



Scientia Agropecuaria

Web page: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop>

Facultad de Ciencias
Agropecuarias

Universidad Nacional de
Trujillo

RESEARCH ARTICLE



Autotrophic in vitro culture method, inoculated with native arbuscular mycorrhizae, for the adaptation of trap plants of the Asteraceae family

Método de cultivo in vitro autotrófico, inoculado con micorrizas arbusculares nativas, para la adaptación de plantas trampa de la familia Asteraceae

Jaime Naranjo-Moran¹ * ; Zully Pincay-Orrala² ; Tatiana Navarrete-Mite²

¹ Universidad Politécnica Salesiana, Grupo de Investigaciones en Aplicaciones Biotecnológicas, Carrera de Biotecnología, Campus María Auxiliadora, kilómetro 19.5 Vía a La Costa, Código postal 090901. Guayaquil, Ecuador.

² Universidad Politécnica Salesiana, Carrera de Biotecnología, Campus María Auxiliadora, kilómetro 19.5 Vía a La Costa, Código postal 090901. Guayaquil, Ecuador.

* Corresponding author: jnaranjo@ups.edu.ec (J. Naranjo-Moran).

Received: 7 April 2025. Accepted: 14 September 2025. Published: 27 October 2025.

Abstract

The implementation of autotrophic in vitro culture systems is revealed as a crucial strategy for the multiplication of native arbuscular mycorrhizal fungi, as it plays a fundamental role in restoring the sustainability of agricultural systems that have suffered degradation. The objective of the research was to establish an autotrophic in vitro culture method using two trap plants of native arbuscular mycorrhizal fungi under laboratory conditions. Inoculum native to *Bidens pilosa* and *Tagetes patula* were collected, spores were disinfected and cultured in vitro using a modified Murashige and Skoog medium. The results showed mycorrhization percentages greater than 50% in the trap plants and a significant reduction in microbial contamination with the use of antibiotics. The autotrophic in vitro culture system was feasible with *Tagetes patula* and *Bidens pilosa*, proving to be a promising strategy to produce mycorrhizal inoculum under laboratory conditions. In conclusion, spore disinfection and selection of suitable trap plants guarantee the success of in vitro culture inoculated with native arbuscular mycorrhizal fungi.

Keywords: Antibiotics; inoculum; Murashige and Skoog medium; mycorrhization; trap plants.

Resumen

La implementación del cultivo in vitro autotrófico es una estrategia fundamental para multiplicar hongos micorrízicos arbusculares nativos, crucial para restaurar la sostenibilidad de los sistemas agrícolas degradados. El objetivo principal de la investigación fue establecer un método de cultivo in vitro autotrófico para hongos micorrízicos arbusculares nativos utilizando dos plantas trampa: *Bidens pilosa* y *Tagetes patula*. Los investigadores desinfectaron las esporas y las cultivaron en un medio modificado de Murashige y Skoog. Los resultados mostraron que el sistema es viable, con porcentajes de micorrización superiores al 50% en ambas plantas. Además, se logró una reducción significativa de la contaminación microbiana al utilizar una mezcla de antibióticos (estreptomicina y gentamicina). En conclusión, la desinfección de las esporas y la selección de las plantas trampa adecuadas son clave para garantizar el éxito del cultivo *in vitro* de hongos micorrízicos arbusculares nativos. El éxito de este método representa una estrategia prometedora para la producción de inóculo micorrízico en condiciones de laboratorio. Este avance podría abrir nuevas vías para el desarrollo de biofertilizantes basados en micorrizas nativas, lo que podría reducir la dependencia de los fertilizantes químicos y mejorar la salud del suelo a nivel local y regional.

Palabras clave: Antibióticos; inóculo; medio Murashige y Skoog; micorrización; plantas trampa.

DOI: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2026.004>

Cite this article:

Naranjo-Moran, J., Pincay-Orrala, Z., & Navarrete-Mite, T. (2026). Método de cultivo in vitro autotrófico, inoculado con micorrizas arbusculares nativas, para la adaptación de plantas trampa de la familia Asteraceae. *Scientia Agropecuaria*, 17(1), 67-75.

1. Introducción

Los hongos micorrízicos arbusculares tienen un rol importante en la naturaleza, al colonizar las raíces presentes en el suelo incrementan la capacidad del huésped vegetal para absorber agua y nutrientes (Zhang et al., 2023; Duan et al., 2025). Las prácticas agrícolas intensivas y poco sostenibles, junto a el uso indiscriminado de fungicidas, contribuyen a la disminución de la diversidad de micorrizas arbusculares en suelos de cultivo. Esta reducción impacta negativamente la absorción de fósforo por las plantas, llegando a disminuir hasta un 43% (Edlinger et al., 2022). Además, de la disminución en la fertilidad del suelo, dependencia de fertilizantes y productos químicos que afectan la salud del hombre y el ecosistema (Kaur et al., 2024). Las micorrizas tienen un rol fundamental para la sostenibilidad agrícola y la restauración de suelos, en 2017, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) emitió un informe científico que evaluó el estado actual del conocimiento sobre la evaluación de los peligros que representan los productos fitosanitarios para los organismos que habitan en el suelo. Como resultado, la EFSA recomendó que se incluyeran pruebas de toxicidad que involucren a las micorrizas arbusculares en el proceso de aprobación de estos productos (Ockleford et al., 2017).

La dificultad para manipular, observar y estudiar los hongos micorrízicos arbusculares, radica en su intrincada relación con las raíces de las plantas, por tal motivo se ha llevado a los investigadores a desarrollar métodos más avanzados. Desde los cultivos in vivo (en macetas), los cultivos in vitro (en placas de Petri), hasta el innovador sistema autótrofo basado en polímeros superabsorbentes (Paré et al., 2024), lo que demuestra la perseverancia y la creatividad de los investigadores en este campo. Un reto adicional es la evaluación de la germinación de esporas y el crecimiento de hifas en el laboratorio. Esto se debe a que este método es una alternativa más robusta y fiable que las mediciones simbióticas para evaluar los riesgos ecotoxicológicos de los insumos agrícolas, como los pesticidas, en las micorrizas arbusculares del género *Rhizophagus* spp. (Roshanfekrrad et al., 2025). Sin embargo, aún no se ha establecido cuál de los métodos de laboratorio es el más adecuado para su uso en un marco de evaluación de riesgos o como indicador en el monitoreo de la diversidad, frente agentes contaminantes peligrosos (Sweeney et al., 2022). La creciente demanda de estrategias que fomenten la conservación y multiplicación de micorrizas arbusculares nativas resalta su papel crucial en el

aumento de la producción agrícola (Karima et al., 2023; Yadav et al., 2020). No obstante, el enfoque predominante se ha limitado a comprender la interacción entre el suelo y las plantas de cultivos comerciales. Un ejemplo de esto es el estudio de la quinua y su respuesta a la sequía, ya sea mediante la aplicación individual o combinada de enmiendas minerales (Benaffari et al., 2022). En contraposición, la bioprospección de cepas nativas de micorrizas arbusculares ofrece ventajas significativas, como su adaptación a las condiciones locales y una mayor eficacia en la colonización. Estas características se traducen en un incremento en la producción de biomasa o metabolitos secundarios (Wu et al., 2021). Limitaciones de los métodos de cultivo tradicionales, como el uso de diversas plantas hospederas en un cultivo trampa que puede aumentar la variedad de interacciones posibles entre las plantas y los hongos micorrízicos arbusculares. Esto permite mantener la simbiosis con una gama más amplia de micorrizas arbusculares cosmopolitas presentes de forma natural (Tenzin et al., 2022). El cultivo in vitro autótrofo se basa en el crecimiento de organismos, como las micorrizas arbusculares, en un ambiente de laboratorio controlado, donde pueden sintetizar sus propios nutrientes a través de la fotosíntesis. Esta técnica es una opción adecuada para la producción masiva de inóculo de micorrizas arbusculares (Parihar & Rakshit, 2024). *Rhizophagus irregularis* funciona como el modelo principal para la investigación en hongos micorrízicos arbusculares y, a su vez, es la especie que más se cultiva para la elaboración de bioestimulantes vegetales comerciales (Kokkoris et al., 2024). En adición, las bacterias asociadas a micorrizas son microorganismos que viven dentro de las esporas, les ayudan a crecer y a ser más eficientes en su relación con las plantas (Sangwan & Prasanna, 2022), por lo que inocularlas en sistema in vitro autótrofo puede ser una ventaja sustancial, aunque en el suelo existe carga bacteriana no deseada, es importante desarrollar métodos de cultivo in vitro para micorrizas nativas y plantas trampas. Por este motivo, el objetivo de esta investigación fue establecer un método de cultivo in vitro autótrofo aséptico para dos plantas trampas de hongos micorrízicos arbusculares nativos en condiciones de laboratorio.

2. Metodología

2.1. Recuperación del inóculo micorrízico nativo. La investigación se desarrolló el campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana sede Guayaquil, Ecuador, cuyas coordenadas geográficas

cas son 2°11'39"S y 80°02'40"W. En el sitio se encuentra una composición florística ruderal, un área con actividad antropogénica constante, la selección de las especies trampa fue bajo el criterio de familia trampa representativa siendo las Asteráceas el foco de atención, y las que reúnen este criterio de selección por repeler cualquier tipo de nematodos como el caso de *Tagetes patula* (Ntalli & Caboni, 2022; Ahmad et al., 2024). Dado el criterio de selección de esta familia trampa se colectó el inóculo nativo de *Bidens pilosa* y *Tridax procumbens* ambas especies han demostrado que también tienen efectos nematicida frente a *Meloidogyne incognita* (Ferrari Mateus et al., 2013; Fabiyi et al., 2024). El inóculo micorrízico nativo en las especies vegetales fue colectado el 14 de julio del 2024, para luego determinar la colonización micorrízica se utilizó el método de tinción de raíces Phillips & Hayman (1970) y el cálculo de porcentaje de micorrización por la fórmula propuesta por McGonigle (1990). Con el suelo se tomó 100 g de cada especie vegetal para aislar las esporas mediante la metodología de tamizaje húmedo descrito por Gerdemann & Nicolson en 1963 (Trappe, 2010).

Para la identificación taxonómica, se prepararon muestras de las esporas más representativas en portaobjetos de cada especie. La clasificación a nivel de género se realizó siguiendo las directrices del manual de la Colección Internacional de Hongos Micorrízicos Arbusculares (INVAM), alojado en la Universidad de Kansas, Estados Unidos (<https://invam.ku.edu/>). Adicionalmente, se consultó el sitio web del profesor Janusz Blaszowski (http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota_2/Introduction.html), de la Universidad Tecnológica de Pomerania Occidental, Szczecin, Polonia.

2.2. Desinfección de las esporas del inóculo micorrízico. La desinfección es clave para el establecimiento in vitro autotrófico, se aislaron 50 esporas por cada especie vegetal y se agregó a tubos eppendorf de 2 ml.

Para reducir la carga microbiana se utilizó gentamicina y estreptomycin, se realizó un diseño en bloques, distribuidos con seis tratamientos seis repeticiones cada uno; T1 (Control sin antibióticos), T2 (Gentamicina 50 mg/L + Estreptomycin 75 mg/L), T3 (Gentamicina 75 mg/L + Estreptomycin 150 mg/L), T4 (Gentamicina 100 mg/L + Estreptomycin 200 mg/L), T5 (Gentamicina 100 mg/L) y T6 (Estreptomycin 200 mg/L) para las especies *Tagetes patula* y *Bidens pilosa*, con el propósito de identificar la desinfección más efectiva.

2.3. Medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) modificado. Se preparó en 1 L de solución nutritiva MS, se preparó una solución madre de macronutrientes pesando 7,31 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,80 g de KNO_3 , 0,65 g de KCl y 0,048 g de KH_2PO_4 , en 1 L de agua destilada, 2,88 g de $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ y se disolvió en 1 L de agua destilada. También se pesó 0,80 g de NaFeEDTA y se disolvió en 0,5 L de agua destilada y por último se pesó 0,375 g de KI y se mezcló en 0,5 L de agua destilada. Para la solución de micronutrientes se disolvió 3 g de $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ en 100 mL de agua destilada. Luego se pesó 1,325 g de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ en 100 mL de agua destilada, seguido se diluyó 0,75 g de H_3BO_3 en 100 ml de agua destilada. Además, se mezcló las soluciones preparadas para los siguientes pasos, luego se pesó 0,65 g de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ y se disolvió en 50 mL de agua destilada. Y por último se pesó 0,12 g de $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ en 100 mL de agua destilada. Se aforó al volumen deseado de solución con 500 mL con agua destilada (Paré et al., 2024). Para luego esterilizar en autoclave y dispensar en cajas de Petri desechables, se esperó a que gelificara y se dejó por 30 minutos en luz ultravioleta.

2.4. Preparación del material vegetal de plantas trampa. Se recolectó las semillas de *Tagetes patula*, *Bidens pilosa* y *Tridax procumbens* y se realizó desinfección de las semillas con agua destilada y una solución de cloro al 2%, seguido se hizo pruebas de germinación sobre papel secante humedecido durante 12 días a condiciones de oscuridad y temperatura ambiente, hasta que las raíces tengan 2 cm de longitud, tal como se observa en la Figura 1.

2.5. Establecimiento del sistema in vitro autotrófico. Se tomó la caja de Petri con medio de cultivo a una cámara de flujo horizontal, se utilizó un cautín tipo lápiz de 30 watts con ajuste de potencia para crear un orificio de 2 cm en la zona media de la caja de Petri. Se agregó un recuadro de papel filtro con una dimensión de 5 cm², se ingresó la plántula en la muesca con el costado de la placa de Petri con la raíz hacia el interior y los cotiledones/hojas y tallos hacia el exterior, para luego humectar con 2 ml el papel filtro con las esporas de micorrizas arbusculares nativo combinado de las tras plantas trampa y tratadas con antibióticos, para luego cubrir con papel aluminio y se selló con Parafilm cada caja, para luego mantener a condiciones de penumbra por 24 h, luego brindar más luz para el desarrollo fotosintético y determinar sobrevivencia hasta el desarrollo de la primera hoja verdadera (Figura 2).

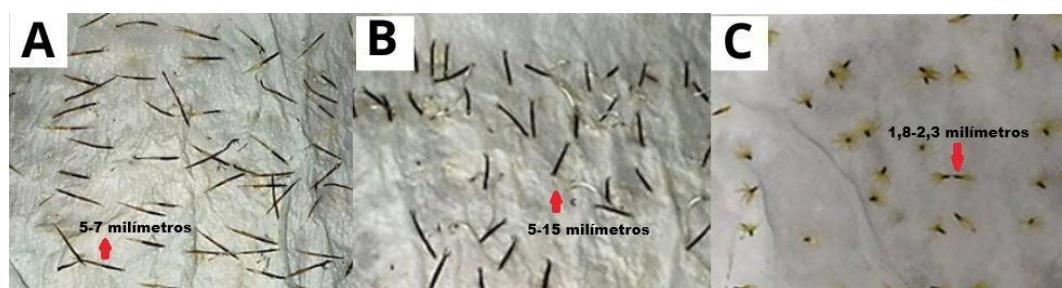


Figura 1. Semillas de plantas trampa de la familia Asteraceae; A) *Tagetes patula*, B) *Bidens pilosa* y C) *Tridax procumbens*.

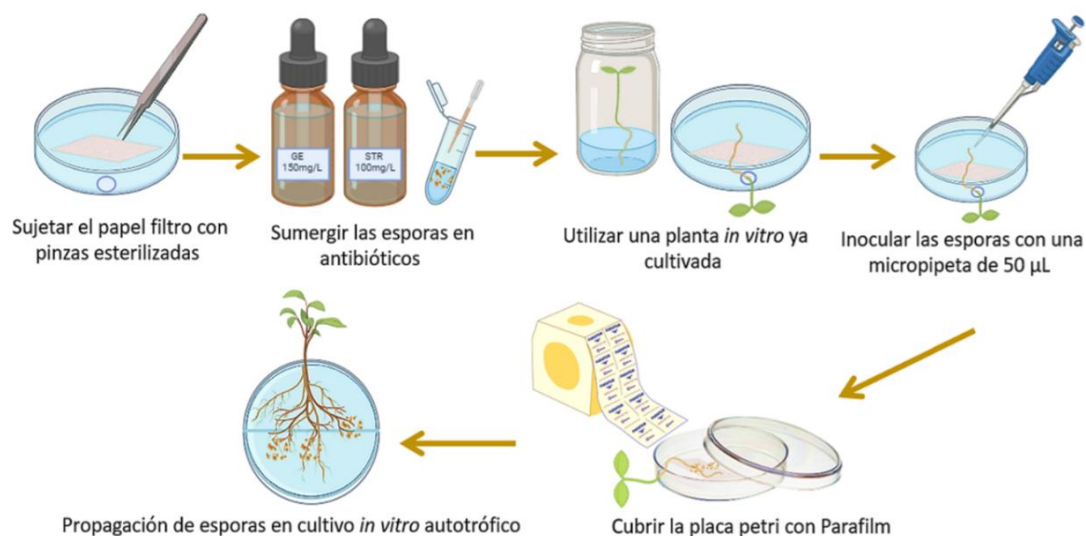


Figura 2. Sistema in vitro autotrófico para la evaluación de micorrizas arbusculares.

2.6. Análisis de datos. La información estadística fue analizada mediante el software estadístico RStudio, se realizó un análisis de varianza para buscar la existencia de diferencias significativa, entre el porcentaje de micorrización de las tres especies evaluadas, y también para los tratamientos con antibióticos en el crecimiento de cultivo in vitro autotrófico mediante la prueba Tukey con un valor $p < 0,05$.

3. Resultados y discusión

3.1. Caracterización del inóculo nativo. Como resultado de la preparación del inóculo se encontró un porcentaje de micorrización de 58,61% en *Bidens pilosa*; 65,62% en *Tagetes patula* y 55,43% en *Tridax procumbens*, todas las especies trampa superaron el 50% de colonización lo que demuestra ser idóneas para el establecimiento in vitro autotrófico como se observa en la Figura 3.

La cantidad de esporas encontrada fue de 658 esporas por gramo de suelo para *Bidens pilosa*, 617 esporas por gramo de suelo en *Tagetes patula*, y por último 637 esporas por gramo de suelo en *Tridax procumbens*.

Como resultado de la identificación taxonómica para la planta de *Bidens pilosa* se observó los géneros; *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Glomus* y *Scutellospora*. En la especie *Tagetes patula* se identificó los géneros *Glomus* y *Acaulospora* como los más representativos. Y por último *Tridax procumbens* fue *Acaulospora*, *Diversispora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus* y *Scutellospora* (Figura 4).

Respecto a los resultados de la micorrización que superan el 50% en plantas trampa, estos son similares a consorcios derivados de la raíz como inóculo, donde se ha obtenido porcentajes de colonización entre 10 y 56%, con un número de esporas que oscila de 28 a 174 esporas por 20 g de sustrato, esto asociado a los géneros *Glomus*, *Diversispora*, *Rhizophagus*, y *Septoglomus* (Barajas González et al., 2023).

Sin embargo, los estudios sugieren que se necesita más investigación para determinar si la combinación de múltiples plantas hospedantes, la planta trampa puede ser tan importante sola o en conjunto para el desarrollo de técnicas de multiplicación como monocultivo o en combinación con otras.

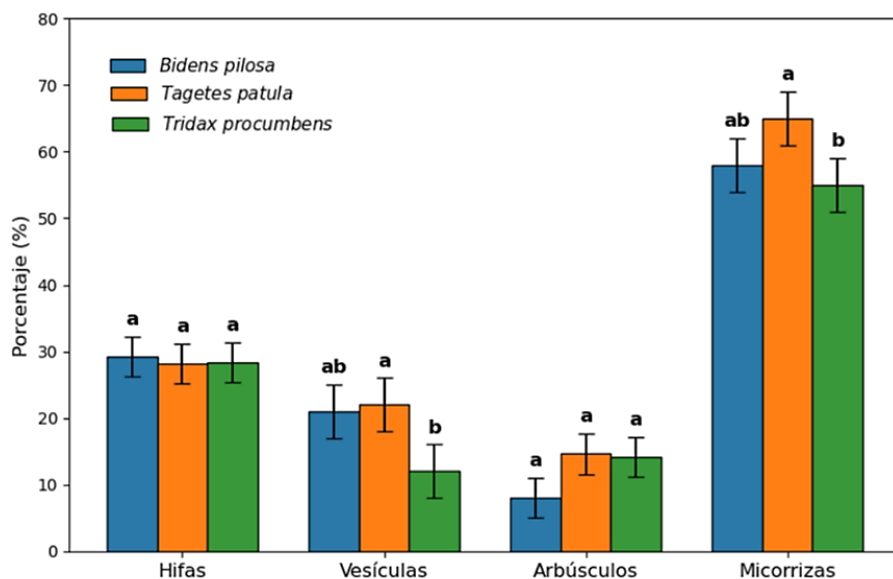


Figura 3. Porcentajes de colonización de tres plantas trampa de la familia Asteraceae, letras en minúsculas representan las indicaciones de diferencias estadísticas según la prueba de Tukey ($p < 0.05$); $\pm$ error estándar; $n = 6$ por cada especie vegetal.

La propagación in vitro de micorrizas arbusculares puede ayudarnos a seleccionar rasgos que afectan la calidad simbiótica siendo esto muy revelador (Kokkoris & Hart, 2019). Lo que nos obligaría a considerar el impacto a largo plazo de nuestras prácticas de cultivo y a preguntarnos si estamos priorizando la cantidad sobre la calidad. ¿Estamos, sin darnos cuenta, alterando el equilibrio natural y comprometiendo la salud de nuestros ecosistemas?, dado estas interrogantes, la propagación sistemática in vitro de micorrizas arbusculares puede alterar la morfología de la espora, la genética y el funcionamiento de los hongos (Kokkoris & Hart, 2019). Las esporas de los hongos micorrízicos arbusculares albergan bacterias tanto en sus paredes como en su citoplasma, conocidas como bacterias asociadas a micorrizas mejoran la eficacia de los inóculos fúngicos (Ważny et al., 2024), si se piensa utilizarlas de forma complementaria como biofertilizantes, es necesario desarrollar protocolos estandarizados a nivel cultivo in vitro autotrófico.

3.2. Mitigación de carga microbiana en el inóculo micorrízico. Para eliminar la carga microbiana no deseada del consorcio de esporas nativas, obtenidas de plantas de *Tagetes patula*, *Bidens pilosa* y *Tridax procumbens*. Después de seis repeticiones, resultó idónea la mezcla de antibióticos. Esta solución contenía altas concentraciones de sulfato de estreptomycin (200 mg/L) y sulfato de gentamicina (100 mg/L). Las esporas se sumergieron en esta solución durante 10 minutos. El resultado fue una reducción significativa de la contaminación, con me-

nos del 5% de las esporas tratadas mostrando signos de contaminación. Esto demuestra que el tratamiento es efectivo para obtener esporas limpias, lo cual es esencial para experimentos de cultivo de plantas en condiciones controladas, y se pueden adoptar a los sistemas de cultivo in vitro autotróficos. Los porcentajes de germinación en las semillas de las plantas trampa estos resultados fueron del 90%, 85% y 3% para *Tagetes patula*, *Bidens pilosa* y *Tridax procumbens* respectivamente, por lo que nos permitió continuar con las dos primeras especies para su uso en el experimento de cultivo in vitro autotrófico (Figura 5).

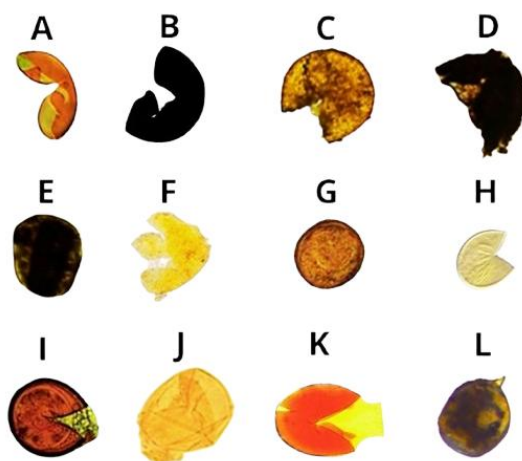


Figura 4. Género de micorrizas arbusculares representativos en el consorcio nativo de tres plantas Asteráceas; A) *Acaulospora*, B) *Gigaspora*, C) *Glomus*, D) *Scutellospora*, E) *Glomus*, F) *Acaulospora*, G) *Acaulospora*, H) *Diversispora*, I) *Entrophospora*, J) *Gigaspora*, K) *Glomus* y L) *Scutellospora*.



Figura 5. Establecimiento de sistema in vitro autotrófico con plantas trampa; A) *Tagetes patula*, B) *Bidens pilosa*, C) Selección de esporas, D) Esporas del consorcio nativo, E) *Tagetes patula* en in vitro sistema autotrófico, *Bidens pilosa* en in vitro sistema autotrófico.

Como resultado de los seis tratamientos con antibióticos en el sistema in vitro autotrófico, los tratamientos T2, T3, T4 y T6 para la especie *Bidens pilosa* no se detectó diferencias significativas según el test de Tukey, excepto el T5 con 100 mg/L de Gentamicina que no tuvo contaminación y tuvo un crecimiento en altura de 2,62 cm en su parte aérea y 2,88 en su sistema radicular, los resultados para *Tagetes patula* siguieron la misma tendencia sin contaminación con una altura en la parte aéreas de 2,57 cm y una altura de 2,89 cm de longitud radicular, respecto al control que tuvo contaminación en desarrollo lento en *Bidens pilosa* (1,88 cm altura y 1,75 cm raíces) y *Tagetes patula* (2,3 cm altura y 2,4 cm raíces).

Los resultados del T4 y T5 son similares a lo reportado a otras investigaciones, donde la mezcla de hipoclorito de calcio al 1% y cloramina T al 2%, con la adición de dos gotas de Tween 20 como surfactante, ha resultados favorables junto a la adicción de una solución antibiótica compuesta por 200 mg de sulfato de estreptomina y 100 mg de sulfato de gentamicina (Pérez et al., 2011). Al utilizar antibióticos pueden afectar la asociación multipartita entre bacterias y micorrizas que es crucial para la producción agrícola (Ujvári et al., 2021). Estas bacterias desempeñan un papel crucial en la promoción de la salud ecológica y el establecimiento de la simbiosis con los hongos micorrízicos. Las bacterias asociadas a los hongos micorrízicos arbusculares forman una biopelícula y potencia la esporulación en *Rhizophagus irregularis* (Pandit et al., 2022). Se

influyen en los procesos como la germinación de esporas, el crecimiento micelial, la colonización de raíces, la diversidad metabólica y el biocontrol de enfermedades en el suelo. Además, las bacterias mejoran el funcionamiento de la simbiosis micorrízica al estimular la producción de factores de crecimiento vegetal, lo que resulta en una mayor disponibilidad de nutrientes en el suelo y una mejor absorción por parte de las plantas (Sangwan & Prasanna, 2022). Las plantas de *Tagetes patula* y *Bidens pilosa* resultan ser funcionales para el sistema in vitro autotrófico, aunque no se descarta a *Tridax procumbens* por su bajo porcentaje de germinación, dado que se puede utilizar la técnica de micropropagación de sus raíces, resultados favorables se han obtenido en plantas de *Zea mays* y *Phaseolus vulgaris* como plantas trampas con potencial para la propagación masiva de micorrizas arbusculares nativas de cultivo de café (Robles-González et al., 2023). La capacidad de una planta para establecer una relación simbiótica con hongos micorrízicos arbusculares, conocida como afinidad micorrízica, puede servir como un modelo eficaz en sistema in vitro autotróficos para capturar y multiplicar estos hongos beneficiosos. Se ha observado que los hongos micorrízicos nativos, presentes en el suelo local, muestran una mayor afinidad y capacidad de crecimiento en comparación con los inoculos comerciales (Gío-Trujillo et al., 2024), lo que sugiere que su uso podría ser más ventajoso en aplicaciones agrícolas y de restauración ecológica.

3.3. Proyecciones futuras

La optimización de las técnicas de cultivo como la desinfección de esporas es fundamental para reducir la contaminación microbiana y aumentar la eficiencia. A tan solo a cuatro días después de la incubación se puede disponer de los propágulos desinfectados del género *Glomus*, para lograr obtener un alto poder de germinación se ha utilizado compuestos como el 3,5,7,3',4'-pentahidroxi flavona a una concentración de 5 μ M en el medio de cultivo MS (Pérez et al., 2011). El medio de cultivo Murashige y Skoog, pueden mejorar la viabilidad y el crecimiento de las micorrizas a nivel in vitro (Lotfi et al., 2019). Además, al identificar proteínas efectoras clave se revelan los complejos mecanismos moleculares de la especie *Funneliformis mosseae* BR221, micorriza arbuscular cosmopolita utilizada para asegurar una simbiosis exitosa en validaciones in vitro, esto abre un nuevo camino las aplicaciones biotecnológicas específicas y sostenibles (Vasistha et al., 2025). También se ha realizado experimentos en un entorno simulado de falta de gravedad, donde se ha observado que la simbiosis micorrízica se incrementa al verificar una mayor cantidad de hifas y vesículas (Urías-Salazar et al., 2024). Estos hallazgos en investigación sugieren que la actividad de la relación simbiótica entre la planta y el hongo aumenta en condiciones extremas. Lo que a futuro nos permite explorar más oportunidades de investigación a nivel de la interacción y fisicoquímica. La selección de las plantas trampa es una oportunidad para la diversificación de especies vegetales. La investigación futura, también podría explorar una mayor afinidad micotrófica y una mayor capacidad de colonización para desarrollar cuatro protocolos básicos en condiciones controladas de invernadero y laboratorio (Gelvez-Pardo et al., 2023). A nivel in vitro la micropropagación vegetal como técnica avanzada puede ser utilizada en especies con baja germinación, como *Tridax procumbens*, la cual puede permitir un uso factible en sistemas in vitro. Por otra parte, las plantas de *Cucumis sativus* y *Cajanus cajan* pueden colonizarse en seis semanas (Salas & Blanco, 2000), lo que es una alternativa para la producción a gran escala y la búsqueda de especies trampas promisorias. El desarrollo de nuevos biofertilizantes basados en micorrizas arbusculares nativas puede reducir la dependencia de fertilizantes químicos y mejorar la salud del suelo. Es urgente, realizar estudios más profundos sobre las interacciones simbióticas entre plantas, hongos micorrízicos y bacterias en microcosmos, dado que se puede revelar nuevos mecanismos en la absorción de nutrientes y fortalecer la resistencia a estrés

abióticos (Peng et al., 2023; Karima et al., 2023), a esto se puede incluir estudios con interacciones multitróficas asociado con protistas (*Polysphondylium pallidum*), dado que esta interacción podría desempeñar un papel crucial en la mineralización del nitrógeno proteico (Vaishnav et al., 2025). Las investigaciones realizadas en la actualidad sobre las bacterias asociadas a las micorrizas y su papel en la promoción de la simbiosis pueden abrir nuevas vías para mejorar la eficiencia de los cultivos in vitro (Darriaut et al., 2025; Duan et al., 2025). En este sentido, la inclusión de pruebas de toxicidad que involucren micorrizas arbusculares en la evaluación de productos fitosanitarios puede garantizar la protección de estos organismos beneficiosos (Ockleford et al., 2017). Por último, la recomendación también para futuros trabajos es comprender el desarrollo de normativas y políticas que promuevan el uso de micorrizas arbusculares en la agricultura, que fomenten prácticas más sostenibles, respetuosas con el medio ambiente, a nivel local y regional.

4. Conclusiones

El establecimiento de un sistema de cultivo in vitro autotrófico para la multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares nativos es factible con las plantas de *Tagetes patula* y *Bidens pilosa*, además se debe tener en consideración la optimización del proceso de desinfección de esporas nativas y el uso de plantas trampa pertinente, lo cual representa una estrategia prometedora para la producción de inóculo micorrízico en condiciones de laboratorio. Además, las proyecciones futuras se enfocan en optimizar las técnicas de cultivo in vitro para mejorar la eficiencia y reducir la contaminación. Se plantea la búsqueda de nuevos compuestos, formular medios de cultivo que potencien la germinación y el crecimiento de las micorrizas, así como la exploración de la simbiosis en condiciones extremas. Estudios futuros deberían enfocarse a estudiar las interacciones con bacterias asociadas que fortalezcan la simbiosis. Por otro lado, para una producción a gran escala, es crucial diversificar las plantas trampa.

Conflictos de Intereses: No hay conflictos de intereses.

Contribución de los autores

J. Naranjo-Moran: Conceptualización, Edición del artículo y Administración del proyecto. Edición del artículo y análisis formal; **Z. Pincay-Orrala:** Redacción, Investigación, Visualización de figuras 1 a 5, Recursos. **T. Navarrete-Mite:** Redacción, Metodología, Revisión y Edición. Redacción-borrador inicial, Visualización.

ORCID

J. Naranjo-Moran  <https://orcid.org/0000-0002-4410-9337>Z. Pincay-Orrala  <https://orcid.org/0009-0005-1851-3669>T. Navarrete-Mite  <https://orcid.org/0009-0004-2211-9720>

Referencias bibliográficas

- Ahmad, S., Amin, A., Haseeb, A., Bibi, S., Khan, M. I., et al. (2024). In-vitro bioassay of organic nematicides against Root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofaid & White). *Chitwood. Pure and Applied Biology*, 14(2), 283-296. <https://dx.doi.org/10.19045/bspab.2025.140027>
- Barajas González, J. A., Carrillo-González, R., González-Chávez, M. D. C. A., Chimal Sánchez, E., & Tapia Maruri, D. (2023). Selection of Salinity-Adapted Endorhizal Fungal Consortia from Two Inoculum Sources and Six Halophyte Plants. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 9(9), 893. <https://doi.org/10.3390/jof9090893>
- Benaffari, W., Boutasknit, A., Anli, M., Ait-El-Mokhtar, M., Ait-Rahou, Y., Ben-Laouane, R., Ben Ahmed, H., Mitsui, T., Baslam, M., & Meddich, A. (2022). The Native Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Vermicompost-Based Organic Amendments Enhance Soil Fertility, Growth Performance, and the Drought Stress Tolerance of Quinoa. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(3), 393. <https://doi.org/10.3390/plants11030393>
- Darriaut, R., Lailheugue, V., Wastin, J., Tran, J., Martins, G., Ballestra, P., Masneuf-Pomarède, I., Ollat, N., & Lauvergeat, V. (2025). Rhizobacteria from vineyard and commercial arbuscular mycorrhizal fungi induce synergistic microbiome shifts within grapevine root systems. *Scientific reports*, 15(1), 27884. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-12673-5>
- Duan, S., Zhang, L., & Declerck, S. (2025). Early-stage reciprocal cooperation between the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* and the phosphate-solubilizing bacterium *Rahnella aquatilis* is dependent on external phosphorus availability. *Communications biology*, 8(1), 1075. <https://doi.org/10.1038/s42003-025-08501-1>
- Edlinger, A., Garland, G., Hartman, K., Banerjee, S., Degruene, F., et al. (2022). Agricultural management and pesticide use reduce the functioning of beneficial plant symbionts. *Nature ecology & evolution*, 6(8), 1145-1154. <https://doi.org/10.1038/s41559-022-01799-8>
- Fabiyy, O., Lateef, A., Gueguim-Kana, E. B., Beukes, L. S., Matyumza, N., Bello, T., & Olatunji, G. (2024). Characterization and nematocidal potential of copper, iron and zinc nanoparticles synthesized from *Tridax procumbens* L. Extract on *Meloidogyne incognita* infected cabbage plants. *European Journal of Plant Pathology*, 168(4), 683-695. <https://doi.org/10.1007/s10658-023-02804-x>
- Ferrari Mateus, MA, Duarte Ríos Faria¹, CM, Botelho, RV, Dallemole-Giaretta, R., Martins Ferreira, SG y Zaluski, WL (2013). Evaluación in vitro y aplicación foliar de *Verbena officinalis* (L.), *Erythrina mulungu* (Mart. ex Benth.), *Quassia amara* (L.), *Bidens pilosa* (L.) y *Plantago lanceolata* (L.), sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949. *Idesia (Arica)*, 37(1), 109-115. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292013000100013>
- Gelvez-Pardo, I., Lobo-Berbesi, L., & Santos-Díaz, A. (2023). Biological Efficacy of Plant Growth-Promoting Bacteria and Arbuscular Mycorrhizae Fungi: Assessments in Laboratory and Greenhouse Conditions. *Current protocols*, 3(4), e732. <https://doi.org/10.1002/cpz1.732>
- Gío-Trujillo, J. A., Alvarado-López, C. J., Pacheco-López, N. A., Cristóbal-Alejo, J., Reyes-Ramírez, A., & Candelero-de la Cruz, J. (2024). Comportamiento de *Cucurbita pepo* L. var. "Grey Zucchini", en la propagación de hongos micorrizógenos arbusculares nativos de suelos con diferente manejo. *Biotecnia*, 26. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v26.1972>
- Karima, B., Amima, H., Ahlam, M., Zoubida, B., Benoît, T., Yolande, D., & Anissa, L. S. (2023). Native Arbuscular Mycorrhizal Inoculum Modulates Growth, Oxidative Metabolism and Alleviates Salinity Stresses in Legume Species. *Current microbiology*, 80(2), 66. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-03145-4>
- Kaur, R., Choudhary, D., Bali, S., Bandral, S. S., Singh, V., Ahmad, M. A., Rani, N., Singh, T. G., & Chandrasekaran, B. (2024). Pesticides: An alarming detrimental to health and environment. *The Science of the total environment*, 915, 170113. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170113>
- Kokkoris, V., & Hart, M. (2019). In vitro Propagation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi May Drive Fungal Evolution. *Frontiers in microbiology*, 10, 2420. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02420>
- Kokkoris, V., & Hart, M. M. (2019). The role of in vitro cultivation on symbiotic trait and function variation in a single species of arbuscular mycorrhizal fungus. *Fungal biology*, 123(10), 732-744. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.06.009>
- Kokkoris, V., Banchini, C., Paré, L., Abdellatif, L., Séguin, S., et al. (2024). *Rhizophagus irregularis*, the model fungus in arbuscular mycorrhiza research, forms dimorphic spores. *New Phytologist*, 242(4), 1771-1784. <https://doi.org/10.1111/nph.19121>
- Lotfi, M., Fernandez, K., Vermeir, P., Mars, M., & Werbrouck, S. (2019). In vitro mycorrhization of pear (*Pyrus communis*). *Mycorrhiza*, 29, 607-614. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00919-w>
- 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 Phytol.* 115, 495-501. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>
- Ntalli, N., & Caboni, P. (2022). Plant secondary metabolites mode of action in the control of root-knot nematodes. *Biocontrol of Plant Disease: Recent Advances and Prospects in Plant Protection*, 75.
- Ockleford, C., Adriaanse, P., Berny, P., Brock, T., Duquesne, S., et al. (2017). Scientific opinion addressing the state of the science on risk assessment of plant protection products for in-soil organisms. *Journal publishes the scientific advice of the European Food Safety Authority*, 15, e04690. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4690>
- Pandit, A., Johny, L., Srivastava, S., Adholeya, A., Cahill, D., Brau, L., & Kochar, M. (2022). Recreating in vitro tripartite mycorrhizal associations through functional bacterial biofilms. *Applied microbiology and biotechnology*, 106(11), 4237-4250. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11996-x>
- Paré, L., Banchini, C., & Stefani, F. (2024). Inoculating and Observing Arbuscular Mycorrhizal Cultures on Superabsorbent Polymer-Based Autotrophic Systems. *Journal of visualized experiments: JoVE*, 208, <https://doi.org/10.3791/66848>
- Parihar, M., & Rakshit, A. (2024). In Vitro Production of Arbuscular Mycorrhizal Fungi: An Overview. *Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Sustainable Agriculture: Inoculum Production and Application*, 131-143, https://doi.org/10.1007/978-981-97-0296-1_6
- Peng, W. A. N. G., Mingxia, W. E. N., Longfei, J. I. N., Feng, L. I. U., Qi, L. U., et al. (2023). Effects of different fertilizer applications on citrus rhizosphere soil quality and arbuscular mycorrhizae colonization. *Chinese Journal of Applied Ecology/Yingyong Shengtai Xuebao*, 34(10). <https://doi.org/10.13287/j.1001-9332.202310.012>
- Pérez, U. A., Ramírez, M. M., Moreno, L. M., & Franco, 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.
- Phillips, J. M. & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for

- clearing roots and staining parasitic and 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)
- Robles-González, K., Álvarez-Solis, J., Bertolini, V., & Pérez-Luna, Yolanda, C. (2023). Diversidad y propagación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de un cafetal orgánico en Chiapas, México. *Revista fitotecnica mexicana*, 46(2), 147–155. <https://doi.org/10.35196/rfm.2023.2.147>
- Roshanfekrard, M., Papadopoulos, C., Calonne-Salmon, M., Schneider, C., Zhang, K., Karpouzou, D., & Declerck, S. (2025). Development of a high-throughput spore germination test to assess the toxicity of pesticides on arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 35(3), 38. <https://doi.org/10.1007/s00572-025-01211-w>
- Salas, E., & Blanco, F. (2000). Selección de plantas hospederas y efecto del fósforo para la producción de inoculo de hongos formadores de micorrizas arbusculares por el método de cultivo en macetas. *Agronomía Costarricense*, 24(1), 19–28.
- Sangwan, S., & Prasanna, R. (2022). Mycorrhizae Helper Bacteria: Unlocking their potential as bioenhancers of plant-arbuscular mycorrhizal fungal associations. *Microbial ecology*, 84(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01831-7>
- Sweeney, C. J., Bottoms, M., Ellis, S., Ernst, G., Kimmel, S., Loutseti, S., Schimera, A., Carniel, L. S. C., Sharples, A., Staab, F., & Marx, M. T. (2022). Arbuscular Mycorrhizal Fungi and the Need for a Meaningful Regulatory Plant Protection Product Testing Strategy. *Environmental toxicology and chemistry*, 41(8), 1808–1823. <https://doi.org/10.1002/etc.5400>
- Tenzin, U. W., Noirungsee, N., Runsaeng, P., Noppradit, P., & Klinnawee, L. (2022). Dry-Season Soil and Co-Cultivated Host Plants Enhanced Propagation of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Spores from Sand Dune Vegetation in Trap Culture. *Journal of fungi*, 8(10), 1061. <https://doi.org/10.3390/jof8101061>
- Trappe, J. M. (2010). James Wessell Gerdemann, 1921–2008. *Mycologia*, 102(6), 1518–1522.
- Ujvári, G., Turrini, A., Avio, L., & Agnolucci, M. (2021). Possible role of arbuscular mycorrhizal fungi and associated bacteria in the recruitment of endophytic bacterial communities by plant roots. *Mycorrhiza*, 31(5), 527–544. <https://doi.org/10.1007/s00572-021-01040-7>
- Urias-Salazar, A. A., Ayil-Gutiérrez, B. A., López-Santillán, J. A., Estrada-Drauillet, B., Cano-González, M. Á., Hernández-Martínez, J. G., & Poot-Poot, W. A. (2024). Hongos micorrízicos arbusculares mejoran el establecimiento de plantas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.) en condiciones de salinidad. *Biotechnia*, 26. <https://doi.org/10.5377/ce.v15i2.19633>
- Vasistha, P., Singh, P. P., Srivastava, D., Johny, L., & Shukla, S. (2025). Effector proteins of *Funneliformis mosseae* BR221: unravelling plant-fungal interactions through reference-based transcriptome analysis, in vitro validation, and protein-protein docking studies. *BMC genomics*, 26(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10918-7>
- Vaishnav, A., Rozmoš, M., Kotianová, M., Hršelová, H., Bukovská, P., & Jansa, J. (2025). Protists are key players in the utilization of protein nitrogen in the arbuscular mycorrhizal hyphosphere. *The New phytologist*, 246(6), 2753–2764. <https://doi.org/10.1111/nph.70153>
- Ważny, R., Jędrzejczyk, R. J., Rozpądek, P., Domka, A., Tokarz, K. M., Janicka, M., & Turnau, K. (2024). Bacteria Associated with Spores of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Improve the Effectiveness of Fungal Inocula for Red Raspberry Biotization. *Microbial ecology*, 87(1), 50. <https://doi.org/10.1007/s00248-024-02364-5>
- Wu, Y. H., Wang, H., Liu, M., Li, B., Chen, X., Ma, Y. T., & Yan, Z. Y. (2021). Effects of Native Arbuscular Mycorrhizae Isolated on Root Biomass and Secondary Metabolites of *Salvia miltiorrhiza* Bge. *Frontiers in plant science*, 12, 617892. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.617892>
- Yadav, R., Ror, P., Rathore, P., & Ramakrishna, W. (2020). Bacteria from native soil in combination with arbuscular mycorrhizal fungi augment wheat yield and biofortification. *Plant physiology and biochemistry: PPB*, 150, 222–233. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.02.039>
- Zhang, L., Zuluaga, M. Y. A., Pii, Y., Barone, A., Amaducci, S., Miras-Moreno, B., Martinelli, E., Bellotti, G., Trevisan, M., Puglisi, E., & Lucini, L. (2023). A *Pseudomonas* Plant Growth Promoting Rhizobacterium and Arbuscular Mycorrhiza differentially modulate the growth, photosynthetic performance, nutrients allocation, and stress response mechanisms triggered by a mild Zinc and Cadmium stress in tomato. *Plant science: An International Journal of Experimental Plant Biology*, 337, 111873. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111873>