



Diversidad de hongos endorizosféricos de tres especies arbóreas plantadas sobre suelos perturbados inoculados con tierra de bosque natural

Remache Arequipa, Ana Rocío

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Dr. Chiriboga Novillo, Carlos Eduardo

05 de octubre del 2020

URKUND**Document Information**

Analyzed document TESIS Remache Ana 14-10-2020.docx (D81693537)
Submitted 10/15/2020 3:16:00 AM
Submitted by
Submitter email jevillacis@espe.edu.ec
Similarity 1%
Analysis address jevillacis.espe@analysis.orkund.com

Sources included in the report

- SA** **Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE / Perfil Anteproyecto Bastidas Anahi.docx**
Document Perfil Anteproyecto Bastidas Anahi.docx (D77813404)  1
Submitted by: paperez11@espe.edu.ec
Receiver: paperez11.espe@analysis.orkund.com
- SA** **Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE / TESIS DIVERSIDAD DE HONGOS - SOSA VALERIA - 09-08-2018.pdf**
Document TESIS DIVERSIDAD DE HONGOS - SOSA VALERIA - 09-08-2018.pdf (D40778087)  1
Submitted by: jevillacis@espe.edu.ec
Receiver: jevillacis.espe@analysis.orkund.com



Dr. Chiriboga Novillo, Carlos Eduardo

C.C: 170648461-3

Director



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, *"Diversidad de hongos endorizosféricos de tres especies arbóreas plantadas sobre suelos perturbados inoculados con tierra de bosque natural"*, realizado por la señorita **Remache Arequipa, Ana Rocío**, ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas-ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 5 de octubre del 2020

Dr. Chiriboga Novillo, Carlos Eduardo

C.C: 170648461-3



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Yo, **Remache Arequipa, Ana Rocío**, con cédula de ciudadanía n°1726030693, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **“Diversidad de hongos endorizosféricos de tres especies arbóreas plantadas sobre suelos perturbados inoculados con tierra de bosque natural”**, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 5 de octubre del 2020

.....
Remache Arequipa, Ana Rocío

C.C: 172603069-3



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Yo, **Remache Arequipa, Ana Rocío**, con cédula de ciudadanía n°1726030693, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE publicar el trabajo de titulación *"Diversidad de hongos endorizosféricos de tres especies arbóreas plantadas sobre suelos perturbados inoculados con tierra de bosque natural"* en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 5 de octubre del 2020

.....
Remache Arequipa, Ana Rocío

C.C: 172603069-3

Dedicatoria

En primer lugar, quiero dedicar este proyecto a Dios, darle gracias por bendecirme con unos padres maravillosos y por darme fuerzas para culminar mi carrera universitaria.

A mis padres María y Nicolás por nunca perder la fe en mí y por brindarme su apoyo incondicional en todo momento.

A mi hijo Jostin por ser mi fuente de inspiración para luchar y seguir adelante día a día.

A mis hermanos y hermanas que también supieron darme consejos en su debido momento.

Ana Remache.

Agradecimiento

Mi más sincero y profundo agradecimiento son para:

Mi director de tesis el Dr. Carlos Chiriboga, quien me brindó su apoyo, sus conocimientos durante todo el desarrollo de la tesis y en especial por su amistad.

Al Dr. Wilmer E. Pozo-Rivera, Ph.D por su sabiduría y tiempo brindado para llevar a cabo un excelente trabajo.

Al Ing. Jaime Villacís, Ph. D., por su ayuda en el desarrollo de la parte estadística del proyecto, por su apoyo y consejos durante el desarrollo de la tesis.

Al Lic. Taco por su colaboración en el proceso de identificación de los hongos, al Ing. Xavier Paredes por sus conocimientos brindados y a todos los docentes de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA.

A mis amigos por compartir momentos inolvidables en clases, módulos, por su apoyarme en todo momento y hacer de mi vida universitaria una experiencia inolvidable.

A la empresa Petroamazonas EP, por su colaboración y facilidad brindada para poder realizar este trabajo.

Índice de contenidos

Carátula	1
Urkund	2
Certificación	3
Responsabilidad de autoría	4
Autorización de publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimiento.....	7
Índice de contenidos	8
Índice de tablas.....	11
Índice de figuras	12
Resumen	13
Abstract.....	14
Capítulo I	15
Introducción	15
Objetivo	16
<i>General</i>	16
<i>Específicos</i>	17
Hipótesis.....	17
Capítulo II	18
Revisión de literatura	18
Región amazónica.....	18
Suelos amazónicos.....	18
Impactos de la actividad petrolera en los ecosistemas y la biodiversidad.....	19
<i>Técnicas de remediación biológica</i>	19
<i>Remediación biológica in situ</i>	20
Características de las especies arbóreas evaluadas	20
Asociación y función de hongos con plantas vasculares	21

Clasificación de los hongos.....	22
Medición de la diversidad de especies.....	23
Capítulo III	24
Metodología.....	24
Selección de sitios de muestreo y de las especies arbóreas.	24
Aplicación del inóculo	25
Toma de muestras	25
Aislamiento e identificación de hongos	25
Diseño experimental	27
Métricas de diversidad	28
Análisis estadístico.....	29
Capítulo IV	30
Resultados y Discusión.....	30
Resultados	30
<i>Composición de la comunidad fúngica endorizosférica</i>	30
<i>Riqueza específica</i>	36
<i>Estructura de la comunidad de morfoespecies fúngicas</i>	37
<i>Similitud de hongos endorizosféricos entre tipos de suelo perturbado y especies arbóreas (Diversidad beta)</i>	38
<i>Diferencia entre morfoespecies fúngicas de tres especies arbóreas plantadas en suelos perturbados e inoculados con tierra de bosque natural</i>	40
Discusión.....	44
<i>Composición de hongos endorizosféricos de tres especies arbóreas (Diversidad alfa)</i>	44
<i>Riqueza específica</i>	45
<i>Estructura de la comunidad y similitud de morfoespecies fúngicas endorizosféricas</i>	46
<i>Riqueza, abundancia y diversidad fúngica endorizosférica</i>	47
Capítulo V	49
Conclusiones y Recomendaciones	49

	10
Conclusiones	49
Recomendaciones	50
Referencias bibliográficas	51

Índice de tablas

Tabla 1 <i>Ubicación geográfica de las parcelas experimentales donde se realizaron los muestreos de la fase de campo.....</i>	24
Tabla 2 <i>Composición de hongos endorizosféricos por especies arbórea.....</i>	31
Tabla 3 <i>Composición de hongos endorizosféricos por tipo de suelo perturbado.....</i>	33
Tabla 4 <i>Composición de hongos endorizosféricos de tres especies arbóreas según la inoculación.....</i>	35
Tabla 5 <i>Valores del estimador bootstrap para la riqueza de Piptadenia pteroclada, Platymiscium pinnatum y Zigia longifolia.....</i>	37
Tabla 6 <i>Estructura de la comunidad de hongos endorizosféricos tres especies arbóreas inoculadas con tierra de bosque natural.....</i>	38
Tabla 7 <i>Estructura de la comunidad de hongos endorizosféricos de Piptadenia pteroclada, Platymiscium pinnatum y Zigia longifolia inoculadas con tierra de bosque natural de acuerdo al tipo de suelo perturbado.....</i>	38
Tabla 8 <i>Análisis de varianza para la riqueza y abundancia de morfoespecies fúngicas en especies arbóreas plantadas en suelos perturbados e inoculadas con tierra de bosque natural.....</i>	41
Tabla 9 <i>Promedio \pm error estándar de abundancia y riqueza de morfoespecies fúngicas encontradas de acuerdo a la inoculación.....</i>	41
Tabla 10 <i>Promedio \pm error estándar de abundancia de morfoespecies fúngicas encontradas de tres especies arbóreas inoculadas y no inoculadas.....</i>	42
Tabla 11 <i>Promedio \pm error estándar de la riqueza y la abundancia de las morfoespecies fúngicas encontradas de acuerdo al sitio perturbado.....</i>	42
Tabla 12 <i>Análisis de varianza de los índices de diversidad de hongos endorizosféricos encontradas en especies arbóreas plantadas en suelos perturbados e inoculadas con tierra de bosque natural.....</i>	43
Tabla 13 <i>Promedio \pm error estándar del índice de simpson e índice de shannon de las morfoespecies fúngicas encontradas de acuerdo a la inoculación.....</i>	43
Tabla 14 <i>Promedio \pm error estándar del índice de diversidad de las morfoespecies fúngicas de especies arbóreas inoculadas y no inoculadas.....</i>	44

Índice de figuras

Figura 1 <i>Croquis de la investigación</i>	27
Figura 2 <i>Dendrogramas de Bray-Curtis por especies arbóreas</i>	39
Figura 3 <i>Dendrogramas de Bray-Curtis por tipo de sitio perturbado</i>	40

Resumen

La extracción de petróleo en el Ecuador, ha afectado al suelo, diversidad arbórea, agua y diversidad fúngica del suelo. Los hongos en su mayoría pueden ser muy beneficiosos para impulsar el mantenimiento de la cobertura vegetal. Con la finalidad de mitigar los efectos que causa la extracción de petróleo, se llevó a cabo un Programa de Reforestación con Especies Arbóreas Nativas de la Amazonía ecuatoriana. Como parte de dicho programa, en el presente estudio se evaluó el efecto de un inóculo de tierra de bosque natural, sobre la diversidad de morfoespecies fúngicas endorizosféricas presentes en *Piptadenia pteroclada*, *Platymiscium pinnatum* y *Zygia longifolia*. Se registraron un total de 74 morfoespecies endorizosféricas. Se encontró un efecto significativo del inóculo sobre la diversidad de hongos endorizosféricos; las especies arbóreas inoculadas presentaron mayor riqueza (n= 60) y abundancia (n= 172) que las especies arbóreas no inoculadas; *Piptadenia pteroclada* fue la especie con mayor riqueza y abundancia fúngica al interior de sus raíces. Se deduce que la inoculación de tierra de bosque natural incrementa la diversidad de hongos endorizosféricos.

Palabras clave: *Diversidad arbórea, morfoespecies, Piptadenia pteroclada, cobertura vegetal.*

Abstract

Oil extraction in Ecuador has affected the soil, tree diversity, water and soil fungal diversity. Most of the fungal can be very beneficial to boost the maintenance of the vegetation cover. In order to mitigate the effects caused by oil extraction, a Reforestation Program with Native Tree Species of the Ecuadorian Amazon was carried out. As part of this program, in the present study, the effect of an inoculum of natural forest soil was evaluated on the diversity of endorizospheric fungal morphospecies present in *Piptadenia pteroclada*, *Platymiscium pinnatum* and *Zygia longifolia*. A total of 74 endorizospheric morphospecies were recorded. A significant effect of the inoculum was found on the diversity of endorizospheric fungi; the inoculated tree species presented higher richness (n = 60) and abundance (n = 172) than the non-inoculated tree species; *Piptadenia pteroclada* was the species with the greatest fungal richness and abundance within its roots. It is deduced that the inoculation of natural forest soil increases the diversity of endorizospheric fungi.

Keywords: *Tree diversity, morphospecies, Piptadenia pteroclada, vegetation cover.*

Capítulo I

Introducción

Las actividades antropogénicas generadas como consecuencia de los procesos asociados a la extracción petrolera han traído como consecuencia muchos problemas sociales y ambientales en la región Amazónica del Ecuador. Entre éstas se encuentran la contaminación del aire, agua y suelo. Los suelos perturbados por la extracción de petróleo sufren impactos tales como: destrucción de la rizósfera, erosión, pérdida y compactación del suelo, causada por la remoción de la cobertura vegetal, y contaminación con compuestos orgánicos (hidrocarburos) e inorgánicos (sales y sulfatos) (Bravo et al., 2017).

Por tal motivo, se han implementado acciones de remediación y rehabilitación, que permitan recuperar las características de los suelos afectados. Un nuevo enfoque biotecnológico ha demostrado que ciertas especies de árboles tienen una aplicación significativa en la fitorremediación (Villacís et al., 2016a ; Sosa, 2018 ; Quinsasamín, 2019), ya que son capaces de limpiar sustratos con contaminantes orgánicos e inorgánico (Burghal et al., 2016). *Piptadenia pteroclada*, *Platymiscium pinnatum* y *Zygia longifolia* son las especies más idóneas para la rehabilitación de los sitios afectados por la extracción de petróleo en la región Amazónica debido a que estas especies presentaron mejor desempeño (Villacís, 2016). El Proyecto Amazonía Viva a cargo de la empresa pública Petroamazonas se ha encargado de patrocinar investigaciones que contribuyen a la remediación de las áreas contaminadas por la extracción de crudo, entre estas investigaciones se encuentran la implementación de parcelas forestales con especies capaces de recuperar el suelo (Villacís et al., 2016a; Villacís, et al., 2016b).

Los hongos endorizosféricos ayudan a las plantas a mejorar la absorción de agua y nutrientes de baja disponibilidad en el suelo (principalmente P) y además optimizan la resistencia al ataque de bacterias e insectos, gracias a la secreción de glomalina, que induce una acción protectora; mientras que por su parte los hongos se benefician obteniendo carbohidratos de la planta hospedante (Brundrett, 2009).

Se conoce que las aplicaciones de inóculos de suelo promueven tanto la restauración del ecosistema como de la comunidad fúngica presente en el suelo (Wubs et al., 2016). Estudios previos del Programa de Investigación “Efectos de la restauración forestal sobre las características de los suelos, la biodiversidad y la generación de servicios ecosistémicos en las áreas afectadas por los procesos de extracción de petróleo de la Amazonía del Ecuador”, han evaluado la diversidad de hongos en raíces de especies plantadas en suelos perturbados (Sosa, 2018 ; Quinsasamín, 2019), sin embargo, aún no se ha estudiado cómo la inoculación de suelos nativos influye en la diversidad de hongos endorizosféricos presentes en especies arbóreas nativas. Por tal motivo en la presente investigación se evaluó el efecto de la inoculación de tierra de bosque natural en suelos perturbados por extracción de petróleo sobre la diversidad de hongos endorizosféricos presentes en *Platymiscium pinnatum*, *Zygia longifolia* y *Piptadenia pteroclada*.

Objetivo

General

Evaluar la diversidad de hongos endorizosféricos de tres especies arbóreas plantadas sobre suelos perturbados por extracción de petróleo inoculados con tierra de bosque natural.

Específicos

- Determinar el efecto de la inoculación sobre la composición, riqueza y la diversidad de hongos endorizosféricos de tres especies forestales plantadas en suelos perturbados y no perturbados.
- Analizar efecto de la inoculación sobre la diversidad beta de hongos endorizosféricos.
- Comparar la diversidad de hongos endorizosféricos en tres especies arbóreas establecidas en suelos perturbados y no perturbados por la extracción de petróleo.

Hipótesis

H₀: La inoculación de tierra de bosque natural no afecta la diversidad de hongos endorizosféricos en *Piptadenia pteroclada*, *Platymiscium pinnatum* y *Zygia longifolia* plantadas en suelos perturbados y no perturbados por extracción de petróleo.

H₁: La inoculación de tierra de bosque natural afecta la diversidad de hongos endorizosféricos en *Piptadenia pteroclada*, *Platymiscium pinnatum* y *Zygia longifolia* plantadas en suelos perturbados y no perturbados por extracción de petróleo.

Capítulo II

Revisión de literatura

Región amazónica

La Amazonía del Ecuador es una región natural considerada como la mayor extensión remanente de selva tropical del mundo, cuenta con un área de 120 000 kilómetros cuadrados, que representa el 43% del territorio ecuatoriano, mismo que está comprendida por seis provincias: Sucumbíos, Orellana, Napo, Pastaza, Morona Santiago y Zamora Chinchipe (Barraza et al., 2018).

Suelos amazónicos

Los suelos amazónicos se caracterizan por tener baja capacidad de retención de agua y de nutrientes como K, P y Ca; su bajo contenido de nutrientes se debe a las precipitaciones del sector y a las elevadas temperaturas, así como a efectos de la lixiviación que remueve los nutrientes del suelo sin poder ser reemplazados por meteorización como sucede en otras regiones (Bravo et al., 2017).

Sin embargo, las especies arbóreas de la Amazonía han logrado adaptarse a este tipo de suelos mediante la concentración de la mayor parte de sus raíces en la superficie del suelo y así capturar los nutrientes provenientes de la descomposición de la materia orgánica (Bravo, 2011).

Impactos de la actividad petrolera en los ecosistemas y la biodiversidad

La contaminación ambiental generada por las actividades de extracción petrolera afecta al suelo, lagos, capas freáticas y ríos causando grandes impactos en los ecosistemas y su biodiversidad (Pérez et al., 2013).

Los suelos amazónicos tienen las condiciones óptimas para favorecer a la degradación de los restos de hidrocarburos, sin embargo la presencia de otros factores tales como la irradiación, las altas temperaturas y el pH contribuyen a que se incremente su toxicidad (Carpenter et al., 2004).

Las actividades antropogénicas realizadas con la finalidad de extraer petróleo han generado serios impactos en la biodiversidad (fauna y flora), la deforestación y el ruido causado por la prospección y otras actividades en la selva hace que los animales escapen del lugar o cambien su comportamiento alimenticio y reproductivo (Ramos, 2011). Además, los trabajadores petroleros complementan su alimentación pescando y cazando en muchas ocasiones animales en peligro de extinción. La deforestación y contaminación del suelo también ha traído como consecuencia que la biodiversidad de los microorganismos presentes en el suelo se vea afectada entre estos los hongos endorizosféricos (Zamora, 2010).

Técnicas de remediación biológica

La remediación biológica consiste en usar plantas y microorganismos (hongos, levaduras y bacterias) para degradar o transformar los hidrocarburos *in situ* o *ex situ* en condiciones anaerobias o aerobias. Las ventajas de este proceso es su bajo costo a comparación de los tratamientos físicos y químicos y la poca alteración de las características

naturales; el inconveniente es que su degradación natural puede durar varios años (Garzón et al., 2017).

Remediación biológica in situ

Este método consiste en aportar o inyectar nutrientes y la inoculación de microorganismos (hongos, bacterias o consorcios) con la finalidad de potenciar la biodegradación natural, además este método ayuda a modificar factores ambientales como la humedad, pH y temperatura (San Martín, 2011).

Este tipo de tratamiento es considerado el más adecuado para la recuperación de suelos ya que es un método amigable con el medio ambiente y además porque no hay la necesidad de extraer o preparar el material contaminado (Bento et al., 2012).

Características de las especies arbóreas evaluadas

Las tres especies seleccionadas para realizar la investigación (*Piptadenia pteroclada*, *Platymiscium pinnatum* y *Zygia longifolia*) pertenecen a la familia de las Fabáceas, la caoba (*Platymiscium pinnatum*) y el chíparo (*Zygia longifolia*) pueden alcanzar una altura de hasta 25 m, mientras que el Guarango Espinado (*Piptadenia pteroclada*) es una especie que puede alcanzar los 60 m de altura (IUCN, 2015).

Estas especies pueden crecer en sitios desde 0 a 1 000 m snm, con climas de húmedos a muy húmedos donde la precipitación varía entre 1 000 y 3 000 mm, y la temperatura oscila entre 20 y 35°C; las especies mencionadas se pueden encontrar en países como: México, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Las Guayanas, Perú y Venezuela (IUCN, 2015).

Otra característica que presentan *Piptadenia pteroclada*, *Platymiscium pinnatum* y *Zygia longifolia* es que son capaces de fijar nitrógeno por tal razón son usadas para la recuperación de suelos, además *Zygia longifolia* se caracteriza por tener un sistema radicular denso que le permite sujetarse a las partículas del suelo (Villacís, 2016).

Asociación y función de hongos con plantas vasculares

La asociación de plantas y microorganismos es benéfica para el ambiente debido a que mediante ella se convierten compuestos tóxicos en sustancias menos tóxicas a través de biodegradación o procesos de biotransformación (Ndimele, 2010).

En la rizósfera se da una interacción entre las raíces de las plantas y los microorganismos que promueven actividades biológicas y químicas, por los exudados secretados por las raíces de los cuales se alimentan los microorganismos, entre las secreciones presentes se encuentran carbohidratos, aminoácidos, hormonas y vitaminas (Dantas et al., 2009).

La rizósfera se divide en tres zonas: endorizósfera (endodermis y capas corticales de la raíz), rizoplano (superficie de la raíz formada por la epidermis, la corteza y la capa de polisacáridos) y la ectorizósfera (suelo adyacente a la raíz) (Berendsen et al., 2012).

Las comunidades de microorganismos que se forman en la endorizósfera tienen un gran potencial para la detoxificación de compuestos orgánicos nocivos, se ha demostrado que comunidades microbianas pueden reducir el potencial de fitotoxicidad de los hidrocarburos debido a que ayudan a incrementar la asociación de hidrocarburos policíclicos aromáticos con los ácidos húmicos y fúlvicos del suelo (Ndimele, 2010).

Estudios realizados por Jansa et al., (2013), han demostrado que la presencia de hongos está muy relacionada con el desarrollo del sistema radicular, todas las especies forestales viven en mutualismo con determinados hongos que están presentes en el suelo (Yu et al., 2013); mientras los hongos aprovechan la glucosa de las plantas como fuente de carbono, las plantas se benefician de los hongos porque estos las hacen más resistentes al ataque de otros microorganismos y a captar de mejor manera los nutrientes y el agua (Brundrett, 2009).

Algunas hongos que colonizan principalmente raíces internamente (endodermis y capas corticales) (Maldonado et al., 2010), pueden proporcionar protección a las especies arbóreas contra hongos patógenos (Maherali & Klironomos, 2007).

Clasificación de los hongos

Se han descrito unas 8 000 especies de hongos, pero se estima que el número real de especies debe aproximarse al millón y medio, formando así uno de los mayores grupos de seres vivos (Gómez et al., 2007).

La última clasificación de los hongos basada en las secuencias de ADN fue realizada por Gómez y colaboradores en el año 2007, y en esta se propone siete diferentes Phyla de hongos, a saber: Microsporidia, Chytridiomycota, Blastocladiomycota, Neocallimastigomycota, Glomeromycota, Ascomycota y Basidiomycota (Gómez et al., 2007).

Un estudio previo ejecutado por Sosa (2018) propone que la familia de hongos más representativa en las raíces de las tres especies arbóreas, en el área de estudio, es Nectriaceae, con dos géneros y siete morfoespecies; mientras que el género con mayor número de morfoespecies es *Fusarium*.

Medición de la diversidad de especies

Se conoce como especie al conjunto de individuos genética, bioquímica, fisiológica, morfológica y anatómicamente similares entre sí, siendo capaces de dar origen a una descendencia fértil. (Folguera & Marcos, 2013). En el presente estudio se determina las diferentes morfoespecies de hongos endorizosféricos, siendo morfoespecies un grupo de organismos de cualquier taxón con características morfológicas comunes, que pueden pertenecer o no a una misma especie (Pozo com. pers).

La biodiversidad suele ser evaluada en términos de su composición, estructura de la comunidad (riqueza y diversidad) y similitud entre comunidades (diversidad β). La composición se refiere al conjunto de especies que conforman un ensamble o conjunto de especies filogenéticamente emparentadas (Pozo, 2017).

El número total de especies registradas en un ecosistema corresponde a la riqueza específica, este parámetro suele ser evaluado mediante estimadores no paramétricos de riqueza tales como: Chao 2, Jackknife de primer orden, Bootstrap, entre otros; mientras que la estructura de la comunidad se evalúa mediante la diversidad [con índices como los de Shannon (H'), y 1-Simpson ($1-D$)] y con la equitatividad [con índices como el de Pielou (J')] (Pozo, 2017).

En cambio, la diversidad β , se la mide en función al número de especies compartidas entre sitios, hábitats o ecosistemas. esta se puede representar gráficamente usando dendrogramas elaborados con índices de similitud y disimilitud entre especies (Sørensen, Morisita, Jaccard, Braun-Blanquet, entre otros) (Pozo, 2017).

Capítulo III

Metodología

La fase de campo de la presente investigación se llevó a cabo en áreas de explotación petrolera de PETROAMAZONAS EP, localizadas en las provincias amazónicas de Orellana y Sucumbíos (Tabla 1). Mientras que la fase de laboratorio se realizó en el Laboratorio de Microbiología localizado en el Campus de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria (IASA I), Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

Tabla 1

Ubicación geográfica de las parcelas experimentales donde se realizaron los muestreos de la fase de campo

TIPO DE SUELO	NOMBRE DEL SITIO	INOCULADO (I) Y NO INOCULADO (NI)	COORDENADAS
Perturbados	Auca 02_D	I – NI	UTM9913436
	Lago 19	I – NI	UTM1014133
	Cuyabeno 20	I – NI	UTM1001631
	Sansahuari 02	I – NI	UTM1009231
	Shushufindi Est_40	I – NI	UTM9981360
	Secoya 26	I – NI	UTM1003990
No perturbados	Secoya 2-3	I – NI	UTM1001430
	Los Ribereños	I – NI	UTM1004661

Selección de sitios de muestreo y de las especies arbóreas.

En el año 2012 se establecieron ocho parcelas de 24 x 84 m sobre áreas afectadas por las actividades petroleras; seis sobre suelos perturbados [dos en centro de gestión de pasivos (CGP), dos en plataformas que circunscriben a los pozos petroleros (PCPP), dos en celdas de lodos y ripios (CLR)], y dos sobre suelos no perturbados [potreros (POTR)]. Cada parcela con 5 individuos de 20 especies arbóreas plantados a una distancia de 4x4 (Villacís et al., 2016a).

Se seleccionaron los árboles de tres especies arbóreas que presentaron el mejor desempeño durante los primeros siete años desde su establecimiento (*Platymiscium pinnatum*, *Zygia longifolia* y *Piptadenia pteroclada*) (Villacís et al., 2016a; Villacís, et al., 2016b; Espinoza, 2018).

Aplicación del inóculo

En cada una de las ocho parcelas, se delinearon cuatro subparcelas por especie arbórea, dos subparcelas fueron inoculadas y dos no inoculadas, la inoculación se realizó con tierra negra colectada de la capa superior (10 cm) del suelo de un bosque natural aledaño. Esta se realizó en el mes de septiembre del año 2017 siguiendo el protocolo descrito por Wubbs et al. (2016), para lo cual se tomaron un total de 12 muestras de 1kg de la parte superficial del bosque natural, a una distancia de 2 m entre cada muestra tomada, se homogenizaron todas las muestras y se aplicó 1 kg del inóculo en una corona de 2 m de diámetro alrededor de cada individuo de la especie seleccionada.

Toma de muestras

En cada uno de los sitios perturbados y no perturbados se tomaron 4 muestras de raíces por individuo en forma de cruz a una profundidad de 20 cm (Prieto et al., 2012). Las muestras se colocaron en tubos de ensayo con 10 ml de agua esterilizada, y fueron transportadas al Laboratorio de Microbiología del IASA siguiendo la respectiva cadena de frío.

Aislamiento e identificación de hongos

Los materiales que se utilizaron fueron previamente esterilizados por un tiempo aproximado de 60 minutos (Pérez et al., 2011). Para el aislamiento de los hongos endorizosféricos, se utilizó como medio de cultivo a papa dextrosa agar (PDA) más

Amoxicilina (600 mg) para inhibir el crecimiento bacteriano en las cajas Petri (Mier et al., 2002).

Las muestras de raíces fueron desinfectadas con una solución de cloro al 1% durante un minuto y seguidamente se enjuagó dos veces en agua esterilizada, se cortó en trozos de 0,5 a 1,0 cm de largo y se sembró en cajas Petri con medio PDA más amoxicilina (Moya et al., 2014).

Todos los cultivos resultados de la siembra se llevaron a la incubadora a 30° C para que se desarrollen. Luego de 72 h se purificaron a los hongos en nuevas cajas Petri con medio de cultivo PDA más amoxicilina. A los 7 días después de la incubación se describieron sus características macroscópicas (color y apariencia) tanto por el anverso como por el reverso (Anexo 3) (Muñoz et al., 2009).

Para observar las estructuras fúngicas al microscopio, se empleó la técnica de la cinta pegante (Urmeneta et al., 2010), que consiste en presionar suavemente el lado pegante de la cinta sobre el micelio para extraer un fragmento y colocarlo sobre el portaobjetos con una gota de solución de azul de lactofenol, y observarlo al microscopio, en algunos hongos donde el micelio y el cuerpo fructífero no se podía apreciar con claridad, se utilizó aceite de inmersión, para una mejor identificación (Pacasa et al., 2017).

Para la identificación de los hongos se utilizaron las claves dicotómicas *Illustrated Genera of Imperfecte Fungi* (Barnett & Hunter, 1998) y *Morphologies of Cultured Fungi and key to Species* (Watanabe, 2010). La base de datos de las morfoespecies fúngicas del presente estudio continuó con la nomenclatura propuesta por Quinsasamín (2019). Es decir, si en el estudio mencionado ya se había registrado *Acremonium* sp. 1, en el presente trabajo

Donde:

Y_{ijkl} = Diversidad de morfoespecies fúngicas

μ = *Media general*

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

$\delta_{1(i)}$ = Error del tipo de suelo

E_j = Efecto de la *j-ésima* especie

$(SE)_{ij}$ = Efecto de la interacción tipo de suelo * especie

$\sigma_{jk(i)}$ = Error de la especie

I_k = Efecto del *k-ésimo* inóculo

$(SI)_{ik}$ = Efecto de la interacción del tipo de suelo * inóculo

$(EI)_{jk}$ = Efecto de la interacción especie * inóculo

$(SEI)_{ijk}$ = Efecto de la interacción tipo de suelo * especie * inóculo

e_{ijkl} = Error para el inóculo

Métricas de diversidad

La diversidad de morfoespecies fúngicas se evaluó mediante la diversidad alfa (composición, riqueza, y estructura) y beta (similitud de morfoespecies). Se obtuvieron índices por tipo de sitios (perturbados y no perturbados) y por especies arbóreas (con inóculo y sin inóculo). La composición de morfoespecies fúngicas se determinó con la lista

de especies y la abundancia proporcional de las especies para determinar las morfoespecies fúngicas con mayor frecuencia.

Para evaluar la riqueza específica se utilizaron tres estimadores no paramétricos de riqueza (Bootstrap, Chao 2 y Jackknife de primer orden) que permiten estimar el total de morfoespecies observadas frente a las esperadas (Pozo, 2017). Como indicador de riqueza específica se utilizó el número total de morfoespecies registradas (riqueza absoluta). El software utilizado en este análisis fue EstimateS® 9.1.0. La estructura de la comunidad fue evaluada con los índices de diversidad de Shannon (H') y 1-Simpson ($1-D$) (Pozo, 2017).

Para el caso de la diversidad beta, se calculó el índice de similitud de Sorensen, con este se elaboró un dendrograma basado en la distancia de Bray-Curtis (McAleece *et al.*, 1997) del porcentaje de similitud de morfoespecies fúngicas entre especies arbóreas, entre tipos de suelos perturbados y el inóculo aplicado (McAleece *et al.*, 1997). El dendrograma se elaboró con el programa Biodiversity Pro ® 2.0 (McAleece *et al.*, 1997).

Análisis estadístico

Las variables del presente estudio se analizaron con estadística descriptiva, mediante el análisis de varianza con modelos lineales mixtos. Además, se realizaron pruebas de comparación de medias LSD al 5% para las especies arbóreas, sitios e inóculos. Para realizar todos los análisis se utilizó el software estadístico InfoStat ® (Di Rienzo *et al.*, 2013).

Capítulo IV

Resultados y Discusión

Resultados

Composición de la comunidad fúngica endorizosférica

Se obtuvieron 306 aislamientos, pertenecientes a 74 morfoespecies, 26 géneros y 9 familias fúngicas endorizosféricas de los Phyla Ascomycota, Basidiomycota y Zygomycota (Anexo 1). La familia Hypocreaceae presentó la menor cantidad de géneros (n= 4) y morfoespecies (n= 8), mientras que la familia con mayor cantidad de morfoespecies endorizosféricas fue Agonomycetaceae (n= 16). De los 306 aislamientos realizados 172 pertenecen a especies arbóreas inoculadas, 10 de los 26 géneros registrados se identificaron solo en las especies inoculadas, mientras que los 16 restantes se encontraron tanto en especies inoculadas como en las no inoculadas.

El género *Rhizoctonia* presentó 16 morfoespecies, seguido de *Fusarium* con 14, *Paecilomyces* y *Trichoderma* con 5, *Aspergillus* con 4, y el resto de géneros presentaron menos de 4 morfoespecies (Tabla 2).

Piptadenia pteroclada, *Platymiscium pinnatum* y *Zigia longifolia* inoculadas con tierra de bosque natural, presentaron un mayor número morfoespecies que las especies arbóreas no inoculadas, de estas *Piptadenia pteroclada* presentó un mayor número de morfoespecies (n= 35) (Tabla 2).

Las morfoespecies fúngicas endorizosféricas con mayor cantidad de individuos aislados fueron: *Aspergillus* sp. 9 que representó el 9,5 %, seguido de *Rhizoctonia* sp. 7 con 7,8%, *Rhizoctonia* sp. 9 con 5,2% y *Rhizoctonia* sp. 8 con 4,9% (Tabla 2).

Tabla 2

Composición de hongos endorizoféricos por especies arbórea

MORFOESPECIES	<i>Piptadenia pteroclada</i>		<i>Platymiscium pinnatum</i>		<i>Zigia longifolia</i>		Total <i>ni(Pi)</i>
	I <i>ni(Pi)</i>	NI <i>ni(Pi)</i>	I <i>ni(Pi)</i>	NI <i>ni(Pi)</i>	I <i>ni(Pi)</i>	NI <i>ni(Pi)</i>	
<i>Aspergillus</i> sp. 9	5(0,096)	4(0,095)	9(0,15)	3(0,094)	1(0,017)	7(0,117)	29(0,095)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 7	3(0,058)	2(0,048)	2(0,033)	2(0,063)	9(0,15)	6(0,1)	24(0,078)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 9	2(0,038)	1(0,024)	2(0,033)	1(0,031)	4(0,067)	6(0,1)	16(0,052)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 8	1(0,019)	2(0,048)	2(0,033)	3(0,094)	5(0,083)	2(0,033)	15(0,049)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 11		3(0,071)	2(0,033)	2(0,063)	1(0,017)	4(0,067)	12(0,039)
<i>Fusarium</i> sp. 12	1(0,019)	1(0,024)	2(0,033)		4(0,067)	2(0,033)	10(0,033)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 15	1(0,019)		1(0,017)	2(0,063)	2(0,033)	4(0,067)	10(0,033)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 4	4(0,077)	1(0,024)	3(0,05)			2(0,033)	10(0,033)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 14	2(0,038)		3(0,05)	2(0,063)	1(0,017)	1(0,017)	9(0,029)
<i>Scopulariopsis</i> sp.	1(0,019)		4(0,067)	1(0,031)	1(0,017)	1(0,017)	8(0,026)
<i>Amblyosporium</i> sp. 1	1(0,019)	2(0,048)			2(0,033)	2(0,033)	7(0,023)
<i>Fusarium</i> sp. 7	1(0,019)	3(0,071)	1(0,017)	1(0,031)		1(0,017)	7(0,023)
<i>Trichoderma</i> sp. 5	3(0,058)	1(0,024)	2(0,033)			1(0,017)	7(0,023)
<i>Geotrichum</i> sp. 2	3(0,058)	2(0,048)		1(0,031)			6(0,019)
<i>Monacrosporium</i> sp. 1		2(0,048)		1(0,031)		3(0,05)	6(0,019)
<i>Trichoderma</i> sp. 7	1(0,019)	1(0,024)	2(0,033)			2(0,033)	6(0,019)
<i>Beauveria</i> sp. 1	1(0,019)	1(0,024)	2(0,033)			1(0,017)	5(0,016)
<i>Cephalosporium</i> sp. 3	2(0,038)	1(0,024)			1(0,017)	1(0,017)	5(0,016)
<i>Fusarium</i> sp. 11			1(0,017)	1(0,031)	3(0,05)		5(0,016)
<i>Fusarium</i> sp. 3			4(0,07)	1(0,031)			5(0,016)
<i>Geotrichum</i> sp. 3	1(0,019)			1(0,031)		3(0,05)	5(0,016)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 12	1(0,019)	1(0,024)		1(0,031)	2(0,033)		5(0,016)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 18			1(0,017)	1(0,031)		3(0,05)	5(0,016)
<i>Aspergillus</i> sp. 1		2(0,048)		1(0,031)		1(0,017)	4(0,013)
<i>Fusarium</i> sp. 6		1(0,024)	1(0,017)	1(0,031)	1(0,017)		4(0,013)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 5	1(0,019)	1(0,024)	1(0,017)			1(0,017)	4(0,013)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 6					2(0,033)	2(0,033)	4(0,013)
<i>Trichoderma</i> sp. 6	1(0,019)		2(0,033)		1(0,017)		4(0,013)
<i>Trichoderma</i> sp. 8	1(0,019)				2(0,033)	1(0,017)	4(0,013)
<i>Paecilomyces</i> sp. 8	1(0,019)	1(0,024)	1(0,017)				3(0,010)
<i>Penicillium</i> sp. 2	1(0,019)				2(0,033)		3(0,010)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 3					3(0,05)		3(0,010)
<i>Trichoderma</i> sp. 4			2(0,033)		1(0,017)		3(0,010)
<i>Acremonium</i> sp. 2	1(0,019)			1(0,031)			2(0,007)
<i>Aspergillus</i> sp. 3		1(0,024)			1(0,017)		2(0,007)
<i>Botryotrichum</i> sp. 1				1(0,031)	1(0,017)		2(0,007)
<i>Botrytis</i> sp.	1(0,019)		1(0,017)				2(0,007)
<i>Chaetomium</i> sp.	1(0,019)			1(0,031)			2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 14	1(0,019)		1(0,017)				2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 15					2(0,033)		2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 2	1(0,019)	1(0,024)					2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 4	2(0,038)						2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 5	1(0,019)				1(0,017)		2(0,007)
<i>Monacrosporium</i> sp. 2	1(0,019)		1(0,017)				2(0,007)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 13		1(0,024)			1(0,017)		2(0,007)

MORFOESPECIES	<i>Piptadenia pteroclada</i>		<i>Platymiscium pinnatum</i>		<i>Zigia longifolia</i>		Total <i>ni(Pi)</i>
	I <i>ni(Pi)</i>	NI <i>ni(Pi)</i>	I <i>ni(Pi)</i>	NI <i>ni(Pi)</i>	I <i>ni(Pi)</i>	NI <i>ni(Pi)</i>	
<i>Amblyosporium</i> sp. 2			1(0,017)				1(0,003)
<i>Aspergillus</i> sp. 8					1(0,017)		1(0,003)
<i>Beauveria</i> sp. 2						1(0,017)	1(0,003)
<i>Beauveria</i> sp. 3					1(0,017)		1(0,003)
<i>Botryodiplodia</i> sp.					1(0,017)		1(0,003)
<i>Botryotrichum</i> sp. 2		1(0,024)					1(0,003)
<i>Brachysporium</i> sp.			1(0,017)				1(0,003)
<i>Cephalosporium</i> sp. 2				1(0,031)			1(0,003)
<i>Cylindrocarpon</i> sp.						1(0,017)	1(0,003)
<i>Fusarium</i> sp. 10					1(0,017)		1(0,003)
<i>Fusarium</i> sp. 13		1(0,024)					1(0,003)
<i>Fusarium</i> sp. 8				1(0,031)			1(0,003)
<i>Fusarium</i> sp. 9		1(0,024)					1(0,003)
<i>Gliocladium</i> sp.			1(0,017)				1(0,003)
<i>Hirsutella</i> sp.			1(0,017)				1(0,003)
<i>Monacrosporium</i> sp. 3	1(0,019)						1(0,003)
<i>Monilla</i> sp.				1(0,031)			1(0,003)
<i>Paecilomyces</i> sp. 2	1(0,019)						1(0,003)
<i>Paecilomyces</i> sp. 5					1(0,017)		1(0,003)
<i>Paecilomyces</i> sp. 6		1(0,024)					1(0,003)
<i>Paecilomyces</i> sp. 7	1(0,019)						1(0,003)
<i>Penicillium</i> sp. 1		1(0,024)					1(0,003)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 10			1(0,017)				1(0,003)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 16						1(0,017)	1(0,003)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 17	1(0,019)						1(0,003)
<i>Rhopalomyces</i> sp.					1(0,017)		1(0,003)
<i>Spermospora</i> sp.			1(0,017)				1(0,003)
<i>Thielaviopsis</i> sp.		1(0,024)					1(0,003)
<i>Verticillium</i> sp.			1(0,017)				1(0,003)
S	35	29	32	24	31	26	74
N	52	42	60	32	60	60	306

S = Riqueza, N = Abundancia, (ni) = Número de individuos de la morfoespecie i, Pi= Abundancia de la i-ésima morfoespecie (Abundancia proporcional). I= Inoculado, NI= No inoculado.

En las CLR se registraron 29 morfoespecies fúngicas endorizosféricas, en PCPP 31, en CGP 26 y en PT 23, siendo estos valores superiores a los registrados en sitios donde no se realizó la inoculación (Tabla 3). CLR presentaron el mayor número de morfoespecies fúngicas (29 en sitios I y 25 en sitios NI), la mayor parte representada por *Aspergillus* sp. 9 (14% en sitios I y 8,7% en sitios NI) (Tabla 3).

Tabla 3

Composición de hongos endorizoféricos por tipo de suelo perturbado

MORFOESPECIES	CLR		PCPP		CGP		PT		Total ni(Pi)
	I ni(Pi)	NI ni(Pi)	I ni(Pi)	NI ni(Pi)	I ni(Pi)	NI ni(Pi)	I ni(Pi)	NI ni(Pi)	
<i>Aspergillus</i> sp. 9	7(0,14)	4(0,087)	1(0,021)	1(0,031)	2(0,05)	5(0,161)	5(0,147)	4(0,16)	29(0,095)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 7	4(0,08)	4(0,087)	3(0,063)	2(0,063)	4(0,1)	2(0,065)	3(0,088)	2(0,08)	24(0,078)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 9	3(0,06)	4(0,087)	1(0,021)	2(0,063)	3(0,075)	1(0,032)	1(0,029)	1(0,04)	16(0,052)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 8	3(0,06)	3(0,065)	3(0,063)	4(0,125)	1(0,025)		1(0,029)		15(0,049)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 11	2(0,04)	4(0,087)	1(0,021)	3(0,094)		1(0,032)		1(0,04)	12(0,039)
<i>Fusarium</i> sp. 12	1(0,02)	1(0,022)	1(0,021)	1(0,031)	4(0,1)	1(0,032)	1(0,029)		10(0,033)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 15	1(0,02)		3(0,063)	4(0,125)				2(0,08)	10(0,033)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 4	1(0,02)		2(0,042)	1(0,031)	1(0,025)	2(0,065)	3(0,088)		10(0,033)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 14		1(0,022)	6(0,125)	1(0,031)		1(0,032)			9(0,029)
<i>Scopulariopsis</i> sp.	2(0,04)	1(0,022)	1(0,021)		1(0,025)		2(0,059)	1(0,04)	8(0,026)
<i>Amblyosporium</i> sp. 1		1(0,022)	2(0,042)			3(0,097)	1(0,029)		7(0,023)
<i>Fusarium</i> sp. 7	1(0,02)	4(0,087)			1(0,025)	1(0,032)			7(0,023)
<i>Trichoderma</i> sp. 5	2(0,04)	1(0,022)	1(0,021)		1(0,025)	1(0,032)	1(0,029)		7(0,023)
<i>Geotrichum</i> sp. 2		1(0,022)			2(0,05)	1(0,032)	1(0,029)	1(0,04)	6(0,019)
<i>Monacrosporium</i> sp. 1		1(0,022)		1(0,031)		3(0,097)		1(0,04)	6(0,019)
<i>Trichoderma</i> sp. 7	1(0,02)		1(0,021)				1(0,029)	3(0,12)	6(0,019)
<i>Beauveria</i> sp. 1	1(0,02)			2(0,063)			2(0,059)		5(0,016)
<i>Cephalosporium</i> sp. 3	1(0,02)				2(0,05)			2(0,08)	5(0,016)
<i>Fusarium</i> sp. 11	1(0,02)	1(0,022)	2(0,042)		1(0,025)				5(0,016)
<i>Fusarium</i> sp. 3	3(0,06)	1(0,022)					1(0,029)		5(0,016)
<i>Geotrichum</i> sp. 3		3(0,065)					1(0,029)	1(0,04)	5(0,016)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 12			2(0,042)	2(0,063)			1(0,029)		5(0,016)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 18			1(0,021)	1(0,031)		3(0,097)			5(0,016)
<i>Aspergillus</i> sp. 1						2(0,065)		2(0,08)	4(0,013)
<i>Fusarium</i> sp. 6	2(0,04)	2(0,043)							4(0,013)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 5		1(0,022)	2(0,042)	1(0,031)					4(0,013)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 6		2(0,043)					2(0,059)		4(0,013)
<i>Trichoderma</i> sp. 6	2(0,04)		1(0,021)		1(0,025)				4(0,013)
<i>Trichoderma</i> sp. 8	2(0,04)		1(0,021)	1(0,031)					4(0,013)
<i>Paecilomyces</i> sp. 8	1(0,02)		1(0,021)					1(0,04)	3(0,010)
<i>Penicillium</i> sp. 2			2(0,042)				1(0,029)		3(0,010)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 3			1(0,021)		2(0,05)				3(0,010)
<i>Trichoderma</i> sp. 4	1(0,02)				1(0,025)		1(0,029)		3(0,010)
<i>Acremonium</i> sp. 2		1(0,022)			1(0,025)				2(0,007)
<i>Aspergillus</i> sp. 3	1(0,02)	1(0,022)							2(0,007)
<i>Botryotrichum</i> sp. 1			1(0,021)	1(0,031)					2(0,007)
<i>Botrytis</i> sp.	1(0,02)		1(0,021)						2(0,007)
<i>Chaetomium</i> sp.		1(0,022)	1(0,021)						2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 14			1(0,021)		1(0,025)				2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 15					2(0,05)				2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 2	1(0,02)	1(0,022)							2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 4					1(0,025)		1(0,029)		2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 5					2(0,05)				2(0,007)
<i>Monacrosporium</i> sp. 2	1(0,02)				1(0,025)				2(0,007)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 13				1(0,031)	1(0,025)				2(0,007)
<i>Amblyosporium</i> sp. 2			1(0,021)						1(0,003)

MORFOESPECIES	CLR		PCPP		CGP		PT		Total ni(Pi)
	I ni(Pi)	NI ni(Pi)	I ni(Pi)	NI ni(Pi)	I ni(Pi)	NI ni(Pi)	I ni(Pi)	NI ni(Pi)	
<i>Aspergillus</i> sp. 8			1(0,021)						1(0,003)
<i>Beauveria</i> sp. 2								1(0,04)	1(0,003)
<i>Beauveria</i> sp. 3							1(0,029)		1(0,003)
<i>Botryodiplodia</i> sp.	1(0,02)								1(0,003)
<i>Botryotrichum</i> sp. 2				1(0,031)					1(0,003)
<i>Brachysporium</i> sp.	1(0,02)								1(0,003)
<i>Cephalosporium</i> sp. 2				1(0,031)					1(0,003)
<i>Cilyndrocarpon</i> sp.								1(0,04)	1(0,003)
<i>Fusarium</i> sp. 10					1(0,025)				1(0,003)
<i>Fusarium</i> sp. 13						1(0,032)			1(0,003)
<i>Fusarium</i> sp. 8						1(0,032)			1(0,003)
<i>Fusarium</i> sp. 9						1(0,032)			1(0,003)
<i>Gliocladium</i> sp.							1(0,029)		1(0,003)
<i>Hirsutella</i> sp.			1(0,021)						1(0,003)
<i>Monacosporium</i> sp. 3					1(0,025)				1(0,003)
<i>Monilla</i> sp.		1(0,022)							1(0,003)
<i>Paecilomyces</i> sp. 2					1(0,025)				1(0,003)
<i>Paecilomyces</i> sp. 5			1(0,021)						1(0,003)
<i>Paecilomyces</i> sp. 6							1(0,04)		1(0,003)
<i>Paecilomyces</i> sp. 7							1(0,029)		1(0,003)
<i>Penicillium</i> sp. 1		1(0,022)							1(0,003)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 10					1(0,025)				1(0,003)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 16				1(0,031)					1(0,003)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 17	1(0,02)								1(0,003)
<i>Rhopalomyces</i> sp.							1(0,029)		1(0,003)
<i>Spermospora</i> sp.			1(0,021)						1(0,003)
<i>Thielaviopsis</i> sp.						1(0,032)			1(0,003)
<i>Verticillium</i> sp.	1(0,02)								1(0,003)
S	29	25	31	20	26	18	23	16	74
N	50	46	48	32	40	31	34	25	306

S = Riqueza, N = Abundancia, (ni) = Número de individuos de la morfoespecie i, Pi = Abundancia de la i-ésima morfoespecie (Abundancia proporcional). PCPP = Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros, CGP = Centro de gestión de pasivos, CLR = Celdas de lodos y ripios, PT = Potreros (testigo). I = Inoculado, NI = No inoculado

Las raíces de las especies arbóreas inoculadas con tierra de bosque natural presentaron mayor riqueza (n= 60) y abundancia (n= 172) comparadas con las raíces de especies arbóreas no inoculadas, dentro de las especies arbóreas inoculadas las morfoespecies fúngicas endorizosféricas que presentaron mayor porcentaje fueron: *Aspergillus* sp. 9 con 8,7 % seguido de *Rhizoctonia* sp. 7 con 8,1% (Tabla 4).

Tabla 4

Composición de hongos endorizoféricos de tres especies arbóreas según la inoculación

MORFOESPECIES	Inoculado	No Inoculado	Total
	$n_i(P_i)$	$n_i(P_i)$	$n_i(P_i)$
<i>Aspergillus</i> sp. 9	15(0,087)	14(0,104)	29(0,095)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 7	14(0,081)	10(0,075)	24(0,078)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 9	8(0,047)	8(0,060)	16(0,052)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 8	8(0,047)	7(0,052)	15(0,049)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 11	3(0,017)	9(0,067)	12(0,039)
<i>Fusarium</i> sp. 12	7(0,041)	3(0,022)	10(0,033)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 15	4(0,023)	6(0,045)	10(0,033)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 4	7(0,041)	3(0,022)	10(0,033)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 14	6(0,035)	3(0,022)	9(0,029)
<i>Scopulariopsis</i> sp.	6(0,035)	2(0,015)	8(0,026)
<i>Amblyosporium</i> sp. 1	3(0,017)	4(0,030)	7(0,023)
<i>Fusarium</i> sp. 7	2(0,012)	5(0,037)	7(0,023)
<i>Trichoderma</i> sp. 5	5(0,029)	2(0,015)	7(0,023)
<i>Geotrichum</i> sp. 2	3(0,017)	3(0,022)	6(0,019)
<i>Monacrosporium</i> sp. 1		6(0,045)	6(0,019)
<i>Trichoderma</i> sp. 7	3(0,017)	3(0,022)	6(0,019)
<i>Beauveria</i> sp. 1	3(0,017)	2(0,015)	5(0,016)
<i>Cephalosporium</i> sp. 3	3(0,017)	2(0,015)	5(0,016)
<i>Fusarium</i> sp. 11	4(0,023)	1(0,007)	5(0,016)
<i>Fusarium</i> sp. 3	4(0,023)	1(0,007)	5(0,016)
<i>Geotrichum</i> sp. 3	1(0,006)	4(0,030)	5(0,016)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 12	3(0,017)	2(0,015)	5(0,016)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 18	1(0,006)	4(0,030)	5(0,016)
<i>Aspergillus</i> sp. 1		4(0,030)	4(0,013)
<i>Fusarium</i> sp. 6	2(0,012)	2(0,015)	4(0,013)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 5	2(0,012)	2(0,015)	4(0,013)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 6	2(0,012)	2(0,015)	4(0,013)
<i>Trichoderma</i> sp. 6	4(0,023)		4(0,013)
<i>Trichoderma</i> sp. 8	3(0,017)	1(0,007)	4(0,013)
<i>Paecilomyces</i> sp. 8	2(0,012)	1(0,007)	3(0,010)
<i>Penicillium</i> sp. 2	3(0,017)		3(0,010)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 3	3(0,017)		3(0,010)
<i>Trichoderma</i> sp. 4	3(0,017)		3(0,010)
<i>Acremonium</i> sp. 2	1(0,006)	1(0,007)	2(0,007)
<i>Aspergillus</i> sp. 3	1(0,006)	1(0,007)	2(0,007)
<i>Botryotrichum</i> sp. 1	1(0,006)	1(0,007)	2(0,007)
<i>Botrytis</i> sp.	2(0,012)		2(0,007)
<i>Chaetomium</i> sp.	1(0,006)	1(0,007)	2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 14	2(0,012)		2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 15	2(0,012)		2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 2	1(0,006)	1(0,007)	2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 4	2(0,012)		2(0,007)
<i>Fusarium</i> sp. 5	2(0,012)		2(0,007)
<i>Monacrosporium</i> sp. 2	2(0,012)		2(0,007)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 13	1(0,006)	1(0,007)	2(0,007)
<i>Amblyosporium</i> sp. 2	1(0,006)		1(0,003)
<i>Aspergillus</i> sp. 8	1(0,006)		1(0,003)

MORFOESPECIES	Inoculado	No Inoculado	Total
	$ni(Pi)$	$ni(Pi)$	$ni(Pi)$
<i>Beauveria</i> sp. 2		1(0,007)	1(0,003)
<i>Beauveria</i> sp. 3	1(0,006)		1(0,003)
<i>Botryodiplodia</i> sp.	1(0,006)		1(0,003)
<i>Botryotrichum</i> sp. 2		1(0,007)	1(0,003)
<i>Brachysporium</i> sp.	1(0,006)		1(0,003)
<i>Cephalosporium</i> sp. 2		1(0,007)	1(0,003)
<i>Cilyndrocarpon</i> sp.		1(0,007)	1(0,003)
<i>Fusarium</i> sp. 10	1(0,006)		1(0,003)
<i>Fusarium</i> sp. 13		1(0,007)	1(0,003)
<i>Fusarium</i> sp. 8		1(0,007)	1(0,003)
<i>Fusarium</i> sp. 9		1(0,007)	1(0,003)
<i>Gliocladium</i> sp.	1(0,006)		1(0,003)
<i>Hirsutella</i> sp.	1(0,006)		1(0,003)
<i>Monacrosporium</i> sp. 3	1(0,006)		1(0,003)
<i>Monilla</i> sp.		1(0,007)	1(0,003)
<i>Paecilomyces</i> sp. 2	1(0,006)		1(0,003)
<i>Paecilomyces</i> sp. 5	1(0,006)		1(0,003)
<i>Paecilomyces</i> sp. 6		1(0,007)	1(0,003)
<i>Paecilomyces</i> sp. 7	1(0,006)		1(0,003)
<i>Penicillium</i> sp. 1		1(0,007)	1(0,003)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 10	1(0,006)		1(0,003)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 16		1(0,007)	1(0,003)
<i>Rhizoctonia</i> sp. 17	1(0,006)		1(0,003)
<i>Rhopalomyces</i> sp.	1(0,006)		1(0,003)
<i>Spermospora</i> sp.	1(0,006)		1(0,003)
<i>Thielaviopsis</i> sp.		1(0,007)	1(0,003)
<i>Verticillium</i> sp.	1(0,006)		1(0,003)
S	60	47	74
N	172	134	306

S = Riqueza, N = Abundancia, (ni) = Número de individuos de la morfoespecie i, Pi = Abundancia de la i-ésima morfoespecie (Abundancia proporcional).

Riqueza específica

Al interior de las raíces de *Piptadenia pteroclada* fueron registradas 35 morfoespecies fúngicas en individuos inoculados y 29 en no inoculados; en *Platymiscium pinnatum* los registros fueron de 32 morfoespecies en árboles inoculados y de 24 en no inoculados; y, en *Zygia longifolia* se registraron 31 morfoespecies en individuos con inóculo y de 26 en individuos sin inóculo.

Los estimadores de riqueza Jackknife de primer orden, Chao 2 y Bootstrap, explicaron en forma respectiva que la riqueza observada representó el 75,37%, 78,91% y el 87,21% de la riqueza esperada.

Bootstrap presentó los porcentajes más altos de morfoespecies fúngicas esperadas, en las tres especies arbóreas establecidas en suelos perturbados inoculados (Tabla 5).

Tabla 5

Valores del estimador Bootstrap para la riqueza de *Piptadenia pteroclada*, *Platymiscium pinnatum* y *Zygia longifolia*.

Especie arbórea	No Perturbado	No Perturbado	Perturbado	Perturbado
	Inoculado	No Inoculado	Inoculado	No Inoculado
	Bootstrap (%)	Bootstrap (%)	Bootstrap (%)	Bootstrap (%)
<i>Piptadenia pteroclada</i>	80,8	79,29	81,33	81,25
<i>Platymiscium pinnatum</i>	82,26	79,29	81,86	81,31
<i>Zygia longifolia</i>	80,45	81,02	82,30	80,51

Estructura de la comunidad de morfoespecies fúngicas

Las morfoespecies fúngicas endorizosféricas de las tres especies arbóreas inoculadas, presentan los valores más altos de riqueza, abundancia y diversidad a diferencia de las especies arbóreas no inoculadas (Tabla 6).

Tabla 6

Estructura de la comunidad de hongos endorizosféricos tres especies arbóreas inoculadas con tierra de bosque natural

ÍNDICES DE DIVERSIDAD	<i>Piptadenia pteroclada</i>		<i>Platymiscium pinnatum</i>		<i>Zygia longifolia</i>	
	I	NI	I	NI	I	NI
S	35	29	32	24	31	26
N	52	42	60	32	60	60
1-D	0,96	0,96	0,95	0,95	0,94	0,94
H'	3,39	3,25	3,24	3,08	3,17	3,02

S = Riqueza, N = Abundancia, 1-D = índice de Simpson, H' = índice de Shannon.

Los valores de los índices de diversidad de los sitios donde se realizó la inoculación con tierra de bosque natural son superiores a los índices de diversidad de los sitios no inoculados (Tabla 7).

Tabla 7

Estructura de la comunidad de hongos endorizosféricos de Piptadenia pteroclada, Platymiscium pinnatum y Zygia longifolia inoculadas con tierra de bosque natural de acuerdo al tipo de suelo perturbado

ÍNDICES DE DIVERSIDAD	CLR		PCPP		CGP		PT	
	I	NI	I	NI	I	NI	I	NI
S	29	25	31	20	26	18	23	16
N	50	46	48	32	40	31	34	25
1-D	0,95	0,94	0,95	0,93	0,95	0,92	0,94	0,92
H'	3,17	3,02	3,27	2,84	3,12	2,72	2,97	2,64

S = Riqueza, N = Abundancia, 1-D = índice de Simpson, H' = índice de Shannon. PCPP = Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros, CGP = Centro de gestión de pasivos, CLR = Celdas de lodos y rípios, PT = Potrerros (testigo).

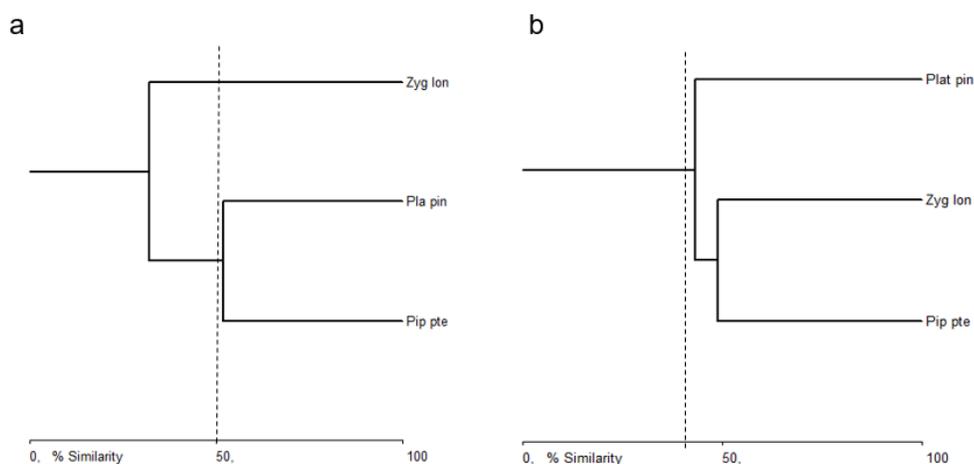
Similitud de hongos endorizosféricos entre tipos de suelo perturbado y especies arbóreas (Diversidad beta).

El dendrograma de Bray-Curtis demostró que, en especies arbóreas inoculadas *Piptadenia pteroclada* y *Platymiscium pinnatum* presentaron una similitud del 52%, este

conglomerado a su vez presentó una similitud del 32% con *Zygia longifolia* (Figura 2a, Anexo 4), mientras que, en las especies arbóreas no inoculadas *Piptadenia pteroclada* y *Zygia longifolia* presentaron una similitud de 49% (Figura 2b, Anexo 4).

Figura 2

Dendrogramas de Bray-Curtis por especies arbóreas

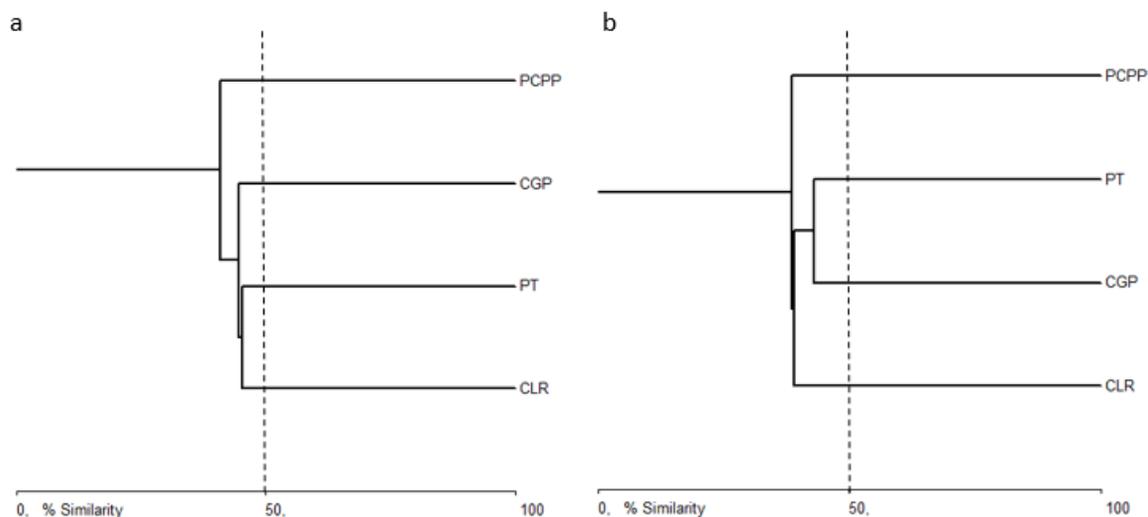


Nota. Los Dendrogramas muestran la similitud/disimilitud de morfoespecies fúngicas de a= especies arbóreas inoculadas, b= especies arbóreas no inoculadas; *Zyg lon*= *Zygia longifolia*, *Plat pin*= *Platymiscium pinnatum*, *Pip pte*= *Piptadenia pteroclada*.

En los tipos de sitio perturbado inoculados, se encontró que CLR y PT(testigos) fueron más similares con 45%, ambos a su vez similares al sitio CGP en un 44% y a su vez este conglomerado tiene una similitud del 32% con PCPP (Figura 3a, Anexo 4), por otra parte, en los sitios perturbados no inoculados, los sitios más similares fueron PT(testigos) y CGP con 43%, este conglomerado presentó una similitud del 39% con CLR y este a su vez presentó una similitud de 38% con PCPP (Figura 3b, Anexo 4).

Figura 3

Dendrogramas de Bray-Curtis por tipo de sitio perturbado



Nota. Los Dendrogramas muestran la similitud/disimilitud de morfoespecies fúngicas de a= sitios perturbados inoculadas, b= sitios perturbados no inoculadas; PCPP=plataformas que circunscriben a los pozos petroleros, CGP=centro de gestión de pasivos, CLR=celdas de lodos y ripios, y PT=potreros.

Diferencia entre morfoespecies fúngicas de tres especies arbóreas plantadas en suelos perturbados e inoculados con tierra de bosque natural.

Riqueza y abundancia

No se encontró un efecto significativo de la interacción sitio x especie arbórea x inoculación, sobre la riqueza específica ($F = 0,65$; $p = 0,6895$) ni la abundancia ($F = 0,27$; $p = 0,9494$). Sin embargo, se encontró un efecto significativo de la interacción especie arbórea x inoculación sobre la abundancia ($F = 3,13$; $p = 0,0501$). De igual manera los factores inoculación y sitio presentaron un efecto significativo para las variables riqueza específica y abundancia (Tabla 8).

Tabla 8

Análisis de varianza para la riqueza y abundancia de morfoespecies fúngicas en especies arbóreas plantadas en suelos perturbados e inoculadas con tierra de bosque natural

	Grados de libertad	Riqueza		Abundancia	
		<i>F-fisher</i>	<i>p-valor</i>	<i>F-fisher</i>	<i>p-valor</i>
Sitio	3	3,49	0,0202	2,91	0,0408
Especie	2	1,82	0,1703	2,46	0,0928
Inoculación	1	5,62	0,0206	5,79	0,0188
Sitio*Especie	6	1,09	0,3745	0,79	0,5812
Especie*Inoculación	2	1,69	0,1923	3,13	0,0501
Sitio*Inoculación	3	1,22	0,3106	0,67	0,5749
Sitio*Especie*Inoculación	6	0,65	0,6895	0,27	0,9494

El sitio, la especie arbórea y el inóculo fueron considerados como factores fijos.

Las especies arbóreas inoculadas con tierra de bosque natural, en suelos perturbados presentaron una mayor riqueza y abundancia de morfoespecies fúngicas, comparadas con las especies arbóreas no inoculadas (Tabla 9).

Tabla 9

Promedio \pm error estándar de abundancia y riqueza de morfoespecies fúngicas encontradas de acuerdo a la inoculación

Inoculación	S	N
Inoculado	1,74 \pm 0,06 a	1,86 \pm 0,07 a
No inoculado	1,55 \pm 0,06 b	1,63 \pm 0,07 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$); S = Riqueza, N = Abundancia.

Platymiscium pinnatum inoculada con tierra de bosque natural, mostró el valor más alto de abundancia que el resto de especies arbóreas, mientras que *Platymiscium pinnatum* no inoculada presentó el menor valor (Tabla 10).

Tabla 10

Promedio \pm error estándar de abundancia de morfoespecies fúngicas encontradas de tres especies arbóreas inoculadas y no inoculadas

Especie arbórea	Inoculación	N
<i>Platymiscium pinnatum</i>	Inoculado	1,92 \pm 0,12 a
<i>Zygia longifolia</i>	No inoculado	1,9 \pm 0,11 a
<i>Zygia longifolia</i>	Inoculado	1,88 \pm 0,11 a
<i>Piptadenia pteroclada</i>	Inoculado	1,77 \pm 0,11 a
<i>Piptadenia pteroclada</i>	No inoculado	1,61 \pm 0,12 ab
<i>Platymiscium pinnatum</i>	No inoculado	1,38 \pm 0,12 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Los árboles establecidos en las CLR presentaron los valores más altos de morfoespecies fúngicas para la riqueza y abundancia, mientras que PT presentó los valores más bajos (Tabla 11).

Tabla 11

Promedio \pm error estándar de la riqueza y la abundancia de las morfoespecies fúngicas encontradas de acuerdo al sitio perturbado

Sitio	S	N
CLR	1,79 \pm 0,08 a	1,94 \pm 0,09 a
PCPP	1,73 \pm 0,08 a	1,77 \pm 0,09 ab
CGP	1,59 \pm 0,08 ab	1,71 \pm 0,1 ab
PT	1,46 \pm 0,08 b	1,56 \pm 0,09 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$); S = Riqueza, N = Abundancia, CLR = Celdas de lodos y ripios, PCPP = Plataformas que circunscriben a los pozos petroleros, CGP = Centro de gestión de pasivos, PT = Potreros (Testigo).

Índices de Diversidad

No se encontró un efecto significativo de la interacción entre sitio \times especie arbórea \times inoculación sobre los índices de Simpson y Shannon. Sin embargo, se encontró un efecto significativo de la interacción especie arbórea \times inoculación sobre el índice de Simpson ($F = 4,23$; $p = 0,0185$) e índice Shannon ($F = 3,71$; $p = 0,0294$). De igual manera se encontró un

efecto significativo del inoculo para el índice de Simpson ($F = 4,84$; $p = 0,0312$) e índice Shannon ($F = 5,58$; $p = 0,021$) (Tabla 12).

Tabla 12

Análisis de varianza de los índices de diversidad de hongos endorizosféricos encontradas en especies arbóreas plantadas en suelos perturbados e inoculadas con tierra de bosque natural

	Grados de libertad	Simpson 1-D		Shannon H'	
		F-fisher	p-valor	F-fisher	p-valor
Sitio	3	1,57	0,2045	2,18	0,0978
Especie	2	2,09	0,1311	2,31	0,1071
Inoculacion	1	4,84	0,0312	5,58	0,021
Sitio*Especie	6	0,52	0,7924	0,66	0,686
Especie*Inoculación	2	4,23	0,0185	3,71	0,0294
Sitio*Inoculación	3	1,9	0,1371	1,71	0,1727
Sitio*Especie*Inoculación	6	0,47	0,8283	0,51	0,8018

El sitio, la especie arbórea y el inóculo fueron considerados como factores fijos.

Los índices de Simpson y de Shannon, mostraron que la mayor diversidad de morfoespecies fúngicas endorizosféricas se presentó en las especies arbóreas inoculadas con tierra de bosque natural que en las no inoculadas (Tabla 13).

Tabla 13

Promedio \pm error estándar del Índice de Simpson e Índice de Shannon de las morfoespecies fúngicas encontradas de acuerdo a la inoculación

Inoculación	1-D	H'
Inoculado	0,72 \pm 0,04 a	0,95 \pm 0,06 a
No inoculado	0,58 \pm 0,04 b	0,74 \pm 0,06 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$); 1-D = Índice de Simpson, H' = Índice de Shannon.

Simpson y Shannon tendieron a ser mayores en *Zygia longifolia* no inoculada, por otra parte, *Platymiscium pinnatum* no inoculada presentó el menor valor en los índices de Simpson y Shannon (Tabla 14).

Tabla 14

Promedio \pm error estándar del Índice de diversidad de las morfoespecies fúngicas de especies arbóreas inoculadas y no inoculadas

Especie arbórea	Inoculación	1-D	H'
<i>Zygia longifolia</i>	No inoculado	0,78 \pm 0,08 a	1,01 \pm 0,10 a
<i>Piptadenia pteroclada</i>	Inoculado	0,75 \pm 0,08 ab	0,97 \pm 0,10 a
<i>Platymiscium pinnatum</i>	Inoculado	0,74 \pm 0,08 ab	0,96 \pm 0,11 a
<i>Zygia longifolia</i>	Inoculado	0,67 \pm 0,08 ab	0,90 \pm 0,10 a
<i>Piptadenia pteroclada</i>	No inoculado	0,55 \pm 0,08 bc	0,72 \pm 0,11 ab
<i>Platymiscium pinnatum</i>	No inoculado	0,40 \pm 0,08 c	0,50 \pm 0,11 b

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Discusión

Composición de hongos endorizosféricos de tres especies arbóreas (Diversidad alfa)

Algunas de las morfoespecies fúngicas endorizosféricas identificadas en este estudio, han sido registradas previamente por Sosa (2018) y Quinsasamín (2019). El phylum con mayor cantidad de especies fue Ascomycota lo que concuerda con Pacasa et al., (2017), quienes sostienen que los hongos de este taxón agrupan la mayor diversidad fúngica en suelos y en raíces de comunidades vegetales.

Trece de los veintisiete géneros de morfoespecies fúngicas reportados por Giri et al., (2005), fueron registrados en este estudio, esta particularidad se debe a que los géneros reportados por los autores citados son los más comunes, tanto en el suelo como en raíces de algunas especies arbóreas de suelos no contaminados. Sin embargo, en el presente estudio también se encontraron otros géneros de hongos endorizosféricos, dichos géneros fúngicos suelen también ser aislados de forma frecuente en suelos y raíces de especies arbóreas (Arias & Piñeros, 2008).

Las 74 morfoespecies fúngicas reportadas en el presente estudio, difieren de las 31 morfoespecies registradas por Sosa (2018), estas diferencias podrían deberse a que la inoculación con tierra de bosque natural, pudo haber aumentado la riqueza de hongos (Wubs et al., 2016). Cabe recalcar que estos resultados podrían cambiar si se realiza un análisis genético de las morfoespecies fúngicas reportadas en este estudio.

Diversos estudios han demostrado que *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp. y *Verticillium* sp., son las morfoespecies fúngicas más comunes que más se aíslan a partir de muestras de suelo y agua contaminados por la extracción de crudo, de ahí que estos hongos son los más utilizadas en los procesos de biorremediación (Ali et al., 2012; Ameen et al., 2015). Varios estudios han demostrado que *Verticillium* sp. y *Aspergillus* sp. presentan tasas de remoción de hidrocarburos superiores al 90% (Marín et al., 2018). Algunas especies y cepas de *Penicillium* sp facilitan la adaptación y colonización de ciertas plantas a suelos contaminados por extracción de crudo (Bourdel et al., 2016). Cabe recalcar que las morfoespecies fúngicas usadas en los programas de biorremediación de suelos perturbados por la extracción de petróleo han sido identificadas en el presente estudio.

Riqueza específica

Las especies arbóreas inoculadas presentaron mayor riqueza de morfoespecies fúngicas endorizosféricas, de la misma manera Phillips et al.,(2019) encontraron que la riqueza de hongos endorizosféricos de suelos de textura fina bajo invernadero, incrementan al aplicar el inoculo de suelo, independientemente de la especie arbórea. Esto se debe a que los inóculos aplicados cuentan con una gran cantidad de microorganismos, que generalmente se encuentran presentes en suelos naturales (Giri et al., 2005).

En el presente estudio la especie arbórea inoculada que presentó mayor riqueza fue *Piptadenia pteroclada*, lo que concuerda con Quinsasamín (2019) quien también encontró que la misma especie sin inoculación también presentó mayor riqueza; por lo tanto, se puede prever que esta especie puede soportar mayor cantidad de riqueza fúngica y que esta mejora al ser inoculada con suelo de bosque natural ya que en este estudio se registraron 74 morfoespecies frente a las 34 reportadas por Quinsasamín (2019).

Las especies arbóreas inoculadas ubicadas en las PCPP, presentaron el valor más alto de riqueza. Estos resultados difieren de los reportados por Sosa (2018), en donde la mayor riqueza de morfoespecies fúngicas se presentaron en PT. Esta particularidad se debe atribuir al efecto del inóculo sobre la diversidad de hongos endorizosféricos.

Los estimadores no paramétricos de riqueza indicaron que más del 75% de las especies observadas fueron esperadas; incluso la estimación de Bootstrap alcanzó el 87,20 %, esto permite inferir que existió un muestreo eficiente ubicado dentro del rango aceptable según Kaplin & Feinsinger (2002) y Fitzgerald & Stronza (2009), quienes afirman que la riqueza esperada es aceptable a partir del 75% de la estimación.

Estructura de la comunidad y similitud de morfoespecies fúngicas endorizosféricas

Los análisis de la estructura de la comunidad revelaron que los individuos arbóreos de las tres especies inoculadas de los sitios perturbados y no perturbados, presentan los valores más altos de abundancia, riqueza, y diversidad de hongos endorizosféricos a diferencia de los árboles no inoculados, esta respuesta demuestra que la aplicación del inóculo de tierra boscosa en la corona de los árboles mejora la diversidad de hongos endorizosféricos (Wubs et al., 2016).

Los dendrogramas de similitud-disimilitud de especies elaborados en el presente estudio, demostraron resultados iguales a los de Sosa (2018), donde el tipo de suelo perturbado más disímil fue PCPP, particularidad que podría deberse a las diferentes características físico-químicas entre los tipos de suelos evaluados. La especie arbórea más disímil cambió cuando se aplicó el inóculo, esto explica que el inóculo si tuvo influencia sobre la diversidad de hongos endorizosféricos ya que las especies arbóreas inoculas presentaron diferencias entre la similitud de morfoespecies fúngicas presentes en especies arbóreas no inoculadas.

Riqueza, abundancia y diversidad fúngica endorizosférica

Los bosques naturales presenta una alta abundancia, riqueza y diversidad de plantas, las cuales secretan exudados que estimulan el crecimiento de los microorganismos (Broeckling et al., 2008), así mismo se conoce que una alta diversidad de plantas incrementa la diversidad de hongos filamentosos del suelo (Zak et al., 2003). Por lo tanto, el incremento significativo de la abundancia, riqueza, y diversidad de hongos endorizosféricos, gracias a la inoculación de las coronas de Fabaceae con tierra proveniente del bosque natural, puede deberse a que el inóculo presenta una alta diversidad de microorganismos, entre estos los hongos endorizosféricos (Pacasa et al., 2017). La inoculación de tierra de bosque natural influyó significativamente sobre la diversidad de hongos endorizosféricos, sin embargo, aún no se conoce el efecto del mismo sobre las variables dasométricas de especies arbóreas.

Raquena et al., (2001) y Middleton & Bever (2012) demostraron que la aplicación de un inóculo nativo, puede ayudar al establecimiento de especies forestales nativas en suelos perturbados, esta particularidad se debe a que se genera una relación planta – hongo, que la hace resistente a diferentes tipos de estrés ambiental, induce su crecimiento y le brinda

protección contra microorganismos fitopatógenos, gracias a la producción de metabolitos secundarios (Smith & Read, 2009; Rodriguez et al., 2009; Gao et al., 2010).

Para tener un mayor éxito en un programa de inoculación, se podría realizar una selección previa de los hongos endorizosféricos más eficaces en los procesos de biorremediación y evaluar su efecto en vivero y en campo (Ulloa, 1999).

Capítulo V

Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

- En las especies arbóreas inoculadas se identificó un mayor número de morfoespecies fúngicas endorizosféricas, de los 306 aislamientos realizados 172 pertenecen a especies arbóreas inoculadas y de los 26 géneros reportados 10 se identificaron solo en especies inoculadas, mientras que los 16 restantes se encontraron tanto en especies arbóreas inoculadas como en las no inoculadas.
- Las especies arbóreas, establecidas en suelos perturbados inoculadas presentaron mayor riqueza (n= 60) y abundancia (n= 172) de hongos endorizosféricos, en comparación con las especies arbóreas establecidas en suelos perturbados no inoculadas.
- *Platymiscium pinnatum* y *Piptadenia pteroclada* inoculadas, comparten la mayor similitud de hongos endorizosféricos, mientras que *Zygia longifolia* inoculada mantuvo bajos porcentajes de similitud.
- El inóculo de tierra de bosque natural aplicado presentó un efecto significativo sobre la diversidad de hongos endorizosféricos, debido a que condujo a una comunidad fúngicas más diversa en *Platymiscium pinnatum*, *Piptadenia pteroclada* y *Zygia longifolia* inoculadas, establecidas tanto en sitios perturbados como en no perturbados.

Recomendaciones

- Realizar análisis molecular de las morfoespecies fúngicas endorizosféricas identificadas en *Platymiscium pinnatum*, *Piptadenia pteroclada* y *Zygia longifolia* para determinar su identidad genética y así poder seguir usándolas en nuevos estudios.
- Evaluar consorcios de morfoespecies fúngicas endorizosféricas sobre las variables dasométricas de *Platymiscium pinnatum*, *Piptadenia pteroclada* y *Zygia longifolia*.
- Evaluar el efecto de la inoculación de consorcios de morfoespecies fúngicas en vivero y en campo.

Referencias bibliográficas

- Ali, M. I. A., Khalil, N., & Abdelghany, M. (2012). Biodegradation of some polycyclic aromatic hydrocarbons by *Aspergillus terreus*. *Afr J Microbiol Res*, 6, 3783-3790. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.411>
- Ameen, F., Moslem, M., Hadi, S., & Al-Sabri, A. E. (2015). Biodegradation of diesel fuel hydrocarbons by mangrove fungi from Red Sea Coast of Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 211-218. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.04.005>
- Arias, E., & Piñeros, P. (2008). Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde. [Tesis de Grado, Carrera de Microbiología Industrial, Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias], 204.
- Barnett, B., & Hunter, H. (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi-fourth edition*. Barnett y Hunter. Pdf.pdf. 148-149.
- Barraza, F., Maurice, L., Uzu, G., Becerra, S., López, F., Ochoa, V., Ruales, J., & Schreck, E. (2018). Distribution, contents and health risk assessment of metal(loid)s in small-scale farms in the Ecuadorian Amazon: An insight into impacts of oil activities. *Science of the Total Environment*, 106-120. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.246>
- Bento, R. A., Saggin-Júnior, O. J., Pitard, R. M., & Stralioatto, R. (2012). Selection of Leguminous Trees Associated with Symbiont Microorganisms for

- Phytoremediation of Petroleum-Contaminated Soil. *Water Air Soil Pollut*, 223(9), 5659-5671. <https://doi.org/10.1007/s11270-012-1305-3>
- Berendsen, R. L., Pieterse, C., & Bakker, P. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17(8), 478-486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Bourdel, G., Roy-Bolduc, A., St-Arnaud, M., & Hijri, M. (2016). Concentration of Petroleum-Hydrocarbon Contamination Shapes Fungal Endophytic Community Structure in Plant Roots. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00685>
- Bravo, C., Torres, B., Alemán, R., Marín, H., Durazno, G., Navarrete, H., Gutiérrez, T., & Tapia, A. (2017). Indicadores morfológicos y estructurales de calidad y potencial de erosión del suelo bajo diferentes usos de la tierra en la Amazonía ecuatoriana. *Anales de Geografía de la Universidad Complutense*, 37(2), 247-264. <https://doi.org/10.5209/AGUC.57725>
- Bravo, E. (2011). *Impactos de la explotación petrolera*. 4-53.
- Broeckling, C. D., Broz, A. K., Bergelson, J., Manter, D. K., & Vivanco, J. M. (2008). Root Exudates Regulate Soil Fungal Community Composition and Diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(3), 738-744. <https://doi.org/10.1128/AEM.02188-07>
- Brundrett, M. C. (2009). Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: Understanding the global diversity of host plants by resolving

- conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil*, 320(1-2), 37-77. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9877-9>
- Burghal, A. A., Al-Tamimi, W., & Ali, N. (2016). Mycodegradation of Crude Oil by Fungal Species Isolated from Petroleum Contaminated Soil. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 5(2), 1517-1524. <https://doi.org/10.15680/IJRSET.2016.0502068>
- Carpenter, F. L., Nichols, J. D., & Sandi, E. (2004). Early growth of native and exotic trees planted on degraded tropical pasture. *Forest Ecology and Management*, 196(2-3), 367-378. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.03.030>
- Dantas, J. S., Souza, A. P. de, Farias, M. F. de, & Nogueira, V. de F. B. (2009). Interactions among groups of microorganisms with rhizosphere. *Applied Research & Agrotechnology*, 2(2), 213-224. <https://doi.org/10.5777/paet.v2i2.113>
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2013). InfoStat, versión 2013. *InfoStat, versión 2013 Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina*, 115.
- Espinoza, E. (2018). Relaciones entre las características edafológicas y las variables dasométricas de tres especies arbóreas plantadas en suelos perturbados por la actividad petrolera. [Tesis de Grado, Carrera de Ingeniería Agropecuaria, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE]. <http://repositorio.espe.edu.ec/jspui/handle/21000/14251>

- Fitzgerald, L. A., & Stronza, A. L. (2009). Applied Biodiversity Science: Bridging Ecology, Culture, And Governance For Effective Conservation. *Interciencia*, 34(8), 563-570.
- Folguera, G., & Marcos, A. (2013). El concepto de especie y los cambios teóricos en biología. *Ludus vitalis: revista de filosofía de las ciencias de la vida = journal of philosophy of life sciences = revue de philosophie des sciences de la vie*, 21(39), 1-25.
- Gao, F.-K., Dai, C.-C., & Liu, X.-Z. (2010). Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 4(13), 1346-1351.
- Garzón, J. M., Rodríguez-Miranda, J. P., & Hernández-Gómez, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y Salud*, 19(2), 309. <https://doi.org/10.22267/rus.171902.93>
- Giri, B., Giang, P., Kumari, R., Prasad, R., & Varma, A. (2005). Microbial Diversity in Soils. En *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions* (pp. 19-55). https://doi.org/10.1007/3-540-26609-7_2
- Gómez, L., Alonso, R., Portugal, V., & Rubí-Arriaga, M. (2007). Micorrizas arbusculares. *Ciencia Ergo Sum*, 14(3), 300-306.
- IUCN. (2015). *International Union for Conservation of Nature—IUCN*. UICN. <https://www.iucn.org>

- Jansa, J., Bukovská, P., & Gryndler, M. (2013). Mycorrhizal hyphae as ecological niche for highly specialized hypersymbionts – or just soil free-riders? *Frontiers in Plant Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00134>
- Kaplin, B., & Feinsinger, P. (2002). Designing Field Studies for Biodiversity Conservation. *Ecology*, 83. <https://doi.org/10.2307/3071997>
- Maherali, H., & Klironomos, J. (2007). Influence of Phylogeny on Fungal Community Assembly and Ecosystem Functioning. *Science (New York, N.Y.)*, 316(5832), 1746-1748. <https://doi.org/10.1126/science.1143082>
- Maldonado, E., Rivera-Cruz, M., Izquierdo-Reyes, F., & Palma-López, D. (2010). Efectos de rizósfera, microorganismos y fertilización en la biorremediación y fitorremediación de suelos con petróleo crudo nuevo e intemperizado. *Universidad y ciencia*, 26(2), 121-136.
- Marín, F., Navarrete, H., & Narvaez-Trujillo, A. (2018). Total Petroleum Hydrocarbon Degradation by Endophytic Fungi from the Ecuadorian Amazon. *Advances in Microbiology*, 08, 1029-1053. <https://doi.org/10.4236/aim.2018.812070>
- McAleece, N., Gage, J., Lamshead, P., & Patearson, G. (1997). *BioDiversity Professional statistics analysis software. Jointly developed by the Scottish Association for Marine Science and the Natural History Museum London.* <https://www.sams.ac.uk/science/outputs/>
- Middleton, E. L., & Bever, J. D. (2012). Inoculation with a Native Soil Community Advances Succession in a Grassland Restoration. *Restoration Ecology*. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2010.00752.x>

- Mier, T., Toriello, C., & Ulloa, M. (2002). *Hongos microscópicos saprobios y parásitos (SIBE)*. SIBE. <http://bibliotecasibe.ecosur.mx/sibe/book/000035978>
- Moya, J., García, S., & Avilés, E. (2014). Aislamiento de cepas de Trichoderma de suelos, sustratos y raíces de plantas en invernaderos en la República Dominicana. *APF*, 3(2), 11-16.
- Muñoz, E., Macías-López, C., Franco-Ramírez, A., Sánchez-Chávez, E., & Jiménez-Castro, J. (2009). Identificación y colonización natural de hongos micorrízicos arbusculares en nogal. *Terra Latinoamericana*, 27(4), 355-361.
- Ndimele, P. E. (2010). A Review on the Phytoremediation of Petroleum Hydrocarbon. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 13, 715-722. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2010.715.722>
- Pacasa, F., Loza, M., Flores, A., Vino, L., & Serrano, T. (2017). Comunidad de hongos filamentosos en suelos del Agroecosistema de K'iphak'iphani, Comunidad Choquenaira-Viacha Filamentous soil fungi communities on K'iphak'iphani agroecosistemas, Choquenaira-Viacha Municipality. *Selva Andina Research Society*, 8(1), 2-25.
- Pérez, B., Silóniz, M. I. de, Torralba, B., & Vázquez, C. (2011). Metodología de esterilización en el laboratorio microbiológico. *REDUCA (Biología)*, 3(5), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s11270-013-1637-7>
- Pérez, I., Ochoa-Gaona, S., Schroeder, R. H. A., Rivera-Cruz, M. C., & Geissen, V. (2013). Tolerance of Four Tropical Tree Species to Heavy Petroleum

Contamination. *Water Air Soil Pollut*, 224(8), 13.

<https://doi.org/10.1007/s11270-013-1637-7>

Phillips, M. L., Aronson, E. L., Maltz, M. R., & Allen, E. B. (2019). *Native and invasive inoculation sources modify fungal community assembly and biomass production of a chaparral shrub*. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103370>

Pozo, W. E. (2017). *Relaciones de la diversidad arbórea y la estructura del paisaje agrícola tropical ecuatoriano con la biodiversidad de murciélagos filostómidos*. [Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas, Departamento de Biología Animal y Humana, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, La Habana, Cuba].

Prieto, O. O., Belezaca-Pinargote, C. E., Mora-Silva, W. F., Garcés-Fiallos, F. R., Sabando-Ávila, F. A., & Cedeño-Loja, P. E. (2012). Identificación de hongos micorrízicos arbusculares en sistemas agroforestales con cacao en el trópico húmedo ecuatoriano. *Agronomía Mesoamericana*, 233-239.

Quinsasamín, J. (2019). Diversidad de hongos rizosféricos de tres especies arbóreas plantadas en suelos perturbados por la actividad petrolera de la Amazonía ecuatoriana. [Tesis de Grado, Carrera de Ingeniería Agropecuaria, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE]., 1-66.

Ramos, G. C. D. (2011). Petróleo, medio ambiente, cambio climático y seguridad: Macondo. *Nómadas. Revista Crítica de Ciencias Sociales y Jurídicas*, 30(2), 1-17.

Requena, N., Perez-Solis, E., Azcon-Aguilar, C., Jeffries, P., & Barea, J. (2001). Management of Indigenous Plant-Microbe Symbioses Aids Restoration of

- Desertified Ecosystems. *Applied and environmental microbiology*, 67, 495-498.
<https://doi.org/10.1128/AEM.67.2.495-498.2001>
- Rodriguez, R. J., White, J. F., Arnold, A. E., & Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: Diversity and functional roles: Tansley review. *New Phytologist*, 182(2), 314-330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>
- San Martín, Y. (2011). Bioremediation: A tool for the management of oil pollution in marine ecosystems. *Biotecnología Aplicada*, 28(2), 60-76.
- Smith, J., & Read, D. (2009). Mycorrhizal Symbiosis (Third Edition). *Soil Science Society of America Journal - SSSAJ*, 73.
<https://doi.org/10.2136/sssaj2008.0015br>
- Sosa, V. (2018). Diversidad de hongos presentes en raíces de tres especies arbóreas plantadas en suelos perturbados por la actividad petrolera de la Amazonía ecuatoriana. [Tesis de Grado, Carrera de Ingeniería Agropecuaria, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE]., 1-60.
- Ulloa, B. S. C. (1999). Micorrización en la conservación de los bosques. *Ciencia ergo-sum*, 6(2), 159-164.
- Urmeneta, B., Díaz, R., Gamazo, C., & López-Goñi, I. (2010). *Manual práctico de microbiología*. Elsevier Masson.
- Villacís, J. (2016). Evaluación de las técnicas de remediación vegetal utilizadas en plataformas petroleras mediante estudios del desempeño de especies y análisis de diversidad funcional. [Tesis de Doctorado en Ciencias Agropecuarias.

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba], 1-146.

- Villacís, J., Armas, C., Hang, S., & Casanoves, F. (2016a). Selection of Adequate Species for Degraded Areas by Oil-Exploitation Industry as a Key Factor for Recovery Forest in the Ecuadorian Amazon. *Land Degradation & Development*, 27(7), 1771-1780. <https://doi.org/10.1002/ldr.2511>
- Villacís, J., Casanoves, F., Hang, S., Keesstra, S., & Armas, C. (2016b). Selection of forest species for the rehabilitation of disturbed soils in oil fields in the Ecuadorian Amazon. *Science of the Total Environment*, 761-770. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.102>
- Watanabe, T. (2010). *Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species* (2nd ed). CRC Press.
- Wubs, E. R. J., Van Der Putten, W. H., Bosch, M., & Bezemer, T. M. (2016). Soil inoculation steers restoration of terrestrial ecosystems. *Nature Plants*, 2(8), 6. <https://doi.org/10.1038/NPLANTS.2016.107>
- Yu, H.-X., Wang, C.-Y., & Tang, M. (2013, diciembre 25). *Fungal and Bacterial Communities in the Rhizosphere of Pinus tabulaeformis Related to the Restoration of Plantations and Natural Secondary Forests in the Loess Plateau, Northwest China* [Research Article]. The Scientific World Journal; Hindawi. <https://doi.org/10.1155/2013/606480>

- Zak, D., Holmes, W., White, D., Peacock, A., & Tilman, A. (2003). Plant Diversity, Soil Microbial Communities, and Ecosystem Function: Are There Any Links? *Ecology*, 84, 2042-2050. <https://doi.org/10.1890/02-0433>
- Zamora, C. (2010). *Las actividades de la industria petrolera y el marco ambiental. Una visión crítica de su efectividad*. 51(1), 113-144.