

**EFICIENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO ARTESANAL DE ALMIDÓN DE *Manihot esculenta*
EN LA GERMINACIÓN IN VITRO DE HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS
VESICULO-ARBUSCULARES NATIVOS DE VALLEDUPAR.**

**CLAUDIA PATRICIA MADRID
SCHLEGUEL**

**LIBARDO ALFONSO MORALES
LUQUE**

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA
VALLEDUPAR**

2023

**EFICIENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO ARTESANAL DE ALMIDÓN DE
Manihot esculenta EN LA GERMINACIÓN IN VITRO DE HONGOS
FORMADORES DE MICORRIZAS VESICULO-ARBUSCULARES
NATIVOS DE VALLEDUPAR.**

**CLAUDIA PATRICIA MADRID SCHLEGUE
LIBARDO ALFONSO MORALES LUQUES.**

**Trabajo de titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Microbiólogo**

DIRECTOR

Aslenis Emidia Melo Rios.

Microbióloga, Magíster en gestión y auditoría ambiental.

CODIRECTOR

Jeisa Paola Farelo Fernández Microbióloga,

Especialista en salud ocupacional.

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL
CESAR FACULTAD CIENCIAS
BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA
VALLEDUPAR
2023**

Nota de aceptación

Presidente del jurado

Jurado

Jurado

DEDICATORIA

Al finalizar esta importante etapa profesional, dedico este triunfo primeramente a Dios por darme sabiduría, salud y vida e iluminarme en cada momento de mi vida, a la memoria de mis abuelos Bernabela Garces y Arturo Madrid. A mis queridos padres Yolvis Madrid y Martha Schleguel que siempre me motivaron a seguir adelante, por inculcarme buenos valores; a cada uno de mis hermanos que estuvieron apoyándome, a mis sobrinos que han sido una motivación más, como también a mi compañero Adalberto Hinojosa que ha estado conmigo incondicionalmente y dedicarme siempre buenas palabras.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas aquellas personas que me apoyaron en la realización de mi tesis y que sin las cuales nunca hubiese podido lograrlo, en primer lugar, quiero darle las gracias a mi directora Aslenis Melo Rios por brindarme la oportunidad de enseñarme e inculcar sus conocimientos para que esto se llevara a cabo, a mi codirectora Jeisa Farelo por siempre estar dada a cualquier inquietud, a mi compañero Libardo Morales por su gran apoyo en todo este camino.

Contenido

RESUMEN.....	10
1. INTRODUCCIÓN.....	12
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
3.JUSTIFICACIÓN.....	12
4. OBJETIVOS.....	14
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	14
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
5. MARCO TEÓRICO	17
5.1. ANTECEDENTES.....	15
5.2 BASES TEÓRICAS	22
5.2.1 Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)	22
5.2.1.1 Identificación de HMA.....	22
5.2.1.2 Estructura de los Hongos Micorrízicos arbusculares (HMA)	23
5.2.1.3 Proceso de infección micorrízica.....	24
5.2.1.4 Importancia de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA).....	24
5.2.1.5 Técnicas de propagación de inóculos	25
5.2.1.6 YUCA.....	26
5.2.1.7 ALMIDÓN DE LA YUCA.....	26
5.3. MARCO LEGAL.....	26
5.3.1 BASES LEGALES.....	26
6. METODOLOGÍA	29
6.1.Tipo de estudio.....	28
6.2. Universo y población.....	29
6.3. Procedimiento.....	30
6.3.1.1.Obtención del almidón	¡Error! Marcador no definido.
6.3.1.2.Elaboración del medio de cultivo de almidón	30
6.3.1.3.Medición de temperatura de gelatinización.....	30
6.3.1.4.Pruebas de germinación de hongos y semillas en el medio yuca.	31
6.3.1.5. Toma de muestra.....	31
6.3.1.6. Recolección de micorrizas.....	31
6.3.1.7. Extracción de esporas.....	32
6.3.1.8.Evaluación de la germinación de esporas.....	32
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
7.1. Rendimiento del almidón.....	33

7.2. Germinación de semillas y hongos en medio almidón de yuca.....	34
7.3. Crecimiento de hongo.....	35
7.4. Germinación de esporas de hongo.....	36
8. CONCLUSIONES.....	40
9.RECOMENDACIONES.....	40
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
11. ANEXOS.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Mapa de localización de la granja experimental de la universidad popular del Cesar. (Morales L. & Madrid C, 2023)	29
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Obtención del almidón de yuca	33
Tabla 2. Porcentaje de germinación de semillas en el medio almidón de yuca	35

LISTA DE GRAFICAS

Grafica 1. Esporas de micorrizas, en el medio almidón de yuca.....	36
--------------------------------------------------------------------	----

ANEXO

Anexo A: pesaje de yuca, para la obtención del almidón.....	52
Anexo B: Ralladura de la yuca.....	53
Anexo C: Decante del almidón de yuca.....	53
Anexo D: Preparación del medio yuca.....	54
Anexo E: Germinación de semillas.....	55
Anexo F: Comportamiento de crecimiento de los hongos (<i>Beauveria spp</i> , <i>Isaria spp</i> , <i>Metarhizium spp</i> y <i>Purpureocillium spp</i>), en el medio de cultivo almidón de yuca	55

Anexo G: Crecimiento de hongos (<i>Aspergillus spp</i> , <i>Fusarium spp</i> , prueba de hongos en el ambiente) en medio almidón de yuca.....	56
Anexo H: Lavado, recolección y desinfección de las micorrizas.....	57
Anexo I: Esporas de micorrizas germinadas.....	57
Anexo J: Estructuras macro y micro, asociadas al género <i>Boletus sp</i>	58

RESUMEN

Las demandas en cadenas productivas y de seguridad alimentaria, requieren la innovación tecnológica y estudios de bioprospección de microorganismos eficientes como las esporas de micorrizas, que aportan nutrientes a plantas simbiotes, resistencia a sequía y protección contra enfermedades bióticas. Se desarrolló un estudio con el objetivo de comparar la eficiencia de un medio de cultivo convencional y un medio de cultivo artesanal de yuca (*Manihot esculenta*) en la germinación de las esporas de micorrizas, estos cultivos ofrecen alternativas en el mercado, porque no solo se usa para alimentar a humanos y animales, también en la industria, para la producción de aceite, tela, pegamento, papel, energía y la minería.

La metodología incluyó la producción del almidón, la estandarización del proceso de elaboración del medio de cultivo y evaluación del porcentaje de la germinación in vitro del microorganismo, en dicho medio comparado con agar agar. Como resultado se obtuvo un protocolo de producción de almidón por rallado de la yuca sin corteza interior y triple lavado, con rendimiento del 18 %, con relación a la obtención por licuado sin corteza y dos lavados con 18,6 %, sin diferencias significativas entre estos, pero si con el método de rallado con corteza y un lavado con el 9,5 % de almidón obtenido. Se obtuvo una germinación en agar agar y el medio yuca del 5 %. En conclusión, se observó la factibilidad en el desarrollo y estandarización del medio artesanal a base de yuca, económico, de fácil obtención y la utilidad en la siembra de distintos hongos y germinación de diferentes semillas de plantas.

ABSTRACT

The demands in production chains and food security require technological innovation and bioprospecting studies of efficient microorganisms such as mycorrhizal spores, which provide nutrients to symbiont plants, resistance to drought and protection against biotic diseases. A study was developed with the objective of comparing the efficiency of a conventional culture medium and an artisanal culture medium of cassava (*Manihot esculenta*) in the germination of mycorrhizal spores. These crops offer alternatives in the market, because they not only It is used to feed humans and animals, also in industry, for the production of oil, fabric, glue, paper, energy and mining.

The methodology included the production of starch, the standardization of the culture medium preparation process and evaluating the percentage of in vitro germination of the microorganism, in said medium compared to agar agar. As a result, a starch production protocol was obtained by grating the cassava without inner bark and triple washing, with a yield of 18%, in relation to obtaining by liquefying without bark and two washings with 18.6%, without significant differences between these, but with the method of grating with bark and washing with the 9.5% of starch obtained. Germination was obtained on agar agar and 5% cassava medium. In conclusion, the feasibility in the development and standardization of the artisanal medium based on cassava, economical, easy to obtain, and the usefulness in the sowing of different fungi and germination of different plant seeds was observed.

1. INTRODUCCIÓN

El uso de agroquímicos es uno de los factores de contaminación a nivel mundial. La utilización de fertilizantes sintéticos, en los diferentes cultivos ha causado la degradación de los suelos, volviéndose salinos, pobres en nutrientes, disminuyendo su biota, el humus, componentes esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Erazo, C., & Joffre, M., 2020). Es por ello, que hoy en día avanzar en estudios de bioprospección que contribuyan al desarrollo de soluciones biotecnológicas específicas para la región caribe como lo son los hongos formadores de micorrizas, los avances biotecnológicos para la elaboración de bioproductos, traen consigo la necesidad de creación de empresas que respondan a la naturaleza de estos bienes o servicios que lleguen a suplir necesidades dentro de su entorno de una manera más amigable y sostenible (Martínez, 2019).

Generar una empresa que produzca un producto que contribuya al mejoramiento de suelos y permitir a los agricultores emergentes encontrar en el mercado, un producto a bajo costo y con efectos benéficos para su cultivo y el mismo suelo.

La región Caribe es baja la representación de empresas dedicadas a la producción de bioinsumos dentro de la relación presentada por el ICA el 2021, se evidencia que de las 237 empresas registradas de bioinsumos solo el 1.7% están ubicadas en la región caribe el 98.3% restante pertenece al interior del país teniendo mayor presencia en Antioquia, Cundinamarca, Distrito Capital y Valle del Cauca (ICA, 2021).

Se plantea una investigación con el objetivo de comparar la eficiencia del medio de cultivo artesanal de yuca (*Manihot esculenta*), en la germinación *in vitro* de esporas de hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares nativos de Valledupar en el departamento del Cesar.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las prácticas no sostenibles y poco tecnificadas en la agricultura han sido uno de los factores en el deterioro de los recursos ambientales, exponiéndonos a la limitación de las fuentes alimentarias, a la pérdida y disminución de organismos simbióticos benéficos a las plantas entendiéndose cómo funciona la simbiosis dentro de las plantaciones es una forma innovadora y sostenible de desarrollar nuevos productos agrícolas (Pucheta, 2021).

Debido a esto, se optó por la aplicación de sustancias orgánicas o inorgánicas en actividades agrícolas favoreciendo y mejorando los cultivos para aumentar la producción, empleo que se incrementó debido a la alta demanda de alimentos, situación que se ha traducido en el uso indiscriminado de estos productos, como son los agroquímicos (Guzmán, P., *et al.*, 2016). Cabe resaltar que el uso de agroquímicos como componente tecnológico de la producción agrícola enfrenta cuestionamientos por sus efectos adversos tanto sobre el ambiente como la inocuidad de los alimentos y la salud humana.

No obstante, según el Censo Agropecuario 2022, la zona rural del Cesar se caracteriza por el uso indiscriminado de agroquímicos, dado que son pocas las empresas registradas productoras de bioinsumos en todo el Caribe colombiano (ICA, 2021). Donde a que estas prácticas han traído consigo suelos degradados con bajos rendimientos, poca planificación de fertilización y abuso de químicos para el manejo fitosanitario (Tofiño, Cabal y Gil, 2012).

En este sentido, se evidencia la necesidad local, de hacer estudios de bioprospección de microorganismos eficientes como las esporas de micorrizas, que tienen resistencia a sequía, aportan nutrientes a las plantas simbiotas y protección contra enfermedades bióticas (Calonne 2016; Dang *et al.* 2021). Los estudios adelantados en la Universidad Popular del Cesar se han limitado a la identificación taxonómica, cuantificación y multiplicación tradicional de una mezcla de esporas en macetas o plantas trampa con sustrato de suelo y arena, lo cual agota el recurso suelo, genera un

producto pesado y no es tan eficiente su conservación.

Por consiguiente, es relevante el avance al desarrollo de técnicas *in vitro*, ya sea con sustratos convencionales o el aprovechamiento de subproductos, lo cual además de contribuir a la aplicación de las micorrizas, también constituye una forma de conservación para investigaciones futuras, en la institución por diversos grupos de investigación

3. JUSTIFICACIÓN

Las proyecciones sobre el crecimiento de la población mundial, el nivel de ingresos y los procesos de urbanización indican para las próximas décadas una tendencia de fuerte incremento en el nivel de consumo de alimento de origen vegetal, que implicará mayores niveles de producción (IPCC, 2021; IICA, 2019; Hodson de Jaramillo et al., 2019).

La demanda de alimentos y políticas de seguridad alimentaria a nivel nacional, requieren la innovación tecnológica y estudios que contribuyan al logro de objetivos propuestos en el Plan Estratégico Regional de Ciencia Tecnología e innovación – PERCTI – para el departamento del Cesar (Gobernación del Cesar y Universidad nacional de Colombia, 2020). El Departamento del Cesar dispone de 607.567 hectáreas de suelos con aptitud agrícola, con condiciones edafológicas, climáticas e hidrológicas favorables para la producción agropecuaria con calidad. 156.683 hectáreas cosechadas (de 205.00 sembradas) y una producción de 412.015 toneladas, reflejan los alcances del sector agrícola en el año 2016 (MADR, 2017).

Cada vez son más los beneficios que se conocen de la interacción simbiótica hongo-raíz, en torno a nutrientes, defensa frente a fitopatógenos, rendimiento, hormonas de crecimiento, selección de microorganismos en la rizosfera, entre otros (Buysens et al. 2016, Plouznikoff, Declerck; Ujvari et al. 2021). Razón por la cual es importante avanzar en el desarrollo de técnicas de multiplicación

in vitro, lo cual se viabiliza en cultivos autótrofos en cultivos como Medio Murashige-skoog (MS) y medio Supplier Relationship Management (SRM), con o sin aditivos vitamínicos, en raíces de plantas transformadas y/o micropropagadas (White, 2011), con favorables resultados, obteniendo en menos de cuatro meses con un alto número de esporas para su conservación o uso como biofertilizante (Voets et al. 2005). Lo cual supera en eficiencia de materiales, equipos y espacio las técnicas tradicionales utilizadas actualmente, además que facilita su identificación molecular, permitiendo incluso tener una colección de estas.

Por lo cual, implementar nuevas estrategias que generen y fortalezcan al agro ecosistema, a través de la convergencia de los conocimientos, en ciencias; abarcaría procesos productivos circulares de reutilización de recursos, permitiendo reducir los impactos negativos al ambiente, por medio del desarrollo y la implementación de nuevas tecnologías, como es el caso de la utilización de hongos micorrícicos arbusculares que permite un aumento de resistencia al ataque de patógenos de las raíces, mejorar la absorción de agua y nutrientes, aumentar la resistencia a altas concentraciones de sales en el sustrato, mejorar las condiciones del suelo, contribuir a disminuir los efectos dañinos de la erosión y cambiar las relaciones hormonales de las plantas (Rodríguez, J., 2001). No obstante, la bioeconomía apunta a un uso más productivo de los recursos biológicos, a través, por ejemplo, de la generación de insumos agropecuarios ambientalmente amigables, del aprovechamiento de biomasa derivada de residuos para la producción de biomateriales, de la generación de bioenergía, de la biorremediación, y de nuevos servicios relacionados con la sanidad vegetal y animal, y con la salud humana, entre otros (IICA, 2019; Hodson et al., 2019; Rodríguez et al., 2019; Bisang y Trigo, 2017; Trigo et al., 2016).

En contraste, la germinación *in vitro* de esporas de hongos de micorrizas vesículo arbusculares y desarrollo de cultivos monospóricos de dichos microorganismos, ya sea para producción de bioinsumos o investigaciones, es una estrategia en auge a nivel mundial (Declerck et al., 2005),

que en Colombia se implementa con mediano éxito. Específicamente, para el departamento del Cesar, es necesario la aplicación de técnicas viables y económicas con el uso de sustratos no convencionales de fácil acceso, para el mejoramiento de los suelos sobre explotados por la agricultura, la ganadería y la minería. En este marco, contar con cultivos monospóricos multiplicados *in vitro*, permitirá el desarrollo de estudios en el departamento del Cesar para identificar las especies con mayor interacción, en beneficio en los pequeños productores con difícil acceso a agro insumos para sus cultivos.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Comparar la eficiencia del medio de cultivo artesanal de yuca (*Manihot esculenta*) con sustratos convencionales, en la germinación *in vitro* de hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares nativos de Valledupar

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estandarizar el proceso de elaboración del medio cultivo artesanal de almidón de yuca para la germinación *in vitro* de esporas de hongos formadores de micorrizas.
- Comparar el porcentaje de la germinación *in vitro* de esporas de hongos formadores de micorrizas, en medio basal y almidón de yuca

5. MARCO TEÓRICO

5.1. ANTECEDENTES

Lamus (2021) realizó la investigación sobre encapsulación de un consorcio microbiano con actividad promotora de crecimiento vegetal (PGPM) en una matriz de almidón de yuca y alginato con el objetivo de evaluar la encapsulación de un consorcio microbiano con actividad PGPM a partir de alginato y almidón de yuca. Para tal fin, realizando encapsulación de dos bacterias y un hongo, utilizando como material de soporte el alginato a una concentración de 1% y el almidón de yuca variando su concentración entre 5 y 15% lo cual es relevante para el estudio dado que explica como el almidón de yuca tanto con el hongo como la bacteria, es una alternativa para la protección del microorganismo, para así darle un excelente uso.

En la investigación llevada a cabo por Ojeda et al. (2020) donde se estudió el rendimiento y calidad del forraje de *Cenchrus purpureus* Sch. cv. Cuba CT-115 inoculado con diferentes especies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y la aplicación de humus de lombriz. Se determinó el rendimiento de biomasa, contenido de nitrógeno y fósforo foliar, proteína bruta y el Índice de eficiencia; donde la eficiencia micorrízica más alta estuvo en *Funneliformis mosseae*. El contenido más bajo fue en el testigo, el fósforo no se difirió estadísticamente entre los tratamientos dando a conocer que la inoculación con HMA superó en los indicadores evaluados al testigo, lo

que representa para los productores una opción de menor costo económico y protección ambiental en función de incrementar el rendimiento y calidad del *Cenchrus purpureus* Sch. cv. Cuba CT-115

Vilchis et al. (2019) realizaron la investigación sobre la viabilidad de esporas de hongos micorrízicos arbusculares y semillas de girasol para el establecimiento de la simbiosis micorrízica, con el objetivo de determinar la viabilidad de semillas de girasol y de esporas de HMA almacenadas a temperatura ambiente, para posteriormente establecer la simbiosis entre ellos. Semillas de tres variedades de girasol ornamental (1 año de almacenamiento) y dos inóculos de HMA (dos años de almacenamiento) a temperatura ambiente, se les determinó su viabilidad empleando la técnica de tetrazolio. Realizando, un experimento completamente al azar bifactorial con tres niveles de HMA y dos variedades de girasol, generando así seis tratamientos, los cuales se repitieron 6 veces. Se evaluaron a las plantas inoculadas, se evaluó la altura de planta, diámetro de tallo, peso fresco de la planta y colonización micorrízica. Las variedades de girasol mostraron que después de un año de almacenamiento, pierden la viabilidad en un 90% (Gigante Simple Amarilla) y un 40% (Belleza de Otoño y Doble Gigante); mientras que las esporas de los inóculos de HMA mostraron la misma viabilidad (Tukey, $p \leq 0.05$) comparada con un inóculo recién cosechado. Los HMA a los 20 días después de iniciado el experimento no logró establecer la colonización micorrízica y no mostraron efecto en el crecimiento de las plantas (Tukey, $p \leq 0.05$). Estos resultados sugieren que, en girasol, los tiempos de colonización micorrízica en condiciones de campo en maceta con inóculos conservados durante períodos largos son mayores a 3 semanas de simbiosis, mientras que la viabilidad de las esporas de HMA se mantiene a través del tiempo y en semillas de girasol se puede perder rápidamente dependiendo de la variedad.

Pandino et al. (2017) en su investigación titulada como la Micropropagación *in vitro* y el tratamiento con micorrizas influyen en el perfil de contenido de polifenoles de la alcachofa en

condiciones de campo, debido a que la mayoría de las plantas cultivadas comercialmente se obtienen a través de propagación vegetativa, con el consiguiente riesgo de acumulación de patógenos. Aquí, se hizo una comparación entre los perfiles de polifenoles de plantas de alcachofa de globo propagadas convencionalmente y micropropagadas/micorrizadas. La micropropagación/micorrización pareció proporcionar un mayor contenido de ácidos cafeoilquínicos. En general, parecía que la micropropagación/micorrización aumentaba la acumulación de polifenoles, lo cual es relevante para este estudio por que explica de forma detallada de como la micropropagación *in vitro* puede generar varios beneficios como la producción de polifenoles dependiendo el cultivo a trabajar.

Por otra parte, Pérez (2011), realizó una investigación evaluación de un sistema para la micorrización *in vitro* en plantas de mora de castilla (*Rubus glaucus*), con el objetivo de evaluar las condiciones para el establecimiento de la asociación del Hongo Formador de Micorriza Arbuscular (HFMA) del género *Glomus sp*. En plantas de mora de castilla (*Rubus glaucus*), bajo condiciones *in vitro*, realizaron un sistema de micorrización *in vitro* en sistemas de cultivo autotrófico para plantas de mora castilla (*Rubus glaucus*) evaluándose dos métodos de inoculación directa con el HFMA, *Glomus sp* (GEV02). El sistema de cultivo autotrófico fue exitoso para plantas de mora de castilla (*Rubus glaucus*), observándose un óptimo crecimiento de la parte aérea y radical de la planta. Este estudio, se permitió el desarrollo de *Glomus sp* bajo condiciones *in vitro*, con formación de estructuras típicas de la simbiosis como una buena colonización intraradical, con producción de arbuscúlos y vesículas, así como el desarrollo de micelio extraradical con hifas ramificadas, y la formación de nuevas esporas. Este estudio abre las puertas para investigar varios aspectos de la simbiosis en donde plantas activas fotosintéticamente son necesarias.

Moncada et al. (2009). En la investigación de evaluación de un sistema para la micorrización *in vitro* en plantas de mora de castilla (*Rubus glaucus, Benth*), teniendo como

objetivo obtener un sistema de micorrización *in vitro* en sistemas de cultivo autotrófico para plantas de mora de castilla (*Rubus glaucus*, Benth), se utilizaron esporas y fragmentos de raíces con vesículas del Hongo Formador de Micorriza Arbuscular (HFMA). *Glomus sp.* (GEV02). Estableciendo un sistema de cultivo autotrófico para plántulas de mora, comparando dos métodos de inoculación directa con el HFMA. Se cuantificó el número de esporas producidas, la longitud del micelio extraradical; así como el porcentaje de colonización del HFMA, concluyendo que las plantas de mora micropropagadas se asociaron con éxito, por primera vez, con un hongo formador de micorriza arbuscular bajo condiciones *in vitro*, permitiendo el desarrollo del sistema simbiótico HFMA *Glomus sp.*, asociado a las raíces de plántulas de mora castilla micropropagadas.

Rodríguez, et al. (2009). Realizó la investigación sobre el efecto de la inoculación con hongos formadores de micorrizas arbusculares sobre plántulas de caucho con el objetivo de evaluar el efecto de la inoculación con hongos formadores de micorrizas arbusculares sobre plántulas de caucho, para esto se obtuvieron siete morfotipos de HFMA, por los cuales se inocularon grupos de plántulas de *Hevea brasiliensis*, unas producidas *in vivo* a partir de la semilla y otras producidas *in vitro* por rescate de embrión. Dando como conclusión, la respuesta del crecimiento de las plántulas inoculadas fue diferente dependiendo del origen del material vegetal y del tipo de inóculo (nativo o no nativo). No obstante, influyó en el crecimiento y en la disminución de la mortalidad de las plántulas, lo que abre la posibilidad de utilizarla como alternativa de inoculación en las fases tempranas de obtención del material vegetal. Lo cual es relevante para estudio debido El tratamiento con HFMA disminuyó la mortalidad en las plántulas obtenidas *in vitro* explicando los beneficios que cultivo y multiplicación *in vitro*.

Por otro lado, Miralba et al. (2008) en su estudio de comunidad microbiana asociada a los hongos Micorrizógenos Arbusculares (HMA), explicaron que el desarrollo óptimo de los cultivos

demanda una elevada aplicación de fertilizantes minerales y pesticidas. Teniendo como objetivo la interacción tripartita que se pone de manifiesto entre los HMA, las plantas y otros microorganismos y dar a conocer los principales aportes científicos relacionados con este fenómeno. El uso de dichos insumos químicos implica no solo costo y requerimientos energéticos elevados, sino que su aporte indiscriminado pudiera provocar problemas de salinización y contaminación del manto freático. El desarrollo vegetal también puede incrementarse por la utilización de elementos biológicos, que actúan de forma coordinada en la interfaz suelo-raíz; entre estos y como factor imprescindible se encuentran los hongos formadores de micorrizas arbusculares, capaces de colonizar el 95 % de las plantas terrestres. El estudio reciente de la comunidad microbiana asociada a los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) ha contribuido al conocimiento de ellos; se han observado bacterias, hongos filamentosos y levaduras asociadas a las estructuras del HMA.

Igualmente, Usuga et al. (2008) realizó la investigación de multiplicación de hongos micorriza arbuscular (HMA) y efecto de la micorrización en plantas micropropagadas de banano (Musa AAA cv. Gran Enano) (*Musaceae*) con el objetivo de evaluar la efectividad e ineffectividad de los inóculos obtenidos sobre plantas de banano (Musa AAA cv. Gran Enano) obtenidas por multiplicación in vitro, con 0 y 30 días de tiempo de aclimatación, para esto se realizó un muestreo efectuado en la zona bananera para obtener inóculos micorrízicos nativos de la región de Urabá. Este inóculo se combinó con tres tipos de materiales inertes, arena, cascarilla de arroz y vermiculita. Concluyendo que los inóculos que significativamente favorecieron la asociación fueron los provenientes de agroecosistemas bananeros al compararse con el inóculo comercial y el proveniente de ecosistemas naturales del Urabá. Para las variables de crecimiento no se encontraron diferencias, lo cual es relevante para este estudio debido a como la combinación de sustratos y suelo puede beneficiar para el mejor desarrollo de las micorrizas nativas.

BASES TEÓRICAS

5.2.1. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

Se destacan por su función ecológica de desbloquear y solubilizar los nutrientes del suelo y por su influencia en la estabilidad de los ecosistemas, donde las condiciones edáficas son extremas. Se encuentran en el suelo formando naturalmente asociaciones con la gran mayoría de las especies de plantas, con participación en diversos procesos del suelo (p. Ej., Estructura del suelo, ciclos biogeoquímicos) (Rillig, 2004; Simard y Austin, 2010), ayudan a las plantas a adquirir nutrientes a cambio de carbohidratos (Abbott y Lumley, 2014) y las protegen de los factores bióticos (Smith y Read, 2008) y abióticos (Plouznikoff et al., 2016). Se han descrito hongos micorrízicos arbusculares en varios biomas, desde ecosistemas templados, hasta tropicales y polares / boreales (Öpik et al., 2013), bajo bosques naturales. (Schüßler et al., 2015) así como bajo sistemas de cultivo (Senés-Guerrero et al., 2014; Buysens et al., 2016).

5.2.1.1. Identificación de HMA

En la actualidad, la caracterización molecular es la metodología que ha reclasificado las especies de HMA (Souza, 2015). Krüger y col. (2012) desarrollaron datos de referencia filogenéticos para sistemática y filotaxonomía de HMA, que se ha utilizado como código de barras de ADN para HMA (Senés-Guerrero y Schüßler, 2016); Wang et al., 2016). Este conjunto de datos de referencia es una herramienta importante para identificar HMA a partir de muestras ambientales.

Basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para la investigación con HMA, permite identificarlas dentro y fuera de las raíces, distinguiendo diferencias entre aislamientos de una misma especie (Avio et al, 2009) y comprender las relaciones entre especies y poblaciones,

con un grado de confianza que los estudios fenotípicos clásicos generalmente no permiten (Stukenbrock & Rosendahl, 2005a, 2005b).

5.2.1.2. Estructura de los Hongos Micorrízicos arbusculares (HMA)

- **Esporas**

Es uno de los medios reproductivos del hongo, al germinar producen una estructura denominada hifas. La germinación de la espora se debe al estímulo de exudados producidos por las raíces de las plantas llamados flavonoides; sin embargo, este es solo uno de los tantos aminoácidos y carbohidratos que participan en la germinación de la espora siendo los flavonoides los más importantes. El tiempo que necesita una espora para su germinación es alrededor de uno a dos meses, dependiendo de la especie con que esté trabajando (Sánchez, T. 2017).

- **Hifas**

De esporas germinadas o del micelio externo, las hifas penetran en la raíz y un apresorio en las capas más internas del parénquima cortical. La infección también puede ocurrir por hifas que recorren la superficie de la raíz. Estas hifas también hacen un haustorio para entrar en la raíz, se pueden presentar dos tipos de hifas: gruesas y delgadas, cuyo crecimiento es la epidermis de la raíz, puede ser intracelular o intercelular, pero estas nunca penetran la endodermis, tejidos vasculares, meristema, tejido viejo de la raíz o en sistemas especializados de organismos vivos. Es importante mencionar que, si en algún momento se observan al microscopio hifas muy oscuras, es debido que a través del tiempo existe una degradación y descomposición de estas (Rodríguez, 2001).

- **Arbúsculos**

Es la estructura más importante de la simbiosis, porque es ahí donde ocurre el intercambio

de nutrientes del hongo al huésped y viceversa. Al principio, el crecimiento de los arbusculos es similar al de las hifas intercelulares, pero la ramificación característica de los arbusculos puede llenar la célula por completo. Los arbusculos siempre están en contacto con hifas intracelulares. La vida de los arbusculos es corta; la degradación empieza a partir de los extremos de las ramas hacia su base. En el interior de la misma célula pueden existir partes vivas y partes muertas; el tronco es la última parte en colapsar (Sánchez, T. 2017).

- **Vesículas**

Las vesículas, son estructuras de forma diversa según la especie (redondeadas, ovoides, etc.), con paredes finas producidas por el hinchamiento terminal de hifas. Éstas almacenan gran cantidad de lípidos y actúan como órgano de reserva del hongo en situaciones de estrés, como la falta de carbohidratos (Smith & Read, 2008).

5.2.1.3. Proceso de infección micorrízica

La infección o colonización de una raíz por parte de un hongo micorrizógeno es un proceso que involucra una secuencia de etapas reguladoras por una precisa interacción entre endosimbionte y hospedero. La pre-infección está asociada a la actividad de los propágulos infectivos presentes en el suelo que circunda la raíz. Dichos propágulos pueden ser esporas o micelio fúngico. Este último, generalmente se encuentra vinculado a raicillas de plantas vivas o segmentadas de raíz infectados (Corpoica, 1998).

5.2.1.4. Importancia de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

La actividad biológica de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) juega un papel importante en la estructura del suelo y formación de agregados estables a través de diferentes

mecanismos (Morell, F, 2006).

esto es consecuencia de una sustancial variación genética entre especies de HMA que pueden proporcionar beneficios en función de diferentes ambientes edáficos, debido a que los ecosistemas naturales contienen diversas poblaciones nativas de HMA, que presentan distintos grados de variación en sus efectos sobre el crecimiento vegetal y la adquisición de nutrientes (Ferrol, Azcón & Pérez, 2019). Asimismo, ayudan a mejorar las condiciones ambientales para su desarrollo, sobre todo en suelos pobres y en temporadas de sequía. Por lo cual, las plantas les suministran a los hongos, los azúcares del producto de su metabolismo autótrofo. Para el ecosistema, las micorrizas también contribuyen a mantener la biodiversidad, la transferencia de nutrientes y sustancias al planeta. (Barriuso, Martín, Solis, Sánchez, 2015).

5.2.1.5 Técnicas de propagación de inóculos

- **El método de minirhizotron:** Puede ser una herramienta útil para propagar los HMA en condiciones axénicas in vivo y resguardar colecciones de germoplasma. De esta manera, se pueden establecer como colecciones tipo, para conservar las propiedades esenciales de los HMA y para poder ser explotados como bioinoculantes, o con la finalidad de conservación de ecosistemas, o para elevar la productividad de agroecosistemas, además ser una fuente de recurso genético potencial para la investigación básica de este importante grupo de hongos del suelo (Carreón-Abud et al., 2013).

- **Maceta Trampa.** La propagación de cultivos puros de HMA, presenta muchas dificultades debido a la imposibilidad de cultivar hongos que forman esta simbiosis (*Glomeromycota*) en condiciones axénicas, pues hay que tomar en cuenta aspectos como la

capacidad del hongo para completar su ciclo de vida con suficiente producción de esporas y de estructuras intraradicales, características del género o especies considerados (Declerck et al., 2005).

- **Cultivo *in vitro*.** Se realiza en cajas Petri de doble compartimento, con diferentes variaciones en el proceso, en general todos los métodos son de fácil aplicación en laboratorios básicos, con cuidados en el proceso de desinfección y corte o no de raíces micorrizadas (Rosikiewicz, Bonvin y Sanders, 2017).

5.2.1.6 Yuca

La yuca (*Manihot esculenta grantz*) es una planta originaria de América del Sur, usada principalmente para el consumo tanto humano como animal, y en un pequeño porcentaje para la obtención de almidón y otros usos industriales. El uso de esta planta se caracteriza por el consumo de su raíz, en la que se acumulan gran cantidad de componentes, entre ellos el almidón (forma natural como la planta almacena energía por asimilación del carbono atmosférico mediante la clorofila presente en las hojas) (Meneses et al., 2007).

5.2.1.7. Almidón de la yuca

El almidón es un polisacárido de reserva en vegetales, se trata de un polímero de glucosa, formado por dos tipos de moléculas: amilosa y amilopectina. Cuyos gránulos consisten en estructuras macromoleculares ordenadas en capas y cuyas características en cuanto a composición, cantidad y forma varían de acuerdo con el tipo de fuente de la que provenga. El almidón puede encontrarse además en otras raíces, frutos, semillas, tubérculos e incluso en bacterias que lo

generan como mecanismo de defensa ante situaciones de estrés presentes en su medio. El almidón de yuca puede clasificarse como agrio y nativo (dulce) (Menosal, R y Rodríguez, E. 2017).

El almidón agrio sufre un proceso de fermentación que le otorga propiedades deseables para los alimentos; el almidón nativo o dulce no es sometido a un proceso de fermentación, y es el que se usa generalmente en la industria. (Meneses et al., 2007). En el caso del almidón de yuca, su tamaño puede variar de 5 μm a 35 μm , su forma es entre redonda y achatada y su contenido de amilosa es alrededor del 17% (Meneses et al., 2007).

Los dos componentes principales del almidón (amilosa y amilopectina), son los responsables de formar la estructura semi cristalina de sus gránulos, la cual consiste en una lámina o membrana cristalina (ordenada, de cadena de glucanos paralelos estrechamente empacada) y una lámina o membrana amorfa (regiones menos ordenadas, donde predominan puntos de ramificación). Los almidones de diferentes orígenes tienen diferentes patrones y grados de cristalinidad (Sivoli y Rodríguez, 2012)

5.3. Marco legal

5.3.1. Bases legales:

El marco legal de esta investigación, lo constituyen algunas normas que rigen en nuestro país para la preservación del ambiente. En este trabajo se hace pertinente este conjunto de normas:

1. El código de recursos naturales – decreto- ley 2811 de 1974

Este código define: La reglamentación para el manejo de la contaminación ambiental de los

elementos de la naturaleza a través de actividades que proporcionen mejora, preservación y retrogradación de los recursos naturales, con el fin de proveer a las personas del territorio nacional bienestar.

2. Decreto 1200 de 2004

Este decreto define: “Planificación ambiental con el fin de proveer, gestionar la organización y planificación de los recursos naturales renovables para darle buen uso sin afectación al ambiente, dando así alternativas para las áreas de la industria”.

3. Constitución política de 1991

Se define en: “El artículo 8, se consagra la obligatoriedad del estado y de las personas a preservar los patrimonios naturales y culturales. Otro artículo que alude al derecho a un sano ambiente y a su protección es el 58”. El artículo 79 hace referencia también a la protección del ambiente por parte del estado.

4. Resolución 00375 de 2004

Esta resolución define: “un sistema de registro y control de bioinsumos y Extractos Vegetales de uso agrícola, adoptado con base en normas y regulaciones internacionales, contribuye a fortalecer y mejorar las condiciones de su producción, importación, exportación, comercialización y utilización, elevando los niveles de calidad, eficacia y seguridad alimentaria en beneficio de la salud humana, la sanidad agropecuaria y el ambiente”

6. METODOLOGÍA

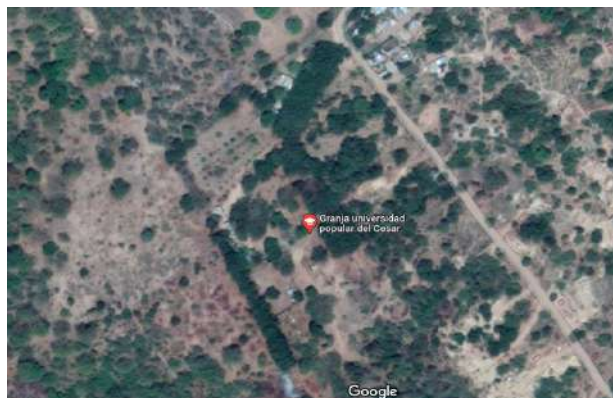
6.1. Tipo de estudio y línea de investigación

Se realizó un estudio experimental de corte transversal, enmarcado en la línea de investigación bioprospección del programa de Microbiología, adscrito a la Facultad de Ciencias básicas.

6.2. Universo y población

El estudio se realizó en la región del Caribe colombiano, en la vereda Mina el cielo, en las instalaciones de la granja experimental de la Universidad Popular del Cesar, departamento del Cesar, ubicado entre Latitud: 10.331 Longitud: -73.336 Latitud: 8° 0' 5" Norte Longitud: 73° 30' 32" Oeste con temperatura promedio anual de 32 °C, lo cual lo ubica en formación climática de bosque tropical seco. En la zona, los veranos son cortos, tórridos, bochornosos y secos; los inviernos son calurosos, opresivos y mojados. Durante el transcurso del año, la temperatura generalmente varía de 22°C a 37° C y rara vez baja de 20°C o sube más de 39° C (Alcaldía de Valledupar, Cesar 2022).

Figura 1. Mapa de localización de la granja experimental.



Nota: La granja experimental de la Universidad Popular del Cesar, se encuentra ubicada en la vereda El Cielo, jurisdicción del corregimiento Valencia de Jesús, Cesar. Fuente: Google Mapas (2023)

6.3. PROCEDIMIENTO

6.3.1. FASE 1: ELABORACION DEL MEDIO ARTESANAL DE YUCA.

6.3.1.1. Obtención del almidón

El almidón es una sustancia blanca y polvorienta que se obtiene de la raíz de yuca. Se llevaron a cabo tres metodologías para la obtención del almidón en laboratorio: Se pesaron 100 gramos de yuca por procedimiento: **1)** Se hizo un rallado de la yuca sin corteza interior y posterior triple lavado. **2)** Licuado de la yuca sin corteza y dos lavados (Ibrahim RM, Maryke T, Alfred GO, & Nzola M, 2004). **3)** Rallado con corteza y un solo lavado (Balagopalan, C. 1988 / 2018). En todos los casos el filtrado se decanta por 30 minutos, retirando el agua sobrante y después se secó en horno a 35° C por 24 horas.

6.3.1.2. Elaboración del medio de cultivo de almidón

Se preparó una solución de relación peso volumen de 110 g/L de almidón en agua destilada estéril, para el cual se pre-disolvió inicialmente el almidón en 500 ml de agua y luego se agregó en 500 ml a 90°C durante 8 minutos, con agitación cada 2 minutos. Posteriormente se esterilizó en autoclave

6.3.1.3. Medición de temperatura de gelatinización.

Se evaluó la solidificación de 20 ml de medio de almidón servido en cajas Petri, mediante calentamiento en horno a una temperatura de 60°C por 5 minutos.

6.3.1.4. Pruebas de germinación de hongos y semillas en el medio yuca.

Los hongos *Trichoderma spp*, *Metarhizium spp*, *Beauveria spp*, *Isaria spp*, *Purpureocillium spp*, *Fusarium spp*, y *Aspergillus spp*, se incubaron durante 8 días a 30 °C. Transcurrido el tiempo, se observaron las características macroscópicas y microscópicas de los hongos. Asimismo, se midió el porcentaje y el tiempo de germinación de semillas de *Vigna unguiculata*, *Phaseolus vulgaris*, *Cucumis melo* y *Zea mays*.

6.3.1.5. FASE 2: TOMA DE MUESTRA.

6.3.1.6. Recolección de micorrizas

Para la toma de muestra de suelos, se realizó un screening de zonas cercanas al sitio de propagación en la granja experimental de la Universidad Popular del Cesar, donde se tomaron 3 kilos de muestra de suelo nativo del municipio de Valledupar ubicada a 168 msnm, con temperatura promedio anual de 32°C. Posteriormente, siguiendo la metodología del IGAC (2021), se realizó un muestreo en zigzag en aproximadamente unos 25 x 25 cm de lado y 20cm de profundidad, retirando los 2cm iniciales que suelen estar conformados por cobertura, de los 2 a 20 cm esta área comprende la mayor actividad de interacción planta-microorganismos-suelo conocida como rizósfera para la obtención de micorrizas cercanas a las raíces de las plantas y posteriormente se homogenizaron y se almacenaron en bolsas plásticas, posteriormente se procesó en el laboratorio de microbiología del grupo de investigación Parasitología Agroecología Milenio en la Universidad Popular del Cesar.

6.3.1.7.Extracción de esporas.

Para la obtención del inóculo se aplicó el protocolo de flotación-filtración propuesto por Gerdemann y Nicolson (1963), identificación propuesta por la International Collection of Vesicular and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, 2007). Las esporas colectadas se conservaron en lactato de Ringer en refrigeración a 5°C.

6.3.1.8. Desinfección de la germinación de esporas de HFM.

Se realizó la desinfección de esporas con Cloramina T más tween 20 al 2% durante 10 minutos, luego se procedió a realizar tres lavados para posterior adición a solución antibiótica de 0,02 % (estreptomicina sulfatada + 0,01 de gentamicina sulfatada) durante 10 minutos y lavada nuevamente tres veces con agua destilada estéril. Posteriormente, se colocaron 20 esporas en cajas de Petri con medio de almidón y medio basal con tres réplicas cada uno, se envolvieron en papel kraft y se incubaron a 35°C por 15 días.

6.3.1.9.Análisis estadístico.

Los valores parámetros de rendimiento y porcentaje de germinación de semillas fueron comparados con base a sus medias usando el software estadístico IBM SPSS versión X a través de pruebas post hoc. Las diferencias significativas entre las variables fueron comparadas mediante la prueba de Duncan, con un nivel de significancia del 5% ($p \leq 0.05$)

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Rendimiento del almidón.

La producción de almidón por rallado de la yuca sin corteza interior y triple lavado presentó un rendimiento del 18 %, en relación con el obtenido por licuado sin corteza y dos lavados con el 18,6 %, sin diferencias significativas entre estos, pero si con el método de rallado con corteza y un lavado con el 9,5 % de almidón obtenido (Tabla 1).

Tabla 1. Obtención del almidón de yuca

Método	Peso almidón húmedo(g),	Peso g, almidón seco	Rendimiento%
1	30,4 ±5,5b	17,9±0,4b	17,9±0,4b
2	17,6±0,9 ^a	9,5±0,3 ^a	9,5±0,3 ^a
3	33,9±2,8b	18,6±1,5b	18,6±1,5b

Valores de una columna seguida de la misma letra no difieren significativamente, según Duncan ($p \leq 0.05$).

Los resultados se asocian principalmente a la variación en el número de lavados, ya que puede influir para una mayor obtención del almidón presente en la solución de ralladura o licuado de yuca, siendo el primer método más factible dado que no implica el uso de equipos. El uso de equipos implica gastos en el proceso y consumo de recursos. Sin embargo, el uso de las tecnologías a gran escala puede aumentar la rentabilidad del proceso (Sriroth et al., 2019).

Para la estandarización del medio a base de almidón de yuca, este presentó una temperatura de gelatinización a 60 °C, lo cual es una característica ideal para su uso en desarrollo de microorganismos, procesos de incubación donde es requerida la estabilidad del medio por periodos prolongado en rangos de temperatura superiores a la temperatura ambiente.

La característica de gelatinización se asocia al incremento del tamaño del gránulo de almidón por absorción de agua y aire, aumentando su viscosidad. Esta es la temperatura mínima a la cual ocurre la gelatinización del almidón de yuca (Martín & López, 2019), esto es una propiedad de medios a base de agar, necesaria para cultivos en bases semisólidas o coloidales. El almidón de yuca es un producto utilizado en diversas industrias. En la industria alimentaria, se destaca por su mayor capacidad de expansión, comparado con la del almidón de trigo, brindando una textura crujiente, pero flexible (Oladunmoye et al. 2014; Ingredion 2019)

7.2. Prueba de germinación de semillas y hongos en medio almidón de yuca.

En la prueba de germinación de semillas en el medio almidón de yuca, se presentó germinaciones del 90 al 100% (tabla 2). Esto se debe a que el medio tiene un alto porcentaje de agua, indispensable para la fase de hidratación, es la absorción de agua por parte de la semilla. Sin esta etapa el proceso de la germinación no puede darse. Evidenciándose condiciones favorables para pruebas in vitro de semillas que requieran la observación de estas y su interacción con microorganismos simbioses como las micorrizas. Lo cual está asociado a la humedad brindándole el ambiente propicio para la germinación y los nutrientes reguladores del crecimiento necesarios para estimular la germinación de las semillas. (Flores Huisa, K. 2019).

Tabla 2. Prueba de porcentaje de germinación de las semillas en el medio almidón de yuca

Semillas	% de germinación
<i>Cucumis melo</i>	100 ±0
<i>Phaseolus Vulgaris</i>	100±0
<i>Vigna unguiculata</i>	92,6±0
<i>Zea mays</i>	92,6±0

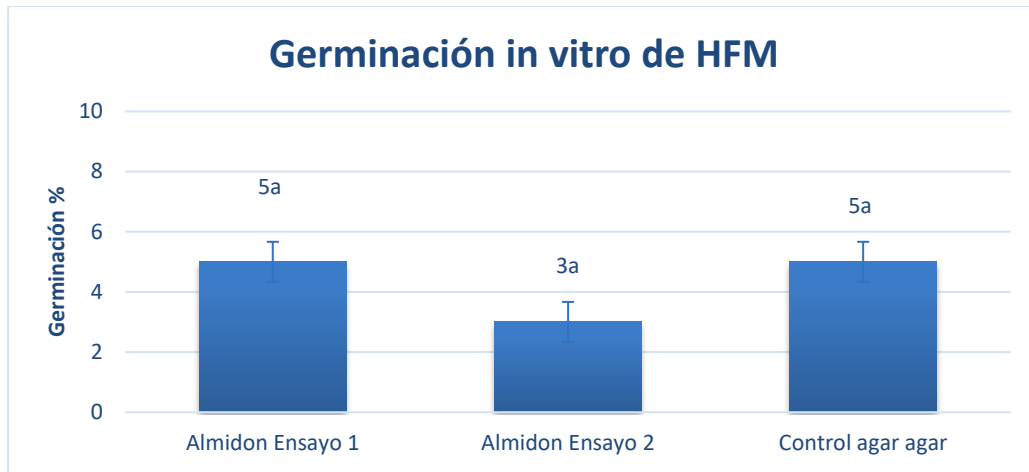
7.3. Crecimiento de hongos. Las pruebas de crecimiento de los hongos filamentosos indican que se mantuvieron sus características macroscópicas similares a las de medios tradicionalmente utilizados para su cultivo. En el caso de *Trichoderma spp* se observó un crecimiento con un diámetro de colonia de 5-8mm en 72 horas, color verde, bordes blancos textura granular (Acurio & España, 2017). En *Fusarium spp* se observó un crecimiento con un diámetro de colonia de 5-7 mm en 72 horas, color amarillo naranja, con textura algodonosa (Corrales, Sánchez, Cuervo, Bautista, Gonzales & Guevara. (2011, junio). En *Aspergillus spp* se observó colonias de 6 mm de diámetro, color negro con textura granulada. (Barontini, J. M. 2022).

Para *Rhizopus spp* este ocupó todo el diámetro de la caja de Petri, color blanco a gris parduzco, con textura algodonosa. (Pintos Cervilla, E. 2018). En *Purpureocillum spp* se observó un crecimiento de 3-5 mm de diámetro de la colonia, color blanco a tonos bináceos, textura aterciopelada. (Contreras & Bustillo, 2019).

7.4. Geminación de esporas de hongos formadores de micorrizas

En cuanto a la germinación de hongos formadores de micorrizas se obtuvo una germinación del 5 % en el medio almidón yuca, sin diferencias significativas con la del medio de cultivo agar el 5 % en 15 días. No obstante, el medio almidón de yuca, cumple con todas las condiciones requeridas para la germinación y el crecimiento de semillas y hongos filamentosos, en la germinación en las esporas de micorrizas no fue mayor, debido a que estos son simbioses. Al evaluar el porcentaje promedio de germinación, en el medio de almidón de yuca sin componentes o estimulantes para la germinación de las esporas, se obtuvo un porcentaje bajo en la germinación. Estudios como en el Ramírez et al. (2017). En la cual utilizaron estimulantes como los flavonoides el porcentaje de germinación de las esporas de micorrizas fue hasta del 31%. Cabe señalar que el estudio se realizó de una forma de la cual no se utilizaron plantas in vitro como huésped u hospedero para que las micorrizas pudieran colonizar y obtener exudados.

En esta prueba se observaron características similares a *Gigaspora sp* que tienen una característica muy particular, de acuerdo con Sharda (2011), el tubo germinativo de las *Gigasporas sp* está unido a la espora a través de un poro denominado poro germinal con variaciones en la forma del suspensor y el esporóforo junto a la presencia o ausencia del conectivo; teniendo un tabique que separa el suspensor bulboso del esporóforo. A diferencia del tubo germinativo de las esporas de HMA, conforme Perera et al., (2019) el crecimiento del tubo germinativo de las esporas depende de la disponibilidad y cantidad de reservas, y si no hay contacto con la raíz o no se detecta ninguna señal del huésped, el tubo germinativo deja de crecer y el protoplasto se retira de la punta de la hifa y se secuestra. Se han encontrado resultados similares en cuanto al tiempo necesario para que los tubos germinales de esporas dejen de crecer, y que no existe una alta relación entre el momento en que germinan los propágulos y el tiempo que transcurre hasta que detienen su crecimiento las hifas.



Gráfica 1. Esporas de micorrizas en el medio almidón de yuca. Se compararon dos almidones elaborados con diferentes sustratos de yuca, el método número 1 fue con un sustrato obtenido de un sitio diferente al sustrato número 2. Valores seguidos de una misma letra no presentan diferencias significativas según Tukey

Según Requena et al. (2007), las señales químicas de los exudados que proporciona una planta, tales como los flavonoides que poseen hidroxilos son posiblemente, reconocidos por proteínas receptoras de las micorrizas, que cambian e interactúan con componentes aguas abajo, como el factor Gin1, que se modifica mediante señales de la planta; a través de su actividad ATPasa, Gin1 puede transmitir señales al núcleo, lo que produce la transcripción de genes, que son fundamentales en la germinación y en la simbiosis

Suarez (2017), lograron una colonización in vitro de 55% ya que utilizaron plantas en su investigación, un tubérculo (papa) los hongos formadores de micorrizas germinaron en 12 días, lo cual indica las propiedades nutricionales favorables los exudados para el desarrollo de los hongos que poseen dichos tubérculos.

Por otra parte, Perez et al. (2011) alcanzaron en la evaluación para la germinación de

esporas hasta un 80% utilizando diferentes concentraciones de flavonoides 3,5,7,3',4'-pentahidroxiflavona, exactamente con una concentración de 5 μM obteniendo diferencias estadísticamente significativas, así demostrando el efecto estimulador del flavonoide sobre las esporas.

En la investigación realizada por Alaya et al. (2021) en plantas de maíz, logró determinar el crecimiento y el porcentaje de germinación de esporas inoculando diferentes cantidades de *Rhizophagus irregularis* el cual actúa como biofertilizante. Concluyendo que la inoculación con *R. irregularis*, produce incremento en el porcentaje de micorrización en las plantas de maíz.

Un factor que se debe tener en consideración y que eventualmente podría explicar que el medio haya sido bueno en la germinación de esporas fue el uso del CO_2 en la desinfección de estas. Galán et al. (2008) Determino el efecto positivo del CO_2 en la tasa y homogeneidad de germinación de las esporas *Glomus mosseae* en condiciones in vitro, deduciendo que el uso de una atmosfera de CO_2 es un requisito importante durante la incubación para lograr una geminación completa sin detectar contaminantes en solo 3 días de incubación.

A comparación de las *Gigaspora sp*, siendo un género donde sus esporas se caracterizan por su gran tamaño (entre 200 y 600 μmm , en promedio 324 μmm (n=110), pero puede alcanzar hasta 812 μmm de diámetro) teniendo un alto porcentaje de germinación de esporas debido a su capacidad de aireación, retención de humedad y, por tanto, en la presencia y distribución de raíces y estructuras micorrícicas externas (Jiménez et al, 2014)

Gigaspora sp tienen una característica muy particular, de acuerdo con Sharda (2011), el tubo germinativo de las *Gigasporas sp* está unido a la espora a través de un poro denominado poro germinal con variaciones en la forma del suspensor y el esporóforo junto a la presencia o ausencia del conectivo; teniendo un tabique que separa el suspensor bulboso del esporóforo. A diferencia

del tubo germinativo de las esporas de HMA, conforme Perera et al., (2019) el crecimiento del tubo germinativo de las esporas depende de la disponibilidad y cantidad de reservas, y si no hay contacto con la raíz o no se detecta ninguna señal del huésped, el tubo germinativo deja de crecer y el protoplasto se retira de la punta de la hifa y se secuestra. Se han encontrado resultados similares en cuanto al tiempo necesario para que los tubos germinales de esporas dejen de crecer, y que no existe una alta relación entre el momento en que germinan los propágulos y el tiempo que transcurre hasta que detienen su crecimiento las hifas germinantes

Por otra parte en la germinación de esporas se observaron características macroscópicas y microscópicas asociados a la familia de los bolétales, hongo comestibles localizados en las zonas templadas de todo el mundo, teniendo gran importancia económica; siendo un grupo de setas con fases micorrícicas que sale con la simbiosis de otros árboles, Cabe mencionar que Agueda (2014), indica que el género *Boletus sp* es capaz de producir ectomicorrizas y carpóforos en asociación con plantas hospedantes no habituales.

Muchos estudios se están realizando para conocer mejor como favorecer el mantenimiento del reservorio del inóculo para etapas de estudios posteriores siendo una estrategia para asegurar su variación genética, haciéndose un uso controlado de micorrización es una forma viable y favorable para utilizar este tipo de simbiosis de aprovechamiento económico.

8. CONCLUSIONES

- El medio de cultivo artesanal a partir de yuca mostró una factibilidad en el desarrollo cumpliendo con el objetivo propuesto, en lo práctico en su elaboración, en la utilidad en la germinación de semillas útiles en ensayos de micropropagación y observación de efecto de microorganismos promotores de crecimiento. De igual forma es un medio apto para el desarrollo de hongos filamentosos conservando sus propiedades de crecimiento.
- En cuanto a la germinación de esporas de micorrizas no fue lo esperado. Esto se podría incrementar si utilizamos componentes que estimulen a la germinación, como son los flavonoides o con plantas trampa in vitro. Sin embargo, se observaron en el medio una alta proliferación que lo podemos asociar por su morfología macroscópica y microscópicamente a la familia de los bolétales champiñones que tienen una fase micorrícica.

9. RECOMENDACIONES

- Estandarizar un mejor protocolo de desinfección, basándose en sucesivos pasos garantizando la eliminación de cualquier agente que altere la calidad óptima de las esporas micorrícicas.
- Hacer una mejor segregación de las esporas antes de inocularla para así poder hacer una distinción las cuales pueden ser de tipo ectomicorrizico vesiculo arbusculares, haciendo una prueba antes en germinación de plantas
- Una de las importancia que tiene este estudio, es el progreso a la optimización y reducción de los agentes químicos que se utilizan a diario en las industria agrícolas, continuar en esta investigación, mejorando procesos, llevándola a una escala mayor, llevaría a una producción industrial de sustratos compuestos con micorrizas, para diferentes cultivos.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ❖ Abbott LK, Lumley S. (2014). Hongos micorrízicos: uso en agricultura sostenible y restauración de tierras. Berlín: Springer
- ❖ Acurio & España. (2017). Aislamiento, caracterización y evaluación de *trichoderma spp.* como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*trifolium repens*). la granja, vol 25(1), 57.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>
- ❖ Agueda, (2014, 3 diciembre). *Boletus edulis y cistus ladanifer: Caracterización de sus ectomicorrizas, síntesis in vitro y área potencial= Boletus edulis and Cistus ladanifer: characterization of its ectomycorrhizae, in vitro synthesis, and realised niche.*
<http://hdl.handle.net/10201/41874>
- ❖ Alaya. (2021). Efecto de diferentes cantidades de inóculos *Rhizophagus irregularis* sobre el porcentaje de micorrización y crecimiento en *Zea mays* L. var. canteño (Poaceae) en condiciones de invernadero. scielo. <https://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v28n3/2413-3299-arnal-28-03-651.pdf>
- ❖ Avio, L.; Cristani, C.; Strani, P.; Giovannetti, M. Genetic and phenotypic diversity of geographically different isolates of *Glomus mosseae*. Canadian Journal of Microbiology. v.55, p.242-253, 2009.
- ❖ B., M. L., A. D., & N. M. (2004). Stability of native starch quality parameters. Journal of the Science of Food and Agriculture.
- ❖ Balagopalan, C. (1988 / 2018). Cassava in Food, Feed, and Industry (1st ed.). CRC Press.
<https://doi.org/10.1201/9781351070430>

- ❖ Barontini, J. M. (2022). Caracterización de *Aspergillus flavus* aislados de espigas de maíz en Santiago del Estero y regiones colindantes (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba).
- ❖ Barriuso, J.; Martín, M.; Solis, K.; Sánchez, S. (2015) Micorrizas, asociación simbiótica entre hongos y plantas
- ❖ Buysens C., César V., Ferrais F., de Boulois HD, Declerck S. (2016). La inoculación del cultivo de cobertura *Medicago sativa* con *Rhizophagus irregularis* y *Trichoderma harzianum* aumenta el rendimiento de la papa cultivada posteriormente en condiciones de bajos nutrientes. *Apl. Suelo Ecol.* 105 137-143. 10.1016 / j.apsoil.2016.04.011
- ❖ Carreón-Abud, Y., E. Jerónimo-Treviño, M. d. I. Á. Beltrán-Nambo, M. Martínez-Trujillo, D. Trejo Aguilar y M. E. Gavito. 2013. Aislamiento y propagación de cultivos puros de hongos micorrizicos arbusculares provenientes de huertas de aguacate con diferente manejo agrícola por la técnica de minirizotróf. *Revista mexicana de micología* 3729-39.
- ❖ Corpoica (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria regional ocho). (1998). Las micorrizas como alternativa al manejo sostenible de los agroecosistemas tropicales. Meta, Villavicencia, 27.
- ❖ Dang H, Zhang T, Wang Z, Li G, Zhao W, Lv X, and Zhuang L. (2021). Succession of endophytic fungi and arbuscular mycorrhizal fungi associated with the growth of plant and their correlation with secondary metabolites in the roots of plants. *BMC Plant Biology.* 21:165. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-02942-6>
- ❖ Declerck, S., S. Séguin y Y. Dalpé. 2005. The monoxenic culture of arbuscular mycorrhizal fungi as a tool for germplasm collections In vitro culture of mycorrhizas. p 17-30. Springer.

- ❖ Declerck, S., Strullu, D. G., & Plenchette, C. (1996). In vitro mass-production of the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus versiforme*, associated with Ri T-DNA transformed carrot roots. *Mycological Research*, 100(10), 1237-1242.
- ❖ Fernández Suárez, K., Declerck, S., Fernández García, L., & Ortega Delgado, E. (2017). Aplicación del sistema de Planta Donante de Micelio (PDM) en la micorrización in vitro de papa. *Cultivos Tropicales*, 38(1), 31-38.
- ❖ Flores Huisa, K. (2019). Micropropagación de orquídeas a partir de semillas en condiciones de cultivo in vitro.
- ❖ Fernández, K., Fernández, F., Rivera, R. y Olalde, V. (2005). METODOLOGÍA PARA LA GERMINACIÓN DE ESPORAS DE *Glomus mosseae*. *Cultivos Tropicales*, 26(2),11-16. [fecha de Consulta 29 de Septiembre de 2023]. ISSN: . Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215934002>
- ❖ Gao, S., Song, W. and Guo, M. (2020). The integral role of bioproducts in the growing bioeconomy. *Industrial Biotechnology*, 16(1). 13–25. DOI: 10.1089/ind.2019.0033
- ❖ Gobernación del Cesar y Universidad Nacional de Colombia (2012). Planes Estratégicos Regionales de Ciencia, Tecnología e Innovación – PERCTI. En: <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/33457>
- ❖ Guzmán-Plazola, P., Guevara-Gutiérrez, R. D., Olguín-López, J. L., & Mancilla-Villa, O. R. (2016). Perspectiva campesina, intoxicaciones por plaguicidas y uso de agroquímicos. *Idesia (Arica)*, 34(3), 69-80.
- ❖ Hodson, E., Henry, G. y Trigo, E. (eds.) (2019). Nuevo marco para el crecimiento sostenible en América Latina [primera edición]. Editorial Pontificia Universidad

- ❖ IGAC. (2021). *Código: IN-AGR-PC01-13 Recomendaciones Para La Toma De Muestras Para Análisis Del Laboratorio Nacional De Versión*: https://www.igac.gov.co/sites/igac.gov.co/files/listadomaestro/in-agr-pc01-13_recomendaciones_para_la_toma_de_muestras_para_analisis_en_el_lns1.pdf
- ❖ IICA (2019). Programa de bioeconomía y desarrollo productivo abordajes conceptuales y metodológicos para la cooperación técnica. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Costa Rica, San José
- ❖ Isolation of bacteria from endomycorrhizae spores: their antagonistic effects towards soilborne fungal pathogens and stimulate hyphal growth of endomycorrhizal spores in vitro. (2013). *Biotropia: The Southeast Asian Journal of Tropical Biology*, 20(1). <https://doi.org/10.11598/btb.2013.20.1.252>
- ❖ Jiménez-Martínez, Arturo, González-Chávez, M. Carmen A., Gutiérrez-Castorena, M. Carmen, Lara-Hernández, M. Encarnación, & García-Cue, J. Luis. (2014). Producción de inóculo micorrízico de *Gigaspora gigantea* en mezclas de sustratos con diferente tamaño de partícula. *Agrociencia*, 48(3), 239-254. Recuperado en 17 de agosto de 2023, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952014000300001&lng=es&tlng=es.
- ❖ Juan Pucheta (2021) sitio web: <https://www.bioblog.com.br/que-es-simbiosis-cual-es-su-potencial-dentro-de-la-agricultura>
- ❖ Krüger M., Krüger C., Walker C., Stockinger H., Schüßler A. (2012). Datos de referencia filogenéticos para la sistemática y la filotaxonomía de hongos micorrízicos arbusculares desde el filo hasta el nivel de especie. *Nuevo Phytol.* 193 970–984. 10.1111 / j.1469-8137.2011.03962.x

- ❖ Martín & Lopez. (2009). modificación física del almidón de yuca y evaluación de la susceptibilidad a la hidrólisis enzimática por una alfa amilasa. Revista colombiana de química, vol 38(3). <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309026682005>
- ❖ Meneses, J., Corrales, C. M. & Valencia, M., 2007. Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. Rev.EIA.Esc.Ing.Antioq, Issue 8, pp. 57-67.
- ❖ Menoscal Chichanda, R. E., & Rodríguez Mendoza, E. D. (2017). Elaboración de láminas biodegradables a partir de los residuos del almidón de yuca (*Manihot esculenta*) (Bachelor's thesis, Calceta: ESPAM).
- ❖ Mirabal, L. D. L. A., & Ortega, E. (2008). Comunidad microbiana asociada a los Hongos Micorrizógenos Arbusculares. Cultivos tropicales, 29(4), 13 - 20.F. Ravolanirina, S. Gianinazzi, A. Trouvelot, M. Carre. Production of endomycorrhizal explants of micropropagated grapevine rootstocks. Agriculture, Ecosystems & Environment. Volume 29, Issues 1-4
- ❖ Oladunmoye, O. O., Aworh, O. C., Maziya-Dixon, B., Erukainure, O. L. and Elemo, G. N. (2014). Chemical and functional properties of cassava starch, durum wheat semolina flour, and their blends. Food Science & Nutrition, 2(2). 132–38. DOI: 10.1002/fsn3.83
- ❖ Öpik M., Zobel M., Cantero JJ, Davison J., Facelli JM, Hiiesalu I., et al. (2013). El muestreo global de raíces de plantas expande la diversidad molecular descrita de hongos micorrízicos arbusculares. Mycorrhiza 23 411–430. 10.1007 / s00572-013-0482-2 [PubMed] [CrossRef]
- ❖ Pandino, G., Lombardo, S., Antonino, L. M., Ruta, C., & Mauromicale, G. (2017). In vitro micropropagation and mycorrhizal treatment influences the polyphenols content profile of

globe artichoke under field conditions. *Food Research International*, 99, 385–392.
doi:10.1016/j.foodres.2017.05.037

- ❖ Pérez Moncada, U. A. (2011). Evaluación de un sistema para la micorrización in vitro en plantas de mora de castilla (*Rubus glaucus*). Pontificia Universidad Javeriana. Tesis de Maestría.
- ❖ Pérez-Moncada, U. A., Ramírez-Gómez, M. M., Núñez-Zarante, V. M., Franco-Correa, M., & Roveda-Hoyos, G. (2012). Evaluación de un sistema para la micorrización in vitro en plantas de mora de castilla (*Rubus glaucus*, Benth). *Universitas Scientiarum*, 17(2), 140-151.
- ❖ Parra, J. (2019). Cifras sectoriales: Subsector productivo de la yuca. <https://sioc.minagricultura.gov.co/Yuca/Documentos/2019-06-30%20Cifras%20Sectoriales.pdf>
- ❖ Perera-García, S. S., Fernández-Suárez, K., & Pérez-Ortega, E. (2019). Germinación y crecimiento de propágulos de *Rhizoglyphus* sp. in vitro. *Cultivos Tropicales*, 40(2). <http://repositorio.geotech.cu/jspui/bitstream/1234/4230/1/Germinaci%3b3n%20y%20crecimiento%20de%20prop%3a1gulos%20de%20Rhizoglyphus%20s p.%20in%20vitro.pdf>
- ❖ Pintos Cervilla, E. (2018). Caracterización de *Rhizopus sexualis* como agente causal de la podredumbre blanda de las calabazas.
- ❖ Plouznikoff K., Declerck S., Calonne-Salmon M. (2016). "Mitigación del estrés abiótico en plantas de cultivo por hongos micorrízicos arbusculares", en Estrategias de defensa subterránea en plantas, señalización y comunicación en plantas eds Vos CMF, Kazan K. (Suiza: Springer International Publishing;) 341–400. 10.1007 / 978-3-319-42319-7

- ❖ Quiroz L, Daza M, Díaz L, Melo A, Peñuela G. (2021). Efecto de biochar, micorrizas arbusculares y *Guazuma ulmifolia*, en la rehabilitación de suelos mineros. *Terra Latinoamericana* 39-e 708 En: <https://www.terralatinoamericana.org.mx/index.php/terra/article/view/709>
- ❖ Ramírez, D., Naranjo, B., y Duchicela, J. (2017). Estimulación de germinación y colonización radicular de *Diversispora trimulares* por flavonoides de exudados radiculares de *Nicotiana glauca*. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 20(2), 341–351
- ❖ Rillig MC (2004). Micorrizas arbusculares, glomalina y agregación del suelo. *Poder. J. Soil Sci.* 84 355–363. 10.4141 / S04-003
- ❖ Rodríguez Morena, J. L. (2001). Efecto del biofertilizante Mycoral (micorriza arbuscular) en el desarrollo del café (*Coffea arabica L.*) en vivero en Zamorano, Honduras.
- ❖ Romay, Gustavo, Matehus, Juan, Gerstl, Armando, Rueda, Rodrigo, & Santana, María A. (2006). Almidón modificado de yuca como sustituto económico del agente solidificante para medios de cultivo de tejidos vegetales. *Interciencia*, 31(9), 686-689. Recuperado en 21 de agosto de 2023, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000900012&lng=es&tlng=es
- ❖ ZAMORANO-Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria.
- ❖ Requena N.; Serrano, E.; Ocon, A.; Breunin-GER, M. 2007. Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment. *Phyto-chemistry*. (Reino Unido). 68(1):33-40.
- ❖ Rodríguez, J. L. (2001). Efecto del biofertilizante Mycoral® (micorriza arbuscular) en el desarrollo del café (*Coffea arabica L.*) en vivero en Zamorano, Honduras. Zamorano. Honduras

- ❖ Rosikiewicz P, Bonvin J. & Sanders I. (2017). Cost-efficient production of in vitro *Rhizophagus irregularis*. *Mycorrhiza* 27, 477–486 En: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00572-017-0763-2>
- ❖ Sánchez Santillán, T. (2017). Efecto de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas clonales de café (*Coffea arabica L.*) variedad caturra en condiciones de invernadero, Rodríguez de Mendoza, Región Amazonas. Universidad Nacional Toribio Rodríguez De Mendoza De Amazona. Chachapoyas - Perú
- ❖ Schüßler A., Krüger C., Urgiles N. (2015). Los hongos MA filogenéticamente diversos de Ecuador mejoran fuertemente el crecimiento de las plántulas de los árboles de cultivo nativos potenciales. *Mycorrhiza* 26 199–207. 10.1007 / s00572-015-0659-y [PubMed] [CrossRef]
- ❖ Senés-Guerrero C., Torres-Cortés G., Pfeiffer S., Rojas M., Schüßler A. (2014). Comunidades de hongos micorrízicos arbusculares asociados a la papa en los Andes peruanos. *Mycorrhiza* 24 405–417. 10.1007 / s00572-013-0549-0
- ❖ Simard SW, Austin ME (2010). “El papel de las micorrizas en la estabilidad del suelo forestal con el cambio climático”, en Cambio climático y variabilidad ed. Simard S. (Rijeka: InTechOpen;) 275–301. 10.5772 / 9813
- ❖ Sívoli, L., Pérez, E., & Rodríguez, P. (2012). Análisis estructural del almidón nativo de yuca (*Manihot esculenta C.*) empleando técnicas morfométricas, químicas, térmicas y reológicas. *Rev. Fac. Agron*, 29, 293-313.
- ❖ Smith SE, Read D. (2008). Simbiosis micorrízica 3ª Ed. Cambridge: Prensa académica.
- ❖ Smith, S., & Read, D. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis* (Third Edition ed.)

- ❖ Sosa Rodriguez, T., Sánchez Nieves, J., Melgarejo, L., & Muñoz, Caro. (2009). Efecto de la inoculación con hongos formadores de micorrizas arbusculares sobre plántulas de caucho. *Acta Biologica Colombiana*, 14(3), 31-46.
- ❖ Souza T. (2015). *Manual de hongos micorrízicos arbusculares*. Berlín: Springer Science + Business Media; 10.1007 / 978-3-319-24850-9
- ❖ Starobinsky, G., Monzón, J., Di Marzo Broggi, E. y Braude, E. (noviembre de 2021)
- ❖ Stukenbrock, E.H.; Rosendahl, S. Distribution of dominant arbuscular mycorrhizal fungi among five plant species in undisturbed vegetation of a coastal grassland. *Mycorrhiza*, v.15, p.497-503, 2005b.
- ❖ Sharda w, k. (2011). new characteristics for morphotaxonomy of gigaspora species belonging to arbuscular mycorrhizal fungi. *journal of plant development*, 18(2011), 71-80. <https://doaj.org/article/c9a7bd9cbbb84b1a903569d6ae7857e4>
- ❖ Usuga Osorio, C. E., Castañeda Sánchez, D. A., & Franco Molano, A. E. (2008). Multiplicación de hongos micorriza arbuscular (HMA) y efecto de la micorrización en plantas micropropagadas de banano (Musa AAA cv. Gran Enano) (Musaceae). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 61(1), 4279-4290
- ❖ Vilchis, I. V., Aguilar, E. E. Q., Montiel, L. G. H., & Enríquez, G. R. (2019). Viabilidad de esporas de hongos micorrízicos arbusculares y semillas de girasol para el establecimiento de la simbiosis micorrízica. *Biotecnología y Sustentabilidad*. Vol. 3, Núm. 2 (2018).
- ❖ Voets L, Dupré H, Renard L, Strullu D, Declerck S (2005). Desarrollo de un sistema de cultivo autótrofo para la micorrización *in vitro* de plántulas de papa, *FEMS Microbiology Letters*, 248 (1): 111– 118, <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.05.025>
- ❖ White, P. R. *In vitro cellular and the biology*. *Plant*, 2011, 47 (2): 201-204.

11. ANEXOS

Prueba de homogeneidad de varianzas

		Estadístico de			
		Levene	gl1	gl2	Sig.
RENDIMIENTO	Se basa en la media	10,704	2	12	,002
	Se basa en la mediana	5,295	2	12	,022
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	5,295	2	5,526	,052
	Se basa en la media recortada	10,305	2	12	,002

ANOVA

RENDIMIENTO

	Suma de		Media		
	cuadrados	gl	cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	256,816	2	128,408	154,275	,000
Dentro de grupos	9,988	12	,832		
Total	266,804	14			

RENDIMIENTO

		Subconjunto para alfa = 0.05		
	ENSAYO	N		
			1	
			2	
HSD Tukey ^a	2,00	5	9,5400	
	1,00	5		17,9800
	3,00	5		18,6200
	Sig.		1,000	,527
Duncan ^a	2,00	5	9,5400	
	1,00	5		17,9800
	3,00	5		18,6200
	Sig.		1,000	,289

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

Prueba de homogeneidad de varianzas

		Estadístico de			
		Levene	gl1	gl2	Sig.
germinación	Se basa en la media	,807	2	12	,469
	Se basa en la mediana	,238	2	12	,792
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,238	2	8,885	,793
	Se basa en la media recortada	,772	2	12	,484

ANOVA

germinación

	Suma de cuadrados	de gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	18,533	2	9,267	,537	,598
Dentro de grupos	207,200	12	17,267		
Total	225,733	14			

germinación

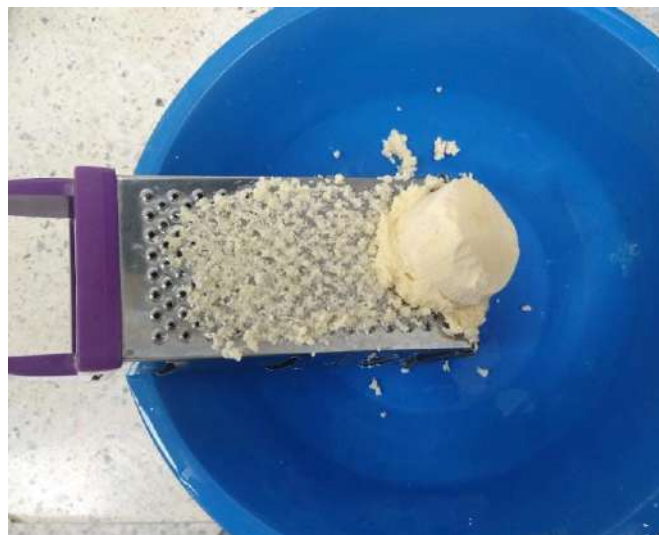
		Subconjunto para alfa = 0.05	
		medio	N
HSD Tukey ^a		2,00	5
		1,00	5
		3,00	5
	Sig.		,597
Duncan ^a		2,00	5
		1,00	5
		3,00	5
	Sig.		,365

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.



Anexo A: pesaje de yuca, para la obtención del almidón



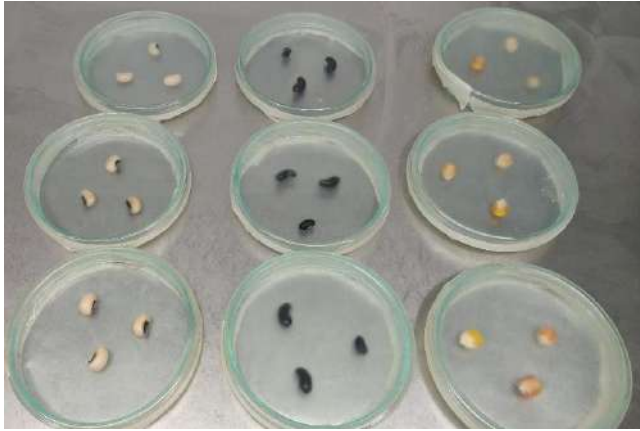
Anexo B: Ralladura de la yuca.



Anexo C: decante del almidón de yuca.



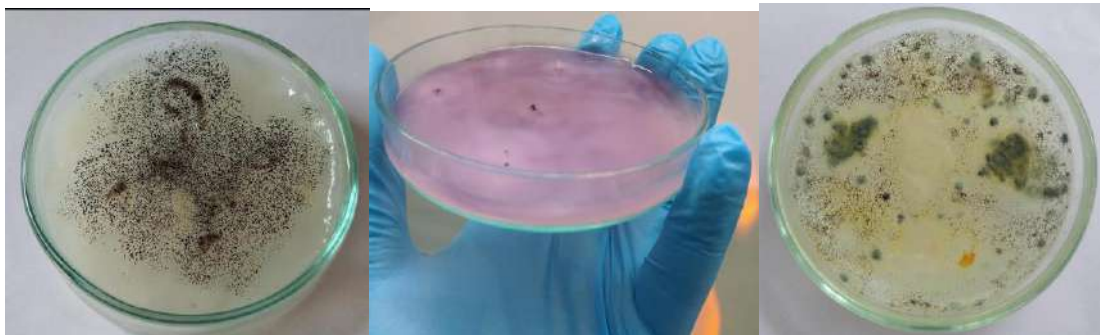
Anexo D: preparación del medio yuca.



Anexo E: Germinación de semillas



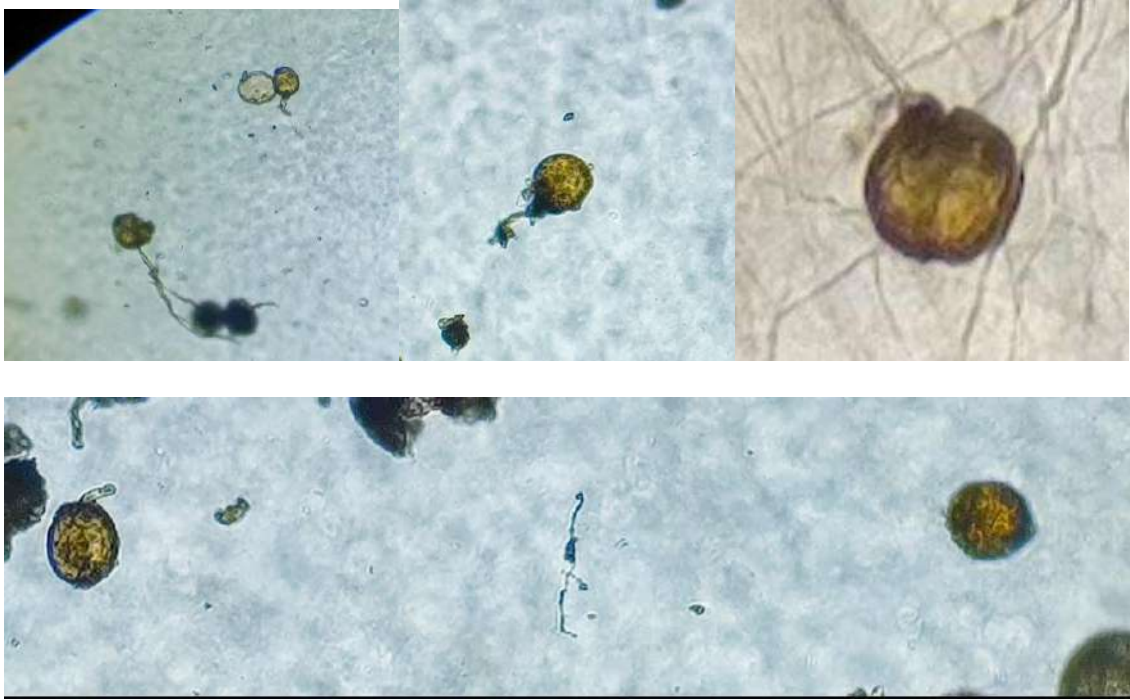
Anexo F: Comportamiento de crecimiento de los hongos (*Beauveria spp*, *Isaria spp*, *Metarhizium spp* y *Purpureocillium spp*), en el medio almidón de yuca.



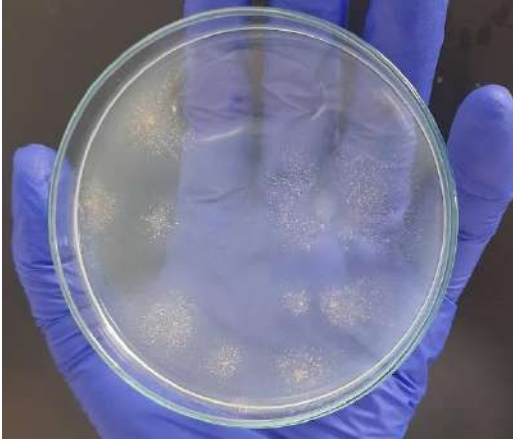
Anexo G: crecimiento de hongos (*Aspergillus spp*, *Fusarium spp*, mezcla de hongos del ambiente) en medio almidón de yuca.



Anexo H: Lavado, recolección y desinfección de las micorrizas.



Anexo I: Esporas de micorrizas germinadas



Anexo J: Estructuras macro y micro, asociadas a *Boletus sp*