**UNIVERSIDAD NACIONAL**

**TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA**

**PROYECTO DE TESIS PARA OBTENER EL TITULO**

**PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO**

**DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRICICOS ARBUSCULARES EN ESPECIES DE CUCURBITACEAS EN LA REGIÓN AMAZONAS**

**Autor: Vilchez Bustamante Erik Marcel**

**Asesor: PhD. Dr. Juan Carlos Guerrero Abad**

**Mg. Ing. Tito Sánchez Santillán**

**Registro: …………….**

**CHACHAPOYAS – PERÚ**

**2024**

1. **Titulo**

Diversidad de hongos micorrícicos arbusculares en especies de cucurbitáceas en la la región Amazonas

1. **Formulación del problema**

¿Cuáles son las especies de hongos micorrícicos arbusculares presentes en la rizosfera de las cucurbitáceas C*ucurbita* *fiscifolia* y *Cucurbita* *moschata* en la región Amazonas?

1. **Objetivos**
   1. **Objetivo general**

Evaluar la diversidad de especies de micorrizas arbusculares en especies de *cucurbita fiscifolia* (Chiclayo) y *Cucurbita moschata* (Cushes) en la región Amazonas

* 1. **Objetivos específicos**

Determinar la morfología y colonización de hongos micorrícicos en las especies de *cucúrbita fiscifolia* (Chiclayo) y *Cucúrbita moschata* (Cushés) en la región Amazonas.

Analizar el ADN genómico de micorrizas arbusculares asociadas a la colonización micorrícica en las especies de *cucúrbita fiscifolia* (Chiclayo) y *Cucúrbita moschata* (Cushes) en la región Amazonas.

Determinar la diversidad genética de micorrizas arbusculares asociadas a la colonización micorrícica en las especies de *cucúrbita fiscifolia* (Chiclayo) y *Cucúrbita moschata* (Cushes) en la región Amazonas.

1. **Antecedentes de la investigación**

Estudios realizados por (Lu et al., 2023), destacan la función de las micorrizas arbusculares como indicadores de biodiversidad en diferentes ecosistemas, mejorando y ayudando a que las plantas que realizan simbiosis con estos hongos puedan soportar condiciones ambientales extremas como la sequía. Esto resulta particularmente relevante para cultivos del género *cucurbita*, que podrían beneficiarse de esta simbiosis para aumentar su adaptabilidad y resiliencia en suelos difíciles.

Ahammed & Hajiboland, (2024), también mencionan la importancia de las micorrizas arbusculares en cuanto a la resistencia al estrés abiótico de las plantas, como la sequía y la salinidad. La implementación de estos hongos micorrícicos en cultivos de cucurbitáceas puede incrementar la resistencia y adaptabilidad en suelos áridos o con baja fertilidad.

Smith, (2009), realizó estudios donde demostró que dentro de los beneficios que brindan los hongos micorrícicos a las plantas está la absorción de nutrientes en suelos con baja fertilidad, como el fosforo y el nitrógeno en diversas especies de cultivos.

En el Perú se estudiaron la adaptación de *cucúrbitas ficifolia* en tierras altas, donde la adaptabilidad de la especie es relacionada con las condiciones ambientales.

La investigación realizada por Aguirre-Dugua *et al*., (2023), sugiere que la simbiosis con hongos micorrícicos es clave para la adaptación de *cucurbita ficifolia* en condiciones de climas andinos y amazónicos. Por otro lado, (Lee et al., 2021), en su estudio titulado Estructura poblacional y diversidad genética de *Cucurbita moschata* según SNP de alta calidad de todo el genoma, menciona la importancia económica de *cucurbita moschata* en Perú, indicando que esta especie de cucurbitácea se puede beneficiar de la simbiosis realizada con hongos micorrícicos para mejorar la absorción de nutrientes y realizar sistemas de cultivo sostenibles.

Los estudios sobre interacción micorrícica en cultivos de maíz y frejol en la región andina, indican que estos hongos mejoran significativamente el crecimiento de las plantas, resaltando la importancia en la disponibilidad y la absorción de fosforo, se puede resaltar que la inoculación de micorrizas en especial las arbusculares y locales de la zonas donde se realizó la investigación, pueden conferir resistencias a enfermedades del suelo y contribuir a una mejor producción agrícola (Esquivel-Quispe, 2020).

**5. Hipótesis**

**5.1. Hipótesis general**

Las especies de micorrizas arbusculares asociadas a *Cucurbita ficifolia* y *Cucurbita moschata* en la región Amazonas está influenciada por factores ambientales y genéticos.

**5.2. Hipótesis especificas**

La composición genética de las micorrizas arbusculares en las especies de *Cucurbita ficifolia* y *Cucurbita moschata* varía significativamente según las condiciones climáticas.

La diversidad genética de las micorrizas arbusculares varía entre las especies de *Cucurbita ficifolia* y *Cucurbita moschata*, demostrando adaptación especifica de las micorrizas a cada especie.

1. **Metodología**
   1. **Población, muestra y muestreo**
      1. **Población**

La población estará conformada por plantas con buenas características de las dos especies de *cucurbita ficifolia* y *cucurbita moschata.*

* + 1. **Muestra**

La muestra estará determinada por 10 plantas de cada especie *cucurbita ficifolia* y *cucurbita moschata.*

* + 1. **Muestreo**

El muestreo será a criterio del investigador, por lo que se estudiará a las plantas que presenten buenas características agronómicas como el peso de fruto y el rendimiento de producción.

* 1. **Variables de estudio** 
     1. **Variables morfológicas**

**•** Caracterización morfológica

• Densidad de esporas

• Colonización micorrícica

• Longitud de micelio extra radicular

* + 1. **Variable molecular**

**•** Caracterización molecular

* 1. **Operacionalización de variables**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **T. Variable** | **Variable** | **Definición conceptual** | **Dimensiones** | **Indicadores** |
| **V. Molecular** | Caracterización molecular | Término que se atribuye al uso de marcadores moleculares para identificar las características genéticas (Silva *et al.*, 2021). | Variabilidad genética | Numero de fragmentos específicos utilizados |
| Tipos de marcadores moleculares | Índice de diversidad genética |
| **V. Morfológicas** | Densidad de esporas | Cantidad de esporas presentes en una cantidad determinada de suelo (Restrepo Giraldo *et al*., 2019) | Cantidad de esporas | Esporas/gramo de suelo |
| Tipos de esporas | Forma, tamaño y color (morfotipos) |
|  | Tipo morfológico de esporas |
| Colonización micorrícica | Proceso que los hongos micorrícicos arbusculares invaden las raíces de las plantas realizando una simbiosis (Chávez-Hernández *et al*., 2021). | Grado de colonización radicular | Porcentaje de colonización radicular |
| Numero de arbusculos |
| Longitud de micelio | Extensión total de las hifas que conforman el micelio del hongo dentro del sustrato (Sánchez *et al*., 2023). | Densidad de micelio | Tamaño de micelio |

* 1. **Metodos** 
     1. **Diseño de la investigación**

Las muestras se colectarán de una parcela de 1 hectárea aproximadamente, en la manera de zig-zag, las plantas están ubicadas en puntos estratégicos y a distancias considerables.

* + 1. **Técnicas e instrumentos**

**Análisis morfológico**

Para los análisis morfológicos se realizará el aislamiento y preparación de los especímenes como lo realizó Corazon-Guivin *et al*., (2021), donde detalla que realizó la observación de las esporas en un microscopio compuesto, las muestras se montaron en alcohol polivinílico-ácido láctico-glicerol, reactivo de Melzer, una mezcla de PVLG y reactivo de Mezler, una mezcla de ácido láctico y agua en proporción 1:1.

Para la identificación morfológica de los HMA se seguirá la clasificación que propone Oehl *et al*., (2011).

**Colonización micorrícica**

Para la evaluación de la colonización micorrícica en las raíces se seguirá la metodología usada por Pineda-Lázaro *et al*., (2024) que siguió la metodología propuesta por Vierheilig *et al*., (1998). La cual consiste en teñir 5 gramos de las raíces y cortar en segmentos de 1 cm para ser observados en un microscopio compuesto (20x) mediante el método de intersección que lo describe (McGONIGLE et al., 1990).

**Densidad de esporas**

Se tomará muestras de 10 gramos de suelo y se añadirá 20 ml de peróxido de hidrogeno al 5% para seguir la metodología realizada por Restrepo Giraldo *et al*., (2019) plateada por Pérez C & Peroza C, (2013), que consiste en agitar cada 3 minutos durante 15 minutos. Para posteriormente realizar la tamización de las muestras usando tamices de 258 y 38 um. Se seguirá con el proceso haciendo la extracción de las esporas usando una gradiente de centrifugación con sacarosa al 80 % durante 3 minutos hasta retirar la sacarosa y depositarlo en papel filtro con el fin de realizar el conteo de esporas presentes, se medirá en número de esporas por gramo de suelo seco.

**Longitud de micelio**

Se realizará mediante la metodología usada por Sánchez *et al*., (2023) que realizó mediante la toma de una muestra de 15 gramos de suelo en un *beaker* con 250 ml de agua desionizada y 31 ml de hexametafosfato de sodio por 12 horas, la muestra se dispersará en un agitador y se tomará seis alícuotas de 1 ml mezcladas con 250 ml de agua destilada y 35 ml de hexametafosfato de sodio, cuatro alícuotas de 5 ml se filtrará por membrana y se adicionará tinta negra en vinagre por diez minutos. Posteriormente se medirá la longitud de micelio por medio del método de (Tennant, 1975).

Donde:

**H**: longitud total de hifas sobre área de filtro

cubierta por 70 campos leídos.

**CA**: área del filtro cubierta por 70 campos leídos.

**FA**: área neta de filtrado (210 mm2).

**Caracterización molecular**

El ADN se extraerá de 100 mg de raíces finas usando el protocolo de bromuro de cetiltrilamonio (CTAB) de acuerdo con Pineda-Lázaro *et al*., (2024), para luego realizar una PCR y realizar la separación por electroforesis en gel de agarosa, de acuerdo con (Corazon-Guivin *et al*., 2022).

* 1. **Cronograma**

1. **Referencias bibliográficas**

Aguirre-Dugua, X., Barrera-Redondo, J., Gasca-Pineda, J., Vázquez-Lobo, A., López-Camacho, A., Sánchez-de la Vega, G., Castellanos-Morales, G., Scheinvar, E., Aguirre-Planter, E., Lira-Saade, R., & Eguiarte, L. E. (2023). Population Genomics of Domesticated Cucurbita ficifolia Reveals a Recent Bottleneck and Low Gene Flow with Wild Relatives. *Plants*, *12*(23), Article 23. https://doi.org/10.3390/plants12233989

Ahammed, G. J., & Hajiboland, R. (2024). Introduction to Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Higher Plant Symbiosis: Characteristic Features, Functions, and Applications. En G. J. Ahammed & R. Hajiboland (Eds.), *Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Higher Plants: Fundamentals and Applications* (pp. 1-17). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-981-99-8220-2\_1

Chávez-Hernández, C. G., Barrera Aguilar, C. C., Téllez Espinosa, G. J., Chimal-Sánchez, E., García-Sánchez, R., Chávez-Hernández, C. G., Barrera Aguilar, C. C., Téllez Espinosa, G. J., Chimal-Sánchez, E., & García-Sánchez, R. (2021). Colonización micorrízica y comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares en plantas medicinales del bosque templado “Agua Escondida”, Taxco, Guerrero, México. *Scientia fungorum*, *51*. https://doi.org/10.33885/sf.2021.51.1325

Corazon-Guivin, M. A., Vallejos-Tapullima, A., Rengifo-Del Aguila, S., Rondinel-Mendoza, N. V., Hernández-Cuevas, L. V., Carvajal-Vallejos, F. M., & Carballar-Hernández, S. (2022). Influence of Substrate Properties on Communities of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Isolated from Agroecosystems in Peru. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *22*(4), 4784-4797. https://doi.org/10.1007/s42729-022-00960-3

Corazon-Guivin, M. A., Vallejos-Tapullima, A., Sota-Ricaldi, A. M. de la, Cerna-Mendoza, A., Guerrero-Abad, J. C., Santos, V., Silva, G. A. da, & Oehl, F. (2021). Acaulospora flava, a new arbuscular mycorrhizal fungus from Coffea arabica and Plukenetia volubilis plantations at the sources of the Amazon river in Peru. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, *94*, 116-123. https://doi.org/10.5073/JABFQ.2021.094.014

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*(1), 42-52.

Lee, H.-Y., Jang, S., Yu, C.-R., Kang, B.-C., Chin, J.-H., & Song, K. (2021). Population Structure and Genetic Diversity of Cucurbita moschata Based on Genome-Wide High-Quality SNPs. *Plants*, *10*(1), Article 1. https://doi.org/10.3390/plants10010056

Lu, Y., Yan, Y., Qin, J., Ou, L., Yang, X., Liu, F., & Xu, Y. (2023). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance phosphate uptake and alter bacterial communities in maize rhizosphere soil. *Frontiers in Plant Science*, *14*. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1206870

McGONIGLE, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L., & Swan, J. A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—Arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, *115*(3), 495-501. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x

Oehl, F., Sieverding, E., Palenzuela, J., Ineichen, K., & da Silva, G. A. (2011). Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *IMA Fungus*, *2*(2), Article 2. https://doi.org/10.5598/imafungus.2011.02.02.10

Pérez C, A., & Peroza C, V. (2013). Micorrizas arbusculares asociadas al pasto angleton (Dichathium aristatum Benth) en fincas ganaderas del municipio de Tolú, Sucre-Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, *18*(1), 3362-3369.

Pineda-Lázaro, A. J., Vallejos-Tapullima, A., Hernández-Amasifuen, A. D., Carballar-Hernández, S., Imán-Correa, S., Carvajal-Vallejos, F. M., Ríos-Ramírez, O., & Corazon-Guivin, M. A. (2024). Arbuscular Mycorrhizal Fungi Associated with Myrciaria dubia in the Amazonia Region, Peru. *Advances in Agriculture*, *2024*(1), 9977517. https://doi.org/10.1155/2024/9977517

Restrepo Giraldo, K. J., Montoya Correa, M. I., Henao Jaramillo, P., Gutiérrez, L. A., Molina Guzmán, L. P., Restrepo Giraldo, K. J., Montoya Correa, M. I., Henao Jaramillo, P., Gutiérrez, L. A., & Molina Guzmán, L. P. (2019). Caracterización de hongos micorrízicos arbusculares de suelos ganaderos del trópico alto y trópico bajo en Antioquia, Colombia. *Idesia (Arica)*, *37*(1), 35-44. https://doi.org/10.4067/S0718-34292019005000301

Sánchez, J. D. L., Canabal, V. A. G., & Armbrecht, I. (2023). Longitud del micelio y glomalina de micorrizas arbusculares: Agregación del suelo en bosques y agroecosistemas andinos. *Acta Agronómica*, *71*(2), Article 2. https://doi.org/10.15446/acag.v71n2.101536

Silva, D. F. da, Garcia, P. H. de M., Santos, G. C. de L., Farias, I. M. S. C. de, Pádua, G. V. G. de, Pereira, P. H. B., Silva, F. E. da, Batista, R. F., Neto, S. G., & Cabral, A. M. D. (2021). Características morfológicas, melhoramento genético e densidade de plantio das culturas do sorgo e do milho: Uma revisão. *Research, Society and Development*, *10*(3), Article 3. https://doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13172

Smith, J. E. (2009). Mycorrhizal Symbiosis (Third Edition). *Soil Science Society of America Journal*, *73*(2), 694-694. https://doi.org/10.2136/sssaj2008.0015br

Tennant, D. (1975). A Test of a Modified Line Intersect Method of Estimating Root Length. *Journal of Ecology*, *63*(3), 995-1001. https://doi.org/10.2307/2258617

Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U., & Piché, Y. (1998). Ink and Vinegar, a Simple Staining Technique for Arbuscular-Mycorrhizal Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(12), 5004-5007. https://doi.org/10.1128/AEM.64.12.5004-5007.1998