

Desinfección y viabilidad *in vitro* de micorrizas arbusculares asociadas a la papa (*Solanum tuberosum* L.) para la escalabilidad de inoculantes nativos de alta pureza

Disinfection and *in vitro* viability of arbuscular mycorrhizae associated with potato (*Solanum tuberosum* L.) for the scalability of high-purity native inoculants

Andrea María Zamora Jarquín¹, Ericka Olmara Cabezas Fonseca², Carlos Ernesto Orozco Noguera³, Jael Bildad Cruz Castillo⁴

¹ MSc. Plant Production Science / Plant Pathology, Dirección de Ciencias Agrícolas, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3487-9343> / andrea.zamora@ci.una.edu.ni

² Ingeniero Agrónomo, Dirección de Ciencias Agrícolas, ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-7096-5359> / ericka.cabezas@ci.una.edu.ni

³ Ingeniero Agrónomo, graduado de la carrera de Agronomía, Dirección de Ciencias Agrícolas, carloroz26@gmail.com

⁴ MSc. Agroecología y Desarrollo Sostenible, Dirección de Ciencias Ambientales y Cambio Climático, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9952-7501> / jael.cruz@ci.una.edu.ni

Universidad Nacional Agraria

Autor de correspondencia: andrea.zamora@ci.una.edu.ni



RESUMEN

La bioprospección de micorrizas es la búsqueda, identificación y evaluación de hongos micorrícicos con características funcionales superiores, para utilizarlos como recursos biológicos en la agricultura o en la restauración ambiental. La utilización de metodologías de desinfección y viabilidad de esporas mejora la bioprospección desarrollando nuevos protocolos de producción de micorrizas basados a mejorar la simbiosis e incrementar propágulos infectivos (esporas, hifas y fragmentos de raíz). El objetivo de este estudio fue desarrollar un protocolo para evaluar la respuesta a la desinfección y germinación *in vitro* de micorrizas nativas aisladas de plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.). Las colectas de micorrizas se realizaron en dos fincas en el departamento de Estelí en la zona Norte de Nicaragua cultivadas con papa entre 35 y 50 días de edad de las variedades Picasso, Panamera, Nemphis y Sylvana. Se cuantificó la densidad poblacional y la abundancia relativa de esporas de micorrizas en muestras de suelos e identificó los géneros a través de claves morfológicas. Luego, se cuantificó la colonización de

ABSTRACT

Mycorrhizal bioprospecting is the search, identification, and evaluation of mycorrhizal fungi with superior functional traits for their use as biological resources in agriculture or environmental restoration. The application of spore disinfection and viability methodologies enhances bioprospecting by enabling the development of new mycorrhiza production protocols aimed at improving symbiosis and increasing infective propagules (spores, hyphae, and root fragments). The objective of this study was to develop a protocol to evaluate the response to disinfection and *in vitro* germination of native mycorrhizae isolated from potato plants (*Solanum tuberosum* L.). Mycorrhizal samples were collected from two farms in the department of Estelí, in northern Nicaragua, cultivated with potato crops aged between 35 and 50 days, corresponding to the cultivars Picasso, Panamera, Nemphis, and Sylvana. Population density and relative abundance of mycorrhizal spores in soil samples were quantified, and the genera were identified using morphological keys. Subsequently, the colonization of typical fungal structures such as

Recibido: 11 de septiembre del 2025
Aceptado: 15 de diciembre del 2025



Los artículos de la revista La Calera de la Universidad Nacional Agraria, Nicaragua, se comparten bajo términos de la licencia Creative Commons: Reconocimiento, No Comercial, Compartir Igual. Las autorizaciones adicionales a las aquí delimitadas se pueden obtener en el correo donald.juarez@ci.una.edu.ni

© Copyright 2025. Universidad Nacional Agraria (UNA).

CIENCIA DE LAS PLANTAS

estructuras fúngicas típicas: hifas, vesículas y arbuscúlos en raíces. Finalmente, se determinó la mejor metodología de desinfección de esporas de micorrizas y se definieron los mejores medios de germinación de esporas en diferentes medios de cultivos incubadas a 25 °C por siete días. Los géneros identificados corresponden a *Glomus* spp., *Scutellospora* spp., y *Gigaspora* spp. La variedad Panamera presentó la mayor densidad de esporas vivas (4.2 esporas en 10 g de suelo), siendo significativamente diferente de Sylvana. El género *Glomus* spp., fue el más abundante (76 %) de esporas en la variedad Picasso. El mayor valor de colonización de hifas se observó en las variedades Picasso (15.27). No se registraron diferencias significativas en la cuantificación de las estructuras arbuscúlos y vesículas. Se estudiaron tres metodologías de desinfección de esporas obteniéndose que la metodología 3 a base de Cloramina T más estreptomycin y gentamicina obtuvo un 70 % de esporas del género *Glomus* spp., sin contaminantes de hongos y bacterias cuando crecieron *in vitro* en MS al 50 %. La germinación de esporas ocurrió únicamente en el medio mínimo, con cinco esporas germinadas. El porcentaje de micorrizas arbusculares en raíces de papa y suelo es muy pobre, lo que indica que el mal manejo de este cultivo al utilizar altos insumos químicos no solo afecta la cantidad de esporas presentes y el número de especies de micorrizas, sino que también la viabilidad de estas para crear simbiosis con la planta.

Palabras clave: simbiosis, estructuras micorrícicas, bioprospección, hongos formadores de micorrizas arbusculares.

hyphae, vesicles, and arbuscules in roots was quantified. Finally, the most effective methodology for mycorrhizal spore disinfection was determined, and the most suitable spore germination media were defined by incubating spores in different culture media at 25 °C for seven days. The identified genera corresponded to *Glomus* spp., *Scutellospora* spp., and *Gigaspora* spp. The Panamera cultivar exhibited the highest density of viable spores (4.2 spores per 10 g of soil), showing significant differences compared with the Sylvana cultivar. The genus *Glomus* spp. was the most abundant (76%) in the Picasso cultivar. The highest value of hyphal colonization was observed in the Picasso cultivar (15.27). No significant differences were recorded in the quantification of arbuscule and vesicle structures. Three spore disinfection methodologies were evaluated, of which methodology 3, based on chloramine T combined with streptomycin and gentamicin, achieved 70% of *Glomus* spp. spores free of fungal and bacterial contaminants when grown *in vitro* on 50% MS medium. Spore germination occurred exclusively in the minimal medium, with five spores germinated. The percentage of arbuscular mycorrhizae in potato roots and soil was very low, indicating that poor crop management practices involving high chemical inputs not only reduce the quantity of spores present and the number of mycorrhizal species, but also compromise their viability to establish symbiosis with the plant.

Keywords: Symbiosis, mycorrhizal structures, bioprospecting, arbuscular mycorrhizal fungi.

La papa (*Solanum tuberosum* L.) constituye una fuente de alimentación para los humanos y es un componente esencial en la dieta de los nicaragüenses. Para garantizar la sostenibilidad agrícola y la seguridad alimentaria, es crucial desarrollar alternativas biológicas que permitan optimizar los rendimientos del cultivo, reducir los costos de producción y mitigar el impacto ambiental. En este contexto, la simbiosis micorrícica arbuscular se posiciona como un tema central, ya que la funcionalidad de los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) son necesarios para contribuir con la salud del suelo y la nutrición vegetal.

A pesar de su importancia, la producción de papa en regiones clave de Nicaragua (Estelí, Jinotega y Matagalpa) enfrenta diversas limitaciones como el uso excesivo de insumos y fertilizantes químicos, problemas fitosanitarios y condiciones climáticas adversas. Este mal manejo intensivo ha provocado una disminución significativa en la presencia y funcionalidad de los HFMA nativos en el suelo, lo que afecta negativamente la capacidad de las plantas para establecer simbiosis, aspecto que disminuye la absorción de nutrientes y la resistencia al estrés (Swaminathan y Verma, 1977).

La bioprospección de hongos formadores de micorrizas arbusculares se establece como una metodología esencial para identificar y aprovechar las cepas fúngicas locales adaptadas a las condiciones agroecológicas específicas

de una zona determinada; sin embargo, para que este proceso sea efectivo, es necesario superar los desafíos técnicos en el manejo *in vitro* de estos organismos. Específicamente, se requiere la optimización de protocolos para la desinfección de las esporas y la evaluación de su viabilidad, ya que los métodos tradicionales a menudo resultan en altos niveles de contaminación o en una baja tasa de germinación, lo que limita la obtención de propágulos infectivos puros para su multiplicación.

El uso de micorrizas nativas se presenta como una alternativa sostenible. Los HFMA identificados mediante bioprospección no solo mejoran la nutrición mineral de las plantas (especialmente fósforo), sino que también contribuyen a reducir la dependencia de insumos químicos, aumentar el rendimiento y fortalecer la resiliencia del cultivo de papa frente a enfermedades y estrés hídrico (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Esta investigación tiene como objetivo optimizar métodos de desinfección y germinación de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares, para el desarrollo de protocolos de bioprospección *in vitro* que fortalezcan la producción de semilla de papa de alta calidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de investigación. El presente estudio corresponde a una investigación de tipo experimental, con un enfoque cuantitativo y alcance descriptivo-exploratorio, de acuerdo

CIENCIA DE LAS PLANTAS

con las clasificaciones metodológicas estándar (Hernández Sampieri *et al.*, 2014).

Muestreo de suelo y material vegetal. El muestreo se realizó en dos fincas productoras de papa en el departamento de Estelí, al Norte de Nicaragua, ubicado a 107 km de su capital Managua. Se muestrearon cuatro lotes: finca Los Córdoba (lote con las variedades Picasso y Panamera) y finca La Fortuna (lote con las variedades Memphis y Sylvana), con edades entre 35 y 50 días. El muestreo se realizó al azar en un área de 50 m² en el que se seleccionaron cinco plantas con raíces incluyendo el suelo, todo colectado a una profundidad de 20 cm. La muestra del suelo fue de aproximadamente de 500 gramos.

Ubicación del estudio. La optimización de las metodologías de desinfección y germinación de esporas de los HFMA se realizaron en los laboratorios de Nematología, Microbiología, Química y Biología Molecular de la Universidad Nacional Agraria (UNA), localizados en el km 12.5 Carretera Norte, en Managua, en las coordenadas 12°08'36" de latitud Norte y 86° 09'49" de longitud Oeste.

Extracción e identificación de HFMA en suelo. Las esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) nativas de suelo se extrajeron a través del método de tamizado y decantación propuesto por Gerderman y Nicolson (1963); y el método de centrifugación en sacarosa modificado por Brundrett *et al.* (1996). La extracción consistió en pesar 10 g de suelo adicionándose

100 ml de agua destilada mientras la muestra era agitada manualmente. Después de 30 segundos de sedimentación, el sobrenadante se filtró secuencialmente a través de tamices de 500, 250 y 25

micras y se recolectó en tubos Falcón de 50 ml. La muestra colectada en el tubo se centrifugó a 3 400 rpm durante cinco minutos, se eliminó el sobrenadante y se agregó 15 ml de sacarosa al 70 % (p/v). Luego se centrifugó a 3 400 rpm por cinco minutos, el sobrenadante se pasó por el tamiz de 25 micras y se enjuagó con abundante agua, al final la muestra (esporas con agua) se colectó en una placa de Petri para su visualización en el estereoscopio.

Identificación de estructuras micorrícicas en raíces. Para la identificación de estructuras de hifas, vesículas y arbusculas de HFMA se utilizó el método de despigmentación

y tinción de raíz modificado por Phillips y Hayman (1970). Se seleccionaron raíces finas de aproximadamente 1 cm de longitud, se lavaron con agua potable y se colocaron en tubos Falcón de 50 ml, se agregó KOH (hidróxido potasio) al 10 % (v/v) y se colocaron en baño maría a 60 °C por 30 minutos. A continuación, se agregó H₂O₂ (peróxido de hidrógeno) al 10 % (v/v) y se colocó nuevamente en baño maría por 15 minutos, luego se cubrieron con azul de tripano al 0.05 % (p/v) y se colocó en baño maría por 25 minutos; finalmente se lavaron con agua destilada y se les añadió lacto glicerol.

Desinfección de HFMA. La desinfección de esporas de HFMA es un paso esencial para eliminar contaminantes superficiales (bacterias y hongos saprófitos). Esto garantiza la esterilidad necesaria para el cultivo monoxénico *in vitro*, permitiendo evaluar la viabilidad de la cepa pura. Para la desinfección, se utilizaron las esporas aisladas de las muestras de suelo. Se compararon tres metodologías de desinfección (Cuadro 1), basadas en los protocolos propuestos por Cranenbrouck *et al.* (2005), Moose (1962). No obstante, debido a la baja abundancia de esporas observada en los géneros *Scutellospora* spp y *Gigaspora* spp durante la cuantificación inicial, el material biológico disponible fue insuficiente para evaluar la metodología tres en estos géneros. Por lo tanto, el tercer protocolo de desinfección se evaluó exclusivamente con esporas del género *Glomus* spp, el que resultó ser el más abundante en las muestras de suelo (con un promedio de 18 esporas por gramo de suelo) y cuya disponibilidad permitió realizar las réplicas experimentales requeridas.

Cuadro 1. Metodologías de desinfección de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares

Metodología	Descripción	Géneros de HFMA	Referencia
1	Tween 20 al 0.05 % (1 minuto) + Hipoclorito de sodio al 1 % (2 minutos) + 200 mg l ⁻¹ de estreptomina (5 minutos)	<i>Glomus</i> spp <i>Scutellospora</i> spp <i>Gigaspora</i> spp	Moose (1962) modificada
2	Tween 20 al 2 % (10 minutos) + Cloramina T al 5 % (10 minutos) + Hipoclorito de sodio al 1 % (2 minutos) + 200 mg l ⁻¹ de estreptomina (10 minutos)	<i>Glomus</i> spp <i>Scutellospora</i> spp <i>Gigaspora</i> spp	Cranenbrouck <i>et al.</i> (2005) modificada
3	Tween 20 al 2 % (15 minutos) + Cloramina T al 5 % (15 minutos) + Hipoclorito de sodio al 1 % (5 minutos) + 200 mg l ⁻¹ de estreptomina y 100 mg l ⁻¹ de gentamicina (30 minutos)	<i>Glomus</i> spp	Cranenbrouck <i>et al.</i> (2005) modificada

Germinación de esporas. El éxito en la germinación de las esporas está en dependencia del proceso de desinfección. La germinación se evaluó en cuatro medios de cultivo con el fin de comprobar la capacidad de germinación de las esporas de HFMA, los medios de cultivos utilizados son los propuestos por Murashige y Skoog (1962) al 50 %; Man, Rogosa y Sharpe (MRS) y el medio mínimo (M) y como control (testigo), el medio Agar Agua.

Variables evaluadas

Densidad poblacional de esporas (número de esporas). Se registró mediante la cuantificación del número de

CIENCIA DE LAS PLANTAS

esporas viables (vivas) y no viables (muertas) por gramo de suelo seco, con categorización por género de HFMA. La cuantificación se realizó inmediatamente después de la extracción de las esporas, a partir de la muestra compuesta por el suelo proveniente del área del sistema radicular de las cinco plantas colectadas por variedad, replicada tres veces. El conteo de esporas y viabilidad se determinó observando las características morfológicas bajo microscopio: las esporas viables se caracterizaron por un citoplasma intacto, denso y granuloso, mientras que las no viables presentaban citoplasma colapsado, vacuolizado o signos de deterioro.

Abundancia relativa de géneros de HFMA (%). Se determinó para establecer el perfil taxonómico predominante de la comunidad nativa en los lotes (variedades). Esta variable se calculó como el porcentaje de esporas vivas identificadas para cada género (*Glomus*, *Gigaspora*, *Scutellospora*) con respecto al número total de esporas vivas cuantificadas en la muestra de suelo. La identificación a nivel de género se realizó utilizando las claves morfológicas de la International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, 2024). El cálculo de la abundancia relativa (% AR) para cada género (i) se realizó según la metodología de cuantificación y caracterización taxonómica propuesta por Schenck y Pérez (1987), utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ ARi} = \left(\frac{\text{Número de esporas vivas del género i}}{\text{Número total de esporas vivas en la muestra}} \right) \times 100$$

Colonización de HFMA (número estructuras micorrícicas en raíces). Se evaluó en las muestras de raíces, cuantificando la presencia de estructuras fúngicas típicas: hifas, vesículas y arbuscúlos. La determinación se realizó mediante observación directa en un microscopio óptico con el objetivo 10X. Previamente, las raíces clarificadas y teñidas se colocaron en un portaobjeto, desde donde se seleccionaron aleatoriamente 10 segmentos de raíz por muestra. Cada segmento fue dividido en 10 fragmentos, resultando en la evaluación de 100 campos microscópicos por muestra. Para cada campo, se cuantificó la cantidad de hifas, vesículas y arbuscúlos presentes al momento de la identificación de estructuras micorrícicas. Los datos cuantitativos de estas estructuras se utilizaron posteriormente para el análisis estadístico.

Desinfección de esporas (%). El porcentaje de contaminación de las esporas de HFMA se registró para evaluar la efectividad de las diferentes metodologías de desinfección. La evaluación se realizó a los siete días después de la siembra en los medios de cultivo estériles contenidos en las placas de Petri e incubados a 25 °C. Se tomó en cuenta la presencia y desarrollo de contaminantes fúngicos (hongos y levaduras) y bacterianos, cuya fuente se asumió como originada directamente de la superficie de las esporas de

micorrizas establecidas. El porcentaje de contaminación (% C) para cada metodología se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ C} = \left(\frac{\text{Número de esporas contaminadas}}{\text{Número total de esporas sembradas}} \right) \times 100$$

Esporas germinadas en los medios de cultivo (%). La viabilidad de las esporas de HFMA se evaluó registrando el porcentaje de germinación en el medio de cultivo *in vitro*. La evaluación se realizó a los siete días después de la siembra en las placas de Petri, monitoreando visualmente la emergencia del tubo germinativo de las esporas. El porcentaje de germinación (% G) se determinó mediante el conteo de las esporas germinadas con respecto al número total de esporas viables sembradas, siguiendo la metodología base establecida por Gerdemann y Nicolson (1963). La fórmula utilizada fue:

$$\% \text{ G} = \left(\frac{\text{Número de esporas germinadas}}{\text{Número total de esporas sembradas}} \right) \times 100$$

Análisis de datos. Las variables densidad poblacional de esporas en el suelo y colonización de HFMA en raíces fueron evaluadas utilizando un modelo lineal simple (análisis de regresión) en el que se consideró a las plantas como efectos aleatorios. El modelo completo consistió en el ajuste de todos los efectos principales e interacciones y se realizó comparaciones múltiples usando la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Todos los análisis fueron realizados con el software estadístico R (R Core Team, 2023). Las variables porcentaje de contaminación y de germinación de esporas se realizó de manera descriptiva por análisis de porcentajes utilizando el programa Excel (2023) de Microsoft Office 365 Empresarial.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Densidad poblacional de esporas (número de esporas). Se registraron diferencias estadísticas en la densidad poblacional de esporas vivas en función del suelo cultivado con las variedades de papa. El suelo proveniente del lote establecido con la variedad Panamera presentó la mayor densidad de esporas vivas (Figura 1). En cambio, no se registraron diferencias en la cuantificación de las esporas muertas extraídas de los diferentes lotes (Figura 1), sugiriendo que la variabilidad se concentra en las esporas viables.

La mayor densidad poblacional de esporas vivas en el suelo cultivado con la variedad Panamera es un resultado clave que se interpreta como una respuesta específica del hospedero, que favorece la esporulación de los HFMA nativos y que está estrechamente ligada a la composición y cantidad de exudados radiculares liberados por la planta hospedera (Tian *et al.*, 2021; Upadhyay *et al.*, 2022). Se ha documentado que la variación genética entre cultivares

CIENCIA DE LAS PLANTAS

influye directamente en los metabolitos secundarios y las señales químicas exudadas por la raíz (Zhao *et al.*, 2020). Es posible que la variedad Panamera libere un perfil de exudados (como flavonoides o ácidos orgánicos específicos) que estimula la esporogénesis (formación de esporas) de las cepas presentes, particularmente las del género *Glomus* spp, el cual fue el más abundante en el estudio. Esta especificidad en la señalización química puede ser el factor determinante detrás del incremento de inóculo viable en este lote.

Alternativamente, esta alta esporulación podría ser vista como un indicativo de estrés en el establecimiento de la simbiosis, en lugar de reflejar una alta eficiencia. El número elevado de esporas puede ser una respuesta fúngica para garantizar la supervivencia ante condiciones ambientales o nutricionales subóptimas (Camenzind *et al.*, 2022; Dube y Dames, 2025), o un bajo suministro de carbohidratos en la raíz (Nehls, 2008). Por lo tanto, aunque la variedad Panamera induce una alta densidad de esporas vivas, la funcionalidad de la simbiosis debe ser verificada mediante la cuantificación de las estructuras de intercambio (arbuscúlos) y la respuesta agronómica de la planta.

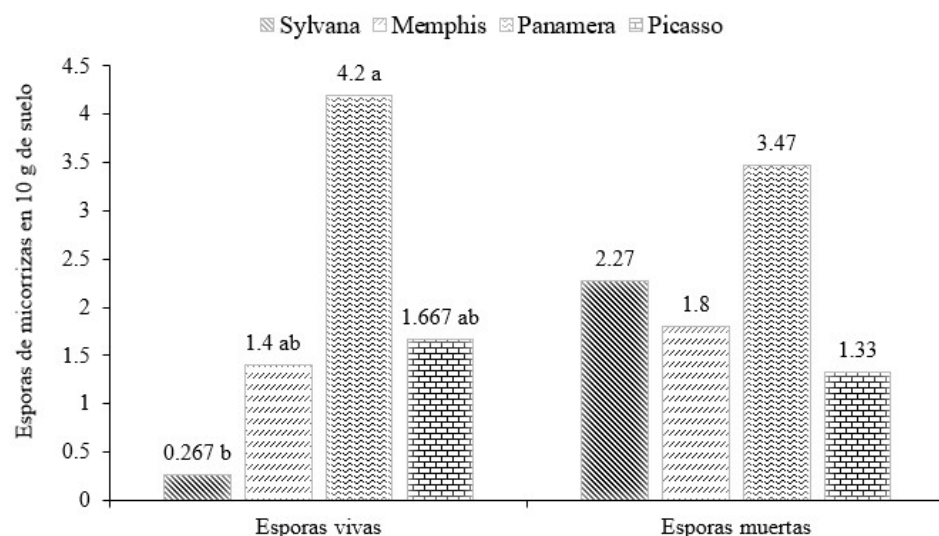


Figura 1. Densidad poblacional de HFMA (esporas vivas y muertas) provenientes del suelo según variedades de papa.

Abundancia relativa de géneros de HFMA (%). De los géneros de HFMA identificados (*Glomus* spp, *Gigaspora* spp y *Scutellospora* spp.), *Glomus* spp fue el género predominante en todas las variedades (Cuadro 2), a excepción de la variedad Sylvana. La predominancia de *Glomus* spp en sistemas agrícolas se atribuye a su ciclo de vida rápido y a su mayor capacidad de esporulación en comparación con los géneros *Scutellospora* y *Gigaspora*. García-Apaza (2017), evaluó poblaciones de esporas micorrícicas en suelos cultivados con papa y reporta esporas viables (vivas) de los géneros *Glomus* spp, *Scutellospora* spp y *Gigaspora* spp.

Cuadro 2. Abundancia relativa HFMA en función de las variedades de papa

Género de HFMA	Abundancia relativa (%)			
	Picasso	Panamera	Memphis	Sylvana
<i>Glomus</i> spp	76	59	56	3
<i>Gigasporas</i> spp	16	6	15	3
<i>Scutellospora</i> spp	4	6	4	0

La abundancia del género *Glomus* en este estudio coincide con los hallazgos de Zhang *et al.* (2021), Liu *et al.* (2021) y Adeyemi *et al.* (2019), quienes identificaron *Glomus* como el género dominante en la mayoría de los suelos agrícolas y naturales, con abundancias relativas que oscilan entre 42 % y 86 % del total de esporas. *Scutellospora* suelen ocupar el segundo y tercer lugar en abundancia, con valores típicos de 12 % a 24 % (Sakha *et al.*, 2025), dependiendo del ambiente y el cultivo; mientras que *Gigasporas*, presentan abundancias relativas menores al 10 % (Malik *et al.*, 2025; Sánchez *et al.*, 2017).

Colonización de HFMA (número de estructuras micorrícicas en raíces). La cuantificación de hifas fue significativamente diferente en las raíces de la variedad Picasso con respecto a las variedades Memphis y Sylvana (Cuadro 3). No se registraron diferencias significativas en la cuantificación de las estructuras clave de intercambio y almacenamiento (arbuscúlos y vesículas) entre las variedades. A pesar de esto, las estructuras tipo arbuscúlos se presentaron en un número mayor que las vesículas en todas las muestras, lo que representa un buen estado funcional de la asociación micorrízica.

El arbuscúlo es la estructura clave donde ocurre el intercambio bidireccional de nutrientes (fósforo hacia la planta y carbono hacia el hongo), caracterizándose por un ciclo de vida corto, con una vida media de 4 a 15 días (Khaliq *et al.*, 2022; Luginbuehl *et al.*, 2017; Rui *et al.*, 2022); su cuantificación en este estudio sugiere que la simbiosis se encontraba en una fase metabólica activa de intercambio, típica de una planta en crecimiento y con demanda de nutrientes. En contraste, las vesículas son estructuras de almacenamiento de lípidos para la supervivencia del hongo (Saavedra *et al.*, 2024), y suelen formarse en etapas tardías de la colonización o como respuesta a condiciones de estrés (Méndez-Gálvez *et al.*, 2021). La menor presencia de

CIENCIA DE LAS PLANTAS

vesículas en relación con las otras estructuras micorrícicas en las raíces de papa, indica que el sistema radicular no se encontraba predominantemente en una fase de supervivencia o almacenamiento, sino en una fase de colonización funcional activa.

Cuadro 3. Colonización de estructura micorrícicas en raíces según variedad de papa

Variedad	Estructuras micorrícicas		
	Hifas	Arbúsculos	Vesículas
Sylvana	9.00 b	3.20	1.40
Memphis	9.93 b	3.33	1.60
Panamera	13.20 ab	3.60	1.87
Picasso	15.27 a	4.67	1.87
$p \leq 0.05$	0.0102	0.8658	0.5273

Desinfección de esporas HFMA (%). La efectividad de las metodologías de desinfección varió significativamente según el género de HFMA (Figura 2). Debido a la limitación en el número de esporas viables de los géneros *Gigaspora* spp y *Scutellospora* spp, la efectividad de la metodología 3 se evaluó exclusivamente en *Glomus* spp. Los resultados indican que el género *Glomus* spp fue el más resistente a la desinfección, con una contaminación inicial de 100 % con la metodología 1, que se redujo al 30 % con la metodología 3. Los géneros *Gigaspora* spp y *Scutellospora* spp respondieron mejor a las metodologías de desinfección; *Gigaspora* spp redujo la contaminación en 50 % con la metodología 2 respecto a la metodología 1 (de 80 % a 40 %), mientras que *Scutellospora* spp reduce la contaminación en un 42.8 % con la metodología 2 respecto a la metodología 1.

La descontaminación incompleta de esporas de *Glomus* spp., incluso tras tratamientos rigurosos, se debe principalmente a la presencia de bacterias incrustadas dentro de las capas externas de la pared esporal, que quedan protegidas de los agentes descontaminantes. Estas bacterias no son eliminadas por tratamientos superficiales y solo se detectan cuando las esporas se cultivan en medios apropiados (Bharadwaj *et al.*, 2008; Roesti *et al.*, 2005). A diferencia de otros géneros, la pared esporal de *Glomus* spp. puede ser más compleja en cuanto a la disposición y composición de sus capas (Bharadwaj *et al.*, 2008; Maia y Kimbrough, 1998); además, la edad de la espora

y el estado de maduración influyen en la eficacia de la descontaminación; esporas maduras requieren tratamientos más intensos, sin embargo, pueden afectar negativamente la viabilidad (Stürmer y Morton, 1997).

La capacidad de obtener esporas viables y parcialmente desinfectadas sienta las bases para el trabajo *in vitro*. Pérez *et al.* (2011) lograron obtener una alta germinación y 0 % de contaminación en esporas de *Glomus* sp., después de dos semanas de incubación, lo que demuestra que la asepsia completa es alcanzable si se optimizan las concentraciones y los tiempos de exposición de los agentes desinfectantes. El resultado del 30 % de esporas de *Glomus* spp., contaminadas, sugiere que la concentración o el tiempo de exposición de la metodología 3 necesita ajustes para aumentar su efectividad. La contaminación inicial de 100 % observada con la metodología 1, se justifica por el principio expuesto por Walley y Germida (1996), quienes indicaron que evitar medios ricos en nutrientes es clave para la descontaminación efectiva de HFMA. La metodología 1 utilizó el medio Murashige y Skoog (MS), que es inherentemente rico en nutrientes y aminoácidos, creando un ambiente propicio para el crecimiento explosivo de los contaminantes fúngicos y bacterianos adheridos a las esporas, lo que resultó en la contaminación total de la muestra.

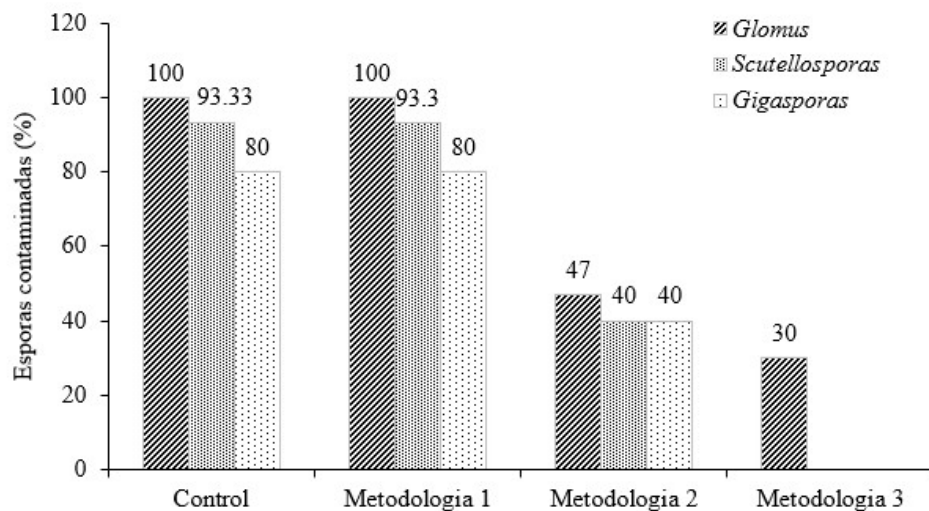


Figura 2. Porcentaje de esporas contaminadas según metodología de desinfección y géneros de micorrizas.

Esporas germinadas en los medios de cultivo (%). Se evaluó la capacidad germinativa de *Glomus* spp., en cuatro medios de cultivo: ½ MS, medio mínimo (M), medio MRS y Agar Agua (control). La germinación de esporas ocurrió únicamente en el medio mínimo, con cinco esporas germinadas (Figura 3); aunque la germinación fue baja, el porcentaje de esporas viables fue mayor en el medio mínimo (89 %) comparado con MRS, ½ MS y Agar Agua.

CIENCIA DE LAS PLANTAS

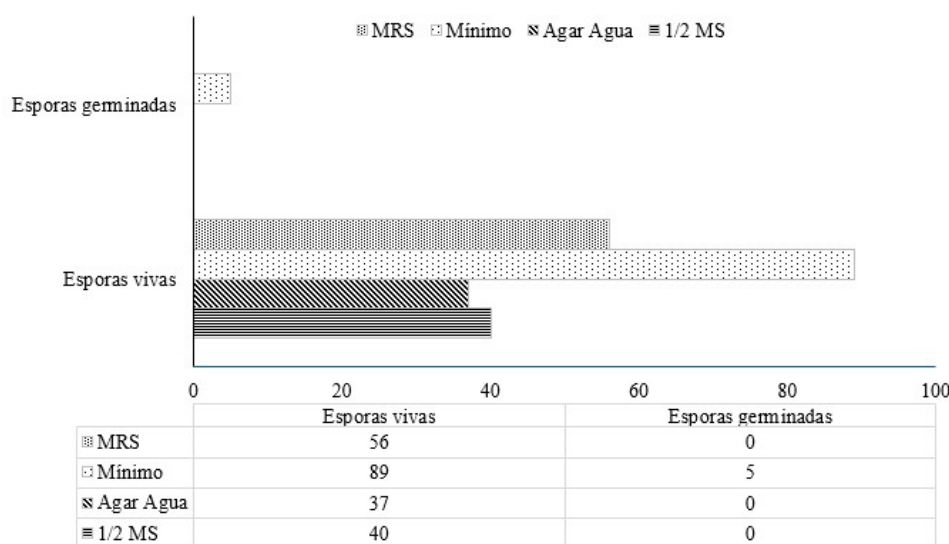


Figura 3. Número de esporas vivas y germinadas a los siete días en diferentes medios de cultivos.

La germinación de esporas a los siete días no presenta efecto significativo, sin embargo, se observó una tasa de germinación inicial de hasta cinco esporas germinadas a los siete días después de la siembra en las placas de Petri, una cifra esperable para una fase temprana de incubación. Este resultado es comparable con los hallazgos de Raghavendra *et al.* (2020), quienes reportaron de 0.20 % a 11.64 % de germinación en el mismo periodo, lo cual confirma que el proceso es intrínsecamente lento y que depende del medio de cultivo. Bécard *et al.* (1992); Scervino *et al.* (2005) indican que, para acelerar la germinación, es necesario incluir flavonoides en los medios de cultivos. Smith y Read (2008) destacan que el exceso de sales minerales puede inhibir la viabilidad y germinación de las esporas, lo que podría explicar el bajo número de

esporas viables. La germinación y viabilidad de esporas en medios de cultivo puede ser limitada en la primera semana, especialmente si el inóculo proviene de suelos con baja diversidad o manejo intensivo (Esquivel-Quispe, 2020).

CONCLUSIONES

El protocolo de desinfección a base de Cloramina T más estreptomycin y gentamicina (Metodología 3) y el uso de medio mínimo (M) para la viabilidad y germinación, genera cultivos de esporas con bajos índice de contaminación, lo que es ideal para la obtención de inoculantes nativos de alta pureza.

El uso de medios de cultivos con altas concentración de sales actúa como un factor limitante para la germinación activa.

La baja presencia de estructuras micorrícicas funcionales como arbuscúlos y vesículas en las raíces, se vincula a una fase metabólica activa de intercambio, típica de una planta en crecimiento y con demanda de nutriente.

Al contar con un protocolo que garantiza la desinfección de géneros clave como *Glomus* spp., es posible iniciar la producción de biofertilizantes axénicos de alta pureza, que permite al sector agrícola disponer de inóculos bioseguros (libres de patógenos) que optimicen la absorción de nutrientes y reduzcan la dependencia de fertilizantes químicos, mejorando la rentabilidad y sostenibilidad del cultivo de papa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adeyemi, N., Atayese, M., & Olubode, A. (2019). Identification and relative abundance of native arbuscular mycorrhizal fungi associated with oil-seed crops and maize (*Zea mays* L.) in derived savannah of Nigeria. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 22(3), 84-89. <https://doi.org/10.15414/afz.2019.22.03.84-89>
- Azcón-Bieto, J. y Talón, M. (2008). *Fundamentos de fisiología vegetal*. <https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/FundamentosdeFisiologiaVegetal2008Azcon..pdf>
- Bécard, G., & Piché, Y. (1992). Establishment of vesicular-arbuscular mycorrhiza in root organ culture: Review and proposed methodology. En J. R. Norris, D. J. Read, & A. K. Varma (Eds.), *Methods in microbiology*. Academic Press.
- Bharadwaj, D., Lundquist, P., Persson, P., & Alström, S. (2008). Evidence for specificity of cultivable bacteria associated with arbuscular mycorrhizal fungal spores. *FEMS microbiology ecology*, 65(2), 310-322. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00515.x>
- Brundrett, M., Bouguer, N., Dell, B., & Malajczuk, N. (1996). *Working with mycorrhizae in forestry and agriculture*. <https://www.aciar.gov.au/publication/working-mycorrhizas-forestry-and-agriculture>
- Camenzind, T., Weimershaus, P., Lehmann, A., Aguilar-Trigueros, C., & Rillig, M. (2022). Soil fungi invest into asexual sporulation under resource scarcity, but trait spaces of individual isolates are unique. *Environmental microbiology*, 24(7), 2962–2978. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.16012>

- Cranenbrouck, S., Voets, L., Bivort, C., Renard, L., Strullu, D.-G., & Declerck, S. (2005). Methodologies for in vitro cultivation of arbuscular mycorrhizal fungi with root organs. En S. Declerck, J. A. Fortin, & D.-G. Strullu (Eds.), *In vitro culture of mycorrhizas* (Soil Biology, Vol. 4, pp. 341–375). Springer. https://doi.org/10.1007/3-540-27331-X_18
- Dube, M., & Dames, J. (2025). Soil Properties and Not Crop Rotation With Non-Mycorrhizal Canola Influence the Abundance of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Wheat Soils. *Soil Use and Management*, 41. <https://doi.org/10.1111/sum.70102>.
- Esquivel-Quispe, R. (2020). Propagación de hongos micorrizógenos arbusculares nativos y su influencia en la producción de maíz Amiláceo en Paquecc-Ayacucho. Primera parte: Propagación en cultivos asociados en invernadero. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8, 42-52. <https://doi.org/10.36610/j.jsab.2020.080100042>.
- García-Apaza, E. y Álvarez, E. (2017). Evaluación de la población de micorrizas en parcelas de papa (*Solanum tuberosum* L.) en el altiplano central boliviano. *Revista de Investigación Agropecuaria y forestal boliviana*, (1), 66-76. https://www.researchgate.net/publication/346444703_Evaluacion_de_la_poblacion_de_micorrizas_en_parcelas_de_papa_Solanum_tuberosum_L_en_el_altiplano_central_boliviano.
- Gerdemann, J.W., & Nicolson, T.H. (1963). Spores of Mycorrhizal Endogone Species Extracted from Soil by Wet Sieving and Decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46(2), 235-244. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0)
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C. y Baptista Lucio, P. (2014). *Metodología de la investigación* (6ª ed.). McGraw-Hill Interamericana.
- Khaliq, A., Perveen, S., Alamer, K., Haq, M., Rafique, Z., Alsudays, I., Althobaiti, A., Saleh, M., Hussain, S., & Attia, H. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi symbiosis to enhance plant–soil interaction. *Sustainability*, 14(13), 7840. <https://doi.org/10.3390/su14137840>
- Liu, R., Xiao, Z., Hashem, A., AbdAllah, E., & Wu, Q. (2021). Mycorrhizal Fungal Diversity and Its Relationship with Soil Properties in *Camellia oleifera*. *Agriculture*, 11, 470. <https://doi.org/10.3390/agriculture11060470>
- Luginbuehl, L., Menard, G., Kurup, S., Van Erp, H., Radhakrishnan, G., Breakspear, A., Oldroyd, G., & Eastmond, P. (2017). Fatty acids in arbuscular mycorrhizal fungi are synthesized by the host plant. *Science*, 356, 1175 - 1178. <https://doi.org/10.1126/science.aan0081>.
- Maia, L., & Kimbrough, J. (1998). Ultrastructural Studies of Spores and Hypha of a *Glomus* Species. *International Journal of Plant Sciences*, 159, 581 - 589. <https://doi.org/10.1086/297576>.
- Malik, J., Dar, B., Alqarawi, A., Assaeed, A., Alotaibi, F., Alkhasha, A., Adam, A., & Abd-ElGawad, A. (2025). Species Richness of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Heterogenous Saline Environments. *Diversity*, 14(13), 7840. <https://doi.org/10.3390/d17030183>.
- Méndez-Gálvez, S., Esquivel-Quispe, R., y Ochoa-Yupanqui, W. (2021). Indicadores de colonización de hongos micorrícicos arbusculares en “papa” (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 9, 53-63. <https://doi.org/10.36610/j.jsab.2021.090100053>.
- Moose, B. (1962). The establishment of vesicular arbuscular mycorrhizal under aseptic conditions. *Journal Microbiology*, 27(3), 509-520. <https://www.microbiologyresearch.org/content/micro/10.1099/00221287-27-3-509>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- Nehls, U. (2008). Mastering ectomycorrhizal symbiosis: the impact of carbohydrates. *Journal of experimental botany*, 59(5), 1097-1108. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm334>
- Pérez, M., Ramírez, U. A., Moreno., M. M. y Franco, C. M. (2011). Metodología para la desinfección y germinación de esporas y fragmentos de raíces micorrizadas con *Glomus* sp. (GEV02) para su uso bajo condiciones in vitro. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 12(2), 143-150. <https://www.redalyc.org/pdf/4499/449945031008.pdf>
- Phillips, J.M., & Hayman, D.S. (1970). Improved Procedures for Clearing Roots and Staining Parasitic Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Rapid Assessment of Infection. *Transactions of the British Mycological Society*, (55), 158-161. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- Raghavendra, K., Nirmalnath, P., & Jagadeesh, K. (2020). Axenic Germination of *Glomus* intraradices in *in vitro*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9, 2387-2396. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.901.272>
- Roesti, D., Ineichen, K., Braissant, O., Redecker, D., Wiemken, A., & Aragno, M. (2005). Bacteria Associated with Spores of the Arbuscular Mycorrhizal Fungi *Glomus geosporum* and *Glomus constrictum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 6673 - 6679. <https://doi.org/10.1128/aem.71.11.6673-6679.2005>.
- Rui, W., Mao, Z., & Li, Z. (2022). The Roles of Phosphorus and Nitrogen Nutrient Transporters in the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23. <https://doi.org/10.3390/ijms231911027>
- R Core Team (2023). *R: A language and environment for statistical computing* (Version 4.4) [Computer software]. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Saavedra, L., Ríos-Ruiz, W., García, J., y Sandoval-Flores, D. (2024). El desarrollo de leguminosas de cobertura por hongos micorrícicos arbusculares depende del grado de especificidad de los simbiontes. *Manglar*, 21(2), 279-286. <https://doi.org/10.57188/manglar.2024.030>

CIENCIA DE LAS PLANTAS

- Sakha, M., Gweyi-Onyango, J., Masso, C., & Baijukya, F. (2025). Diversity, characteristics, and abundance of native arbuscular mycorrhizal fungi in the semi-arid lands of Eastern Kenya. *Frontiers in Microbiology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1582476>
- Sánchez, J., Gallen, I., Cuevas, L., Oro, L., & Meli, P. (2017). Diversidad, abundancia y variación estacional en la comunidad de hongos micorrizógenos arbusculares en la selva Lacandona, Chiapas, México. *Scientia Fungorum*, (45), 37–51. <https://doi.org/10.33885/sf.2017.0.1166>
- Scervino, J. M., Ponce, M. A., Erra-Bassells, R., Vierheilig, H., Ocampo, J. A., & Godeas, A. (2005). Flavonoids exhibit fungal species- and genus-specific effects on the presymbiotic growth of *Gigaspora* and *Glomus*. *Mycological Research*, 109(7), 789–794.
- Schenck, N. C., & Pérez, Y. (1987). *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi* (3rd ed.). INVAM, University of Florida.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). Mineral nutrition, toxic element accumulation and water relations of arbuscular mycorrhizal plants. En *Mycorrhizal symbiosis* (3.^a ed., pp. 145–187). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012370526-6.50007-6>
- Stürmer, S., & Morton, J. (1997). Developmental patterns defining morphological characters in spores of four species in *Glomus*. *Mycologia*, 89, 72–81. <https://doi.org/10.1080/00275514.1997.12026756>
- Swaminathan, K., & Verma, B. C. (1977). Symbiotic effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the phosphate nutrition of potatoes. *Proceedings / Indian Academy of Sciences*, 85(5), 310–318. <https://doi.org/10.1007/BF03052383>
- Tian, B., Pei, Y., Huang, W., Ding, J., & Siemann, E. (2021). Increasing flavonoid concentrations in root exudates enhance associations between arbuscular mycorrhizal fungi and an invasive plant. *The ISME Journal*, 15(7), 1919 - 1930. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00894-1>
- Upadhyay, S., Srivastava, A., Rajput, V., Chauhan, P., Bhojiya, A., Jain, D., Chaubey, G., Dwivedi, P., Sharma, B., & Minkina, T. (2022). Root exudates: Mechanistic insight of plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable crop production. *Frontiers in Microbiology*, 13, Article 916488. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.916488>
- Walley, F. L., & Germida, J. J. (1996). Failure to decontaminate *Glomus clarum* NT4 spores is due to wall-associated bacteria. *Mycorrhiza*, 6, 43–49.
- Zhang, M., Shi, Z., Yang, M., Lu, S., Cao, L., & Wang, X. (2021). Molecular diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi at different elevations in Mt. Taibai of Qinling Mountain. *Frontiers in Microbiology*, 12, Article 609386. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.609386>
- Zhao, M., Zhao, J., Yuan, J., Hale, L., Wen, T., Huang, Q., Vivanco, J. M., Zhou, J., Kowalchuk, G. A., & Shen, Q. (2020). Root exudates drive soil–microbe–nutrient feedbacks in response to plant growth. *Plant, Cell & Environment*, 43(7), 1610–1622. <https://doi.org/10.1111/pce.13928>