



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



**UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE**  
**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**

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

**Autor:** Andrea Mishell Reina Recalde

**Directora:** Duchicela Escobar, Jessica Ivonne PhD

Sangolquí, 03 Marzo 2023



# Índice de Contenidos

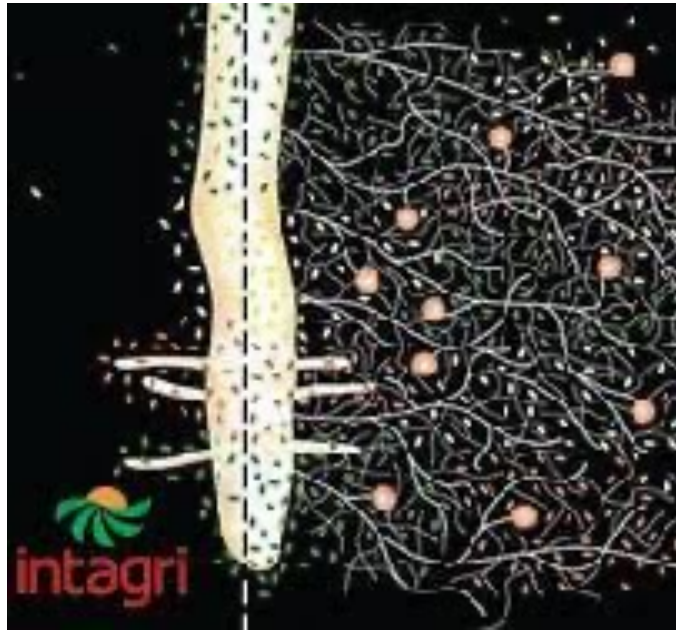
- » Introducción
- » Objetivos
- » Hipótesis
- » Materiales y métodos
- » Resultados y discusión
- » Conclusiones
- » Recomendaciones
- » Agradecimientos



# Introducción

## Generalidades de las Micorrizas

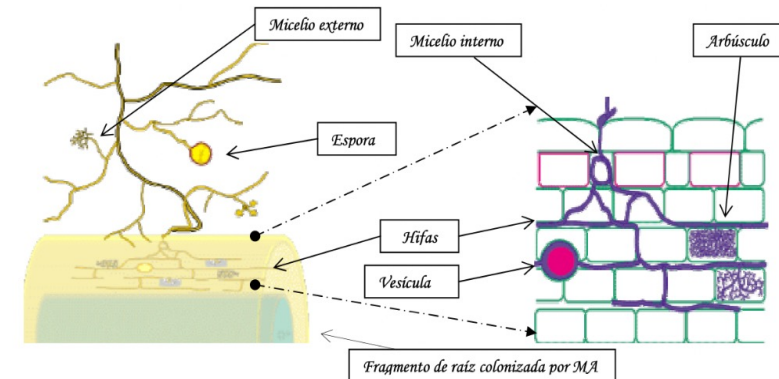
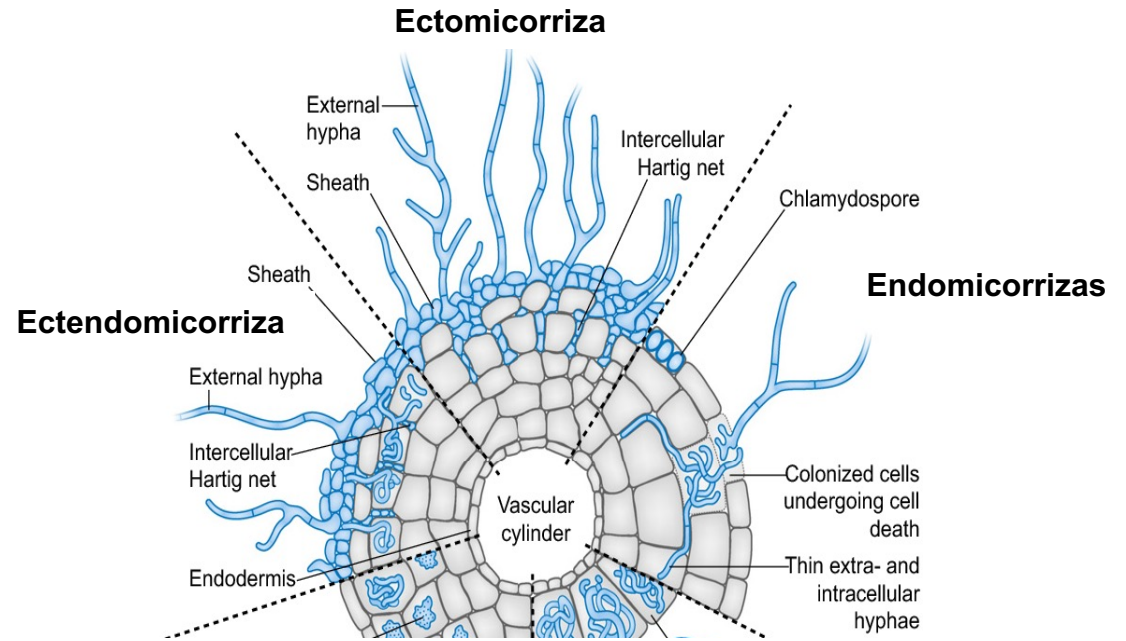
Asociaciones mutualistas  
Planta- hongo



Mejoras en la planta a  
diversos problemas



Menos costoso  
energéticamente producir  
HMA



# Introducción

Esporas 50-100 um  
Unica fase independiente



Características de la planta hospedera, grado de perturbación

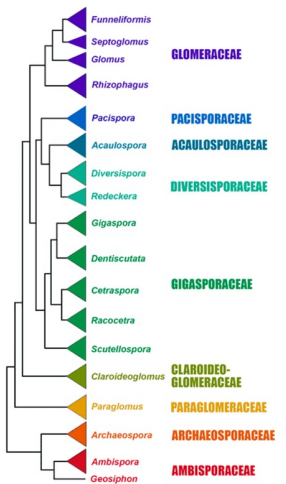
Contaminación del suelo por material bélico



- Carga medioambiental
- Modificaciones en el suelo
- Cambios estructurales
- Contaminación
- PTC's

Taxonomía

Basados en la morfología de la espora



## Importancia

- Mejorar las propiedades del suelo
- Filtros
- Tolerancia a los metales pesados



(Garg & Chandel, 2010); (Ruiz, 2020); (Luiz Stürmer, 2023); (Bolaños-B et al., 2000); (Stadler et al., 2022); (Fernandez-Lopez et al., 2022); (Aguero & Terreux, 2019); (Riaz et al., 2021); (Garg & Cheema, 2021)



# 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.

---



# Hipótesis

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



# Materiales y métodos

## Muestreo

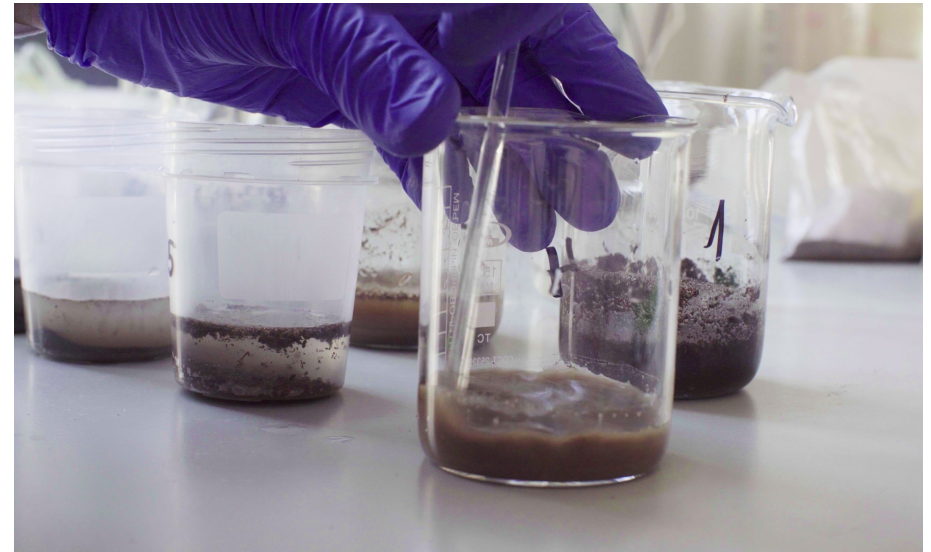
Brigada militar “El Corazón”



Total: 11 muestras

## Análisis complementario

- Análisis físico- químico del suelo

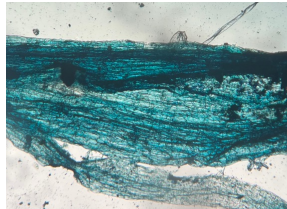
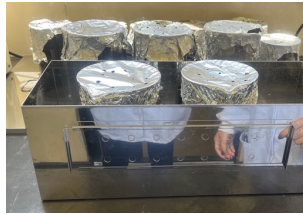
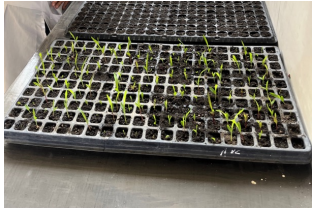


Cu	Cobre	N	Nitrógeno
B	Boro	P	Fósforo
Fe	Fierro	K	Potasio
Mn	Manganeso	Ca	Calcio
Zn	Zinc	Mg	Magnesio

# Materiales y métodos

## MIP

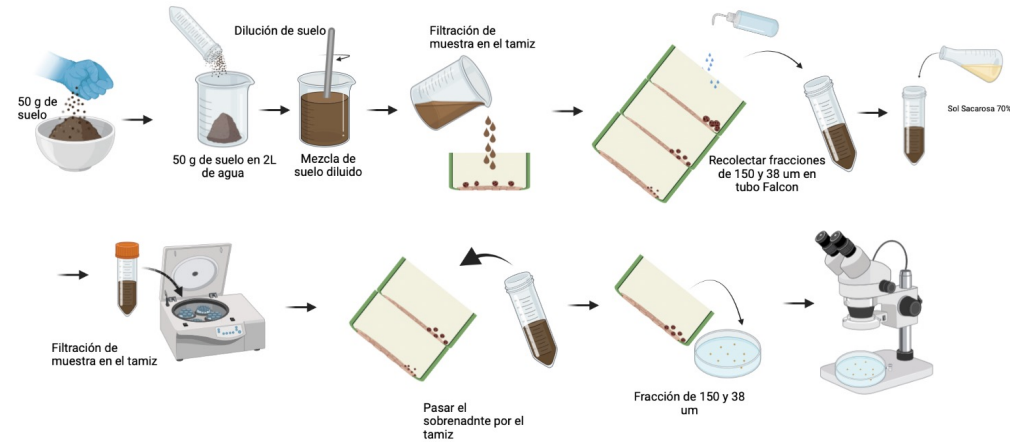
1. Germinación de Sorgo
2. Preparación arena de Río
3. Montaje de Experimento
3. Tinción y montaje de raíces
4. Determinación del MIP



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

## Extracción de Esporas

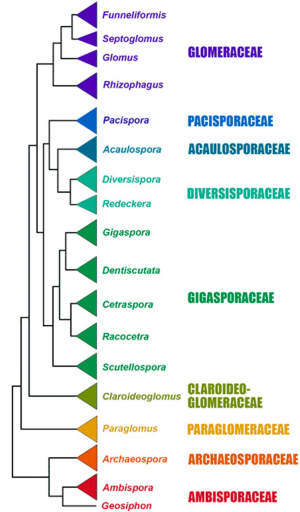
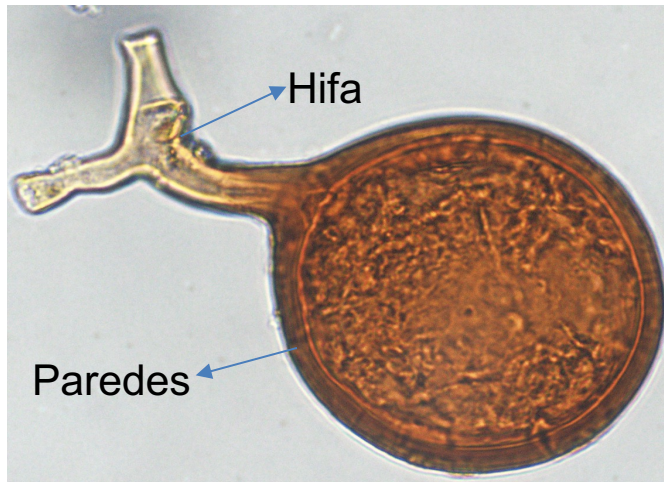
- Tamizaje en humedo





# Materiales y métodos

## Descripción morfológica



## Análisis estadísticos

- Prueba U de Mann-Whitney
- Prueba t independiente

**jamovi** Stats.  
Open.  
Now.

 **Prism 9**

# Resultados y discusión

## Análisis físico-químicos del suelo

Muestra de suelo	Punto de muestreo	N	P	K	Ca	Mg	Zn	Cu	Fe	Mn	pH
Unidad		(ppm)			(meq/100g)			(ppm)			
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



Ph alcalino: Exceso de P, Ca, C.

**Fósforo blanco**

Niveles altos de P influye en el desarrollo de HMA

Los niveles de los nutrientes repercute en la población de HMA

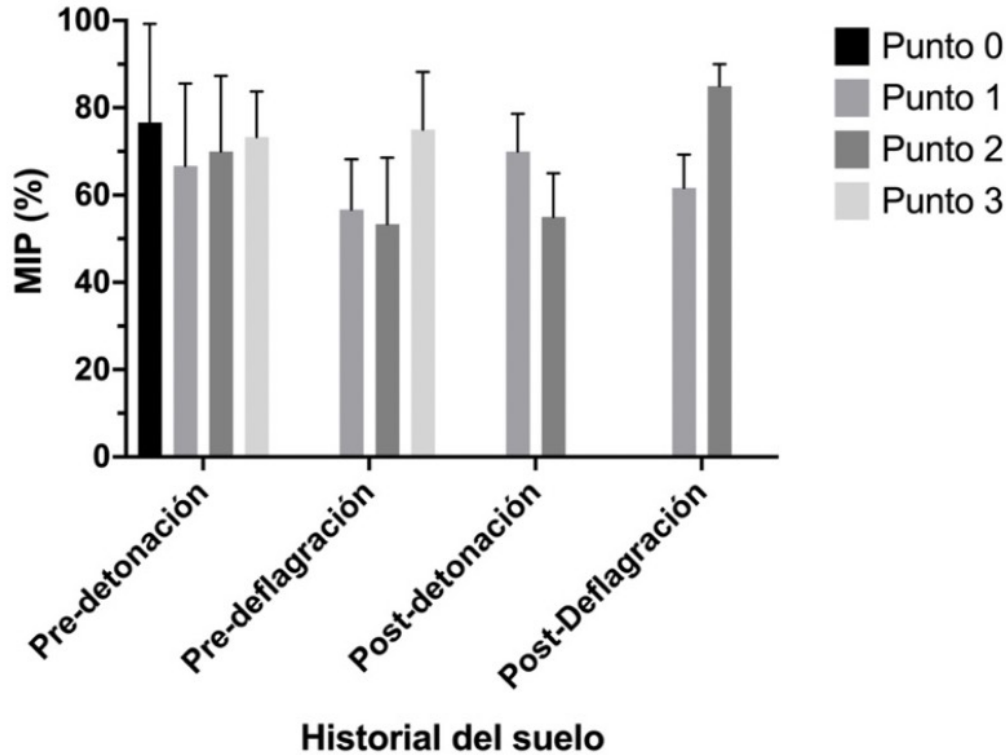
Valores altos



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

# Resultados y discusión

## MIP



Depende: Sorgo propaga efectivamente HMA

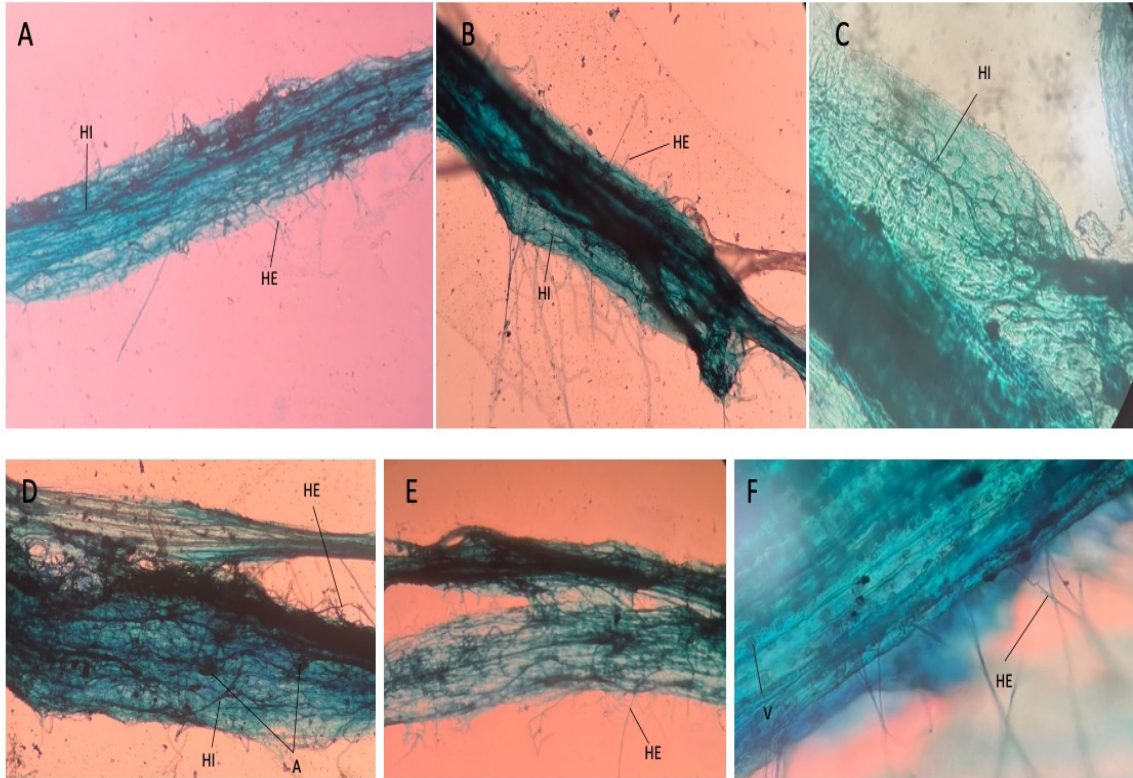
Formación micorrízica inicial de 2-4 semanas

Método de la unidad de infección (UI)

# Resultados y discusión

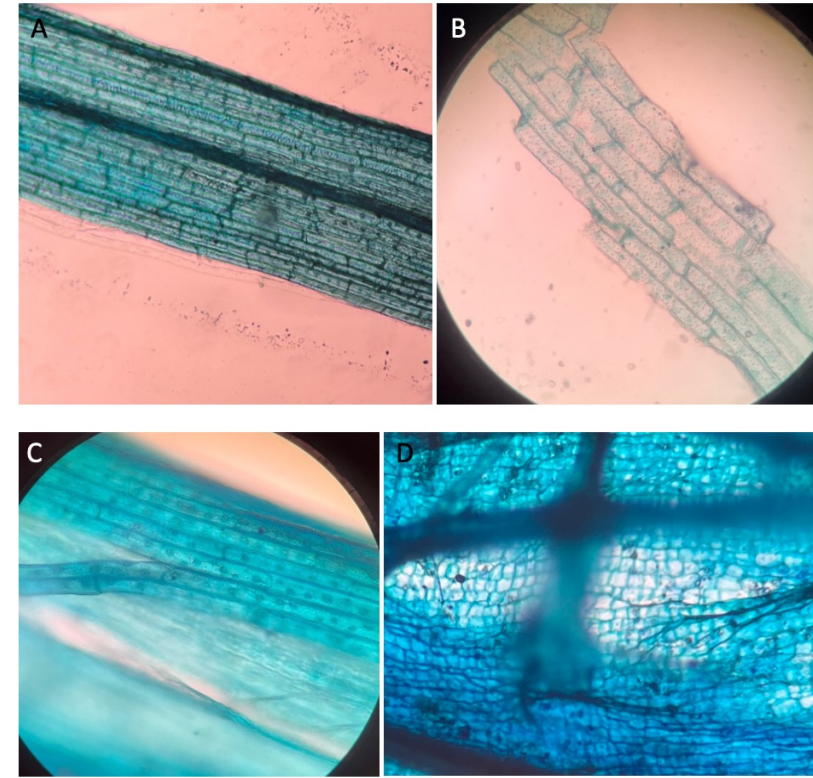
MIP

Con Colonización



Hifa germinativa de HMA forma estructuras de infección que invaden la planta

Sin Colonización



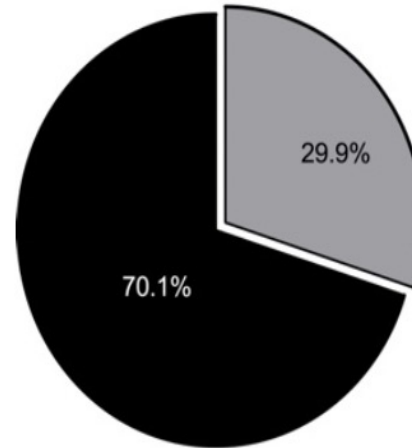
Existen protocolos para la tinción que permiten una mejor visualización

# Resultados y discusión

## Taxonomía de los HMA

Muestra	Código*	Tamiz	Color	# de esporas
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 traslucida	5
10	PRDF-R2-T38	38 µm	Gris traslúcido	1
11	PRDF-R3-T150	150 µm	Gris traslúcido	1
12	PRDF-R3-T38	38 µm	Café, gris traslúcido, roja y tomate	5
13	PSDT-R1-T150	150 µm	Roja y gris traslúcida	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 traslucida	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
<b>Total</b>				<b>87</b>

### Densidad de Esporas



■ Post-Detonación/Deflagración

■ Pre-Detonación/Deflagración

(61) Antes de disturbación

(26) Después de la disturbación

Total=87

Colores: Negras,  
Rojas, Tomates,  
Grices, Verdes,  
Amarillas y Cafés

Contaminación por TNT, RDX, HMX, pentolita, dinamita, perjudica la salud del suelo.



# Resultados y discusión

## Identificación de Géneros

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
Morfoespecie 7	<i>Glomus</i>	44
Morfoespecie 8	<i>Acaulospora</i>	1

Taxonomía inicial:  
color, forma, etc.  
Personal capacitado

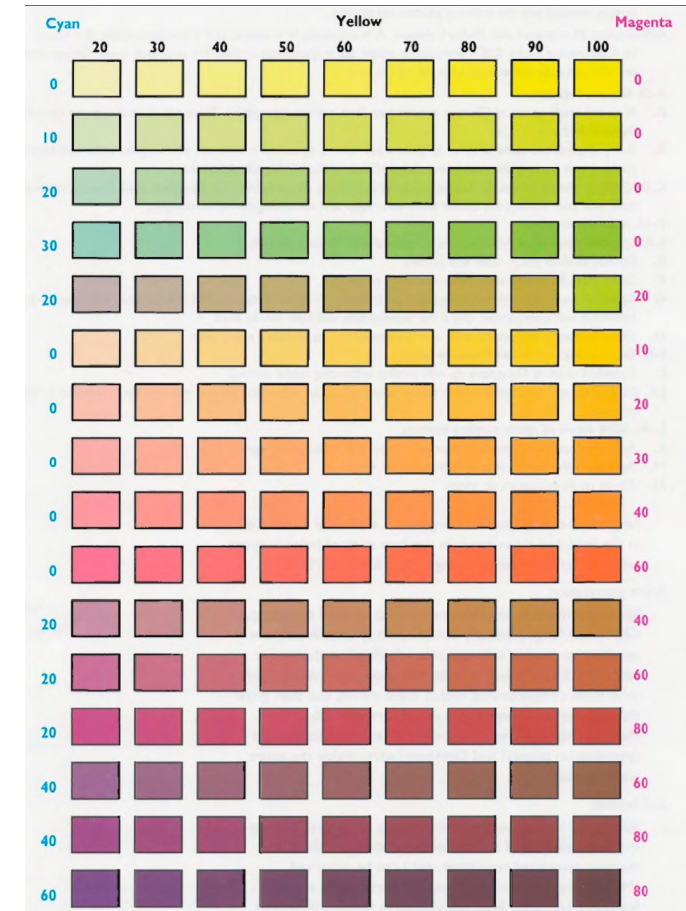
Nuevos parámetros  
para la identificación  
de HMA

*Glomus, Gigaspora,  
Entrophospora y  
Acaulospora.*

# Resultados y discusión

## Características morfológicas

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)

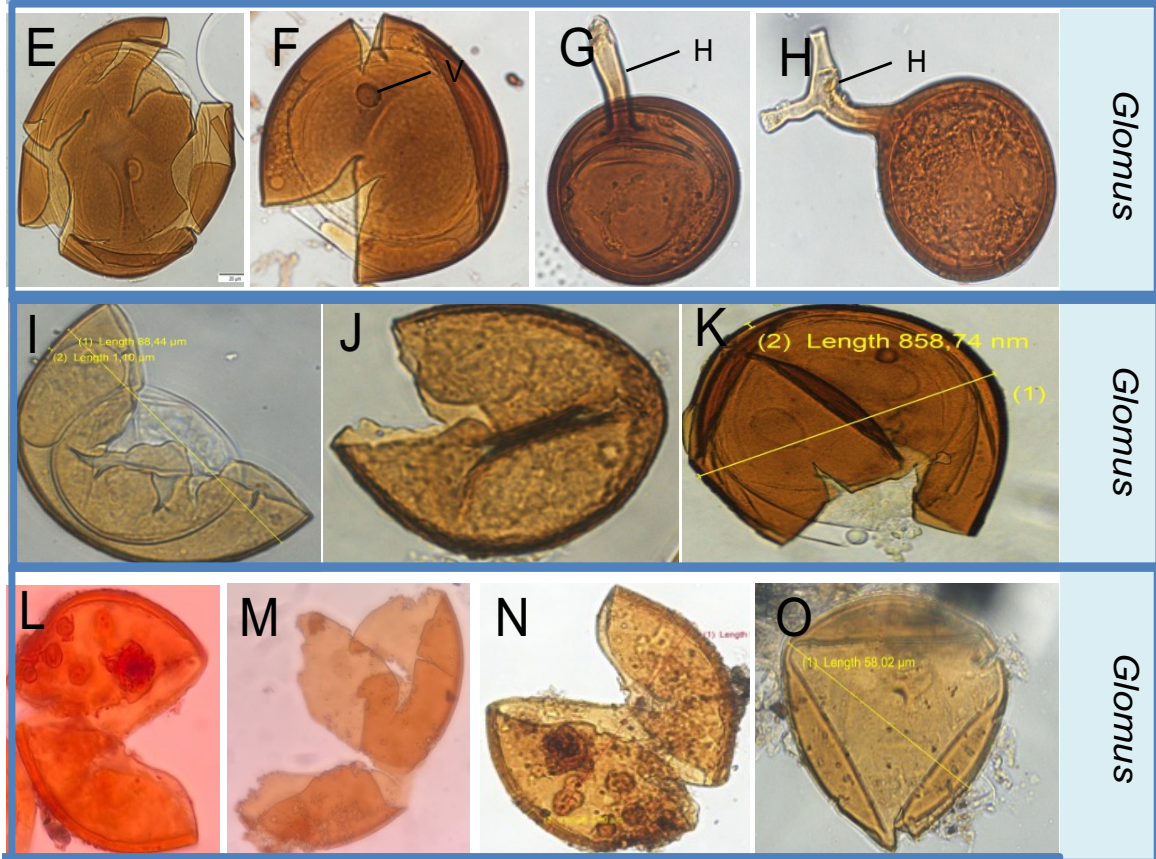
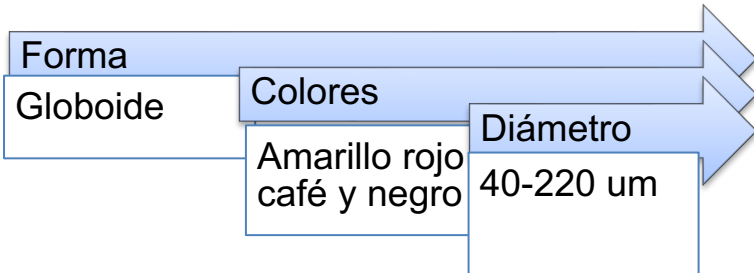


Nota: \*Spore colour chart for Glomalean Fungi de Brundrett et al (1996).



# Resultados y discusión

## Glomus



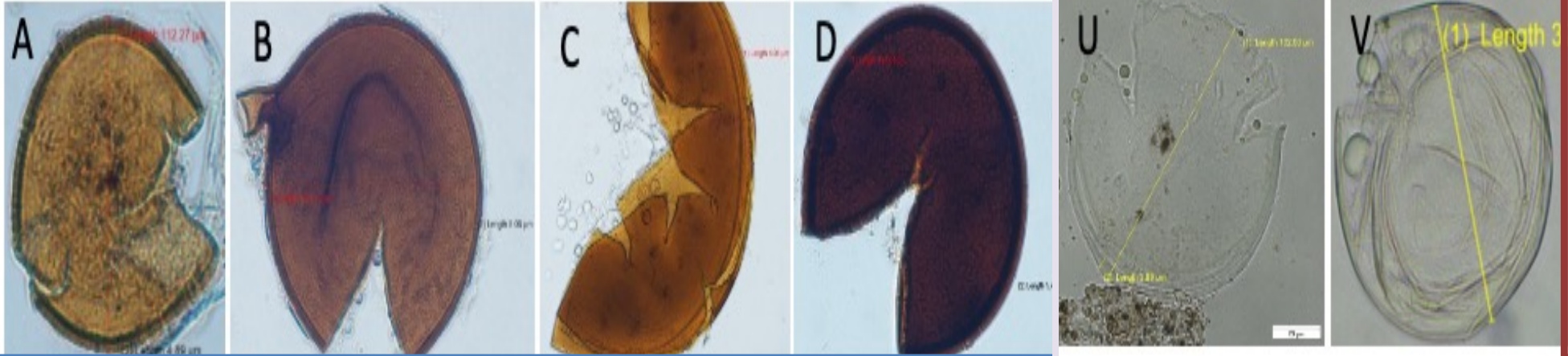
(Schüßler & Walker, 2010); (Rodrigues & Rodrigues, 2020; 2010); (Bever et al, 2023)



# Resultados y discusión

## *Septogloimus*

*Septogloimus*



Forma

Globoide

Colores

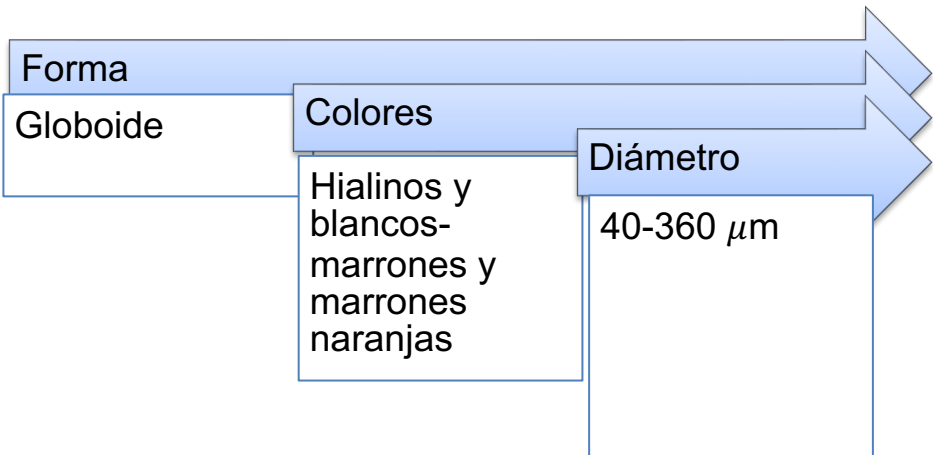
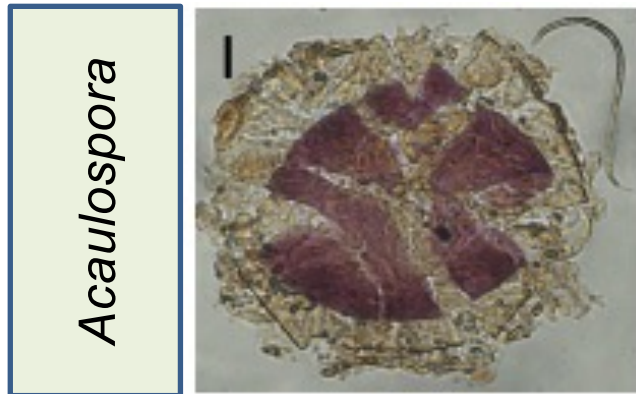
Amarillo pálido,  
paja pálido a  
negro con una  
superficie  
opaca

Diámetro

50-190  $\mu\text{m}$

# Resultados y discusión

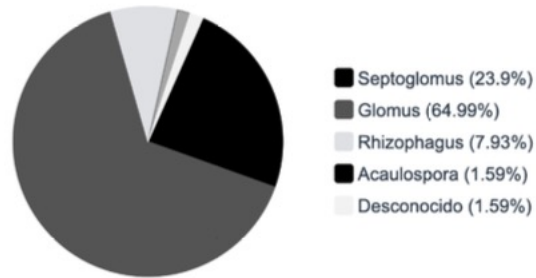
## *Rhizophagus*



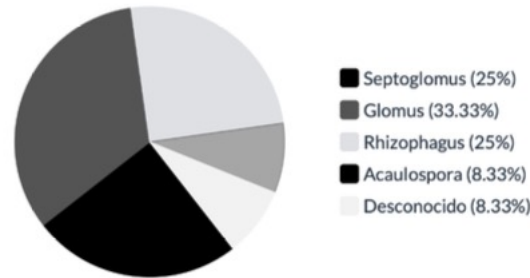
# Resultados y discusión

## Abundancia y Diversidad de géneros de HMA

a) Abundancia

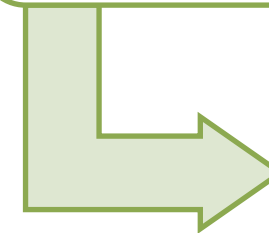


b) Riqueza



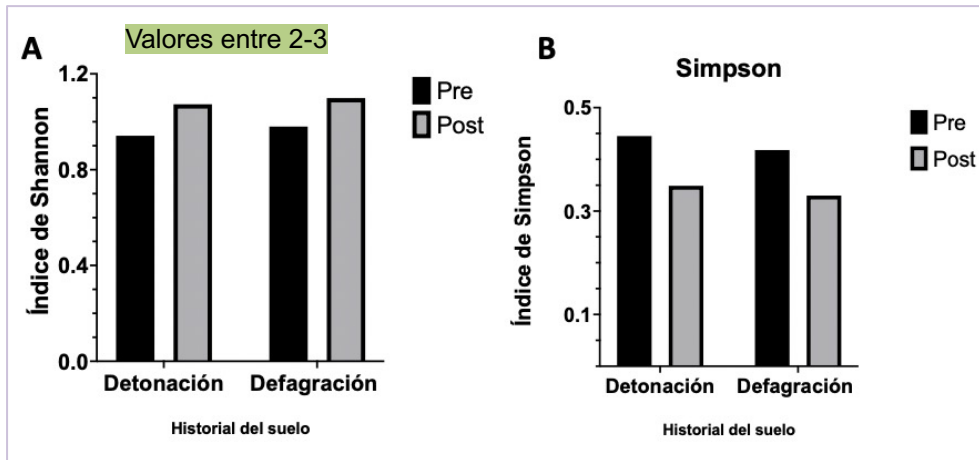
*Glomus*

- Género más significativo y más prevalente



Índices H y S

- Que tan equitativa es la distribución de la población



# Resultados y discusión

## Análisis Estadísticos

### MIP

#### Independent Samples T-Test

Independent Samples T-Test

	Statistic	df	p	
MIP	Student's t	0.430	31.0	0.670

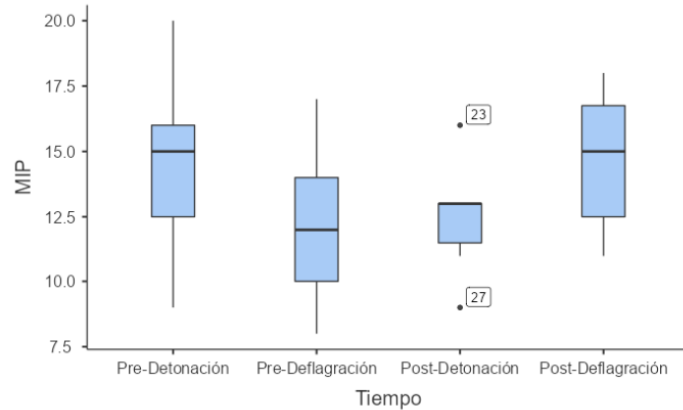
Note.  $H_0: \mu_{\text{Detonación}} = \mu_{\text{Deflagración}}$

#### Independent Samples T-Test

Independent Samples T-Test

	Statistic	df	p	
MIP	Student's t	-0.0975	31.0	0.923
	Mann-Whitney U	123	0.925	

Note.  $H_0: \mu_{\text{Pre}} = \mu_{\text{Post}}$



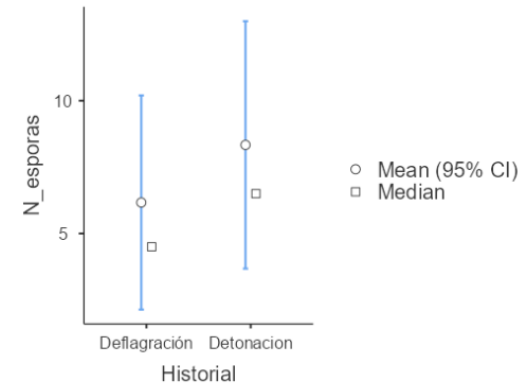
### ESPORAS

#### Independent Samples T-Test

Independent Samples T-Test

	Statistic	p	
N_esporas	Mann-Whitney U	9.00	0.162

Note.  $H_0: \mu_{\text{Deflagración}} = \mu_{\text{Detonación}}$

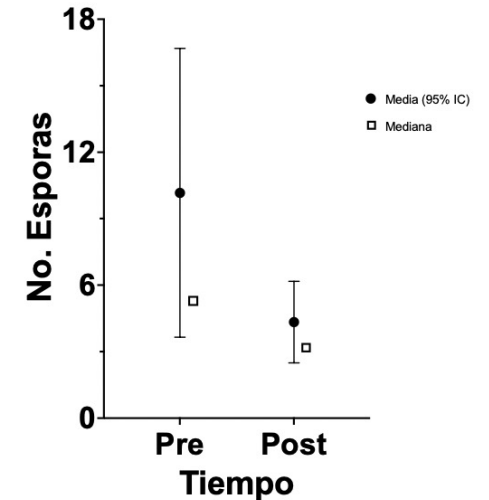


#### Independent Samples T-Test

Independent Samples T-Test

	Statistic	p	
N_esporas	Mann-Whitney U	5.00	0.040

Note.  $H_0: \mu_{\text{antes}} = \mu_{\text{despues}}$



# Conclusiones



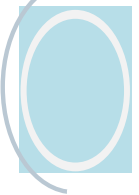
Se determinó la taxonomía por medio de la morfología de las esporas de HMA obtenidas en sitios con historial de disposición de municiones de la brigada militar “El corazón”, obteniendo 8 ecotipos diferentes de micorriza, correspondientes a los géneros *Glomus*, *Setpoglomus*, *Rhizophagus* y *Aculospora*.



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.



*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 en general fue superior al 50%.



# 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.



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.



# Agradecimientos



Jessica Duchicela, Ph.D.  
Directora del proyecto  
Francisco Flores, Ph.D.

Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE

Al Proyecto de Investigación  
Multidisciplinario: “Biodegradación de  
Contaminantes Derivados de Municiones  
por Inóculos Nativos de Micorriza.PIM-03”

Grupo de Almacenamiento de Material  
Bélico, GAMABE.



Al Laboratorio del Fitopatología de  
AGROCALIDAD, Laboratorio de botánica  
del IASA

FAMILIA Y AMIGOS

