, G. E., Bindemann, M., Griffiths, R. A., & Roberts, D. L. (2016). Species identification by experts and non-experts: comparing images from field guides. *Sci Rep*, *6*(1), 33634.

<https://doi.org/10.1038/srep33634>

Azcón-Aguilar, C., Palenzuela, J., Roldán, A., Bautista, S., Vallejo, R., & Barea, J. M. (2003).

Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. *Applied Soil Ecology*, *22*(1),

29–37. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(02\)00107-5](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(02)00107-5)

Bárcenas, A., Lua-Aldama, J., Salmeron-Santiago, I., Silva-Adame, M. B., García Saucedo, P., &

Portugal, V. (2013). A modified staining technique for the anatomical observation of mycorrhizal roots of woody trees. *African Journal of Microbiology Research*, *7*(28), 3589–3596.

https://www.researchgate.net/publication/312453393_A_modified_staining_technique_for_the_anatomical_observation_of_mycorrhizal_roots_of_woody_trees

Berdugo, S. E. B. (2009). El uso de hongos micorrizicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *7*(1), 123–132.

<https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/706>

Bever, J., Schultz, P., Koziol, L., & Terra, L. (2023). The International Collection of (Vesicular)

Arbuscular Mycorrhizal Fungi. In *INVAM*. <https://invam.ku.edu/node/1>

- Błaszowski, J., Chwat, G., Góralaska, A., Ryszka, P., & Orfanoudakis, M. (2014). *Septoglo mus jasnowskiae* and *Septoglo mus turnauae*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycol Progress*, 13(4), 985. <https://doi.org/10.1007/s11557-014-0985-z>
- Bolaños-B, M. M., Rivillas-Osorio, C. A., & Suárez-Vásquez, S. (2000). IDENTIFICACIÓN DE MICORRIZAS ARBUSCULARES EN SUELOS DE LA ZONA CAFETERA COLOMBIANA. *Cenicafé*, 51(4), 245–262. <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/1006>
- Bravo-Nuñez, E. (1991). Sobre la cuantificación de la diversidad ecológica. *HIDROBIOLÓGICA*, 1(1), 87–93. <https://hidrobiologica.izt.uam.mx/hidrobiologica/index.php/revHidro/article/view/523>
- Broomandi, P., Guney, M., Kim, J. R., & Karaca, F. (2020). Soil Contamination in Areas Impacted by Military Activities: A Critical Review. *Sustainability*, 12(21), 9002. <https://doi.org/10.3390/su12219002>
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., & Malajczuk, N. (1996). *Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture* (Vol. 32). Australian Centre for International Agricultural Research. <https://publications.csiro.au/publications/publication/PIprocite:044e73fb-1917-4b75-8b14-33269f349e52>
- Canimas Brugué, J. (2015). ¿Discapacidad o diversidad funcional? *Siglo Cero. Revista Española sobre Discapacidad Intelectual*, 46(2), 79. <https://doi.org/10.14201/scero20154627997>
- Carrillo Sánchez, L. E. C. (2015). MICORRIZAS PARA PRINCIPIANTES. *CICY*, 176–179. https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2015/2015-11-19-Carrillo-Sanchez-Micorrizas-para-principiantes.pdf

- Carrillo-Saucedo, S. M., Puente-Rivera, J., Montes-Recinas, S., Cruz-Ortega, R., Carrillo-Saucedo, S. M., Puente-Rivera, J., Montes-Recinas, S., & Cruz-Ortega, R. (2022). Las micorrizas como una herramienta para la restauración ecológica. *Acta botánica mexicana*, 129. <https://doi.org/10.21829/abm129.2022.1932>
- Certini, G., Scalenghe, R., & Woods, W. I. (2013). The impact of warfare on the soil environment. *Earth-Science Reviews*, 127, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2013.08.009>
- Cué García, J. L., & Torres García, A. (2019). micorrizas arbúsculares: su valoración en el marco de la agroecología. *revistaalfa*, 3(9), 143–150. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v3i9.64>
- Cuenca, G., Cáceres, A., Oirdobro, G., Hasmy, Z., & Urdaneta, C. (2007). Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia*, 32(1), 23–29. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0378-18442007000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Díaz, G., Torres, P., & Sánchez, F. (2016). Primeras Tesis Doctorales sobre Micorrizas. *Eubacteria*, 36, 1–5.
- Fernandez-Lopez, C., Posada-Baquero, R., & Ortega-Calvo, J.-J. (2022). Nature-based approaches to reducing the environmental risk of organic contaminants resulting from military activities. *Science of The Total Environment*, 843, 157007. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157007>
- Fertibox, Á. G. J.-T. L. (2019). Micorrizas: simbiosis beneficiosa. In *fertibox*. <https://www.fertibox.net/single-post/micorrizas>

- García, S., Pezzani, F., Lezama, F., & Paruelo, J. M. (2019). Los componentes del pastoreo afectan de forma diferencial las micorrizas en *Paspalum dilatatum* Poir. *Ecología Austral*, *29*(2), 164–173. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1667-782X2019000200001&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Garg, N., & Chandel, S. (2010). Arbuscular mycorrhizal networks: process and functions. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, *30*(3), 581–599. <https://doi.org/10.1051/agro/2009054>
- Garg, N., & Cheema, A. (2021). Relative roles of Arbuscular Mycorrhizae in establishing a correlation between soil properties, carbohydrate utilization and yield in *Cicer arietinum* L. under As stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *207*, 111196. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111196>
- Gehring, C., & Bennett, A. (2009). Mycorrhizal Fungal–Plant–Insect Interactions: The Importance of a Community Approach*. *Environmental Entomology*, *38*(1), 93–102. <https://doi.org/10.1603/022.038.0111>
- Gerdemann, J. W., & Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, *46*(2), 235–244. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0)
- Giovannetti, M., & Citernesi, A. S. (1993). Time-course of appressorium formation on host plants by arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, *97*(9), 1140–1142. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80517-0](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80517-0)

- Gómez, L. I. A., Portugal, V. O., Arriaga, M. R., & Alonso, R. C. (2007). Micorrizas arbusculares. *CIENCIA ergo-sum, Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, 14(3), 300–306.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10414307>
- Gonzales Garrido, M. E. G. (2017). *LOS EFECTOS ECONÓMICOS DE LA GUERRA* [Universidad de Sevilla].
https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/66093/Los_efectos_economicos_de_la_guerra.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Gryndler, M., Šmilauer, P., Püschel, D., Bukovská, P., Hršelová, H., Hujslová, M., Gryndlerová, H., Beskid, O., Konvalinková, T., & Jansa, J. (2018). Appropriate nonmycorrhizal controls in arbuscular mycorrhiza research: a microbiome perspective. *Mycorrhiza*, 28(5–6), 435–450.
<https://doi.org/10.1007/s00572-018-0844-x>
- He, X.-H., Critchley, C., & Bledsoe, C. (2003). Nitrogen Transfer Within and Between Plants Through Common Mycorrhizal Networks (CMNs). *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22(6), 531–567. <https://doi.org/10.1080/713608315>
- Jami Gómez, L. J. (2016). *Propuesta de un plan de gestión Ambiental para corregir los impactos causados por las descargas líquidas del proceso de fundido de trinitrotolueno en las instalaciones del destacamento del Corazon 2011- 2014* [Universidad Central del Ecuador].
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6698/1/T-UCE-0011-125.pdf>
- Kehri, H., Akhtar, O., Zoomi, I., & Pandey, D. (2018). *Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Taxonomy and its Systematics*. 6, 58–71.

- Kilpeläinen, J., Aphalo, P. J., & Lehto, T. (2020). Temperature affected the formation of arbuscular mycorrhizas and ectomycorrhizas in *Populus angustifolia* seedlings more than a mild drought. *Soil Biology and Biochemistry*, *146*, 107798.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107798>
- Lozano Sánchez, J. D., Armbrrecht, I., & Montoya Lerma, J. (2015). Hongos formadores de micorrizas arbusculares y su efecto sobre la estructura de los suelos en fincas con manejos agroecológicos e intensivos. *Acta agron.*, *64*(4).
<https://doi.org/10.15446/acag.v64n4.46045>
- Luiz Stürmer, S. (2023). CIGG - FURB - Classification. In *INTERNATIONAL CULTURE COLLECTION OF GLOMEROMYCOTA*. <https://sites.google.com/view/cicg-furb-english/taxonomy/classification>
- McGONIGLE, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L., & Swan, J. A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol*, *115*(3), 495–501. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>
- McNeill, J., & Painter, D. (2022). Consecuencias ambientales de las actividades militares de Estados Unidos desde 1789. *CONFLICTOS BÉLICOS, SEGURIDAD Y MEDIO AMBIENTE*, *23*, 49–65.
- Medina, L. R., Rodríguez, Y., Torres, Y., & Herrera, R. (2010). AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NATIVOS DE LA ZONA DE LAS CAOBAS, HOLGUÍN. *Cultivos Tropicales*, *31*(3), 0. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0258-59362010000300014&lng=es&nrm=iso&tlng=es

- Moposita, E. (2020). *Efecto de dos dosis de micorrizas y dos tipos de sustratos en la aclimatación de plántulas in vitro de mortiño (Vaccinium floribundum Kunth)*. Universidad de las fuerzas armadas.
- Mugnier, J., & Mosse, B. (1987). Spore germination and viability of a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae*. *Transactions of the British Mycological Society*, 88(3), 411–413. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(87\)80018-9](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(87)80018-9)
- Narvaez, M. (2022). Prueba U de Mann-Whitney: Qué es y cómo funciona. In *QuestionPro*. <https://www.questionpro.com/blog/es/prueba-u-de-mann-whitney/>
- Ortiz, E. M., Ramírez Coral, D. M., Debut, A., Vallejo López, M. J., & Duchicela, J. (2018). PROTOCOLOS DE PREPARACIÓN DE ESPORAS DE MICORRIZA ARBUSCULAR PARA SU OBSERVACIÓN EN MICROSCOPIO ELECTRÓNICO Y DE FLUORESCENCIA. 1390-1117, 19(2). <https://doi.org/10.24133/ciencia.v19i2.534>
- Parra, G. A. D., Enríquez, G. R., Vara, J. N. E., & Aguilar, E. E. Q. (2019). *PROPAGACIÓN Y VIABILIDAD DE ESPORAS DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES REPRODUCIDAS EN DISTINTAS ESPECIES VEGETALES* [Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco]. <http://rctveracruz.org/descargarlibro/libros/Bio10.pdf>
- Perdomo, I. (2020). Parroquias - Mapa político, Fondos de pantallas cool de anime, Mapa turístico. In *Pinterest*. <https://www.pinterest.es/pin/689402655466096377/>
- Pérez, A., & Vertel, M. (2010). Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus. *Rev MVZ Córdoba*, 15(3). <https://doi.org/10.21897/rmvz.303>

- Phillips, J. M., & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), 158–181. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- Phohlo, P. (2021). Hongos micorrízicos: el sistema radicular secundario de la planta - Trace and Save. In *Trace&save*. <http://traceandsave.com/mycorrhizal-fungi-the-plants-secondary-root-system/>
- Pilco Pomagualli, M. (2015). *ESTUDIO DE LAS MICORRIZAS ASOCIADAS A Miconia bracteolata Bonpl. EN EL BOSQUE DE CEJA ANDINA SECTOR GUANGRA, PARROQUIA ACHUPALLAS, CANTÓN ALAUSÍ, PROVINCIA DE CHIMBORAZO*. [ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3885/1/33T0137%20.pdf>
- Redecker, D., Schüßler, A., Stockinger, H., Stürmer, S. L., Morton, J. B., & Walker, C. (2013). An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza*, 23(7), 515–531. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0486-y>
- Restrepo Giraldo, K. J., Montoya Correa, M. I., Henao Jaramillo, P., Gutiérrez, L. A., Molina Guzmán, L. P., Restrepo Giraldo, K. J., Montoya Correa, M. I., Henao Jaramillo, P., Gutiérrez, L. A., & Molina Guzmán, L. P. (2019). Caracterización de hongos micorrízicos arbusculares de suelos ganaderos del trópico alto y trópico bajo en Antioquia, Colombia. *Idesia (Arica)*, 37(1), 35–44. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292019005000301>

- Riaz, M., Kamran, M., Fang, Y., Wang, Q., Cao, H., Yang, G., Deng, L., Wang, Y., Zhou, Y., Anastopoulos, I., & Wang, X. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi-induced mitigation of heavy metal phytotoxicity in metal contaminated soils: A critical review. *Journal of Hazardous Materials*, 402, 123919. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123919>
- Robles Martinez, M. de L. (2006). *ANALISIS PROSPECTIVO DEL POTENCIAL MICORRIZICO Y LA RESPUESTA A LA INOCULACION CON HONGOS DE MICORRIZA ARBUSCULAR DEL MAGUEY MEZCALERO (Agave angustifolia Haw.)* [Instituto Politécnico Nacional]. http://literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/LITER_CIIDIROAX/30/Robles%20Mtz.%2c%20M.%20de%20L..pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Rodrigues, K. M., & Rodrigues, B. F. (2020). Chapter 27 - Glomus. In N. Amaresan, M. Senthil Kumar, K. Annapurna, K. Kumar, & A. Sankaranarayanan (Eds.), *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* (pp. 561–569). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00027-7>
- Ruiz, N. I. (2020). *DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS EN DIFERENTES ESTADOS DE CONSERVACIÓN DE UN BOSQUE DE ENCINOS*. [Universidad Veracruzana]. <https://www.uv.mx/met/files/2020/12/NIR-TESIS.pdf>
- Salgado Salomón, M. E., Rajchenberg, M., & Barroetaveña, C. (2009). Evaluación del estado micorrícico de plántulas de *Pinus ponderosa* producidas bajo fertirriego, sin manejo de la micorrización. *Bosque (Valdivia)*, 30(3), 127–134. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002009000300002>
- Sangabriel-Conde, W., Trejo-Aguilar, D., Soto-Estrada, A., Ferrera-Cerrato, R., & Lara-Capistrán, L. (2010). Potencial de colonización de hongos micorrícico-arbusculares en suelos

cultivados con papayo bajo diferentes manejos de producción. *Revista mexicana de micología*, 31, 45–52.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0187-31802010000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Sayner, A. (2021). A Detailed Explanation of the Mushroom Life Cycle. In *GroCycle*.

<https://grocycle.com/mushroom-life-cycle/>

Schüßler, A., & Walker, C. (2010). The Glomeromycota. *The Royal Botanic Garden Kew*.

Silva-Castro, G. A., Cano, C., Moreno-Morillas, S., Bago, A., & García-Romera, I. (2022).

Inoculation of Indigenous Arbuscular Mycorrhizal Fungi as a Strategy for the Recovery of Long-Term Heavy Metal-Contaminated Soils in a Mine-Spill Area. *J Fungi (Basel)*, 9(1), 56.

<https://doi.org/10.3390/jof9010056>

Stadler, T., Temesi, Á., & Lakner, Z. (2022). Soil Chemical Pollution and Military Actions: A

Bibliometric Analysis. *Sustainability*, 14(12), 7138. <https://doi.org/10.3390/su14127138>

Stürmer, S. L. (2012). A history of the taxonomy and systematics of arbuscular mycorrhizal fungi

belonging to the phylum Glomeromycota. *Mycorrhiza*, 22(4), 247–258.

<https://doi.org/10.1007/s00572-012-0432-4>

Stürmer, S. L. (2023). CIG - FURB. In *CIG*. <https://sites.google.com/site/cicgfma/home>

Sun, J., Jia, Q., Li, Y., Dong, K., Xu, S., Ren, Y., Zhang, T., Chen, J., Shi, N., & Fu, S. (2023). Effect of

Arbuscular Mycorrhiza Fungus *Diversispora eburnea* Inoculation on *Lolium perenne* and

Amorpha fruticosa Growth, Cadmium Uptake, and Soil Cadmium Speciation in Cadmium-

Contaminated Soil. *Int J Environ Res Public Health*, 20(1), 795.

<https://doi.org/10.3390/ijerph20010795>

Tenzin, U. W., Noirungsee, N., Runsaeng, P., Noppradit, P., & Klinnawee, L. (2022). Dry-Season Soil and Co-Cultivated Host Plants Enhanced Propagation of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Spores from Sand Dune Vegetation in Trap Culture. *Journal of Fungi*, 8(10), 1061.

<https://doi.org/10.3390/jof8101061>

Teste, F. P., Jones, M. D., & Dickie, I. A. (2020). Dual-mycorrhizal plants: their ecology and relevance. *New Phytologist*, 225(5), 1835–1851. <https://doi.org/10.1111/nph.16190>

Tester, M., Smith, S. E., Smith, F. A., & Walker, N. A. (1986). Effects of Photon Irradiance on the Growth of Shoots and Roots, on the Rate of Initiation of Mycorrhizal Infection and on the Growth of Infection Units in *Trifolium Subterraneum* L. *New Phytologist*, 103(2), 375–390. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1986.tb00623.x>

Thijs, S., Sillen, W., Truyens, S., Beckers, B., van Hamme, J., van Dillewijn, P., Samyn, P., Carleer, R., Weyens, N., & Vangronsveld, J. (2018). The Sycamore Maple Bacterial Culture Collection From a TNT Polluted Site Shows Novel Plant-Growth Promoting and Explosives Degrading Bacteria. *Front Plant Sci*, 9, 1134. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01134>

TUV. (2022). Caracterización de la calidad en suelos contaminados. In www.tuvsud.com.

<https://www.tuvsud.com/es-es/servicios/sostenibilidad/caracterizacion-descontaminacion-suelos-contaminados-geotecnia/suelos-contaminados>

Vaca, E. (2023). *Determinación de la diversidad ecológica y funcional de micorriza arbuscular de la rizosfera de sitios remanentes*. Universidad de las fuerzas armadas.

- Valencia, C., & Zúñiga, D. (2015). ANÁLISIS DE LA PRESENCIA NATURAL DE MICORRIZAS EN CULTIVOS DE ALGODÓN (*Gossypium barbadense* L.) INOCULADOS CON *Bacillus megaterium* Y/O *Bradyrhizobium yuanmingense*. *Ecol. apl.*, *14*(1–2), 65. <https://doi.org/10.21704/rea.v14i1-2.82>
- van der Heijden, M. G. A., Martin, F. M., Selosse, M.-A., & Sanders, I. R. (2015). Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist*, *205*(4), 1406–1423. <https://doi.org/10.1111/nph.13288>
- Wang, C., Fuller, M. E., Schaefer, C., Caplan, J. L., & Jin, Y. (2012). Dissolution of explosive compounds TNT, RDX, and HMX under continuous flow conditions. *Journal of Hazardous Materials*, *217–218*, 187–193. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.03.012>