



Evaluación del efecto de los compuestos fenólicos de *Curcuma longa* (Linn) en el desarrollo de plantas de crecimiento rápido y su grado de micorrización

Campoverde Rengel, Alicia Alexandra

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Proyecto de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga

Medina, María Emilia Ph.D.

27 de febrero del 2023

Informe de originalidad

NOMBRE DEL CURSO

REVISIÓN TESIS

NOMBRE DEL ALUMNO

ALICIA ALEXANDRA CAMPOVERDE RENGEL

NOMBRE DEL ARCHIVO

ALICIA ALEXANDRA CAMPOVERDE RENGEL - TESIS-GOOGLDOC ALICIA CAMPOVERDE

SE HA CREADO EL INFORME

23 feb 2023

Resumen

Fragmentos marcados	1	0,2 %
Fragmentos citados o entrecomillados	0	0 %

Coincidencias de la Web

gba.gob.ar	1	0,2 %
------------	---	-------

1 fragmento

Fragmento del alumno **MARCADO**

...inóculo que dé inicio al ciclo de vida. Los **principales** inóculos son **esporas, fragmentos de raíces infectadas e hifas, colectivamente** se denominan **propágulos**

Mejor coincidencia en la Web

La colonización de raíces por hongos MA puede surgir de tres fuentes **principales** de inóculo en el suelo: **esporas, fragmentos de raíces infectadas e hifas, denominados colectivamente propágulos.**

14 de julio 2022 - CIC Digital <https://digital.cic.gba.gob.ar/bitstreams/b4d2a30d-10da-46e5-a8a5-99f99bf7dbc7/download>



Firmado electrónicamente por:

MARIA EMILIA MEDINA

.....
María Emilia Medina Ph. D.



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: “**Evaluación del efecto de los compuestos fenólicos de *Curcuma longa* (Linn) en el desarrollo de plantas de crecimiento rápido y su grado de micorrización**” fue realizado por la señorita **Campoverde Rengel, Alicia Alexandra**, 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 analizada 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, 27 de febrero de 2023



Firmado electrónicamente por:
MARIA EMILIA MEDINA

Medina, María Emilia

C. C: 1722838917



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura
Carrera de Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Campoverde Rengel, Alicia Alexandra**, con cédula de ciudadanía N° 1726753187, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **"Evaluación del efecto de los compuestos fenólicos de *Curcuma longa* (Linn) en el desarrollo de plantas de crecimiento rápido y su grado de micorrización"**, 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.

Sangoquí, 27 de febrero de 2023

.....
Campoverde Rengel, Alicia Alexandra

C.C.: 1726753187



Departamento de Ciencia de la Vida y la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo, **Campoverde Rengel, Alicia Alexandra**, con cédula de ciudadanía N° 1726753187, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **"Evaluación del efecto de los compuestos fenólicos de *Curcuma longa* (Linn) en el desarrollo de plantas de crecimiento rápido y su grado de micorrización"** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi/nuestra responsabilidad.

Sangolquí, 27 de febrero de 2023

Campoverde Rengel, Alicia Alexandra

C.C.: 1726753187

Dedicatoria

A mi familia, Andrés, Luz, Tania y Andrés Fernando; el fin de esta etapa es un logro no solo mío, sino que también es el fruto del esfuerzo, paciencia y amor que han tenido conmigo.

Agradecimientos

Agradezco en primer lugar a mi tutora, María Emilia Medina Ph. D., docente del Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por la oportunidad, el apoyo y la confianza brindada para llevar a cabo este proyecto de investigación. De igual forma, agradezco a Blanca Naranjo MSc, docente del área de Química de los Productos Naturales, por su guía para poder llevar a cabo y completar los objetivos planteados en este proyecto, por haber estado pendiente de mi proceso de investigación y por el ánimo brindado en esta etapa.

A mis padres, Andrés y Luz, por apoyarme durante el arduo camino que significó la vida universitaria, por no dejar que me rindiera y por siempre motivarme a ser mejor y a actuar con los valores que me inculcaron. A mis hermanos Tania y Andrés, por compartir parte de su conocimiento conmigo, por acompañarme durante esta etapa y por aconsejarme cuando fue necesario, a toda mi familia, gracias por la paciencia, y gracias porque por ustedes estoy aquí.

A mis amigos más cercanos, que fueron un gran apoyo tanto en las aulas, como fuera de ellas, por haber sido un escape y refugio en los malos momentos, a cada una de las personas que, en alguna parte de este viaje, me brindaron su ayuda de corazón, haya sido en el ámbito académico o personal.

Y gracias a las nuevas personas que conocí en el último año, por haberme ayudado a crecer en el ámbito académico y personal, por haberme permitido conocer un poco más de mí y dejarme compartir momentos de alegría con ellos.

Índice de contenido

Dedicatoria	6
Agradecimientos	7
Resumen	13
Abstract	14
Capítulo I: Introducción	15
Formulación del Problema	15
Justificación	16
Objetivos	17
Objetivo General del Proyecto	17
Objetivos Específicos	17
Hipótesis	17
Capítulo II: Marco Referencial	18
Compuestos fenólicos	18
Cúrcuma	18
Cilantro	20
Microbiota del Suelo	21
Hongos del Suelo	22
Hongos Micorrícicos	23
Hongos Micorrícicos Arbusculares	23
Desarrollo de HMA	24

Importancia de las micorrizas en las plantas	25
Capítulo III: Metodología	27
Zona de Estudio	27
Periodo de Investigación	27
Diseño Experimental	27
Operatividad de Variables	29
Toma de muestras de suelo para elección de inóculo micorrízico	29
Tratamiento de muestras de suelo	29
Observación, conteo de esporas y elección de inóculo micorrízico	30
Preparación del sustrato de propagación	31
Montaje de Ensayo	31
Mantenimiento nutricional del ensayo	32
Extracto de <i>Curcuma longa</i> (Linn)	32
<i>Obtención de Material Vegetal</i>	32
<i>Tratamiento de la muestra</i>	32
<i>Obtención del extracto</i>	33
<i>Preparación de diluciones</i>	34
Levantamiento de ensayo	35
Capítulo IV: Resultados y Discusión	36
Observación, conteo de esporas de hongos micorrízicos y elección del inóculo micorrízico	36
Desarrollo de Plantas de <i>C. sativum</i>	36

	10
<i>Longitud de Plantas</i>	36
<i>Peso Fresco de Plantas</i>	38
<i>Peso Seco de plantas</i>	40
<i>Población de esporas micorrícicas</i>	42
Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones	45
Conclusiones	45
Recomendaciones	45
Bibliografía	46
Apéndices	49

Índice de Tablas

Tabla 1 <i>Interacción entre número de esporas iniciales y concentración del extracto de cúrcuma, de acuerdo al tratamiento</i>	28
Tabla 2 <i>Descripción de los tratamientos empleados en el ensayo</i>	28
Tabla 3 <i>Variables y factores a determinar</i>	29
Tabla 4 <i>Número de esporas micorrícicas obtenidas en los muestreos realizados</i>	36

Índice de Figuras

Figura 1 <i>Rizomas de Curcuma longa</i>	19
Figura 2 <i>Morfología de C. sativum</i>	20
Figura 3 <i>Arbúsculo: estructura característica de los hongos micorrícicos arbusculares</i>	24
Figura 4 <i>Desarrollo del ciclo de vida de los HMA</i>	25
Figura 5 <i>Decantación y secado de muestras de suelo</i>	30
Figura 6 <i>Rizomas de C. longa triturados</i>	32
Figura 7 <i>Extracción de compuestos fenólicos de rizomas de C. longa mediante el método Soxhlet</i>	34
Figura 8 <i>Preparación de solución stock (a) y soluciones a concentraciones de 3, 5 y 7 mg/L (b)</i>	34
Figura 9 <i>Longitud de plantas de C. sativum respecto a los diferentes tratamientos</i>	38
Figura 10 <i>Peso Fresco de plantas de C. sativum de acuerdo a cada tratamiento</i>	39
Figura 11 <i>Peso seco de plantas de C. sativum de acuerdo a cada tratamiento</i>	41
Figura 12 <i>Diagrama de barras del número de esporas por gramo de suelo (a) y esporas por maceta (b), de acuerdo a cada tratamiento</i>	43
Figura 13 <i>Fotografías de estructuras de esporas contabilizadas en el ensayo</i>	44

Resumen

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) son reconocidos por establecer simbiosis con la mayoría de las plantas vasculares. La relación mutualista en la que se involucran, implica la captación de nutrientes (especialmente el fósforo) por parte del micelio, que luego es transportado hacia la planta. Esta, a su vez, le provee de carbohidratos necesarios para su desarrollo. Las rutas por las cuales se establece la simbiosis planta-hongo pueden estar influenciadas de forma positiva por la presencia de metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos. En la presente investigación, se evalúa el efecto que los compuestos fenólicos de cúrcuma tienen sobre el desarrollo de plantas de crecimiento rápido y su grado de micorrización. Al aplicar un inóculo de micorrizas a plantas de cilantro, estas presentaron un incremento en su desarrollo (peso seco, fresco y longitud), y al aplicar distintas concentraciones de extracto de cúrcuma (3, 5 y 7 mg/L), el crecimiento se vio aún más favorecido. La obtención de esporas micorrícicas por el método de tamizado y decantación permitió contabilizar un valor máximo cuando se aplicaron 5 mg/L de extracto de cúrcuma. Por lo tanto, la aplicación exógena de compuestos fenólicos extraídos de cúrcuma contribuyó al desarrollo de las plantas y mejoró significativamente la población de esporas.

Palabras clave: micorriza arbuscular, cilantro, cúrcuma

Abstract

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are recognized for establishing symbiosis with most vascular plants. The mutualistic relationship in which they are involved implies the uptake of nutrients (especially phosphorus) by the mycelium, which is then transported to the plant. This, in turn, provides it with carbohydrates necessary for its development. The routes by which the plant-fungus symbiosis is established may be positively influenced by the presence of secondary metabolites such as phenolic compounds. In the present investigation, the effect that turmeric phenolic compounds have on the development of fast-growing plants and their degree of mycorrhization is evaluated. When applying a mycorrhizal inoculum to coriander plants, they showed an increase in their development (dry and fresh weight and length), and when applying different concentrations of turmeric extract (3, 5 and 7 mg/L), growth was even more favoured. Obtaining mycorrhizal spores by the sifting and settling method allowed a maximum value to be recorded when 5 mg/L of turmeric extract was applied. Therefore, the exogenous application of phenolic compounds extracted from turmeric contributed to the development of the plants and significantly improved the spore population.

Key words: arbuscular mycorrhiza, cilantro, turmeric

Capítulo I: Introducción

Formulación del Problema

Conforme la población ha ido aumentando a través de los años, también se ha incrementado la necesidad de producir mayor cantidad de alimentos para satisfacer la demanda de millones de personas. En la búsqueda de métodos para crear un sistema de producción masivo, se ha encaminado a la agricultura hacia el uso dependiente de fertilizantes y pesticidas químicamente sintetizados; esto es a lo que actualmente se conoce como agricultura convencional (Santos et al., 2012).

El uso excesivo de pesticidas y fertilizantes provoca la contaminación del aire, suelo y aguas subterráneas (Bhardwaj et al., 2014). Dentro de este contexto, la mayor presión que ejerce la agricultura convencional se da en los suelos, ya que está formados por materia orgánica que es un componente esencial para conservar propiedades como la fertilidad química y biológica. Sin embargo, en muchas zonas estas características ya se han perdido debido a la actividad agrícola intensiva, esto también afecta a los próximos cultivos pues estos ya no tendrán la misma disponibilidad de nutrientes, debiendo incrementar el uso de fertilizantes para obtener el mismo rendimiento que se tenía al principio (Kopittke et al., 2019).

La aplicación de fertilizantes, sobre todo los nitrogenados ha permitido un aumento del rendimiento en un 30 a 50% en los cultivos, sin embargo, su uso indiscriminado ha provocado que su eficiencia disminuya. Al no ser asimilados completamente por las plantas, se produce su lixiviación que posteriormente provocará la acidificación del suelo. Otra consecuencia asociada a esta problemática es la erosión del suelo que se produce por la pérdida drástica de nutrientes, y reduce el volumen del medio de enraizamiento para los cultivos (Kopittke et al., 2019).

Justificación

Se prevé que la población siga en aumento y aunque se van desarrollado nuevas técnicas de obtención de alimentos como la hidroponía, el uso del suelo va a continuar siendo la principal forma de producción. En ese sentido, se ha buscado transformar la agricultura convencional reduciendo o eliminando los efectos negativos que posee.

Las nuevas tecnologías proponen el uso de agroinsumos orgánicos como biopesticidas y biofertilizantes que utilizan la biodiversidad microbiana y fúngica existente en los suelos. Las relaciones simbióticas son especialmente importantes en estos casos, y una de las más representativas son las que establecen las plantas con los hongos micorrícicos arbusculares (HMA).

Los hongos micorrícicos arbusculares se encuentran en la gran mayoría de ecosistemas y facilitan la absorción de nutrientes principalmente de fósforo y nitrógeno por las plantas, a su vez, ellas les proporcionan azúcares y lípidos. Además, en suelos pobres en nutrientes, los HMA pueden proporcionar la mayoría de los requerimientos nutricionales de las plantas huésped.

Existen varios factores que influyen en el establecimiento de la simbiosis entre hongo y planta. Uno de ellos tiene que ver con la adición de sustancias exógenas que actúan como moléculas de señal en estos procesos. Se ha descrito evidencias de que, dentro de estas sustancias se encuentran los compuestos fenólicos producidos por un sin número de plantas. La caracterización fitoquímica de *Curcuma longa* L. ha permitido conocer la diversidad en cuanto a metabolitos secundarios de esta especie. Algunos de los compuestos fenólicos encontrados en los rizomas de esta planta, han sido analizados y probados como sustancias que influyen de forma positiva el establecimiento de la simbiosis y, por ende, en el desarrollo y crecimiento de plantas con poder de micorrización.

Objetivos

Objetivo General del Proyecto

Evaluar el efecto de los compuestos fenólicos de *Curcuma longa* (Linn) en el desarrollo de plantas de crecimiento rápido y su grado de micorrización

Objetivos Específicos

1. Obtener el extracto de los compuestos fenólicos de *Curcuma longa* (Linn) mediante maceración para su aplicación en plantas de crecimiento rápido.
2. Sembrar plantas de crecimiento rápido con y sin micorrizas en macetas, para la aplicación de extracto de *Curcuma longa* (Linn).
3. Determinar el efecto de la aplicación del extracto de *Curcuma longa* (Linn) en plantas de crecimiento rápido y su grado de micorrización mediante análisis de biomasa, longitud de tallo y población de esporas.

Hipótesis

El efecto de los compuestos fenólicos de *Curcuma longa* (Linn) es estadísticamente positivo y significativo en el desarrollo de plantas de rápido crecimiento y su grado de micorrización.

Capítulo II: Marco Referencial

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son principios activos producidos principalmente por plantas, y son los metabolitos secundarios más abundantes de la naturaleza. Poseen diversidad química y funcional, ya que sirven como pigmentos, actúan como protección constitutiva contra organismos invasores, desempeñan el papel de moléculas señal, funcionan como compuestos alelopáticos y son componentes estructurales de la materia orgánica del suelo. Gracias a estas características, se ha puesto especial interés en estas sustancias para posibles usos potenciales en diversas disciplinas como Biología, Química, Medicina, Ecología y Agricultura (Siqueira et al., 1991). En la agricultura, los compuestos fenólicos han sido reconocidos como aleloquímicos, sustancias usadas en el mecanismo de defensa de las plantas y precursores para la síntesis de sustancias húmicas del suelo. Además, se ha demostrado su intervención en las interacciones entre plantas y microorganismos patógenos o mutualistas (Siqueira et al., 1991).

Una de las especies que es capaz de producir una variedad de metabolitos secundarios, es la cúrcuma (*Curcuma longa* L.). En esta especie se han realizado procesos de caracterización para conocer qué compuestos fenólicos posee y cuáles podrían ser sus posibles aplicaciones.

Cúrcuma

Curcuma longa L. es una hierba perenne anual y bianual que pertenece a la familia *Zingiberaceae*. La parte aérea de la planta presenta hojas frondosas y anchas, acompañadas de flores amarillas o blancas. En promedio llega a medir hasta 120 cm, pero esta característica puede depender de la variedad y las condiciones climáticas en donde se cultive (Nair, 2019). Dentro de su descripción morfológica resalta la existencia de un tallo subterráneo al que se le denomina rizoma (Figura 1). Este órgano funciona como reservorio de nutrientes y se caracteriza por tener una variada composición en aceites volátiles y

compuestos fenólicos; sustancias por las que el rizoma es de gran interés y valor comercial (Watson & Preedy, 2008).

Figura 1

Rizomas de Curcuma longa



Nota. Turmeric. Fuente: Synergy Among Dietary Spices in Exerting Antidiabetic Influences (p.416) de Pradeep & Srinivasan, (2019).

Los aceites volátiles del rizoma de *C. longa* se componen por terpenoides que le confieren su característico aroma. Entre ellos se encuentran: ar-tumerona y sus isómeros alfa y beta, que son los encargados de la actividad alelopática de la cúrcuma. También se han caracterizado compuestos como zingibereno, cariofileno, α -curcumeno, bisaboleno y α -sesquifelandrenendreno. La concentración en rizoma de cada uno de los terpenoides mencionados, depende de forma directa de la variedad que se esté analizando, la ubicación, condiciones en donde se cultivó y el método de extracción utilizado (Fernández, 2021).

Con respecto a la composición de compuestos fenólicos en el rizoma de *C. longa*, se ha podido identificar los siguientes polifenoles del grupo de los curcuminoides: curcumina I, que representa el 77% de la totalidad de estos compuestos y es la sustancia responsable de su color anaranjado característico. Otro tipo de polifenoles que se encuentran en menor cantidad son la demetoxicurcumina, bisdemetoxicurcumina, y ciclocurcumina. En análisis fitoquímicos del extracto alcohólico del rizoma de cúrcuma se ha encontrado otros

compuestos como curdiona, ácido cumárico, ácido cafeico, ácido sinápico, quercetin-3D-galactósido, casuarinina, curcuminol, entre otros (Sabir et al., 2020). De forma particular, se ha puesto mayor interés a los compuestos fenólicos, debido a que existen estudios que resaltan la importancia de estos principios activos como moléculas de señal en diversos procesos simbióticos (Fries et al., 1997).

Cilantro

Coriandrum sativum L. es una planta herbácea anual que pertenece a la familia *Apiaceae* (Atta-ur et al., 2020). Su semilla, de forma globular, presenta germinación de tipo epigea y desarrolla una raíz principal que, a su vez, da paso a raíces secundarias. El tallo, es erecto y simpodial con varias ramas laterales; su coloración es verde, aunque se torna de rojizo o violeta en el periodo de floración. Las hojas basales tienen un borde entero y trilobulado, mientras que las hojas de los nudos superiores son filiformes. La inflorescencia es una umbela compuesta que tiene de dos a ocho rayos primarios de diferente longitud cada uno, el color de los pétalos varía de rosa pálido a blanco (Figura 2) (Diederichsen, 1996).

Figura 2

Morfología de C. sativum



Nota. Coriandrum sativum. Fuente: Köhler's Medizinal-Pflanzen, (1897).

La germinación del cilantro puede tardar entre 10 a 21 días, transcurrido este periodo se necesitan temperaturas de 15 a 30 °C para el desarrollo de la planta. Las actividades de cosecha se realizan generalmente a los 50-90 días, es una de las hortalizas que requiere menos tiempo para completar su periodo vegetativo, en ese sentido, se la considera de rápido crecimiento (Pinzón & Isshiki, 2001). Respecto a los requerimientos nutricionales de esta especie, los macronutrientes más importantes para el cultivo, son potasio, nitrógeno, calcio, azufre, magnesio y fósforo (Preedy & Watson, 2020).

C. sativum es de gran valor comercial debido a su característico aroma que lo hace apetecible como especia, por esta razón es ampliamente cultivado. Además, ha sido usado ancestralmente como remedio para tratar diversos trastornos; sus hojas se han utilizado para estimular el apetito, mientras que las semillas se emplean para mejorar los problemas digestivos (Laribi et al., 2015). Al ser *C. sativum* una especie herbácea, se encuentra dentro de las plantas que se conocen que tienen la capacidad de establecer simbiosis con microorganismos del suelo, específicamente con micorrizas arbusculares (Oliveira et al., 2016).

Microbiota del Suelo

El suelo es uno de los ambientes que más biodiversidad alberga, en él viven millones de bacterias, hongos, actinomicetos y protozoos que le confieren propiedades únicas y permiten el desarrollo de actividades antropogénicas como la agricultura (Rodríguez & Julia, 2002). La microbiota mejora las condiciones del suelo para que sea fértil, transformando los nutrientes inorgánicos en formas biodisponibles para las plantas y además facilita la descomposición y mineralización de la materia orgánica (Vargas & Vargas, 2015).

Dentro del suelo existe una zona en particular que presenta una intensa actividad biológica y que está directamente influenciada por la presencia de las raíces de plantas vasculares; la rizosfera. Dentro de esta fracción suceden interacciones simbióticas como la fijación de nitrógeno y asociaciones micorrícicas que están lideradas respectivamente por bacterias y hongos. Estos microorganismos suelen incrementar su población y actividad

debido a la alta concentración de exudados de raíces de plantas que existe en esta región (Kennedy & de Luna, 2005).

Las bacterias se encargan de la fijación del nitrógeno y la descomposición de la materia orgánica hasta la hidrólisis de agroquímicos y subproductos metabólicos, y el mejoramiento de la biodisponibilidad de nitratos, sulfatos, fósforo y metales esenciales (Carrillo, 2013). Debido a su capacidad para agregar partículas, penetrar poros y fisuras de rocas, los hongos cumplen una importante función en la estructura del suelo, pero la característica más notable de estos microorganismos, es que forman grandes redes miceliales que favorecen el transporte de nutrientes hacia las plantas.

Hongos del Suelo

Los hongos tienen una amplia diversidad y distribución en todos los tipos de suelos. Poseen un micelio filamentososo que a su vez está compuesto de hifas individuales. Las hifas pueden ser uni, bi o multinucleadas y septadas o no septadas. Debido a que los hongos son organismos heterótrofos la cantidad y calidad de materia orgánica existente influye de forma directa en la población de hongos en el suelo. Estos microorganismos suelen colonizar por completo los suelos con pH ácido debido a que las bacterias y actinomicetos no crecen de forma favorable bajo estas condiciones (Buscot & Varma, 2004).

Los hongos se clasifican en Ficomietos, Ascomietos, Basidiomietos y Deuteromietos. La característica más importante de todas las clases de hongos del suelo, es que producen un micelio capaz de un crecer de forma polarizada hacia fuentes de sustrato adecuadas. También son capaces de degradar compuestos orgánicos muy complejos como la celulosa o la lignina y muchos de ellos desarrollan simbiosis con las raíces de las plantas (micorrizas) y obtienen azúcares simples de ellas. Los siguientes géneros de hongos se encuentran más comúnmente en los suelos: *Acrostalagmus*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cephalosporidium*, *Gliocladium*, *Monilia*, *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Spicaria*, *Trichoderma*, *Trichodcium*, *Verticillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Pillularia*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Absidia*, etc. (Buscot & Varma, 2004).

Hongos Micorrícicos

Los hongos micorrícicos se encuentran en la rizósfera de la mayoría de plantas vasculares y tienen la capacidad de formar asociaciones simbióticas, la mayoría son del tipo mutualista. Las hifas de estos hongos, permiten que las raíces de las plantas tengan mayor superficie de contacto con el suelo e incrementan la solubilidad de los nutrientes como el fósforo, además, pueden proteger las raíces de las plantas de la invasión de microorganismos con potencial de patogenicidad. (Kennedy & de Luna, 2005).

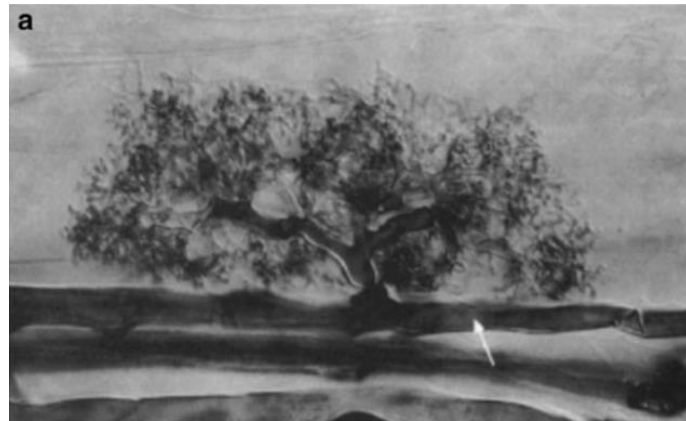
Existen varios tipos de micorrizas y estas se clasifican de acuerdo a su morfología, taxonomía del hongo y de la planta huésped en: ectomicorrizas, endomicorrizas, micorrizas ericoides, micorrizas arbutoides, monotropoides, ect-endomicorrizas y micorrizas orquidáceas (Buscot & Varma, 2004), de estos siete tipos descritos los más abundantes son endomicorrizas y ectomicorrizas.

Hongos Micorrícicos Arbusculares

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) son el tipo más común de micorrizas, y por ende se encuentran asociados a una gran variedad de plantas. Presentan un carácter mutualista obligado, y se los ha clasificado en un filo independiente denominado Glomeromycota. Parte de su nombre (arbuscular), se debe a la presencia de estructuras llamadas arbusculos (Figura 3), estas se encuentran dentro de las células corticales de las raíces y juegan un importante rol en el intercambio bidireccional de nutrientes (Shah, 2014). Toda micorriza arbuscular consta de tres componentes principales: la raíz de la planta huésped, las estructuras fúngicas inter e intracelulares y un micelio externo a la raíz que se localiza en el suelo. (Smith & Read, 2010).

Figura 3

Arbúsculo: estructura característica de los hongos micorrícicos arbusculares



Nota. Arbúsculo dentro de célula cortical de *Allium porrum*. Fuente: A new method for observing the morphology of vesicular–arbuscular mycorrhizae de Brundrett et al., (1984)

Los HMA tienen un sistema de reproducción asexual por medio de esporas principalmente, estas se encuentran en el suelo circundante. Dichas esporas presentan características morfológicas únicas como su estructura multinucleada, su tamaño (llegan a medir hasta 500 μm de diámetro), color, hifa de sostén y ornamentación de la pared exterior. Contienen abundantes lípidos y carbohidratos, sus paredes conformadas por quitina y β (1-3) glucano son gruesas y resistentes. Todas estas propiedades han contribuido al establecimiento de las descripciones taxonómicas de este filo (Smith & Read, 2010).

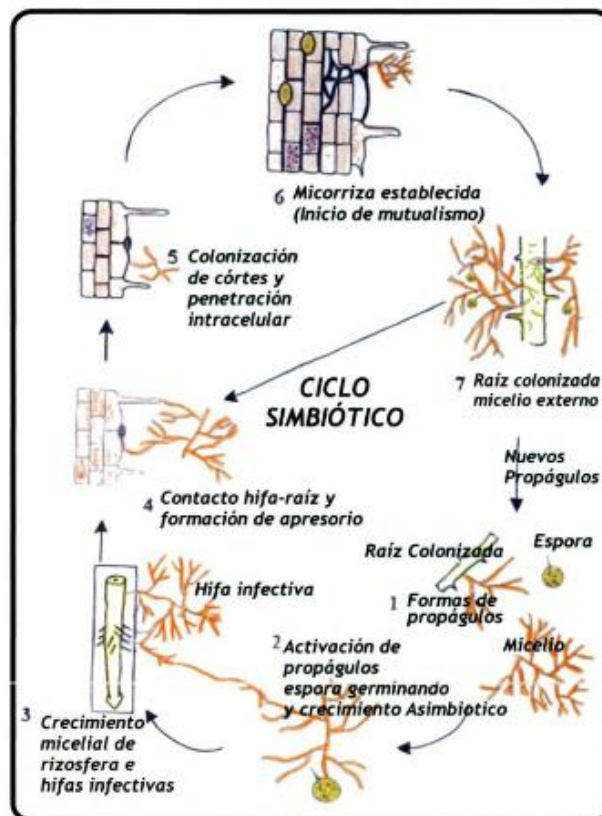
Desarrollo de HMA

Para que los HMA se propague y desarrollen, debe existir un inóculo que dé inicio al ciclo de vida. Los principales inóculos son esporas, fragmentos de raíces infectadas e hifas, colectivamente se denominan propágulos. En el caso en donde la fuente de inóculo son las esporas, la germinación puede suceder de tres formas; a través de escudos de germinación, a través de la pared y por el rebrote a través de la unión de hifas. Este proceso no depende estrictamente de la presencia de raíces, pero se han reportado casos en los que el porcentaje de germinación aumenta en su presencia. Posteriormente, se da el crecimiento de la hifa que, cuando localiza a la raíz se adhiere a ella y forma apresorios.

Seguido a esto, la hifa penetra la epidermis y las células exodérmicas hasta llegar a la corteza media e interna de raíz, para luego formar arbusculos. Una vez que el hongo ha infectado la raíz, se da paso al desarrollo de las hifas externas (Figura 4) (Smith & Read, 2010).

Figura 4

Desarrollo del ciclo de vida de los HMA



Nota. Pasos en los que se desarrolla la infección de raíces por hongos micorrízicos arbusculares. Fuente: La micorriza arbuscular. Características, Producción y Aplicaciones (p.9) de Salamanca & Cano, (2004)

Importancia de las micorrizas en las plantas

Mediante experimentos en los que se han hecho crecer plantas micorrizadas y no micorrizadas, se ha logrado comprobar que la presencia de HMA permite que las plantas tengan una mejor absorción de nutrientes y agua. Uno de los nutrientes importantes y a la vez escaso en cuanto a biodisponibilidad, es el fósforo, aun así, las micorrizas arbusculares

son capaces de captar y extraer este elemento de fuentes que de otra forma serían inaccesibles para las plantas. La formación del micelio externo le proporciona a la planta una mayor exploración y alcance al suelo (Kennedy & de Luna, 2005).

Por otra parte, los HMA también contribuyen a mejorar algunas de las propiedades del suelo. Las hifas del micelio externo permiten que se formen micro y macroagregados, que ayudan a disminuir los efectos de la erosión, brindándole a la planta una mejor superficie de adhesión. El micelio es capaz de secretar una glicoproteína protectora llamada glomalina, su funcionalidad en el hongo consiste en evitar que se pierdan los nutrientes y agua durante el transporte del suelo a la planta, y como consecuencia secundaria esta sustancia también actúa como una especie de pegamento con propiedades hidrofóbicas que facilita la agregación del suelo (Rillig & Mummey, 2006).

Capítulo III: Metodología

Zona de Estudio

La fase experimental del proyecto de integración curricular se realizó en el Laboratorio de Microbiología de Suelos del Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, ubicada en Sangolquí, cantón Rumiñahui, Provincia de Pichincha.

Periodo de Investigación

La investigación se realizó en un lapso de cuatro meses, contados desde el mes de noviembre del 2022 hasta febrero de 2023.

Diseño Experimental

Se estableció un Diseño Multifactorial 2x4 y se aplicó un análisis de varianza ANOVA para conocer la variación e interacción de los tratamientos establecidos. Los factores evaluados fueron:

Factor 1: número de esporas micorrícicas inicial

- *M*: 5 esporas/ g suelo
- *M0*: 0 esporas/ g suelo

Factor 2: concentración de extracto de *C. longa*

- *T1*: 0 mg/L de extracto de cúrcuma
- *T2*: 3 mg/L de extracto de cúrcuma
- *T3*: 5 mg/L de extracto de cúrcuma
- *T4*: 7 mg/L de extracto de cúrcuma

La interacción de los factores dio lugar a ocho tratamientos que se muestran y se describen en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1

Interacción entre número de esporas iniciales y concentración del extracto de cúrcuma, de acuerdo al tratamiento

# esporas/ g suelo	Concentración de extracto de <i>C. longa</i> (mg/L)				
5	0	3	5	7	
0	0	3	5	7	

Tabla 2

Descripción de los tratamientos empleados en el ensayo

N°	Tratamientos	Descripción
1	<i>MT1</i>	63% Inóculo Micorrícico+ 33% Tierra estéril+ 4% Paja de Arroz
2	<i>MT2</i>	63% Inóculo Micorrícico+ 33% Tierra estéril+ 4% Paja de Arroz + 3 mg/L Extracto de cúrcuma
3	<i>MT3</i>	63% Inóculo Micorrícico+ 33% Tierra estéril+ 4% Paja de Arroz + 5 mg/L Extracto de cúrcuma
4	<i>MT4</i>	63% Inóculo Micorrícico+ 33% Tierra estéril+ 4% Paja de Arroz + 7 mg/L Extracto de cúrcuma
5	<i>MOT1</i>	96% Tierra estéril+ 4% Paja de Arroz
6	<i>MOT2</i>	96% Tierra estéril+ 4% Paja de Arroz + 3 mg/L Extracto de cúrcuma
7	<i>MOT3</i>	96% Tierra estéril+ 4% Paja de Arroz + 5 mg/L Extracto de cúrcuma
8	<i>MOT4</i>	96% Tierra estéril+ 4% Paja de Arroz + 7 mg/L Extracto de cúrcuma

Operatividad de Variables

Las variables dependientes e independientes se analizaron en base a factores que se detallan en la Tabla 3.

Tabla 3

Variables y factores a determinar

Variable	Factor a determinar	Unidad de medida
Independiente	Concentración de extracto de <i>C. longa</i>	mg/L
Dependiente	Biomasa de plantas	Gramos (g)
	Crecimiento de plantas	Centímetros (cm)
	Población de hongos micorrícicos	# esporas/ g sustrato

Toma de muestras de suelo para elección de inóculo micorrícico

Se recolectaron 300 g de suelo de cultivos de papa (*Solanum tuberosum*), yuca (*Manihot esculenta*) y alfalfa (*Medicago sativa*) provenientes de las zonas de la Manuelita Sáenz del cantón Quito, Santo Domingo de los Tsáchilas y Yaruquí respectivamente. Las muestras se tomaron de los alrededores de los cultivos realizando una excavación con una profundidad de 20 cm desde la superficie del suelo, cada muestra se colocó en bolsas plásticas previamente etiquetadas.

Tratamiento de muestras de suelo

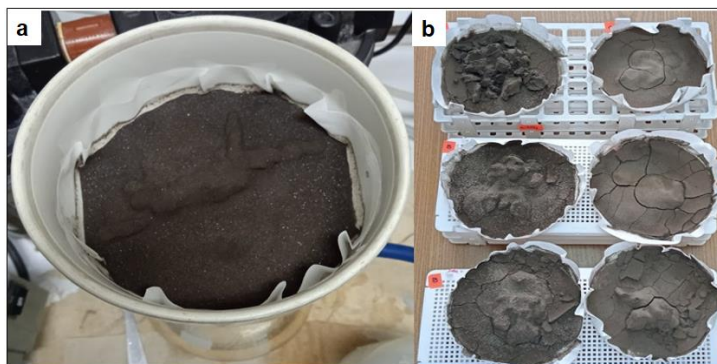
Las muestras recolectadas se procesaron de acuerdo a la técnica de tamizado y decantación en húmedo propuesta por Gerdemann y Nicholson (1963). Se colocaron las muestras en bandejas plásticas previamente etiquetadas y se dejaron secar por dos días a temperatura ambiente. Una vez cumplido este tiempo se homogeneizó cada muestra y se retiró el material vegetal, rocas o partículas ajenas a la composición del suelo. A continuación, se pesaron 100 g de cada muestra y se colocaron en vasos de precipitación

de 1000 mL previamente rotulados. Posteriormente se añadió una solución de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 1% hasta cubrir totalmente la cantidad de suelo, durante una hora.

Transcurrido el tiempo, se procesó cada una de las muestras de la siguiente forma: se tamizó la muestra de suelo usando tamices de 500, 150 y 45 μm . De este proceso se obtuvieron tres fracciones; A, B y C. La fracción A fue descartada, la fracción B se colectó y se licuó por 30 segundos en alta velocidad, mientras que la fracción C se colectó y se licuó en velocidad baja durante 60 segundos. Cada fracción pasó por un segundo proceso de tamizado, posteriormente se secó sobre papel filtro en una bomba de vacío (Figura 5a). Luego, las muestras se dejaron secar por dos días a temperatura ambiente (Figura 5b).

Figura 5

Decantación y secado de muestras de suelo



Nota. a) Muestra de suelo sobre papel filtro y embudo Büchner en equipo de decantación al vacío. b) Fracciones secas de una muestra de suelo.

Observación, conteo de esporas y elección de inóculo micorrízico

Una vez que las fracciones se secaron por completo, se registró su peso total (tanto de la fracción B y C). El 10% del peso total de la fracción B y el 5% de la fracción C se colocaron en tubos Falcon de 50 mL y se añadió agua destilada y solución de sacarosa al 45%, se realizaron tres repeticiones de cada fracción. Los tubos se centrifugaron durante 5 minutos a 2500 rpm.

Después de centrifugar se eliminó el sobrenadante con la ayuda del tamiz de 45 μm , también se realizó un breve enjuague con agua destilada y se dejó caer lo que quedó de

cada fracción en placas Petri cuadriculadas para su posterior observación, identificación y conteo en estéreomicroscopio.

Para determinar el número de esporas de cada muestra primero se realizó un promedio de las tres repeticiones de cada fracción, después para la fracción B este resultado se multiplicó por 10, mientras que para la fracción C el promedio se multiplicó por 20. Por último, se sumaron los últimos dos resultados y se obtuvo el número de esporas en 100 gramos de suelo, estos cálculos se resumen en las ecuaciones 1, 2 y 3. El resultado fue útil para elegir el suelo que sirvió como inóculo micorrízico para el ensayo.

$$\frac{\# \text{ esporas (B)}}{100 \text{ g suelo}} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} * 10 \quad (1)$$

$$\frac{\# \text{ esporas (C)}}{100 \text{ g suelo}} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} * 20 \quad (2)$$

Donde n: 3 (repeticiones)

$$\frac{\# \text{ esporas (B)}}{100 \text{ g suelo}} + \frac{\# \text{ esporas (C)}}{100 \text{ g suelo}} = \frac{\# \text{ esporas}}{100 \text{ g suelo}} \cdot \frac{1}{100} = \frac{\# \text{ esporas}}{\text{g suelo}} \quad (3)$$

Para la obtención de las imágenes de las esporas, se las capturó con una micropipeta de 10 µL, a continuación, se las dispuso sobre una placa portaobjetos, se agregó una gota de reactivo de Meltzer y PVLG (polivinílico en lactoglicerol), se cubrió con un cubreobjetos y se observó bajo el microscopio con el lente objetivo de 10x.

Preparación del sustrato de propagación

El sustrato de propagación consistió en la mezcla de inóculo micorrízico seleccionado, tierra esterilizada y paja de arroz en porcentajes de 63, 33 y 4% respectivamente para el tratamiento *M*, mientras que para el tratamiento *MO* se mezcló únicamente tierra esterilizada y paja de arroz en proporciones de 2:1. La tierra usada para el tratamiento *MO* se esterilizó en autoclave a 121 °C y 15 Psi durante 30 minutos.

Montaje de Ensayo

Para el montaje del ensayo se utilizaron macetas de 12 oz de capacidad. Se prepararon 24 macetas, 12 de ellas fueron llenadas con el sustrato del tratamiento *M* (con inóculo micorrízico) y las otras 12 se llenaron con el sustrato del tratamiento *MO* (sin

micorrizas), se realizaron tres repeticiones de cada tratamiento. Se sembró 7 semillas de cilantro (*C. sativum*) en cada maceta a una profundidad de 1 cm desde la superficie del sustrato.

Mantenimiento nutricional del ensayo

El ensayo tuvo un periodo de duración de dos meses, durante los primeros 20 días las plantas fueron regadas con solución nutritiva de Hewitt (Anexo 1) y agua destilada de forma alternada de tal forma que la solución nutritiva se aplicó dos veces por semana. Durante el tiempo restante del ensayo, se aplicó el extracto de *C. longa* (30 mL) una vez por semana durante seis semanas y el riego se complementó con agua destilada.

Extracto de *Curcuma longa* (Linn)

Obtención de Material Vegetal

Para la preparación del extracto se emplearon rizomas de *Curcuma longa* (Linn) que fueron obtenidas en tiendas de productos orgánicos.

Tratamiento de la muestra

Se lavaron y pesaron 454 g de rizomas de cúrcuma. A continuación, se realizaron cortes en láminas finas y se dispuso sobre bandejas con papel absorbente, finalmente se dejaron secar durante una semana a temperatura ambiente y evitando la luz ultravioleta.

Una vez que la muestra estuvo seca, se trituró en un molino eléctrico hasta obtener un polvo fino (Figura 6).

Figura 6

Rizomas de C. longa triturados



Obtención del extracto

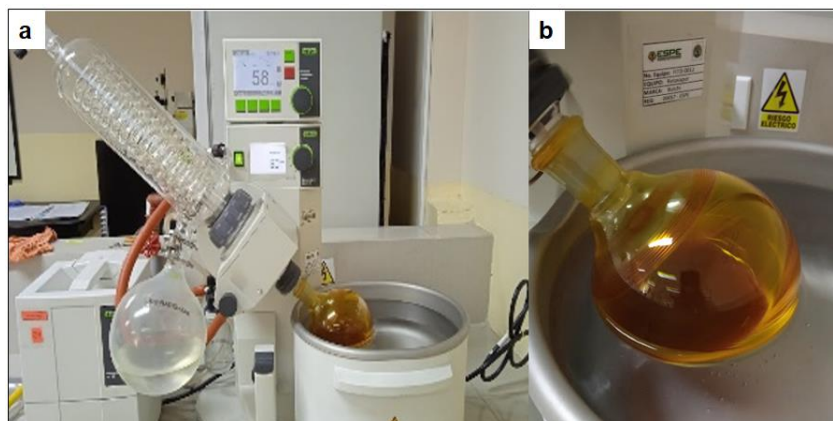
El extracto se obtuvo mediante maceración de 40 g de rizomas de cúrcuma triturados, el solvente utilizado fue etanol absoluto. El macerado se colocó en una botella ámbar con tapa y se mantuvo en maceración durante 3 días con periodos de agitación manual.

De forma complementaria, se usó también el método Soxhlet para concentrar el macerado. Este se colocó en un cartucho de celulosa que luego se introdujo a la cámara de extracción, que estaba conectada a un balón de destilación y a un refrigerante. El etanol absoluto se calentó a 50°C hasta llegar a la ebullición. El proceso transcurrió de tal forma que, el vapor producto de la ebullición se condensaba y volvía a caer sobre los rizomas triturados dentro del cartucho. Esto se repitió durante 2 horas, hasta conseguir el agotamiento del material triturado. El extracto final se colocó en un balón de destilación, protegido con papel aluminio y se mantuvo en refrigeración.

Posteriormente el extracto se concentró utilizando un Rotavapor-215 marca BUCHI, se colocó el balón de destilación en el baño María del rotavapor a 35 °C, 130 rpm y 58 mbar de presión (Figura 7a). El proceso se mantuvo por una hora y media hasta que se observó la evaporación de todo el solvente y la formación de una sustancia viscosa de color anaranjado-rojizo en el balón (Figura 7b). Finalmente, el extracto concentrado se mantuvo en refrigeración y cubierto con papel aluminio.

Figura 7

Extracción de compuestos fenólicos de rizomas de C. longa mediante el método Soxhlet



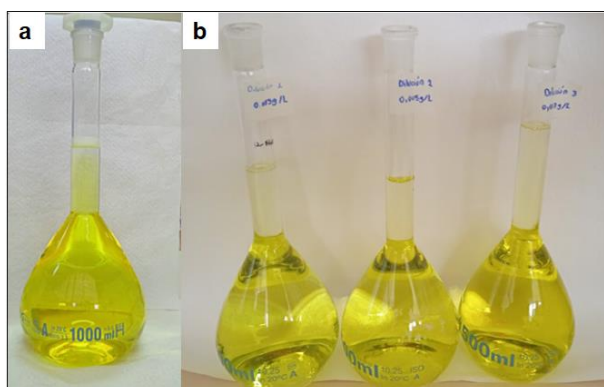
Nota. Proceso de concentrado de extracto de *C. longa*: a) equipo de rotaevaporación compuesto por un baño María, refrigerante y balón de destilación; b) Formación de anillos rojizos en las paredes del balón que indica que el proceso de concentrado ha comenzado.

Preparación de diluciones

En primer lugar, se preparó una solución stock con una concentración de 0.015 g/L, se pesaron 0.015 g del extracto y se disolvieron en un litro de agua destilada añadiendo 300 μ L de Tween 20 y 300 μ L de dimetilsulfóxido (DMSO) para diluir por completo el extracto. La solución stock se almacenó bajo refrigeración y protegida de la luz. Las concentraciones de las diluciones a aplicar en los tratamientos fueron 3, 5 y 7 mg/L (Figura 8).

Figura 8

Preparación de solución stock (a) y soluciones a concentraciones de 3, 5 y 7 mg/L (b)



Levantamiento de ensayo

Una vez transcurridos 60 días de propagación se levantó el ensayo y se realizó la evaluación:

- Medición de la longitud del tallo de las plantas: se midió la longitud de la parte más larga del tallo.
- Medición del peso fresco total (PFT): se pesaron las plantas completas después de extraerlas de cada una de las macetas.
- Medición del peso fresco de raíz (PFR): se pesaron únicamente las raíces de las plantas.
- Medición del peso fresco aéreo (PFA): se pesaron las partes aéreas de las plantas.
- Medición del peso seco total (PST): se pesaron las plantas completas después de que se secaron.
- Medición del peso seco de raíz (PSR): se pesaron las raíces después de su proceso de secado.
- Medición del peso seco aéreo (PSA): se pesaron las partes aéreas de las plantas después de su proceso de secado.
- Conteo de esporas: las muestras se procesaron como se describe en el Capítulo II, pág. 21 y se realizó un promedio de las 3 repeticiones.

Capítulo IV: Resultados y Discusión

Observación, conteo de esporas de hongos micorrícicos y elección del inóculo micorrícico

Para seleccionar el inóculo micorrícico aplicable al ensayo, se realizó una comparación entre las muestras de cada uno de los cultivos y se escogió la muestra que tuvo el valor más alto de esporas por gramo de suelo. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4

Número de esporas micorrícicas obtenidas en los muestreos realizados

Muestra	Sector	Cultivo	# esporas / 100 g suelo	# esporas / g suelo
1	Manuelita Sáenz (Quito)	Papa	800	8
2	Nuevo Israel (Sto. Domingo de los Tsáchilas)	Yuca	630	6.3
3	Yaruquí (Quito)	Alfalfa	500	5

En base a estos resultados, se escogió el suelo con el inóculo del sector de Manuelita Sáenz por poseer el valor más alto. Para el montaje de los ensayos se calculó la población micorrícica inicial, de acuerdo a las proporciones de los componentes usados para la mezcla del sustrato. De esta forma para el tratamiento M (con inóculo micorrícico) el valor inicial fue de 5 esporas por gramo de suelo, mientras que para el tratamiento M_0 la cantidad de esporas fue cero ya que el sustrato estaba esterilizado.

Desarrollo de Plantas de *C. sativum*

Longitud de Plantas

Para evaluar el desarrollo de las plantas de *C. sativum*, se utilizó el test de rangos múltiples de Duncan, con el fin de conocer qué tratamiento es estadísticamente mejor que el

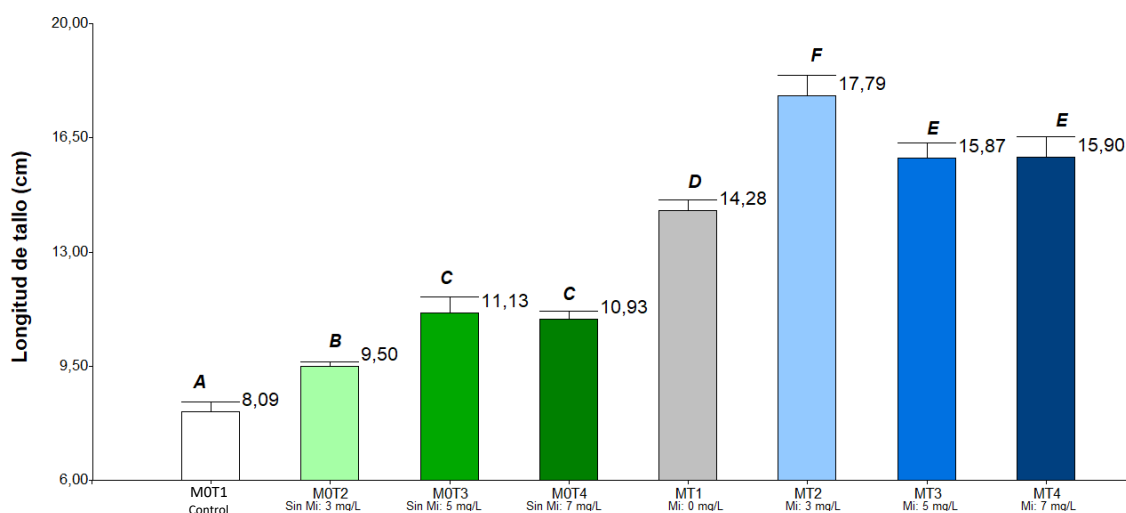
resto. Al analizar el crecimiento de las plantas (respecto a su longitud expresada en centímetros), se pudo observar que, el tratamiento que resultó efectivo fue en el que se aplicaron micorrizas y 3 mg/L del extracto de *C. longa* (MT2); en este caso la longitud aumentó un 37 % con respecto al control. Además, en la Figura 9, se evidencia que, todos los tratamientos en los que se aplicó micorrizas y extracto de cúrcuma, presentaron un incremento en la longitud en comparación con las plantas control; es decir, se reflejó una correlación positiva entre estos dos factores.

Aunque en la literatura científica aún no se registran resultados que describen el efecto que tiene la combinación de micorrizas arbusculares y la aplicación de un extracto de cúrcuma, estudios previos han señalado la importancia que ambos factores tienen por separado en el desarrollo de varias especies de plantas.

Haciendo alusión al efecto que las micorrizas tienen sobre la altura de las plantas, Hooli (2014) demostró que, en un periodo de 45 días, la longitud del cilantro inoculado con micorrizas aumentó al doble, en comparación a las plantas control que no tenían ningún tipo de microorganismo simbiótico. Hallazgos semejantes se hicieron en los otros estudios llevados a cabo por Jee y colaboradores (2020), en plantas de cilantro micorrizadas y por Baczek y colaboradores (2019), en plantas de manzanilla, que al igual que el cilantro, es una especie herbácea, aromática y de uso medicinal. Todos estos resultados coinciden con lo obtenido en nuestro proyecto de investigación, pues la longitud de las plantas de cilantro presentó un incremento significativo con la aplicación de micorrizas y extracto de cúrcuma.

Figura 9

Longitud de plantas de *C. sativum* respecto a los diferentes tratamientos



Nota. Medias de los tratamientos a un nivel de significancia de $p > 0.05$. Tratamientos: *MOT1* (control): sin micorrizas y sin extracto de cúrcuma; *MOT2*: sin micorrizas y 3 mg/L de extracto; *MOT3*: sin micorrizas y 5 mg/L de extracto; *MOT4*: sin micorrizas y 7 mg/L de extracto; *MT1*: micorrizas y sin extracto de cúrcuma; *MT2*: micorrizas y 3 mg/L de extracto, *MT3*: micorrizas y 5 mg/L de extracto, *MT4*: micorrizas y 7 mg/L de extracto. Las letras mayúsculas sobre las barras, indican si existe o no diferencia entre tratamientos.

Peso Fresco de Plantas

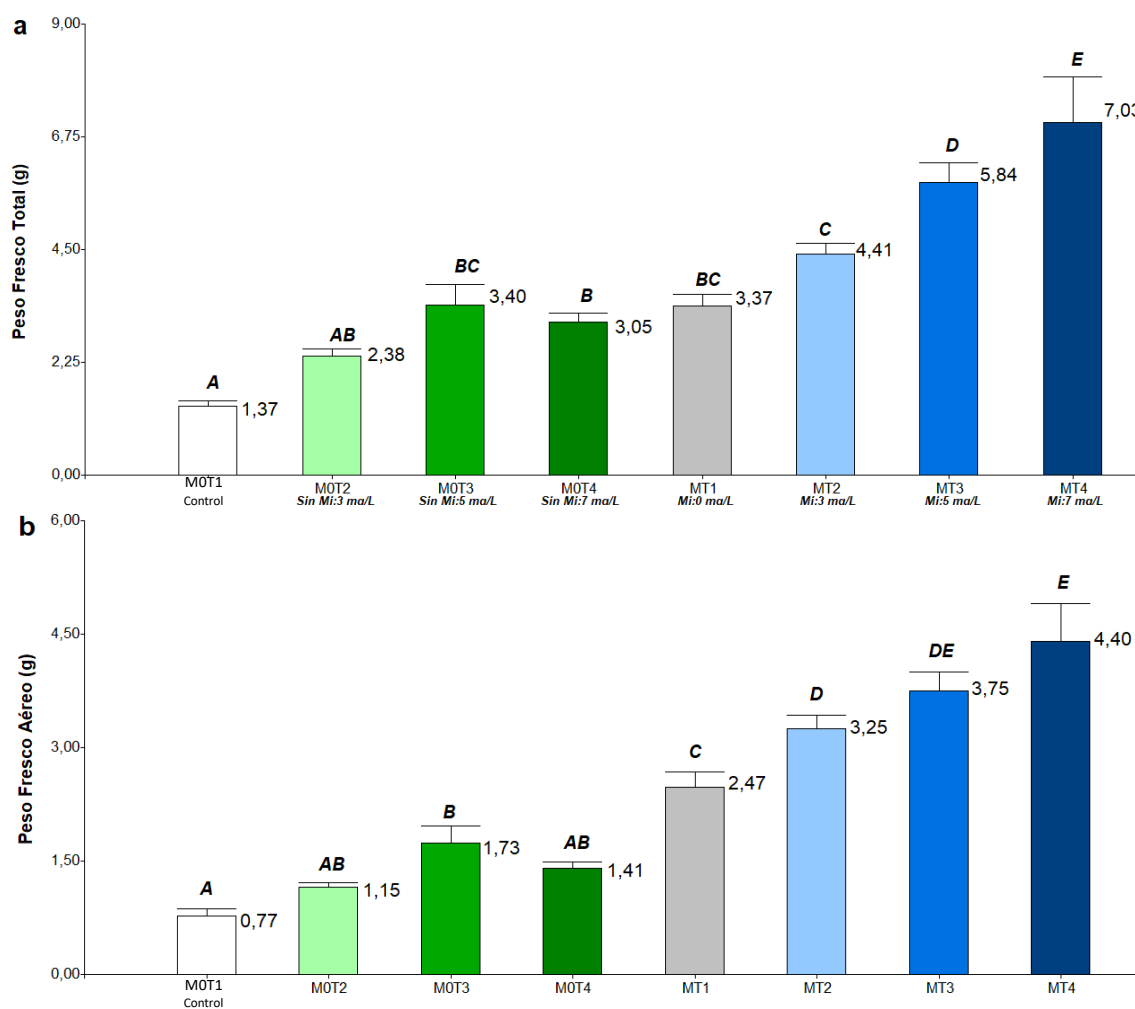
El efecto que cada uno de los tratamientos tuvo en el peso fresco de las plantas de *C. sativum* se resume en la Figura 10. Como se puede observar, se registró un incremento gradual del peso total y parcial (tallos y raíces) conforme se aumentó la concentración del extracto de *C. longa* en plantas micorrizadas. Tanto en el peso total, como en el de la parte aérea y raíces, se evidenció que el mejor tratamiento fue en el que se aplicaron micorrizas y extracto de cúrcuma a la concentración más alta (7 mg/L).

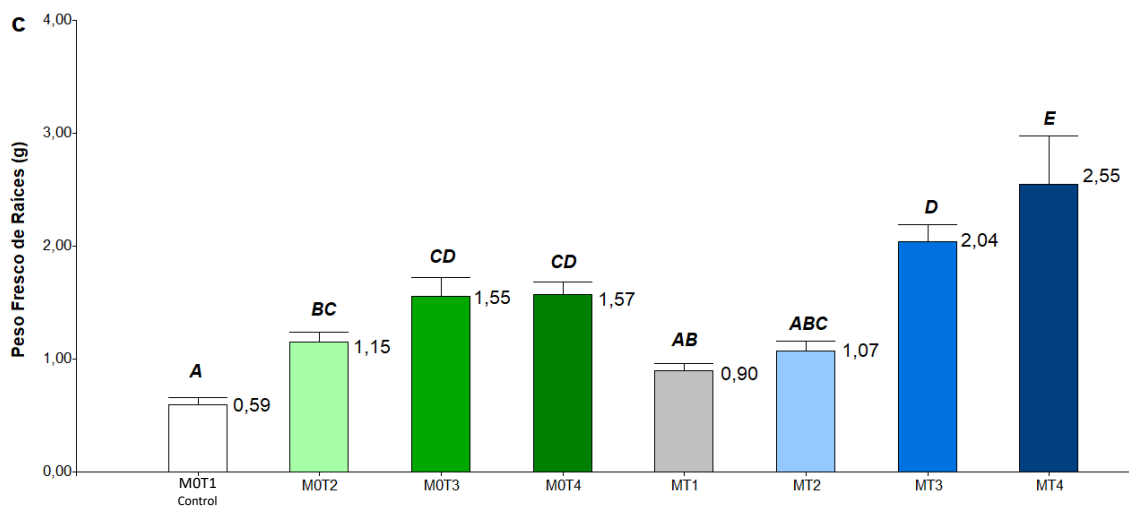
Los resultados observados en este estudio son similares a lo encontrado por Oliveira y sus colaboradores (2016), quienes comprobaron que, los HMA mejoran la absorción de nutrientes en plantas de cilantro en un periodo de 62 días, esta mejora se ve reflejada en el aumento del peso fresco de las plantas micorrizadas en comparación a las que no lo están.

En el caso del peso fresco de las raíces, en nuestro ensayo se observó un leve aumento en comparación con lo determinado por Oliveira. Este incremento puede deberse a la aplicación simultánea del extracto de compuestos fenólicos de cúrcuma, ya que Oliveira solo mantuvo sus tratamientos con micorrizas. Jee y sus colaboradores (2020), también determinaron el desarrollo de plantas de cilantro en base al peso fresco, dando como resultado un efecto positivo y significativo cuando se aplicó un inóculo micorrícico.

Figura 10

Peso Fresco de plantas de C. sativum de acuerdo a cada tratamiento





Nota. Medias de los tratamientos a un nivel de significancia de $p > 0.05$. Tratamientos: *MOT1* (control): sin micorrizas y sin extracto de cúrcuma; *MOT2*: sin micorrizas y 3 mg/L de extracto; *MOT3*: sin micorrizas y 5 mg/L de extracto; *MOT4*: sin micorrizas y 7 mg/L de extracto; *MT1*: micorrizas y sin extracto de cúrcuma; *MT2*: micorrizas y 3 mg/L de extracto, *MT3*: micorrizas y 5 mg/L de extracto, *MT4*: micorrizas y 7 mg/L de extracto. Las letras mayúsculas sobre las barras, indican si existe o no diferencia entre tratamientos.

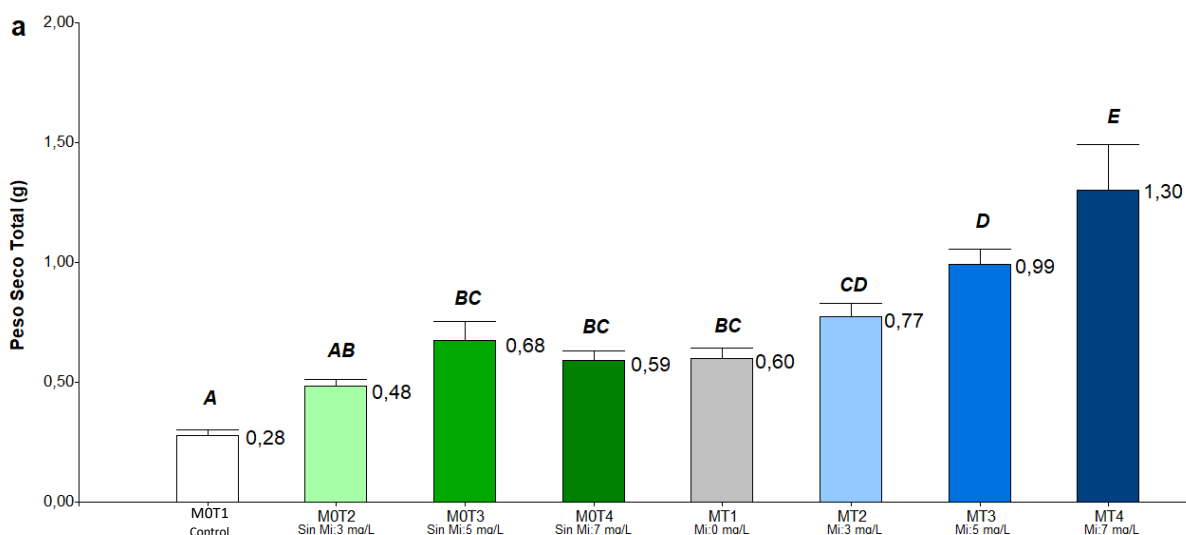
Peso Seco de plantas

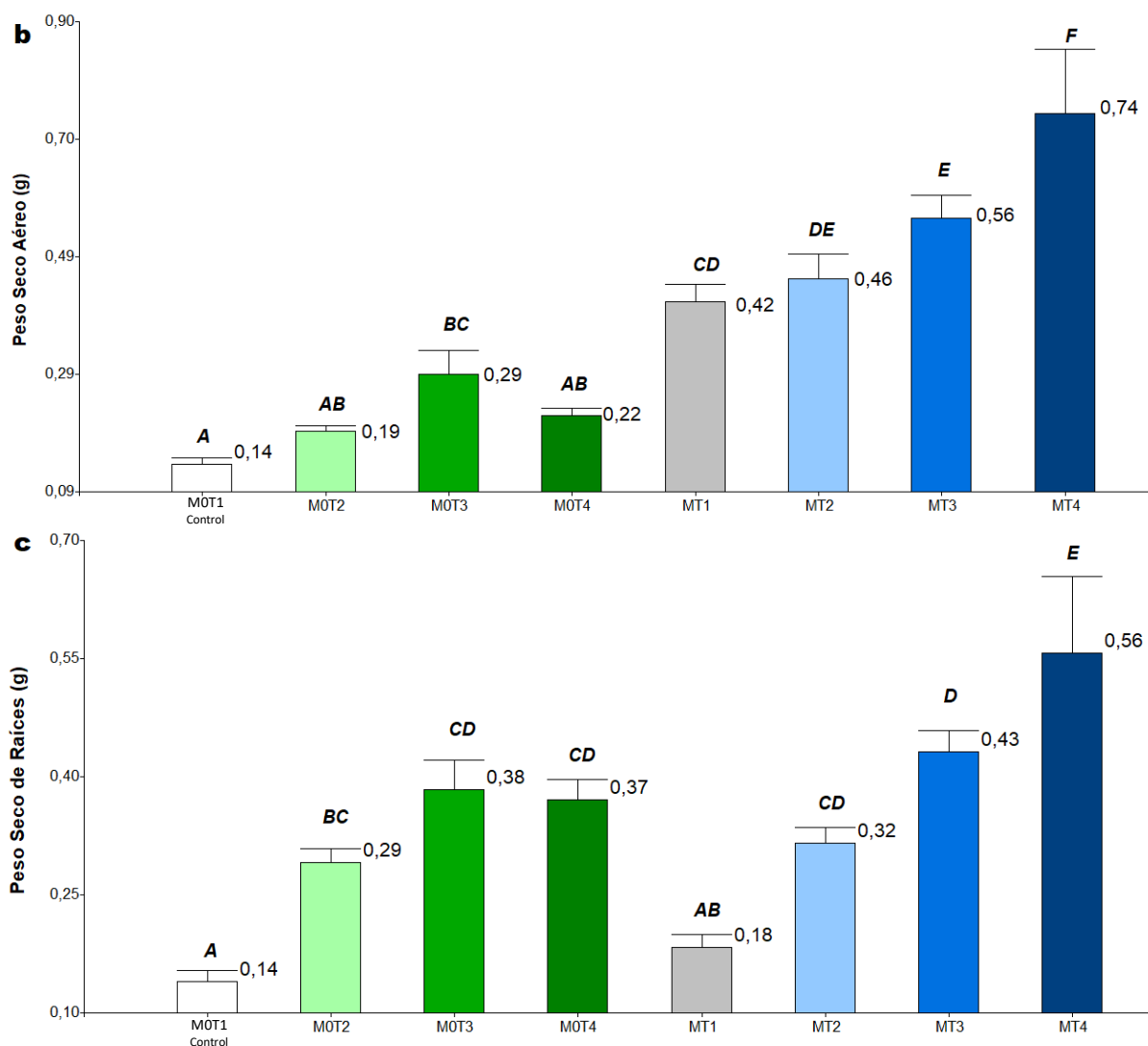
Los datos que se observan en la Figura 11, muestran el mismo patrón obtenido en el análisis del peso fresco. Es decir, la aplicación de extracto de cúrcuma y la inoculación con micorrizas influenciaron de forma positiva en el peso seco total, aéreo y de raíces de las plantas de *C. sativum*, con respecto al control. En los tres casos, el mejor tratamiento continuó siendo el que contenía micorrizas y extracto de cúrcuma a una concentración de 7 mg/L (*MT4*). De la misma manera, se observa un aumento producido por la aplicación del extracto de cúrcuma en plantas no micorrizadas respecto al control. Se conoce que los compuestos fenólicos actúan como moléculas de señal para mediar las rutas por las cuales se establece la simbiosis, es decir, pueden promover la colonización de las raíces por parte de los HMA. Además, estos compuestos son capaces de incrementar el crecimiento de la planta, permitiendo tener un mejor rendimiento del cultivo. Fries y sus colaboradores (1997), en su estudio *Plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal colonization affected by exogenously applied phenolic compound*, realizaron aplicaciones de una solución de ácido

p-cumárico en plantas micorrizadas de tréboles (*Trifolium repens* L.) y sorgo (*Sorghum bicolor* L.). Las especies fueron sembradas e inoculadas con esporas de *Glomus intraradices*. Al final del ensayo se determinó que, al aplicar la solución de ácido fenólico cada siete días se mejoró de forma significativa el peso seco de tallos y raíces de ambas especies de plantas, en comparación al control, en el que no se aplicó ningún compuesto. Esto refuerza la hipótesis propuesta en nuestro estudio, pues es interesante conocer que los rizomas de cúrcuma también contienen ácidos fenólicos como el ácido p-cumárico, y de forma semejante, el extracto de cúrcuma y la inoculación micorrízica influenciaron de forma positiva el peso seco de las plantas de cilantro. Ambos ensayos refuerzan la teoría de que, los ácidos fenólicos tienen un efecto positivo en el crecimiento de plantas.

Figura 11

Peso seco de plantas de *C. sativum* de acuerdo a cada tratamiento





Nota. Medias de los tratamientos a un nivel de significancia de $p > 0.05$. Tratamientos: *MOT1* (control): sin micorrizas y sin extracto de cúrcuma; *MOT2*: sin micorrizas y 3 mg/L de extracto; *MOT3*: sin micorrizas y 5 mg/L de extracto; *MOT4*: sin micorrizas y 7 mg/L de extracto; *MT1*: micorrizas y sin extracto de cúrcuma; *MT2*: micorrizas y 3 mg/L de extracto, *MT3*: micorrizas y 5 mg/L de extracto, *MT4*: micorrizas y 7 mg/L de extracto. Las letras mayúsculas sobre las barras, indican si existe o no diferencia entre tratamientos.

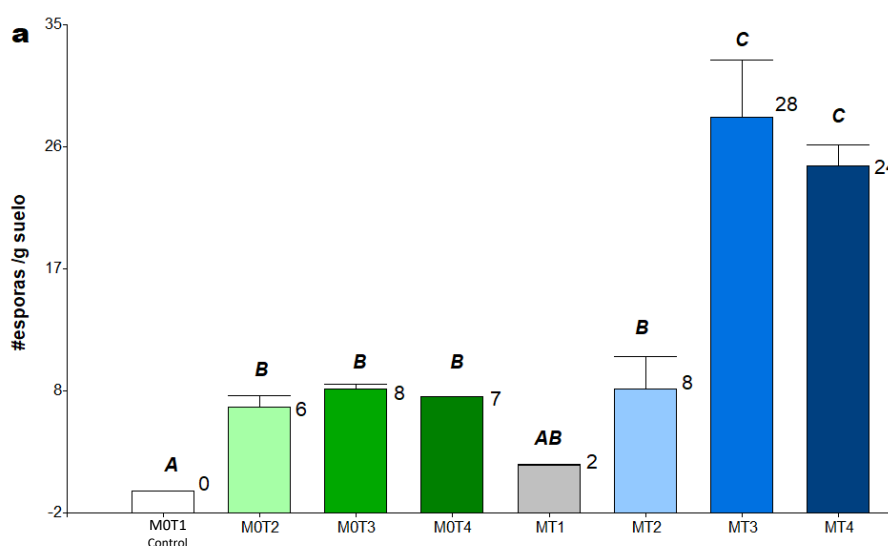
Población de esporas micorrícicas

La población de esporas medida como el número de esporas micorrícicas por gramo de suelo, tuvo el mismo nivel de significancia estadística en los tratamientos en los que se aplicó 5 mg/L (*MT3*) y 7 mg/L (*MT4*) de extracto de cúrcuma (Figura 12). Los tratamientos correspondientes a *MO* (sin micorrizas), no presentaron diferencia significativa entre sí, sin

embargo, el número de esporas obtenido resulta inesperado. Estos hallazgos sugieren que las macetas correspondientes a estos tratamientos, se contaminaron con las esporas de los tratamientos *M* (con micorrizas). Esta podría ser la explicación por la cual, al analizar el peso fresco, peso seco y longitud de las plantas de cilantro, se observó una mejora que anteriormente se pensó que se debía a la aplicación del extracto de cúrcuma.

Figura 12

Diagrama de barras del número de esporas por gramo de suelo (a) y esporas por maceta (b), de acuerdo a cada tratamiento



Nota. Medias de los tratamientos a un nivel de significancia de $p > 0.05$. Tratamientos: sin micorrizas y sin extracto; *MOT2*: Sin micorrizas y 3 mg/L de extracto; *MOT3*: sin micorrizas y 5 mg/L, *MOT4*: sin micorrizas y 7 mg/L, *MT1*: micorrizas y 0 mg/L, *MT2*: micorrizas y 3 mg/L, *MT3*: micorrizas y 5 mg/L, *MT4*: micorrizas y 7 mg/L. Las letras mayúsculas sobre las barras, evidencian si existe o no diferencia entre tratamientos.

Figura 13

Fotografías de estructuras de esporas contabilizadas en el ensayo



Nota. Fotografías obtenidas con el microscopio óptico con un enfoque de 10x. Se pueden observar esporas con su pared exterior, esporas con hifas, esporas explotadas.

Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

Se obtuvo el extracto etanólico de rizomas de cúrcuma mediante maceración y técnica Soxhlet, dicho extracto fue empleado para preparar diluciones (3, 5 y 7mg/L) aplicables a los tratamientos.

Las plantas de cilantro (*C. sativum*), escogidas para el ensayo, emergieron a los 20 días de haber sembrado las semillas, y en los 40 días posteriores alcanzaron una longitud promedio de 13 cm. La aplicación del extracto etanólico de rizomas de cúrcuma a plantas de *C. sativum* micorrizadas, incrementó su crecimiento (longitud y peso) en comparación a las plantas no micorrizadas. Además, la aplicación del extracto también produjo un aumento notable en la población hongos micorrícicos (medidos de acuerdo al número de esporas por gramo de suelo).

Se obtuvo un máximo de 28 esporas por gramo de suelo cuando se aplicó extracto de cúrcuma a una concentración de 5 mg/L. Tanto el peso fresco, seco y longitud de las plantas de *C. sativum* aumentaron de forma significativa en porcentajes de 67%, 64% y 37% respectivamente, con respecto a los controles. La concentración óptima de extracto para el desarrollo de plantas en longitud, fue de 3 mg/L, mientras que para el peso total fue de 7 mg/L.

Recomendaciones

Después de haber comprobado que la aplicación del extracto de rizomas de *C. longa* tiene un efecto positivo en las plantas y en el número de esporas micorrícicas, se recomienda realizar la caracterización y cuantificación de ácido p-cumárico, y otros compuestos fenólicos de dicho extracto. Esto puede ayudar a esclarecer cómo suceden los mecanismos por los cuáles suceden las primeras etapas de la simbiosis, y cómo se ve influenciada por los metabolitos secundarios exógenos.

Bibliografía

- Atta-ur, R., Choudhary, M. I., & Yousuf, S. (2020). *Science of Spices and Culinary Herbs: Volume 3*. Bentham Science Publishers.
- Bhardwaj, D., Ansari, M. W., Sahoo, R. K., & Tuteja, N. (2014). Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories*, 13(1), 66. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-66>
- Brundrett, M. C., Piché, Y., & Peterson, R. L. (1984). A new method for observing the morphology of vesicular–arbuscular mycorrhizae. *Canadian Journal of Botany*, 62(10), 2128-2134. <https://doi.org/10.1139/b84-290>
- Buscot, F., & Varma, A. (2004). *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions*. Springer Science & Business Media.
- Carrillo, L. (2013). *Manual de microbiología agrícola*. <https://isbn.cloud/9789507214653/manual-de-microbiologia-agricola/>
- Diederichsen, A. (1996). *Coriander: Coriandrum Sativum L.* Bioersity International.
- Fernández, E. M. (2021). *Curcuma longa L., de la cocina al botiquín*. <https://idus.us.es/handle/11441/133385>
- Fries, L. L. M., Pacovsky, R. S., Safir, G. R., & Siqueira, J. O. (1997). Plant Growth and Arbuscular Mycorrhizal Fungal Colonization Affected by Exogenously Applied Phenolic Compounds. *Journal of Chemical Ecology*, 23(7), 1755-1767. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000006449.09141.cd>
- Kennedy, A. C., & de Luna, L. Z. (2005). RHIZOSPHERE. En *Encyclopedia of Soils in the Environment* (pp. 399-406). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-12-348530-4/00163-6>
- Kopittke, P. M., Menzies, N. W., Wang, P., McKenna, B. A., & Lombi, E. (2019). Soil and the intensification of agriculture for global food security. *Environment International*, 132, 105078. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105078>

- Laribi, B., Kouki, K., M'Hamdi, M., & Bettaieb, T. (2015). Coriander (*Coriandrum sativum* L.) and its bioactive constituents. *Fitoterapia*, 103, 9-26.
<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.03.012>
- Nair, K. P. (2019). *Turmeric (Curcuma longa L.) and Ginger (Zingiber officinale Rosc.) - World's Invaluable Medicinal Spices: The Agronomy and Economy of Turmeric and Ginger*. Springer Nature.
- Oliveira, R. S., Ma, Y., Rocha, I., Carvalho, M. F., Vosátka, M., & Freitas, H. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi are an alternative to the application of chemical fertilizer in the production of the medicinal and aromatic plant *Coriandrum sativum* L. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 79(7), 320-328.
<https://doi.org/10.1080/15287394.2016.1153447>
- Pinzón, H., & Isshiki, M. (2001). *El Cultivo de Algunas Hortalizas Promisorias en Colombia*. Corpoica.
- Pradeep, S. R., & Srinivasan, K. (2019). Synergy Among Dietary Spices in Exerting Antidiabetic Influences. En *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes* (pp. 407-424). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813822-9.00028-X>
- Preedy, V. R., & Watson, R. R. (2020). *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. Academic Press.
- Rillig, M. C., & Mummey, D. L. (2006). Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171(1), 41-53. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x>
- Rodríguez, L., & Julia, V. (2002). *Efecto antagónico y biocontrolador de algunos microorganismos saprofícticos contra «Rhizoctonia solani» patógeno causante del «damping off» en plantas de tomate*.
https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/rodriguez_lv/contenido.htm
- Sabir, S. M., Zeb, A., Mahmood, M., Abbas, S. R., Ahmad, Z., & Iqbal, N. (2020). Phytochemical analysis and biological activities of ethanolic extract of *Curcuma longa* rhizome. *Brazilian Journal of Biology*, 81, 737-740. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.230628>

- Salamanca, C., & Cano, C. (2004). *La micorriza arbuscular. Características, Producción y Aplicaciones*. Corpoica.
- Santos, V. B., Araújo, A. S. F., Leite, L. F. C., Nunes, L. A. P. L., & Melo, W. J. (2012). Soil microbial biomass and organic matter fractions during transition from conventional to organic farming systems. *Geoderma*, 170, 227-231.
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2011.11.007>
- Shah, M. A. (2014). Mycorrhizas: An Overview. En M. A. Shah (Ed.), *Mycorrhizas: Novel Dimensions in the Changing World* (pp. 5-12). Springer India.
https://doi.org/10.1007/978-81-322-1865-4_2
- Siqueira, J. O., Nair, M. G., Hammerschmidt, R., Safir, G. R., & Putnam, A. R. (1991). Significance of phenolic compounds in plant-soil-microbial systems. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 10(1), 63-121. <https://doi.org/10.1080/07352689109382307>
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2010). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press.
- Vargas, C., & Vargas, L. (2015). *Análisis Microbiológico de Suelos*.
<http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/Av-1820.PDF>
- Watson, R. R., & Preedy, V. R. (2008). *Botanical Medicine in Clinical Practice*. CABI.

Apéndices