

UNIVERSIDAD CATÓLICA SEDES SAPIENTIAE
FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA



Multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de cacao (*Theobroma cacao* L.) con cultivos trampa, en Nueva Cajamarca-Rioja

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGRARIO CON MENCIÓN FORESTAL**

AUTOR

Miguel Ángel Tenorio Cercado

ASESORES

Geomar Vallejos Torres

Carlos Hugo Egoavil de la Cruz

Rioja, Perú

2021

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

ACTA N° 020 - 2021/UCSS/FIA/DI

Siendo las 10:30 a. m. del día 06 de julio de 2021 - Universidad Católica Sedes Sapientiae, el Jurado de Tesis, integrado por:

- | | |
|--------------------------------|-----------------|
| 1. René Pinazo Herencia | presidente |
| 2. Luis Darío Santillán García | primer Miembro |
| 3. Alejandro Ruiz Janje | segundo Miembro |
| 4. Geomar Vallejos Torres | asesor |

Se reunieron para la sustentación de la tesis titulada **Multiplicación de hongos micorrizicos arbusculares nativos de cacao (*Theobroma cacao* L.) con cultivos trampa, en Nueva Cajamarca-Rioja** que presenta el bachiller en Ciencias Agrarias con mención Forestal, **Miguel Ángel Tenorio Cercado** cumpliendo así con los requerimientos exigidos por el reglamento para la modalidad de titulación; la presentación y sustentación de un trabajo de investigación original, para obtener el Título Profesional de **Ingeniero Agrario con mención Forestal**.

Terminada la sustentación y luego de deliberar, el Jurado acuerda:

APROBAR

DESAPROBAR

La tesis, con el calificativo de **BUENA** y eleva la presente Acta al Decanato de la Facultad de Ingeniería Agraria, a fin de que se declare **EXPEDITA** para conferirle el **TÍTULO de INGENIERO AGRARIO CON MENCIÓN FORESTAL**.

Lima, 06 de julio de 2021.



René Pinazo Herencia
PRESIDENTE



Luis Darío Santillán García
1° MIEMBRO



Alejandro Ruiz Janje
2° MIEMBRO



Geomar Vallejos Torres
ASESOR

Dedicatoria

A Dios por haberme ayudado a concluir mi carrera profesional con éxito.

A mi Madre por haberme enseñado a no rendirme ante cualquier problema que se presente en la vida.

A mis maestros quienes contribuyeron con sus conocimientos para poder lograr mis objetivos.

Agradecimiento

La Universidad Católica Sedes Sapientiae reconoce el apoyo financiero del proyecto Concytec – Banco Mundial “Mejoramiento y Ampliación de los Servicios del Sistema Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación Tecnológica” 8682-PE, a través de su unidad ejecutora Fondecyt, en el marco de las actividades del proyecto “Biorremediación con micorrizas arbusculares nativas en el control del cadmio de clones de *Theobroma cacao* como estrategia sostenible a la seguridad alimentaria ecológica en la amazonia peruana” con Contrato 105–2018 – FONDECYT – BM – IADT – AV.

Al Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONDECYT) por financiar el presente trabajo de investigación en el marco del proyecto “Biorremediación con micorrizas arbusculares nativas en el control del cadmio de clones de *Theobroma cacao* como estrategia sostenible a la seguridad alimentaria ecológica en la amazonia peruana”, según contrato N° 105-2018-FONDECYT-BM-IADT-AV.

A la Universidad Católica Sedes Sapientiae (UCSS) por promover el estudio e investigación de temas de interés por medio del convenio con el FONDECYT.

A la Universidad Nacional de San Martín (UNSM) por haberme brindado acceso a los ambientes del Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM)

A los ingenieros Mike Anderson Corazón Guivin, Geomar Vallejos Torres y Carlos Egoavil de la Cruz por haber guiado el desarrollo de la tesis.

A Maritza Rodríguez Abad y Ana María de la Sota Ricaldi por el apoyo continuo en la ejecución y elaboración de la tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE GENERAL.....	v
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE APÉNDICES	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO.....	4
1.1. Antecedentes.....	4
1.2. Bases teóricas especializadas.....	18
1.2.1. Micorrizas.....	18
1.2.2. Tipos de micorrizas.....	19
1.2.3. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA).....	20
1.2.4. Fuentes de inóculo de HMA	22
1.2.5. Colonización y multiplicación de HMA.....	23
1.2.6. Importancia de las micorrizas en la agricultura	25
1.3. Generalidades del cacao.....	25
1.3.1. Origen	25
1.3.2. Distribución nacional.....	26
1.3.3. El cacao en la región San Martín	26
1.3.4. Importancia de la producción de cacao.....	26
1.3.5. Variedades de cacao ICS y CCN usados en plantaciones de Perú.....	27
1.4. Plantas trampa.....	28
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
2.1. Diseño de la investigación	29
2.1.1. Lugar y fecha	29
2.1.2. Materiales	30
2.1.3. Descripción del experimento	31
2.1.4. Tratamientos	41
2.1.5. Unidades experimentales	41
2.1.6. Identificación de variables y su mensuración	42
2.1.7. Diseño estadístico del experimento	44
2.1.8. Análisis estadístico de datos	45
CAPÍTULO III: RESULTADOS	46

3.1.	Número de esporas de HMA (Densidad).....	46
3.1.1.	Conteo inicial de esporas	46
3.1.2.	Conteo final de esporas.....	48
3.2.	Caracterización por morfotipos de esporas nativas predominantes de HMA	55
3.2.1.	Densidad de esporas por morfotipos totales predominantes	68
3.3.	Porcentaje de colonización micorrízica	71
3.4.	Correlación entre número de esporas y colonización micorrízica	73
3.5.	Correlación entre número de esporas y parámetros físico químico del suelo.....	74
CAPÍTULO IV: DISCUSIONES.....		75
4.1.	Número de esporas de HMA	75
4.1.1.	Conteo inicial de esporas	75
4.1.2.	Conteo final de esporas.....	76
4.2.	Caracterización por morfotipos de esporas nativas predominantes de HMA.....	79
4.3.	Porcentaje de colonización micorrízica	80
4.4.	Correlación entre número de esporas con colonización micorrízica	83
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES.....		85
CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES		86
REFERENCIAS		87
TERMINOLOGÍA		100
APÉNDICES.....		102

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. <i>Ubicación y caracterización de las parcelas de recolección del suelo rizosférico</i>	32
Tabla 2. <i>Descripción de los tratamientos en estudio</i>	41
Tabla 3. <i>Distribución de las unidades experimentales del estudio</i>	42
Tabla 4. <i>Diseño estadístico del experimento</i>	45
Tabla 5. <i>Promedio de la densidad inicial de esporas de HMA en 100 g de campo</i>	46
Tabla 6. <i>ANVA del número de esporas inicial de esporas en 100 g de suelo de campo</i>	47
Tabla 7. <i>Promedio de la densidad final de esporas por tratamiento en 100 g de suelo</i>	48
Tabla 8. <i>ANVA del número de esporas de HMA multiplicados</i>	49
Tabla 9. <i>Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes</i>	55
Tabla 10. <i>Densidad de esporas de los morfotipos totales predominantes</i>	68
Tabla 11. <i>Especificidad de los morfotipos predominantes presentes las plantas trampa</i>	70
Tabla 12. <i>ANVA del porcentaje de colonización micorrízica radicular en plantas trampa</i>	71
Tabla 13. <i>Análisis de suelo de las muestras colectadas de campo</i>	74

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<i>Figura 1.</i> Tipos de micorrizas.....	19
<i>Figura 2.</i> Esquema básico de las micorrizas.....	21
<i>Figura 3.</i> Tipos de colonización micorrízica.....	24
<i>Figura 4.</i> Ubicación geográfica del lugar de ejecución del estudio.....	29
<i>Figura 5.</i> Vivero de inoculación y multiplicación de HMA.	30
<i>Figura 6.</i> Selección de plantas de <i>Theobroma cacao</i>	31
<i>Figura 7.</i> Colecta de las fuentes de inóculo	33
<i>Figura 8.</i> Modelo de caja de madera para la multiplicación de HMA.....	34
<i>Figura 9.</i> Preparación de material biológico mezclado y siembra de semillas.....	35
<i>Figura 10.</i> <i>Proceso</i> de multiplicación de los HMA nativos.	36
<i>Figura 11.</i> Aislamiento y cuantificación de esporas.....	38
<i>Figura 12.</i> Aislamiento de esporas e identificación de morfotipos	39
<i>Figura 13.</i> Tinción y montaje de raíces de las plantas trampa.....	40
<i>Figura 14.</i> Proceso de evaluación de la colonización micorrízica.....	43
<i>Figura 15.</i> Cálculo de la colonización micorrízica	44
<i>Figura 16.</i> Prueba de Duncan ($p<0.05$) para el factor provincias en la variable densidad de esporas.....	50
<i>Figura 17.</i> Prueba de Duncan ($p<0.05$) para el factor clon en la variable densidad de esporas.....	50
<i>Figura 18.</i> Prueba de Duncan ($p<0.05$) para las plantas trampa en la variable densidad de esporas.....	51
<i>Figura 19.</i> Efecto de interacción entre provincias y plantas trampa respecto al número de esporas.....	51
<i>Figura 20.</i> Efecto de interacción entre provincias y clon respecto al número de esporas. Fuente: elaboración propia	52
<i>Figura 21.</i> Efecto de interacción entre plantas trampa y clon respecto al número de esporas.. .	52
<i>Figura 22.</i> Prueba de Duncan ($p<0.05$) de los factores provincia, planta trampa y clon respecto al número de esporas final de HMA.....	53
<i>Figura 23.</i> Representación porcentual de la densidad total de los morfotipos	69
<i>Figura 24.</i> Prueba comparación de medias ($p<0.05$) para el porcentaje de colonización.....	72
<i>Figura 25.</i> Análisis de correlación número de esporas y colonización.....	73
<i>Figura 26.</i> Análisis de correlación número de esporas y parámetros del suelo.....	74

ÍNDICE DE APÉNDICES

	Pág.
Apéndice 1. Ubicación geográfica del distrito Nueva Cajamarca, Rioja.	102
Apéndice 2. Ubicación geográfica de las tres provincias de la región San Martín	103
Apéndice 3. Aislamiento de esporas e identificación de morfotipos	104
Apéndice 4. Presencia de esporas y vesículas de HMA en las raíces de las plantas trampa.....	110
Apéndice 5. Presencia de arbuscúlos de HMA en las raíces de las plantas trampa	111
Apéndice 6. Presencia de hifas y micelio extra e intra radicular en las raíces de las plantas trampa.....	112
Apéndice 7. Presencia de agrupaciones de esporas HMA en las raíces de las plantas trampa .	113
Apéndice 8. Conteo inicial de la densidad de esporas presentes en 100 g de suelo.....	114
Apéndice 9. Pruebas de normalidad de datos y homocedasticidad de varianzas para la variable Densidad de esporas iniciales.....	115
Apéndice 10. Conteo final de la densidad de esporas presentes en 100 g de suelo	116
Apéndice 11. Pruebas de normalidad de datos y homocedasticidad de varianzas para la variable Densidad de esporas finales.	117
Apéndice 12: Pruebas de normalidad de datos y homocedasticidad de varianzas para la variable Riqueza de morfotipos.....	117
Apéndice 13. Porcentaje de colonización micorrízica en las plantas trampa.....	118
Apéndice 14. Pruebas de normalidad de datos y homocedasticidad de varianzas para la variable Porcentaje de colonización.....	119
Apéndice 15. Análisis de suelos rizosféricos colectados de las tres provincias de la región San Martín.....	120

RESUMEN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son considerados como uno de los componentes más importantes en la agroecología, generan procesos simbióticos con aproximadamente el 80 % de las plantas, conceden ventajas competitivas para la disponibilidad y absorción de nutrientes por lo que pueden ser utilizados como una alternativa válida a las prácticas convencionales de fertilización con miras a una agricultura sostenible. Sin embargo, la producción a gran escala sigue siendo limitada por tener una simbiosis obligada, por lo que necesita de un hospedante ideal para propiciar una mejor propagación. Bajo esta premisa, el objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la capacidad de multiplicación de los HMA nativos de dos clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) haciendo uso de dos cultivos trampa (*Oryza sativa* L. y *Zea mays* L.) en condiciones de vivero en Nueva Cajamarca. Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con un total de 12 tratamientos con 3 repeticiones. Los resultados mostraron que la planta trampa con mejor eficiencia para multiplicación fue el arroz. Asimismo, el T7 en el cual se utilizó suelo rizosférico del clon ICS de la provincia de Mariscal Cáceres inoculado en *Oryza sativa* presentó mayor número de esporas (174766 en 100 g de suelo). Por otro lado, el T8 (98.33 %) presentó mayor porcentaje de colonización micorrízica donde se utilizó suelo rizosférico del clon CCN de la provincia de Lamas e inoculado en *Zea mays*. No se encontró correlación entre el número de esporas y el porcentaje de colonización micorrízica (Pearson =0.084). Finalmente, se lograron identificar 38 morfotipos predominantes, siendo el M24 el que mayor densidad presentó con 192527 esporas, que representó el 20.78 % del total.

Palabras Clave: *Hongos micorrízicos arbusculares, Theobroma cacao, plantas trampa, suelo rizosférico, número de esporas, morfotipos predominantes, colonización micorrízica.*

ABSTRACT

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are considered one of the most important components in agroecology, they generate symbiotic processes with approximately 80 % of plants, provide competitive advantages for the availability and absorption of nutrients and can be used as a valid alternative to conventional fertilization practices for sustainable agriculture. However, large-scale production is still limited by having an obligate symbiosis, so it needs an ideal host to propitiate better propagation. Under this premise, the objective of this research work was to evaluate the multiplication capacity of native AMF of two cocoa clones (*Theobroma cacao* L.) using two trap crops (*Oryza sativa* L. and *Zea mays* L.) under nursery conditions in Nueva Cajamarca. A Completely Randomized Design (CRD) was used with a total of 12 treatments with 3 replications. The results showed that the trap plant with the best multiplication efficiency was rice. Likewise, T7, which used rhizospheric soil of clone ICS from the province of Mariscal Cáceres inoculated with *Oryza sativa*, presented the highest number of spores (174766 in 100 g of soil). On the other hand, T8 (98.33 %) presented a higher percentage of mycorrhizal colonization where rhizospheric soil of clone CCN from the province of Lamas and inoculated on *Zea mays* was used. No correlation was found between the number of spores and the percentage of mycorrhizal colonization (Pearson =0.084). Finally, 38 predominant morphotypes were identified, being M24 the one with the highest density with 192527 spores, which represented 20.78 % of the total.

Key Words: Arbuscular mycorrhizal fungi, Theobroma cacao, trap plants, rhizospheric soil, number of spores, predominant morphotypes, mycorrhizal colonization.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el uso de agroquímicos en la agricultura está afectando la biodiversidad de los microorganismos naturales del suelo. Parte de esta biodiversidad son los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA), que generan procesos simbióticos con aproximadamente el 80 % de las plantas (Vierheilig, 2004). Los hongos micorrízicos arbusculares desde el punto de vista ecológico son considerados como uno de los componentes más importantes en la agroecología, permitiendo el funcionamiento de los ecosistemas por su capacidad de reciclar sustancias energéticas y por su actividad biofertilizante (Guerra, 2008). Asimismo, se ha demostrado que conceden ventajas competitivas para la disponibilidad y absorción de nutrientes, sobre todo en suelos con baja fertilidad. Pese a las notables ventajas que se le atribuye a la asociación micorrízica entre planta y hongo, cuya importancia presenta una tendencia creciente conforme pasa el tiempo; la producción a gran escala de HMA siguen siendo baja en países en desarrollo como el nuestro (Parihar *et al.* 2020).

Diversos estudios han evidenciado que los hongos micorrízicos arbusculares se pueden manipular y extraer de diferentes cultivos de importancia económica (Barrera, 2009), tal es el caso de (*Theobroma cacao* L.), el cual establece una simbiosis obligada y no facultativa con hongos micorrízicos arbusculares (Erazo, 2013). Por otro lado, estos microorganismos para ser multiplicados en distintos sustratos o mediante plantas trampa, son extraídos de la rizósfera del suelo en forma de inóculo. Sin embargo, el proceso involucra tener en cuenta condiciones que sean prósperas para su esporulación. Por lo tanto, para recolección de fuentes de inóculo con presencia de hongos micorrízicos arbusculares nativos, es necesaria la obtención de suelo más raicillas y su posterior combinación con otros sustratos estériles (Molina *et al.* 2006). Asimismo, para la multiplicación de los HMA es fundamental la elección de la planta hospedante, la cual debe reunir atributos tales como la emisión de una alta cantidad de raíces y que ésta a su vez pueda ser más susceptible a la colonización. De esta manera, las gramíneas (arroz, maíz, sorgo) son ampliamente recomendados (Erazo, 2013). Adicionalmente, es recomendable usar inóculos nativos para asegurar el éxito en el desarrollo de la asociación de HMA con el hospedante (Gallegos *et al.*, 2009). Existen estudios de inoculación y propagación de HMA en diferentes condiciones: 1 % in vitro, 1 % en distintos suelos, 23 % en metodología no identificadas y 75 % en plantas trampa de

distintas familias (*Fabaceae*, *Asteraceae*, *Poaceae* y *Solanaceae*) (Berruti *et al.*, 2016). Sin embargo, las investigaciones sobre la propagación de HMA nativos de diversos clones de *Theobroma cacao* con cultivos trampa en San Martín son escasas y en muchos casos desconocidos.

De acuerdo a lo anteriormente mencionado, son evidentes los beneficios que estos microorganismos aportan a la fertilidad nutricional de los suelos y a su vez a las plantas. Por lo que, resulta importante realizar un estudio de multiplicación de HMA nativos de “cacao”, con dos cultivos trampa, con el propósito de determinar la planta con mejor asociación y capacidad de reproducción de esporas de hongos micorrízicos arbusculares nativos. Asimismo, la existencia de una demanda de inoculantes en base de hongos micorrízicos arbusculares como biofertilizante por parte de los productores (Saparrat *et al.* 2020), se ve limitada por la deficiencia de propagación a gran escala, lo cual lo hace inalcanzable para muchos de ellos (Selvakumar *et al.* 2016). Esto constituye un importante desafío, es decir, existe la necesidad de tener una planta huésped idónea para completar el ciclo de crecimiento y reproducción masiva de los HMA (Saparrat *et al.* 2020), y así obtener esporas de HMA económicamente rentables y viables que puedan ser utilizados como una alternativa válida a las prácticas convencionales de fertilización, con miras a una agricultura sostenible.

En este sentido, la hipótesis de este estudio plantea que los HMA nativos de “cacao” (*Theobroma cacao* L.) son capaces de multiplicarse de forma similar en dos cultivos trampa (*Oryza sativa* L. y *Zea mays* L.) en condiciones de vivero, utilizando suelos rizosféricos de dos clones de cacao (ICS y CCN) colectado de tres provincias de la región San Martín.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la capacidad de multiplicación de los hongos micorrízicos arbusculares nativos de dos clones de “cacao” (*Theobroma cacao* L.) haciendo uso de dos cultivos trampa (*Oryza sativa* L. y *Zea mays* L.) en condiciones de vivero en Nueva Cajamarca, provincia de Rioja en la región San Martín.

Objetivos Específicos

- Determinar el número de esporas nativas viables de HMA en 100 g de suelo rizosférico inoculado en dos plantas trampa provenientes de tres provincias (Rioja, Lamas y Mariscal Cáceres) de la región San Martín.
- Caracterizar por morfotipos las esporas de hongos micorrízicos arbusculares nativos de cacao presentes en las plantas trampa inoculados en vivero.
- Evaluar el porcentaje de colonización micorrízica en las raíces de las plantas trampa inoculados con suelo rizosférico nativo de cacao, multiplicados en vivero.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

Internacional

Muchos estudios demostraron técnicas de obtención de esporas de micorrizas arbusculares (HMA) y la utilización de la técnica de cultivos trampa se presenta como una alternativa confiable para la propagación de hongos micorrízicos arbusculares.

Malembaka (2020), caracterizó hongos micorrízicos arbusculares nativos de parcelas agrícolas de maíz (*Zea Mays* L.) y evaluó su influencia de los HMA aislados y multiplicados en plantas trampa sobre el crecimiento vegetativo y el grado de colonización micorrízica en raíces del cultivo de maíz desarrollado bajo condiciones de vivero en Kivu del Sur, República Democrática del Congo. El enfoque de la investigación fue cuantitativo de tipo correlacional y explicativa. Asimismo, utilizó un diseño de bloques completos aleatorizados (RCBD) con tres replicas. En total fueron ocho tratamientos constituidos por cinco fuentes de inóculo, dos fuentes fosforadas y un control absoluto y cada tratamiento contó con tres repeticiones. Inicialmente recolectó 60 muestras de suelo de 1.5 kg de los campos de maíz de 4 territorios diferentes en Kivu del Sur a una profundidad de 0 a 20 cm y fueron secadas por una semana a temperatura ambiente. Luego realizó el aislamiento de esporas de los suelos de campo mediante la metodología de tamizado húmedo y centrifugación de sacarosa propuesta por Brundrett *et al.* (1996). Las esporas fueron montadas en placas Petri con Melzer y alcohol polivinílico-lacto-glicerol (PVLG) y realizó la clasificación de morfotipos de esporas según sus características como color, tamaño, forma, textura y ornamentación de superficie, pared, escudo y orbe de germinación, células esporógenas, número de capas, envolturas y estructura subcelular. Para evaluar la abundancia de esporas con mayor

precisión, realizó la multiplicación de esporas en condiciones de invernadero. Para ello, utilizó plantas de maíz como plantas trampa que fueron sembrados en macetas de 5 L de capacidad donde agregó 300 g de suelo rizosférico y 4.5 kg de sustrato compuesto por suelo agrícola y arena en una proporción 2: 1 (v / v), previamente esterilizada. El proceso de multiplicación de esporas comprendió de un periodo de 121 días, los primeros 100 d.d.s. (días después siembra) con riego continuo y 21 días siguientes fueron sometidas a estrés hídrico. Concluido el tiempo de la multiplicación de esporas en plantas de maíz, en muestras 50 g de suelo colectados de cada maceta, realizó 26 aislamientos con 50 esporas cada uno. Para la producción de inóculos puros, las esporas aisladas fueron multiplicadas en plantas trampa de sorgo en macetas con sustrato compuesto de arena y suelo agrícola en una proporción 1: 1 (p / p). El proceso de tinción de raíces fue ejecutado mediante la metodología de Ingleby (2007) y la evaluación de la frecuencia micorrízica (número de fragmentos de raíces infectados con estructuras fúngicas de HMA) según Brundrett *et al.* (1996). Asimismo, la diversidad ecológica de las esporas (uniformidad y riqueza de especies) fue evaluado según el índice de diversidad de Shannon-Weiner, Weaver y Shannon, (1963). Todas las variables fúngicas fueron sometidas a análisis de varianzas (ANOVA) que previamente fueron analizados a través de una prueba de normalidad y las medias fueron sometidas a la prueba de diferenciación mínima significativa (LSD) de Fisher ($p=0.05$ %) y la colonización a través de la prueba de t mediante el software XLSTAT. Los resultados mostraron un total de 45 morfotipos de hongos micorrízicos arbusculares pertenecientes a 11 géneros diferentes. Asimismo, recuperó cinco cepas puras capaces de asociarse con el maíz: AMF1 (*Gigaspora gigantea*), AMF2 (*Gigaspora sp.*), AMF3 (*Gigaspora margarita*), AMF4 (*Rhizophagus intraradices*) y AMF5 (*Acaulospora reducta*), siendo AMF4 el de mayor capacidad de colonización micorrízica con 31 %. La densidad de esporas provenientes del campo osciló entre 0.27 a 0.95 esporas g^{-1} y los inóculos puros producidos en plantas trampa presentaron valores entre 0 - 2.85 esporas g^{-1} de suelo con presencia de inóculos multiplicados. Finalmente, concluyeron que las plantas trampa contribuyen a la producción de altas densidades de esporas, hasta 4 esporas por g^{-1} , asimismo que las cepas de HMA influyen en el crecimiento del maíz y podrían ser potencialmente usados como biofertilizantes dentro de la agricultura y elevar productividad agrícola.

Sandoval *et al.* (2020), caracterizaron e identificaron la composición de los hongos micorrízicos arbusculares nativos de los suelos asociados a plantaciones de cacao con presencia de cadmio (Cd.) de dos localidades (A-Cd y B-Cd) en la región de Yacopí, Colombia. El estudio realizado tuvo un enfoque mixto de carácter correlacional, descriptiva y explicativa con diseño factorial simple completamente al azar (DCA). Las muestras de suelo rizosférico fueron colectados de dos fincas cacaoteras en etapa reproductiva y libre de plagas y enfermedades. Para ello, eligieron cuatro plantas de cacao por parcela y colectaron 8 muestras de 5 kg compuesto por suelo más raicillas a 15 cm de profundidad alrededor cada planta. Para la caracterización más exacta de los HMA presentes en los suelos, desarrollaron la multiplicación de las esporas mediante la utilización de plantas trampa. El procedimiento de multiplicación de esporas fue durante 180 días, utilizando la cebolla (*Allium fistulosum* var. Tokio Long White, Fercon®) como cultivo trampa y fueron sembrados en macetas con capacidad de 1 L con sustrato compuesto por 800 g de una mezcla de suelo: arena 1:1 (p/p) autoclavada tres veces (110 °C, 45 min) y 200 g de suelo rizosférico nativo de cacao. La extracción de esporas de los suelos de campo posterior a la multiplicación se realizó según la metodología de Brundrett *et al.* (1984). Seguidamente, montaron las esporas en laminillas porta objeto con soluciones de alcohol polivinílico-ácido láctico glicerol (PVLG) y PVLG + Melzer. Posteriormente, caracterizaron las esporas a nivel de género y morfotipos según su forma, tamaño, color, tipo de conexión hifal, número de paredes, y reacción al reactivo de Melzer. Además, evaluaron la riqueza (cantidad de morfoespecies diferentes por género) y abundancia (número de morfoespecies sobre el número total de esporas) presentes en un gramo de suelo seco. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de normalidad y (Shapiro-Wilk, $p > 0.05$) homogeneidad de varianzas (Fligner-Killeen, $p > 0.05$), asimismo, todos los datos fueron evaluados a través de un ANOVA y pruebas de comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$) mediante el programa estadístico R versión 3.4.0. En cuanto a la riqueza de morfoespecies de los suelos, los resultados mostraron 15 morfoespecies en B-Cd y 12 en A-Cd. Asimismo, producto de la multiplicación de las esporas en plantas trampa solamente encontraron 23 morfoespecies. La abundancia de morfoespecies después de la multiplicación presentó un incremento en 62 % para B-Cd y 208 % en A-Cd con relación a su valor de abundancia inicial. Concluyeron que la multiplicación de esporas en plantas trampa y la identificación de morfoespecies de suelos nativos de cacao constituye un paso primordial para conocer el comportamiento de los hongos micorrízicos arbusculares para ser empleados y evaluados en distintos experimentos.

Ek Chim (2019), realizó la producción y caracterización de hongos micorrízicos arbusculares asociados a coco (*Cocos nucifera* L.) a través de cultivos trampa en Yucatán, México. El diseño de la investigación fue de tipo descriptivo y experimental. La recolección de las muestras de suelo rizosférico fueron obtenidos de suelos asociados a plantaciones de coco a una profundidad de 0 a 20 cm y a 1 mm de la superficie y de seis lugares distintos (San Crisanto Plantación, San Crisanto Duna, Celestún Duna, Celestún Ciénega, El Cuyo Duna y Chixulub). Con las muestras obtenidos de campo, realizó la multiplicación de esporas en plantas trampa de frijol (*Phaseolus vulgaris*), maíz (*Zea mays*), sorgo (*Sorghum bicolor*) y pasto guineo (*Panicum maximun*) durante 6 meses de tiempo bajo condiciones de vivero. Las evaluaciones fueron realizadas en dos periodos de tiempo distintos (4 y 6 meses). El aislamiento de esporas fue realizado mediante la metodología de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963) y el porcentaje de colonización micorriza fue según el método de Phillips y Hayman, (1970). La abundancia de esporas y el porcentaje de colonización micorrízica fue analizado a través de una prueba Kruskal-Wallis ($p < 0.05$) mediante la utilización del paquete estadístico Paleontological Statistics (PAST). Con respecto al número inicial de esporas, registró un promedio total de 1393 esporas /100 g de suelo seco de campo, siendo la muestra de sector Celestún Duna que presentó mayor número de esporas (1628 esporas / 100 g), y en menor cantidad la muestra del sector Chixulub con 1270 esporas / 100 g de suelo seco. Sin embargo, los resultados obtenidos de las seis muestras de los campos en estudio fueron estadísticamente iguales. Asimismo, logró identificar 21 morfotipos de esporas diferentes. Las plantas trampa que obtuvieron mayor número de esporas por 100 g de suelo al cuarto mes de evaluación fueron: sorgo (857.0), frijol (445.6), maíz (351.1), pasto guineo (137.0), y al sexto mes: pasto guineo (3163), sorgo (877), maíz (807.8) y frijol (503). Los resultados mostraron que las esporas obtenidas en la planta maíz presentaron diferencias estadísticas puesto que registró mayor incremento de esporas entre el cuarto y sexto mes. Asimismo, demostró que el pasto guineo presentó el mayor porcentaje de colonización micorrízica (90 %), seguido de maíz con 65 %. Finalmente, concluyó que las plantas de pasto guineo y maíz son una alternativa viable para usarse como hospederos trampa en la multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares nativos en zonas de climas tropicales.

Olivo (2019), estandarizó el proceso de multiplicación de esporas con plantas trampa bajo condiciones de vivero en Guayaquil Ecuador. La investigación fue cuantitativa de tipo experimental correlacional, en la cual utilizó un diseño completo al azar con arreglo trifactorial 2x2x4, siendo un total de 16 tratamientos con tres repeticiones. El proceso de multiplicación comprendió de 120 días, para lo cual utilizó cuatro plantas trampa diferentes (*Cajanus cajan*, *Cynodon dactylon*, *Pletranthus tomentosa*, *Tagetes patula*). Éstas fueron sembradas en dos tipos de sustrato (A y B) con cuatro dosis de fósforo (P) e inoculadas a los 20 días después de la siembra con consorcios micorrízicos conformados por seis géneros de HMA (*Glomus*, *Funeliformis*, *Diversisporas*, *Entrophospora*, *Acaulospora* y *Ambisporas*) provenientes del banco de hongos del Centro Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador. Después de la multiplicación de los consorcios de HMA en las plantas trampa, evaluó parámetros morfológicos (concentración de clorofila, biomasa seca y altura de planta) y fúngicos (porcentaje de colonización y número de esporas). Para el análisis de las variables del estudio utilizó el programa SAS®. Los resultados mostrados según el ANOVA, indicaron que las plantas trampa con mejor colonización micorrízica en el sustrato A con 150 ppm de P fueron *Tagetes patula* y *Cajanus cajan* con 72 % y 42 % respectivamente, y en el sustrato B con 150 ppm de P fueron *Pletranthus tomentosa* (79.7 %) y *Cynodon dactylon* con 47.3 %. Sin embargo, el valor más alto respecto al número de esporas fue en *Pletranthus tomentosa* y *Tagetes patula* con 638 y 551 esporas por 100 g de suelo respectivamente presentes el sustrato A con 1000 ppm de P, en el sustrato B con 1000 ppm de P fue en *Cynodon dactylon* con 329 esporas por 100g de suelo y *Cajanus cajan* con 295. Por último, concluyó que la multiplicación de HMA por medio del uso de cultivos trampas como *C. cajan*, *C. dactylon*, *P. tomentosa*, *T. patula*, mostraron resultados en las especies de CCA, PHT Y TPA en sustratos conformados por arena, cascarilla de arroz y turba de coco.

Raut, *et al.* (2019), desarrollaron la reproducción de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) mediante ciclos de cultivo trampa, con el objetivo principal de multiplicar consorcios micorrízicos de suelos nativos bajo condiciones de vivero y campo en Maharashtra de Rahuri-India. La investigación cuantitativa, experimental y comparativa fue constituida 20 tratamientos con tres repeticiones por cada uno. La obtención de fuentes de inóculo puros de las muestras de suelo rizosférico se realizó en once zonas de los campos frutales del campus central de la universidad Agrícola en Maharashtra de Rahuri, India. Posteriormente, mediante la metodología de decantación y tamizado húmedo obtuvieron las especies *Glomus spp.*, *Aculospora spp.*, *Sceutellospora spp.*, *Rhizophagus spp.* y *Gigaspora albida*. que fueron inoculadas en 40 macetas con plantas de sorgo (*Sorghum bicolor*) para su multiplicación durante 30 días (con periodo de estrés hídrico después del día 21 después de siembra) bajo condiciones de invernadero. Terminado los 30 días de multiplicación, cortaron en trozos pequeños la parte radicular, fueron mezclados con el suelo y secaron por 24 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, realizaron la multiplicación de los HMA puros en plantas trampas de maíz (*Zea mays*), sorgo (*Sorghum bicolor*), perla mijo (*Pennisetum typhoides* L.), cilantro (*Corriandrum sativum*) y fenogreco (*Trigonella foenumgraecum*) que fueron instalados en veinte parcelas aleatorizadas. El proceso de multiplicación fue desarrollado en tres ciclos de 30 días cada uno y la obtención de muestras fue llevada a cabo al final de ciclo con un periodo de estrés hídrico de 7 días por ciclo en el que evaluaron el porcentaje de colonización y número de esporas por cada 100 g de suelo; en tanto los datos fueron analizados mediante el del programa Excel. Los resultados en el ciclo 1 mostraron que las plantas trampa con mayor porcentaje de colonización fue el sorgo con 46.33 %, en el ciclo 2 fueron: fenogreco-sorgo (56.33 %), maíz-mijo perla (56.33 %) y fenogreco -maíz (55 %) y en ciclo 3 fue maíz con 62.66 %. El mayor número de esporas en el ciclo I fueron fenogreco con 323 esporas/100 g seguido de maíz 321.66 esporas/100 g de suelo, en el ciclo II fueron fenogreco y maíz con 533 y 523 esporas/100 g de suelo respectivamente, y en el ciclo III fueron enogreco y maíz con 693.66 esporas/100 g de suelo. Finalmente concluyeron que los cultivos trampa *T. foenumgraecum*, *Z. mays* y *S. bicolor* son adecuados para la multiplicación potencial de micorrizas nativas.

De Dieu Habiaryemye *et al.* (2018), evaluaron el potencial micorrízico en las raíces de maíz por parte de los hongos micorrízicos arbusculares nativos de especies arbóreas de los sistemas agroforestales en Ruanda. El experimento científico fue cuantitativo de diseño bifactorial con un total de 32 tratamientos incluido 12 tratamientos control. El material biológico con presencia de esporas nativas fue colectado de especies arbóreas (*M. lutea*, *A. acuminata*, *G. robusta*, *A. polyacantha*, *S. spectabilis* y *Eucalipto spp*) a una profundidad de 0 a 10 cm y a 50 cm y 3 m de distancia del tronco principal del árbol. Con el fin de mantener vivas las esporas y obtener mayor cantidad de esporas frescas para la posterior inoculación en maíz, fueron inoculados en plantas de sorgo en macetas conteniendo una mezcla de tierra esterilizada y arena en una proporción de 1: 1 a $\frac{3}{4}$, y las mantuvieron por un tiempo de 56 días calendarios. Transcurrido el tiempo de multiplicación de esporas en la planta de sorgo, recolectaron los inóculos (suelo, esporas, micelio y fragmentos de raíz infectados por HMA) y procedieron a realizar la inoculación en plantas de maíz de la variedad ZM607. La inoculación consistió en agregar 100 g de inóculo por tratamiento que fueron sembradas en 96 macetas de 5 L de capacidad con sustrato previamente esterilizado en autoclave. El riego fue interdiario por un periodo de 60 días bajo condiciones controladas. Para determinar el porcentaje de colonización, recolectaron muestras de raíces de las plantas y lo evaluaron siguiendo la metodología de tinción de Ingleby (2007); Habte y Osorio (2001). Asimismo, recolectaron muestras de 50 g suelo e identificaron y caracterizaron las esporas de HMA por morfotipos hasta nivel de género, basándose principalmente en el tamaño de las esporas, la forma, el color, la estructura de la pared, unión hifal, ornamentación y reacción de la solución de Melzer, mediante el método adaptado de INVAM (2004) e Ingleby (2007). Todos los datos obtenidos de la colonización fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y el desempeño de los morfotipos en las raíces de plantas de maíz fueron comparadas en una prueba de significancia Tukey ($p = 0.05$) mediante el programa estadístico R. Los resultados demostraron la existencia de 4 morfotipos de esporas (AMF1, AMF2, AMF3 y AMF4) presentes los suelos de los sistemas agroforestales pertenecientes a los géneros *Glomus*, *Gigaspora*, *Scutellospora* y *Acaulospora*, que después de haber sido inoculados con HMA presentaron colonización por estructuras fúngicas (esporas, vesículas y arbusculos) en las raíces de las plantas de maíz, con un porcentaje de colonización entre el 10 % y 100 % y un promedio de 40 % de colonización micorrízica. Finalmente concluyeron que los hongos micorrízicos arbusculares nativos presentan la capacidad de infectar las raíces del maíz debido a sus características anatómicas que esta presenta, permitiendo formar asociaciones simbióticas, lo cual ayuda a mejorar la productividad de los cultivos.

Selvakumar *et al.* (2018), realizaron la propagación de esporas de HMA *in vitro* utilizando una gramínea como planta trampa en Saemangeum, Corea del Sur. El objetivo principal fue la producción masiva de esporas a través de una sola espora como fuente de inóculo y compararon su eficacia de propagación con otras esporas conseguidas del Banco Internacional de Glomeromycota (BEG). La investigación fue de tipo experimental comparativa y descriptiva. Inicialmente recolectaron 36 muestras de 1 kg de suelo rizosférico de asociados a plantaciones de *Cyperus polystachyos*, *Phragmites australis* y *Miscanthussinensis*, sin embargo, realizaron el recuento inicial de esporas solamente de 10 muestras. Posteriormente, aislaron solamente esporas viables que fueron propagadas *in vitro* según el método (T-) y usaron semillas de Sorghum-sudan como hospedero trampa. Las esporas obtenidas de la primera multiplicación y las esporas extraídas de BEG fueron inoculadas en Sorghum-sudan en macetas de 2.5 kg de capacidad en vivero y desarrollada en dos ciclos de 105 días cada uno, sometándose a estrés hídrico 15 días por cada ciclo. Las muestras de suelo y raíces fueron colectados a los 120 días después de la inoculación con esporas de HMA. El aislamiento y recuento de esporas fue realizado mediante el método de tamizado y decantación húmedo según lo descrito por Daniels y Skipper (1982) seguido de la centrifugación en gradiente de sacarosa. La tinción de raíces fue desarrollada por el método del azul tripán (Selvakumar *et al.* 2016). Los datos encontrados de todas las evaluaciones fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y las medias a un análisis de comparación mediante la prueba de rango múltiple de Duncan (DMRT) a ($p \leq 0,05$). Toda la información fue analizada usando el paquete SAS, Versión 9.2. Los resultados mostraron que de los 150 inoculantes obtenidos de suelos de campo, solamente 27 lograron esporular y colonizar las raíces de sorgo en condiciones *in vitro*. De todos los inoculantes usados en el método (T-), T-37 presentó el mayor número de esporas seguido de T-42 y T-76. Asimismo, demostraron que de las 27 plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) inoculadas, después de 240 días, cinco plantas dieron como resultado una propagación de más de 500 esporas, y solamente dos inoculantes lograron propagar más de 500 esporas después de 120 días, y después del análisis molecular de especies de HMA, demostraron que pertenecían a las especies *Gigaspora* y *Claroideoglossum*. Asimismo, las esporas de BEG produjeron un mayor número de esporas después de 120 días que los aislamientos indígenas (M-). Sin embargo, después de 240 días, más esporas fueron producidas por el aislado indígena M-1 que los aislados BEG. Además, indicaron que el inoculante que mayor colonización por propágulos de HMA fue el aislado de BEG (*Rhizophagus irregularis*), seguido de los inoculantes nativos M – 1 y M – 2. Finalmente, concluyeron que la producción de cultivos

puros de especies de HMA podría ser logrado utilizando una sola espora como inóculo a través del método (T-) in vitro y que los HMA nativos presentaron una mayor producción de esporas y podrían usarse como bioinoculantes potenciales para aplicaciones agrícolas a gran escala.

Sáenz y Nicoya (2017), estudiaron la eficacia de las plantas trampa para el proceso de multiplicación de esporas de hongos micorrízicos arbusculares asociados a suelos agrícolas de caña de azúcar en Centro Nacional de Referencia en Agroplasticultura (CNRA), del Campus Agropecuario de UNAN, León, Nicaragua. La investigación fue del tipo experimental, de método cuantitativo y con un diseño correlacional de arreglo factorial constituido por tres tratamientos y cuatro repeticiones. Las 28 muestras iniciales con material biológico (suelo rizosférico y raicillas) fueron extraídas a una profundidad de 5-10 cm de parcelas con plantaciones de caña de azúcar, luego para la obtención de esporas viables fueron multiplicadas en plantas de sorgo en discos de papel filtro, las cuales fueron utilizados como fuentes de inóculo. El proceso de multiplicación comprendió dos ensayos (en túneles y bancales). En los túneles sembraron plantas de sorgo y maíz durante 45 días que a los 20 días después de siembra fueron inoculadas con esporas de HMA. Posteriormente, fueron sometidos a estrés hídrico los últimos 10 días. En los bancales sembraron los cultivos de sorgo y caña de azúcar que fueron inoculados con micorrizas multiplicadas anteriormente en laboratorio. La multiplicación comprendió de 60 días de desarrollo vegetativo con riego interdiario y 10 días de sometimiento a estrés hídrico. Concluido el tiempo de multiplicación, cuantificaron el número de esporas en 100 g de suelo y el grado de micorrización en las raíces de las plantas trampa según la metodología de Aguilar y Dreyer (2009) e identificaron por morfotipos según su forma y color de las esporas. Además, evaluaron la biomasa de las plantas trampa micorrizadas. Con los datos obtenidos de la producción en túnel y bancales realizaron una comparación de medias para muestras independientes (T de student) mediante el programa Excel. Los resultados mostraron que la planta de sorgo presentó mayor producción de esporas con 8238 en 100 g de suelo, asimismo, presentó mayor colonización micorrízica (75 %) superando al maíz que presentó 70 % de colonización micorrízica y 6313 esporas en 100 g de suelo. De la multiplicación en túneles la planta de sorgo obtuvo un total de 8238 esporas, y el maíz obtuvo una de 6313 esporas, mientras que, en bancales, el sorgo presentó 4711 esporas en 100 g de suelo siendo superado por la caña de azúcar que presentó de 6490 esporas, sin presentar diferencias estadísticas. De las plantas trampas

establecidas en túneles, sorgo y maíz, obtuvieron el mejor peso fresco de 275 g y peso seco de 178 g, mientras tanto, en bancales fue la caña de azúcar con una biomasa fresca de 4655 g y seca de 1735 g, demostrando la existencia de un aumento de biomasa en comparación del testigo (sin inóculo). En la clasificación por morfotipos obtuvieron un total de 1198 micorrizas, en el cual son 308 amarillas, 90 rojas, 456 negras y 344 café. Finalmente, concluyeron que la inoculación de esporas nativas de los suelos cañeros permitió obtener mejor desarrollo vegetativo en plantas trampa. Además, las plantas trampa (sorgo, maíz y caña) pueden utilizarse para la reproducción masiva de esporas de hongos micorrízicos arbusculares.

Shruti *et al.* (2017), desarrollaron la propagación en masa de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares con uso de plantas trampa y distintos sustratos en etapas de laboratorio y vivero en India. El ensayo fue de experimental y cuantitativa, con un diseño bifactorial con tres repeticiones por tratamiento. En la etapa de laboratorio (*in vitro*) realizaron la producción inicial de esporas (fuente de inóculo) mediante la técnica del embudo según la metodología de Menge, (1984) y utilizaron *Trigonella spp.* como hospedante por un periodo de 25 días. Posteriormente, las raíces de la planta hospedante fueron cortadas y mezcladas con arena y suelo agrícola estéril para su posterior multiplicación en vivero. En la etapa de vivero, realizaron la inoculación del sustrato con 200 g de inóculo puro conteniendo un total de 150 esporas más raíces colonizadas obtenidas en *in vitro*. Utilizaron *Panicum máximum* como hospedero, los cuales fueron sembrados en macetas con sustrato compuesto por arena y tierra en una proporción 1: 1: por un tiempo de 6 meses. Las muestras de raíces y suelo fueron tomadas cada 30 días. Para el proceso de conteo y colecta de esporas utilizaron la metodología de tamizado húmedo y decantación propuesta por Gerdemann y Nicolson, (1963), la tinción de raíces por el método de Phillips y Hayman, (1970) y la evaluación de la colonización micorrízica mediante el método de Giovannetti y Mosse, (1980). Los datos fueron analizados estadísticamente según lo descrito por Gomez y Gomez (1984). Los resultados demostraron un incremento en número de esporas de HMA a los tres meses después de iniciado la multiplicación con un máximo de 294.44 esporas / 50 g de suelo y un mínimo de 155.56 esporas en 50 g de suelo. Similar cantidad de esporas encontraron a los 6 meses de multiplicación con 222.22 a 383.33 esporas por 50 g de suelo. Asimismo, para la colonización micorrízica mostraron porcentajes entre 5.17 % al 10.66 % para el periodo de tres meses y 7.17 % al 13.61 % para el periodo de 6

meses de multiplicación. Finalmente concluyeron que la planta *Panicum maximum* puede usarse como hospedante adecuado para la propagación masiva de esporas de hongos micorrízicos arbusculares en vivero.

Selvakumar *et al.* (2016), realizaron una investigación en Corea del Sur sobre la propagación de hongos micorrízicos arbusculares nativos mediante la técnica de plantas trampa bajo invernadero y tuvieron como objetivo evaluar la capacidad de propagación de las esporas de HMA en dos cultivos trampa (*Zea mays* y *sorghum-sudangrass*). El estudio fue tipo exploratoria, experimental y cuantitativa. Para ello, colectaron un total de 6 muestras de suelo y raíces (SS1-SS6) de la Agencia de Inversión y Desarrollo de Saemangeum y determinaron el número de esporas por gramo presentes por cada muestra de suelo. Posteriormente, inocularon plantas de maíz y sorgo de 5 días de germinación con 250 g de suelo conteniendo estructuras fúngicas de HMA (esporas, hifas y raíces colonizadas) y las mantuvieron por 240 días en condiciones de vivero. A los 120 y 240 días después de siembra, realizaron la colecta de muestras de suelo y raíces de las plantas trampa. La tinción de raíces fue realizada mediante la metodología de Phillips y Hayman, (1970), la evaluación de la colonización micorrízica fue realizado según la metodología de Trouvelot, *et al.* (1986) y el porcentaje de colonización mediante el *software* MycoCalc. Todas las muestras de suelo obtenidos de campo y después de multiplicación fueron evaluadas mediante tamizado húmedo y decantación descrito por Daniels y Skipper, (1982) y por el método de centrifugación de sacarosa. Todos los datos obtenidos fueron analizados a través de Excel. Los resultados después de dos ciclos de multiplicación de esporas mostraron que la planta trampa que mayor capacidad de propagación de esporas presentó fue el maíz y a su vez, mostró un mayor porcentaje de colonización, siendo superior a *S. sudangrass*. Además, demostraron que la longitud de las raíces de las plantas inoculadas con HMA tuvieron un incremento del 22 % para maíz y 26 % sudangrass en relación al control (sin HMA). Finalmente, concluyeron que los inóculos de HMA tuvieron mayor efecto en la planta de maíz que en sudangrass, tanto en parámetros de crecimiento e infección micorrízica, y la propagación de HMA en varios ciclos, fue efectiva usando el método de cultivo trampa en términos de colonización.

Nacional

Bustamante y Zambrano (2017), evaluaron la eficiencia de la planta de maíz (*Zea mays* L.) en la multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares nativos en condiciones de invernadero en la región Lambayeque, Perú. El estudio fue descriptivo y transeccional y presentó un diseño aleatorio con 54 tratamientos. Las esporas principales aisladas que usaron como fuente de inóculo fueron extraídas en papel filtro de embudo Bushner de suelos asociados a plantaciones de maíz del distrito de Reque, provincia de Chiclayo, región Lambayeque. Las 54 muestras de 5 g con presencia de esporas aisladas de los géneros *Glomus spp*, *Acaulospora*, *Archaeospora*, *Gigaspora* y *Entrophospora* fueron inoculadas en plantas de maíz de la variedad AGRI -144, para su multiplicación. Las plantas trampa fueron sembradas en bolsas de polietileno negro de 16.5 x 3.5 cm, a razón de 1.5 kg por bolsa con una mezcla de suelo agrícola, arena y compost, en la proporción 2.5: 2.0: 0.5, previamente esterilizado por solarización durante por 30 días. El proceso de multiplicación comprendió de 60 días, posteriormente, realizaron la tinción de las raíces de maíz por el método despigmentación y tinción radicular descrito por Sieverding *et al.* (1998) y Walker (2005). También, evaluaron el porcentaje de colonización mediante el método de intersecciones de McGonigle *et al.* (1990), y realizaron el conteo de esporas presentes en 100 g de suelo mediante el método de tamizado y decantación descrito por Dávila *et al.* (2009). Todos los datos obtenidos de la multiplicación fueron tabulados y analizados mediante los programas Microsoft Office Word y Excel, versión 2013. Los resultados con respecto al incremento del número de esporas mostraron que el género *Glomus spp.* obtuvo 278.7 % en promedio con respecto a su valor inicial (35 esporas en 100 g de suelo), seguido de *Acaulospora* con 146.2 % en función a su valor inicial (10 esporas en 100 g de suelo). Del mismo modo, los géneros que mayor porcentaje de colonización micorrízica obtuvieron fueron *Glomus Acaulospora* y *Archaeospora* con 87.5 % en promedio. Finalmente, concluyeron que las plantas de maíz durante el proceso de multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares fueron eficientes tanto en infectividad con un incremento 593.1 % de en las esporas y 87.5 % de micorrización de las raíces, como en efectividad con 53.7 % de incremento en la altura de las plantas de maíz.

Regional

Pérez (2019) desarrolló un estudio sobre la producción masiva de HMA utilizando plantas trampa con fuentes de inóculo de suelo rizosférico de café proveniente de diferentes altitudes de la región San Martín-Perú. La investigación fue de tipo básica, con niveles descriptivo, explicativo y experimental. Presentó un diseño completo al azar (D.C.A.), trifactorial 3A (Cultivo) x 2B (Altitud) x 4C (Fuentes de inóculo HMA) de 24 tratamientos con 3 repeticiones. La recolección de fuentes de inóculo fue realizada en fincas cafetaleras con la variedad caturra dentro de las provincias de Rioja, Lamas, El Dorado y Huallaga de altitudes (800 -1000 y 1000 – 1200) m. s. n. m. Para la multiplicación de esporas utilizó tres especies de gramíneas como plantas trampa arroz (*Oryza sativa*), pasto braquiaria (*Brachiaria brizantha*) y maíz (*Zea mays*), las cuales fueron sembradas en 288 macetas de 1 kg de capacidad previamente mezclada en una proporción de 50:50 (suelo rizosférico +arena esterilizada) por un tiempo de 80 días, 60 días de riego interdiario y 20 días de estrés hídrico. Después de los 80 días de multiplicación, evaluó variables morfológicas y fúngicas de las plantas trampa. El cálculo de la biomasa radicular y aérea fue realizado según la metodología propuesta por Leiva (2009). El aislamiento de esporas fue realizado mediante la técnica del tamizado húmedo y decantación según metodología de León (2006) y la cuantificación de esporas de HMA según Robles *et al.* (2013). La longitud de micelio fue realizada según la metodología de gel semisólido y cuantificada por el método de intersección de cuadrantes propuestas por Robles (2009), y el porcentaje de colonización según Phillips y Hayman, (1970). Asimismo, identificó las esporas por morfotipos. Los datos obtenidos fueron sometidos a la prueba Tukey con un nivel de significancia de $p < 0.05$ y fueron analizados en el software SPSS v. 20. Los resultados de la comparación de medias (Tukey $p < 0.05$) mostraron que el cultivo de arroz presentó mayor biomasa seca radicular (1.38 g) y presentó diferencia estadística significativa con relación al resto de plantas que presentaron valores inferiores, brachiaria (1.03 g) maíz (1.12 g). Sin embargo, brachiaria y maíz reportaron mayor a biomasa seca aérea pero no presentaron diferencias estadísticas significativas. En cuanto al número de esporas por cada 10 g de suelo por altitud, el mejor inóculo fue procedente de Lamas con una altitud de 1000-1200 m.s.n.m. Asimismo, la planta de arroz presentó la mayor cantidad en promedio de esporas, sin embargo, fueron estadísticamente iguales con los demás cultivos. Las plantas que obtuvieron mayor longitud de micelio fueron arroz y maíz con promedios de 51.47 y 48.11 cm respectivamente y no presentaron diferencias significativas entre sí. Por otro lado, la planta trampa *Oryza sativa* mostró mejor

porcentaje de colonización micorrízica con 24.49 % y estadísticamente diferente con las demás plantas trampa (Maíz =17.18 % y brachiaria = 5.80 %) que fueron infectados con las fuentes de inóculos procedente de El Dorado 21.60 % a 800-1000 m.s.n.m. También logró identificar 11 morfotipos predominantes de distintos géneros de HMA. Finalmente, concluyó que la planta trampa más eficiente para la multiplicación de consorcios de Hongos Micorrízicos Arbusculares fue el cultivo de arroz.

Sandoval (2019), realizó la caracterización y propagación de hongos HMA nativos asociados a pasturas de la zona de Cuñumbuque en la región San Martín. La investigación experimental fue desarrollada utilizando el diseño completamente al azar (DCA), con arreglo bifactorial de 10A x 2B, con 20 tratamientos de 3 repeticiones. Los suelos rizosféricos fueron recolectados de diez parcelas diferentes, los cuales fueron combinados con arena de río lavada y esterilizada. Utilizó dos leguminosas forrajeras (*Centrosema macrocarpum* y *Leucaena leucocephala*) siendo instaladas bajo condiciones de vivero por un periodo de 3 meses, tiempo para la multiplicación de HMA. . Transcurrido los 60 días después de siembra, suspendió el riego a las plantas para estimular la esporulación de las esporas de HMA. Posteriormente, tomó muestras de suelos y raicillas para las evaluaciones en el laboratorio. Asimismo, evaluó la variable densidad de esporas según la metodología Gerdemann y Nicolson (1963), el porcentaje de colonización micorrízica por medio de la tinción de raíces según la metodología de Vierheilig *et al.* (2004) y la caracterización de morfotipos nativos predominantes según parámetros morfológicos como forma, color, tamaño y reacción al reactivo Melzer. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza, y las medias fueron comparadas mediante la prueba de rango múltiple de Tukey con un nivel de significancia $p < 0.05$. Todos los datos fueron analizados con el programa SAS 9.2. Los resultados mostraron para la variable densidad de esporas, presentó diferencias significativas entre la interacción de las diez zonas y las dos plantas trampa, siendo el T5 de la zona de Difuntillo el de mayor número de esporas (7100 esporas/100 g de suelo seco) y el T7 representando a la zona Chacrilla con 1000 esporas/100 g de suelo fue el que menor número de esporas obtenidos en ambos casos en la planta de *C. macrocarpum*. Del mismo modo para la colonización micorrízica se observaron diferencias altamente significativas en ambos actores (zonas y plantas trampa) en las que el T3 con 72.89 % y T5 (70.81 %), presentaron los mayores porcentajes de colonización en las raíces de *C. macrocarpum*. De la misma manera, demostró la existencia de 7 morfotipos diferentes pertenecientes a 5 géneros, siendo

el M1 el de mayor predominancia con 256 esporas perteneciente al género *Claroideoglossum*. Finalmente, concluyó que los hongos micorrízicos arbusculares son un componente común e importante, capaces de adaptarse a distintas condiciones que pueden ser utilizados, lo cual permite utilizarlos como inoculantes potenciales juntamente con plantas trampa (leguminosas) en los procesos de multiplicación de esporas con el fin de aportar biológicamente con los procesos de mejoramientos de suelos y pasturas.

1.2. Bases teóricas especializadas

1.2.1. Micorrizas

Albert Bernhard Frank en el año 1887 formuló por primera vez el término micorriza para referirse a las asociaciones simbióticas (convivencia de entre dos o más organismos) mutualistas, no perjudiciales, entre las raíces de la planta y micelios de los hongos, resultando entre sí ser beneficiados (Honrubia, 2009). Inicialmente se creía que estas asociaciones tenían una naturaleza de parasitismo y que causaban daño a las plantas, tuvieron que pasar cinco décadas para demostrar en 1987 que esta colonización (planta- hongo) resultaba ser simbiótica mutualista; beneficioso para las plantas (Hayman, 1987; citado por Guerra, 2008).

Las micorrizas arbusculares son fusiones simbióticas benéficas que se instauran entre las raíces de una planta y diversos hongos presentes en el suelo, estas asociaciones ocurren de diversos tipos y en casi el 90 % de las familias de las plantas y en la mayoría de los suelos (Trappe, 1987; citado por Aguilera *et al.*, 2007). Del mismo modo Buelbas y Peñates (2008), consideraron a las micorrizas como organismos fúngicos especializados y dependientes del hospedante. Por lo tanto, al referirse a la micorriza se tiene que entenderse como una estructura muy sofisticada capaces de desarrollar funciones múltiples y específicas de carácter simbiote mutualista, que se produce al entrar en contacto con la estructura radicular de las plantas (Dávila *et al.*, 2009).

1.2.2. Tipos de micorrizas

Del Val *et al.* (1999) lograron demostrar la existencia de cinco tipos principales de asociaciones micorrízicas con respecto a su fisiología y morfología, sin embargo, basándose en su anatomía morfológica y ultraestructurales, solo tres asociaciones micorrícicas están vigentes: Endomicorrizas, ectomicorrizas y ectendomicorrizas (Rivera y Fernández, 2003) (Figura 1).

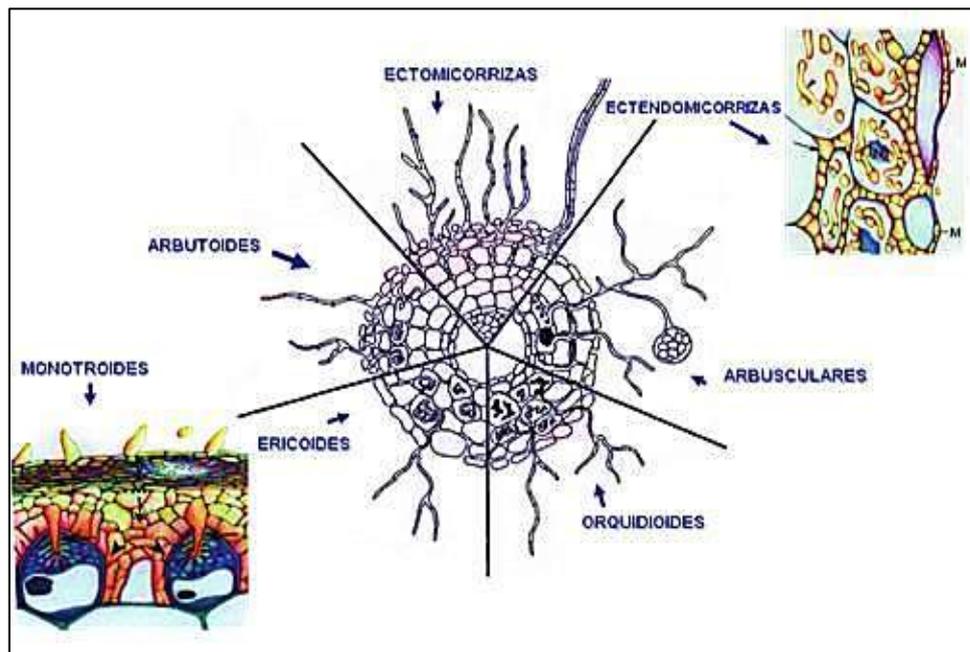


Figura 1. Tipos de micorrizas. Fuente: Madrid *et al.* (2016).

Endomicorrizas

Esta asociación no es notable a simple vista, debido a que el hongo si llega a penetrar la célula cortical e intracelular a la raíz de la planta, pero no coloniza la endodermis, forman una red de hifas poco abundantes provocando así su propagación (Rivera y Fernández, 2003). En este grupo existen tres tipos de asociaciones: Ericoides, Orquideoides y Micorrizas Arbusculares.

Ectomicorrizas

Son asociaciones se establecen con el 3 % de las especies vegetales, donde el hongo no penetra a la célula cortical de la raíz, sino que se desarrolla solamente en los espacios intercelulares de la corteza radical, permitiendo así la formación de la “red de Hartig”. Esta asociación es característica a un manto de hifas que rodea la raíz, permitiendo su visualización (Pérez, 2001).

Ectendomicorrizas

Estudios mencionan que estas asociaciones tienen ciertas características similares a las dos asociaciones anteriores, y las menos extendidas en especies vegetales (Pérez, 2001). La similitud con las endomicorrizas se establece en la formación de red de hifas del hongo donde llega a penetrar la célula cortical y con las ectomicorrizas se establece en la formación la “red de Hartig” (Rivera y Fernández, 2003).

1.2.3. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

De todos los tipos de micorrizas mencionados anteriormente, las micorrizas arbusculares son las que se encuentran en un aproximado del 80-90 % en asociación simbiótica con las especies vegetales, siendo considerados como organismos simbióticos obligados (Pérez, 2001). El nombre arbuscular es referente a sus estructuras características, los arbusculos, que penetran de forma intracelular las raíces de las plantas y a su vez, también colonizan las raíces y permiten desarrollarse (Remy *et al.* 1994 y Taylor *et al.* 1995, citado por Arévalo, 2016) (Figura 2).

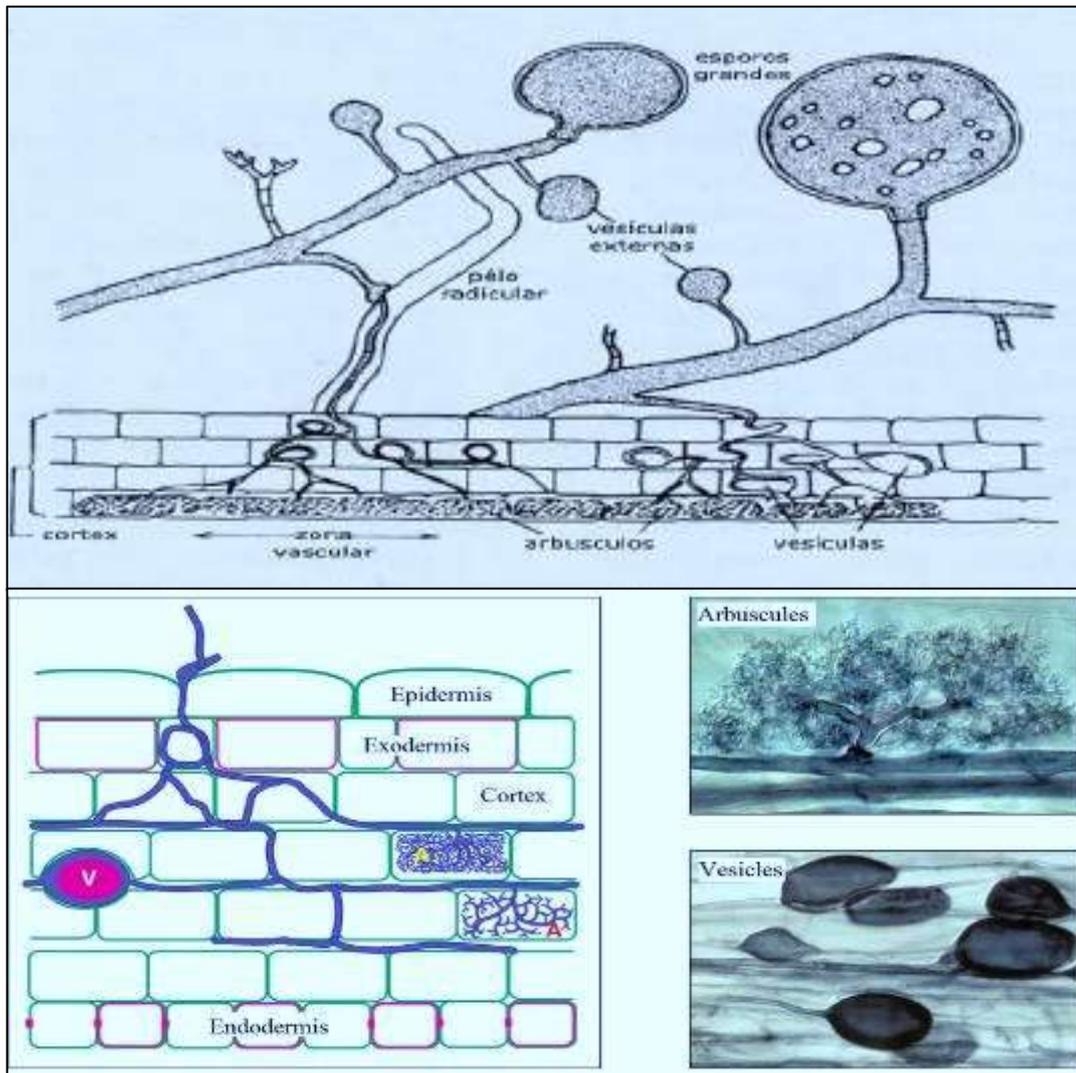


Figura 2. Esquema básico de las micorrizas.

Nota: Esporas, Micelios, (V) Vesículas Externas e Intracelulares; (A) Arbusculos. Fuente: Brundrett, (2008) y Piliarová *et al.* (2019).

Las esporas son células reproductoras asexualmente, que a través de esta forma es como se conserva en su estado natural, pueden estar individualmente en el suelo, en masas formando esporocarpos o asociadas a especies vegetales (Pérez, 2001), tienen una característica específica de generar resistencia a los cambios ambientales desfavorables, a través del engrosamiento de su capa o pared, permitiendo entrar en latencia y así lograr supervivencia en el tiempo (Giovannetti y Gianiniazzi, 1994, citado por Pérez, 2019).

Las esporas presentan: hifas que le dan soporte y sirve especialmente para dar inicio de la germinación y propagación y en muchos son parte esencial para la identificación de esporas de HMA; sáculo esporífero, es el proceso de ensanchamiento de la hifa; pared y capa, pueden ser de multiniveles y cubren la espora hasta formar un talo; entre otras estructuras (Tirado, 2017). Teniendo en cuenta las hifas, su agrupación da lugar al micelio extrarradicular; y son también altamente infecciosos (Hart y Klironomos, 2002), dado que es el que conecta la raíz de la planta con la microbiota del suelo (Pérez, 2001), permitiendo penetrar micro túneles del suelo que las raíces no pueden acceder (Smith y Read, 2008), cumpliendo así con su principal función de búsqueda, absorción y transporte de nutrientes para la planta, especialmente aquellos de poca disponibilidad en la solución del suelo (Hernández *et al.* 2008) logrando así una mayor capacidad de exploración de suelo.

Por lo tanto, la eficiencia de la asociación simbiótica con respecto a la asimilación de nutrientes está determinado por el factor micelio extrarradicular que se expresa en porcentaje de colonización radicular de la planta, tanto así que las planta micorrizadas mediante el micelio externo, sufre cambios fisiológicos, permitiendo que su medio de contacto (planta-hongo) se incremente considerablemente (Pérez *et al.* 2011).

1.2.4. Fuentes de inóculo de HMA

Según González *et al.* (2011), son todas las áreas y lugares de procedencia de donde se adquiere las muestras, dichas muestras se colectan del suelo circundante de la planta. Se componen de suelo y raíces (secundarias y terciaras) de una especie vegetal seleccionada, de la que se presume la existencia de diversas especies de HMA, y están conformadas por varias estructuras, principalmente arbusculos, vesículas e hifas (Hart y Klironomos, 2002). Existe muchas metodologías de recolección de las fuentes de inóculo (Robles *et al.* 2013; Iriarte *et al.* 2018; Covacevich y Consolo, 2014), y su buena ejecución al momento del muestreo es fundamental para garantizar la mayor presencia de propágulos de los HMA. Según Hernández *et al.* (2008), se debe adquirir un volumen aproximado de 1 kg de suelo alrededor de la planta y hasta 25 cm de profundidad, además, considera que pueden tomar pequeñas raicillas, siendo estas las más finas posibles (secundarias y terciarias) y asegurar mayor obtención de esporas para su inoculación.

1.2.5. Colonización y multiplicación de HMA

El proceso de colonización de los hongos micorrízicos arbusculares se inicia a partir del asociamiento entre el hongo y la planta por medio de sucesivas etapas de reconocimiento entre especies causando cambios en la morfología y fisiología de ambos organismos que están en interacción (Thioye *et al.*, 2018). Según Franco, (2008) son varias las etapas de reconocimiento, pero básicamente tres son las más importantes: **Primera etapa:** existe la identificación mutua entre simbioses (planta y hongo) en la rizosfera del suelo o áreas cercanas a los pelos radicales, y es través de este proceso de reconocimiento donde se segregan por parte de la raíz sustancias exudadas que estimula el crecimiento del micelio en dirección hacia la raíz. **Segunda etapa:** se produce el acercamiento y envolvimiento del micelio hacia las raicillas de la planta de manera gradual y sucesiva, generando adhesión intercelular de ambos simbioses. **Tercera etapa:** se realiza la colonización de las raíces por estructuras del hongo, es aquí donde se produce la integración fisiológica del asociamiento entre simbioses, puesto que se desarrolla actividades enzimáticas y metabólicas. Es en esta etapa donde las micorrizas arbusculares se pueden diferenciar entre endomicorrizas y ectomicorrizas por sus distintas estructuras y formas de penetrar el tejido cortical y celular de las raíces.

De igual manera, Smith y Read, (2008), demostró la existencia dos tipos de colonización que a su vez están dependientes del tipo de planta hospedera y del simbiote fúngico. **Colonización Arum:** presencia de hifas que por medio de arbusculos y vesículas intercelulares rodean la célula cortical, quedando esta colonizada. **Colonización Paris:** la célula cortical es colonizada por presencia de un micelio intracelular, una vez apropiada de la célula se producen muchos arbusculos (Lugo *et al.*, 2011) (Figura 3).

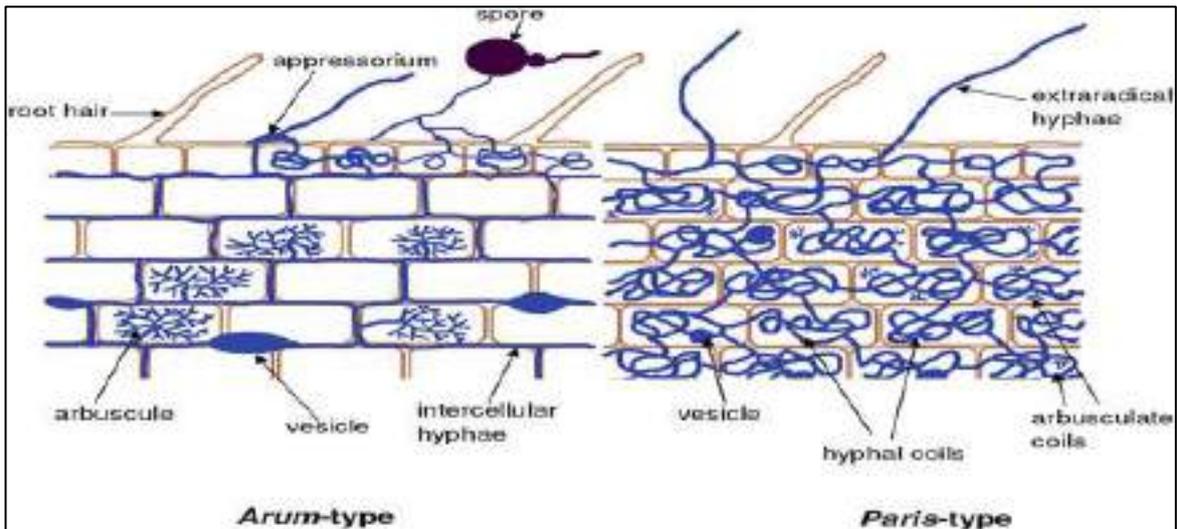


Figura 3. Tipos de colonización micorrízica. Fuente: Priyadharsini y Muthukumar, (2015).

Para el proceso de multiplicación de HMA, donde se busca obtener esporas de hongos formadores de micorrizas, es conveniente usar cultivos trampa empleando las fuentes de inóculo de especies nativas, las cuales deben ser de fácil crecimiento para ser utilizados como hospedero, debido a que estos son simbioses obligados y no facultativos (Molina *et al.*, 2006).

Estudios demuestran que las plantas que deben ser utilizadas como cultivo trampa tienen que caracterizarse por ser susceptibles a la colonización por parte de los HMA, tal es el caso de las gramíneas (Erazo, 2013) y también las leguminosas (Aguilar *et al.*, 2016) donde la colonización y reproducción en las raíces de estas plantas es muy favorable. Para Alarcón y Ferrera (1999), la combinación hongo-planta trampa es un factor concluyente en la propagación de una cepa fúngica en especial, ya que existen algunos hongos que son más específicos a ciertos géneros con respecto a la asociatividad con su planta huésped, facilitando una mayor cantidad de propagación (Boyetchko y Tewari, 1995). Dicho lo anterior, se tiene la certeza que existe mayor probabilidad de obtener resultados óptimos de la inoculación de HMA después de haber seleccionado de manera cuidadosa las combinaciones favorables de huésped y hongo (Berruti *et al.*, 2016).

1.2.6. Importancia de las micorrizas en la agricultura

En el proceso de obtener una mejor fertilidad de los suelos y por ende mayor producción, la agricultura en la actualidad viene utilizando múltiples tipos y cantidades de agroquímicos; que alteran la estructura natural del suelo y afectan el desempeño de los microorganismos, que cumplen funciones de intercambio y asimilación de nutrientes en las raíces de los vegetales, como en el caso de las micorrizas (Garzón, 2016). Por lo tanto, si se desea reducir el uso de los fertilizantes por razones productivas, ambientales, es necesario lograr reintegrar los hongos micorrízicos arbusculares (Erazo, 2013) y demás microorganismos beneficiosos presentes en suelo a un alto nivel productivo y de garantía para subsanar la utilización descontrolada de estos insumos contaminantes.

El valor de los hongos micorrízicos arbusculares en la agricultura se sustenta en la capacidad que posee las esporas, que a través de su micelio extraradical, posibilitan la relación sinérgica entre el suelo y la planta (Villasagua, 2017), debido a que existe un proceso simbiótico entre ambos individuos (suelo-planta), que beneficia la absorción de nutrientes de poca movilidad, lo que es muy distinto con las plantas que no presentan micorrizas (Pérez *et al.* 2012). Consecuentemente, los HMA constituyen un prometedor agente microbiológico para el progreso de integración de la agricultura sostenible; gracias a su rol importante en la articulación de los ecosistemas del suelo y su viabilidad como fertilizante biológico, principalmente por su función de facilitador de fosfatos presentes en los suelos tropicales que están inmovilizados por diferentes factores (Posada y Sieverding, 2014).

1.3. Generalidades del cacao

1.3.1. Origen

Theobroma cacao es una planta leñosa que pertenece a la familia *Malvaceae* y subfamilia *Sterculioideae*, las plantaciones tienen un buen comportamiento productivo en diversas regiones del mundo (López *et al.*, 2020). Es una especie nativa de las regiones tropicales de América del Sur (March, 2020), cuyo centro de origen principal de estaría dentro de la región del río Amazonas especialmente en las zonas comprendidas por las cuencas de los ríos

Caquetá, Putumayo y Napo (Duran, 2010). Sin embargo, existe la hipótesis de que la región centro y suroriental del Perú (Huallaga, Ucayali y Urubamba) estaría incluido dentro del lugar de origen del cacao, debido a la existencia de poblaciones silvestres y nativas esparcidas en la región central y sur de la Amazonía alta del Perú (García, 2010).

1.3.2. Distribución nacional

Las diversas plantaciones del cultivo de cacao se han desarrollado en distintos lugares del Perú, en la selva peruana han sido establecidas fundamentalmente en altitudes entre los 300 y 900 m.s.n.m. específicamente en regiones de clima tropical y sub tropical (Rengifo, 2019). Según el Convenio Internacional del Cacao (ICCO), el Perú actualmente se ubica en el segundo lugar de países productores y exportadores de “cacao” fino después del Ecuador. A nivel nacional existen regiones que presentan mayor producción unas a otras y según el ministerio de Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI) la región San Martín tiene 28 984 ha siendo la mayor área sembrada de “cacao”, equivalente a (34 % del total) a nivel nacional (Ministerio de Agricultura y Riego [MINAGRI], 2016).

1.3.3. El cacao en la región San Martín

Según el Instituto Nacional de Innovación Agraria-INIA, (2019) los departamentos que mayor producción de granos de cacao seco en el año 2017 fueron San Martín (39.6 %), Junín (19.6 %) y Ucayali (11.5 %) de la producción nacional, seguidos por el departamento de Cusco, Huánuco y Amazonas. Sin embargo, al mes de marzo del 2018, los departamentos de San Martín, Cusco y Junín obtuvieron los primeros lugares. Actualmente el departamento de San Martín produce alrededor de 38 mil toneladas de cacao en grano seco, siendo la provincia de Tocache y Mariscal Cáceres las principales zonas de mayor producción, existiendo además zonas en expansión en la zona del Alto Mayo (Rioja), Bajo Mayo (Moyobamba) y Bajo Huallaga (Saposoá) (Dirección Regional de Agricultura San Martín [DRASAM], 2016).

1.3.4. Importancia de la producción de cacao

Según el Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI) a través del observatorio COMODITIES, menciona que la producción nacional de cacao en grano viene

incrementándose a una tasa de 15.6 % promedio anual durante la última década y se va incrementando gradualmente tanto en áreas y volúmenes de producción, de modo que actualmente se ubica en el 9° lugar en importancia en el mundo, llegando a ser solo el 2 % de la producción mundial (López *et al.* 2020). Para el año 2018 se ha obtenido una producción de 135.3 mil toneladas de cacao en grano, logrando un aumento de la producción de 11.0 % respecto al mismo periodo del año 2017 que se produjo un total de 121.8 mil toneladas; situación explicada especialmente por la existencia de mayores cosechas en las regiones de Piura, Pasco, Ucayali y Cajamarca. La importancia se remonta al crecimiento de las exportaciones a nivel mundial del grano de cacao, que en el periodo de 2013 al 2017 ha presentado una dinámica progresiva con 8.8 % del promedio anual (Ministerio de Agricultura y Riego [MINAGRI], 2019).

1.3.5. Variedades de cacao ICS y CCN usados en plantaciones de Perú

A nivel mundial se encuentran distribuidos diversos clones de cacao que se diferencian por sus características como productividad, adaptación, sabor, resistencia a plagas y enfermedades, etc. En Perú se ha observado en diversas áreas, presencia de clones ICS (ICS -1, ICS - 6 e ICS- 95 y el clon CCN-51. Según el catálogo de clones de cacao del CATIE, el clon ICS es considerado como un material prometedor en los sembríos en Perú, ya que presenta una producción considerable, además, presenta tolerancia a escoba de bruja y moniliasis. En cambio, en clon CCN presenta un buen rendimiento, sin embargo, ostenta alta susceptibilidad a la mazorca negra y no muestra buena calidad (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza [CATIE], 2012).

Según el reporte de la Dirección Regional de Agricultura San Martín para el año 2016, las variedades de cacao que se cultiva con mayor cantidad en la región San Martín, son injertos con el clon CCN-51 como variedad mejorada, debido a que la región muestra condiciones predisponentes de clima y manejo, además que los problemas de plagas y enfermedades presentan severidad de daño en menor grado en comparación a otras regiones del país, logrando así alcanzar un 70 % de sembríos y un 30 % aún se mantienen como plantaciones de semillas híbridas. Sin embargo, a la actualidad muchos productores del departamento de San Martín están incrementando sus plantaciones de cacao con el injerto del clon ICS, puesto que presenta características organolépticas de cacao fino de calidad (Dirección Regional de

Agricultura San Martín [DRASAM], 2016).

1.4. Plantas trampa

Por las características de los HMA, de ser simbioses obligados y no pueden reproducirse en cultivos puros sin la presencia de plantas hospedadoras, es de vital importancia el uso de plantas trampa (Saparrat *et al.* 2020), puesto que son en las cuales se pueden inocular hongos micorrízicos arbusculares colectados de campo permitiendo promover la esporulación y multiplicación de estructuras fúngicas presentes en el sustrato (Habte y Osorio, 2001), son fáciles de cultivar, de crecimiento rápido, de abundantes raíces finas y peludas y con tolerancia a los efectos ambientales adversos (Molina *et al.*, 2006). Un ejemplo de estas plantas son el maíz, que además de ser de rápido crecimiento es muy micorrízica que puede asociarse con muchas especies de HMA (Malembaka, 2020) debido a que presenta un abundante sistema radicular altamente micotrófica (Hayman *et al.*, 1976), y el arroz, que presentan distintas raíces secundarias y terciarias específicas que facilitan la esporulación de los HMA (Vallino *et al.*, 2014), entre otras plantas pertenecientes a las gramíneas (Erazo, 2013) y leguminosas (Aguilar *et al.*, 2016).

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Diseño de la investigación

La presente investigación presenta un diseño experimental con enfoque cuantitativo, en la que se evaluó la multiplicación de esporas de hongos micorrízicos arbusculares nativos de “cacao” de los clones (ICS y CCN) de tres provincias de la región San Martín haciendo uso de dos cultivos trampa (arroz y maíz) e identificó cual es la mejor planta trampa para obtener mayor producción de esporas de HMA.

2.1.1. Lugar y fecha

La tesis de investigación científica se ejecutó en las instalaciones del vivero y laboratorio de la Universidad Católica Sedes Sapientiae que se encuentra ubicado en el distrito de Nueva Cajamarca, provincia de Rioja en la región San Martín, entre los meses de marzo a diciembre del 2019 (ver Apéndice 1) (Figura 4).

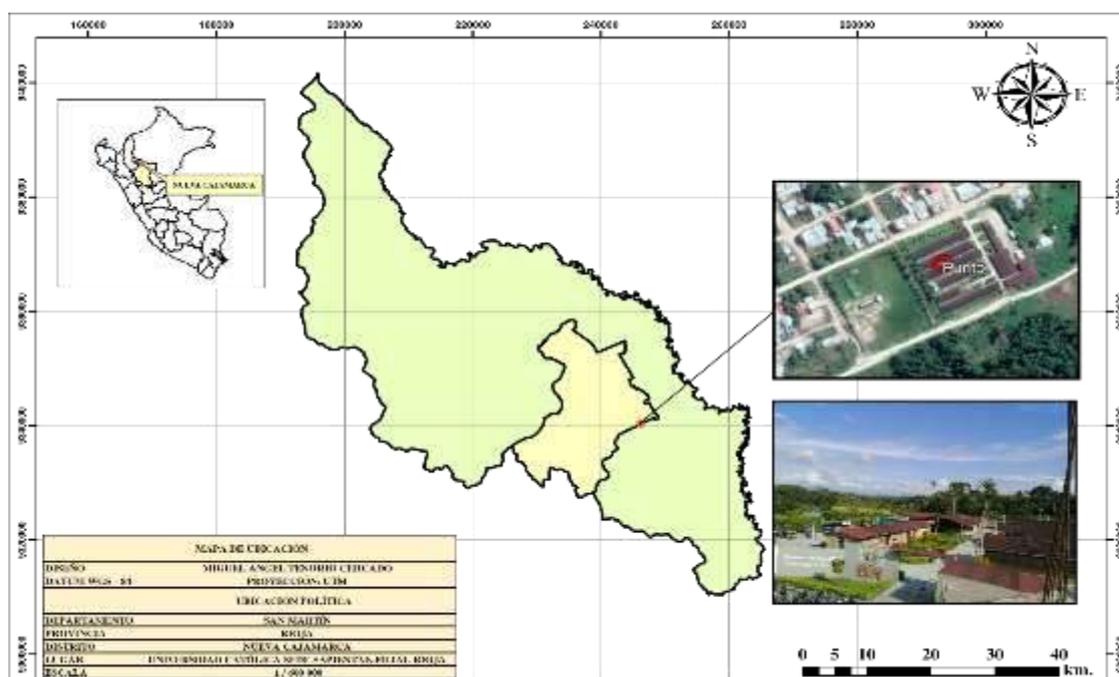


Figura 4. Ubicación geográfica del lugar de ejecución del estudio. Fuente: Elaboración propia.

2.1.2. Materiales

Campo y vivero

- Botas de jebe
- Cámara fotográfica
- Machete y palana
- Costales
- Vernier y wincha
- Bolsas de polietileno
- GPS
- Lapicero Indeleble
- Tabla de apuntes y etiquetas de plástico
- Libreta de campo
- Clavos y martillo
- Madera y Plástico grueso

Laboratorio

- Bandejas
- Papel toalla
- Tinta Parker
- Tamiz de 38 micras y 250 micras
- Placas Petri
- Centrifuga de 5000 Rev. y tubos falcón
- Pisetas y micropipetas
- Centrómicos manuales
- Tubos de ensayo
- Baño María
- Microscopio óptico y estéreo
microscopio

Infraestructura

Se construyó un vivero con materiales altamente duraderos que puedan garantizar el perfecto funcionamiento por aproximadamente 3 años, tiempo estimado para ejecución del proyecto principal en el cual está enmarcado la presente investigación (Figura 5).



Figura 5. Vivero de inoculación y multiplicación de HMA. Fuente: Elaboración propia.

2.1.3. Descripción del experimento

La ejecución del estudio se llevó a cabo en tres etapas (campo, vivero, y laboratorio), cada una está integrada por actividades específicas para lograr los objetivos de la investigación, y se describen a continuación:

Etapa de campo

a. Selección de parcelas de cacao

Se realizó la identificación y selección de parcelas de cacao con los clones ICS Y CCN con edades entre 4 a 9 años pertenecientes a las provincias de Rioja, Lamas y Mariscal Cáceres en la Región San Martín (ver Apéndice 2), entre altitudes de 300 a 900 m.s.n.m. (Tabla 1), siguiendo la metodología de Dávila *et al.* (2009). De cada parcela se seleccionó 10 plantas y posteriormente se codificó con etiquetas rojas para su mejor identificación al momento de coleccionar el material biológico (Figura 6).



Figura 6. Selección de plantas de *Theobroma cacao*. Fuente: Elaboración propia.

Tabla 1*Ubicación y caracterización de las parcelas de recolección del suelo rizosférico*

Provincias	Distrito	Sector	Clon	Coordenadas		Altitud (m.s.n.m.)	Edad (años)	N° Parcela	N° plantas	Área total (ha)
				X (18L)	Y(UTM)					
Rioja	Pardo Miguel Naranjos	Yarinal	ICS	224310	9366791	905	8	1	10	4
	Pardo Miguel Naranjos	Yarinal	CCN	225539	9367615	900	7	2	10	2.5
Rioja										
Lamas	Pinto Recodo	Mishquillaquillo Fundo Pintosapa	ICS	321173	9297596	608	9	2	10	3
Lamas	Pinto Recodo	Mishquillaquillo	CCN	321799	9297823	702	9	1	10	1.5
Mariscal Cáceres	Juanjuí - Huicungo	Bajo Cachiyacu - Fundo El Porvenir	ICS	301739	9187983	329	5	1	10	4.5
Mariscal Cáceres	Juanjuí	Aguaynillo. Fundo Aguas Vivas	CCN	403936	9206392	572	8	2	10	0.5

Fuente: Elaboración propia.

b. Colecta de las fuentes de inóculo

El recojo de del material biológico (biomasa radicular y suelo rizosférico) se obtuvo de dos zonas de cada provincia (Rioja, Lamas y Mariscal Cáceres) de la región San Martín, se colectó de 10 plantas por cada clon de “cacao” (ICSS Y CCN), de cada planta se obtuvo (5.5 kg) suelo rizosférico y muestras de raíces (secundarias y terciarias) a una distancia de 30 cm del tallo principal alrededor de la planta y entre 0-20 cm de profundidad, siguiendo la metodología propuesta por León (2006) con modificaciones. El material biológico colectado se etiquetó y colocó en doble bolsa plástica y se trasladó al vivero de la universidad católica sedes Sapientiae de Nueva Cajamarca (Figura 7).



Figura 7. Colecta de las fuentes de inóculo. Fuente: Elaboración propia

Etapa de vivero

a. Elaboración de las cajas de madera

Se desarrolló la instalación e implementación de las cajas de madera fueron utilizados como contenedores de sustrato para multiplicación de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) según los métodos mencionados por Iriarte *et al.* (2018). Las cajas de madera fueron elaboradas con tres divisiones y fue recubierta con plástico negro grueso para evitar el contacto directo del material biológico con el piso del vivero y cada división albergó 15 kg de material mezclado (Figura 8).



Figura 8. Modelo de caja de madera para la multiplicación de HMA.
Fuente: Elaboración propia.

b. Preparación de material biológico mezclado y siembra de semillas

Para el proceso de combinado de material biológico más arena, se esterilizó arena de río en autoclave a una temperatura de 121 °C, con el fin de eliminar microorganismos patógenos u otros agentes contaminantes, siguiendo el manual de metodologías de HMA de Iriarte *et al.* (2018). Posteriormente, se realizó una mezcla homogénea en una proporción de 50-50 donde se obtuvo un total de 600 kg de material mezclado. Luego la mezcla obtenida se depositó en 12 cajas de madera. Para llevar a cabo el sembrado de las semillas de las plantas trampa, primeramente fueron desinfectados, por lo que se sumergió en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 0.05 % durante 10 minutos y luego fueron lavadas con agua esterilizada. Para la siembra se utilizó como plantas trampa a dos especies de gramíneas: arroz (*Oryza sativa*) y maíz (*Zea mays*). En cada cajón se colocó 48 granos de maíz por repetición de la variedad Marginal y un aproximado de 150 g de arroz variedad INIA (Figura 9).



Figura 9. Preparación de material biológico mezclado y siembra de semillas.

Nota: (a y b) mezcla de arena y suelo rizosférico; (c) pesado de sustrato final; (d) llenado de cajones; (e) siembra de las semillas de arroz; (f). siembra de semilla de maíz. *Fuente:* Elaboración propia.

c. Multiplicación de los hongos micorrízicos arbusculares

El proceso de multiplicación de los hongos micorrízicos arbusculares nativos de los clones ICS y CCN de cacao (Figura 10) y fue llevado a cabo según lo mencionado por Pérez, (2019). La multiplicación fue desarrollada durante 80 días, de los cuales 60 días se realizó actividades de riego diariamente en la mañana y en la tarde con el objetivo de lograr crecimiento uniforme y consecuente de las plantas trampa y 20 días se sometió a estrés hídrico para estimular la esporulación de los hongos micorrízicos arbusculares. Posteriormente, se procedió a cortar las plantas trampa de la base a 3 cm de altura del nivel del suelo para facilitar la recolección de las muestras para su evaluación respectiva en laboratorio.

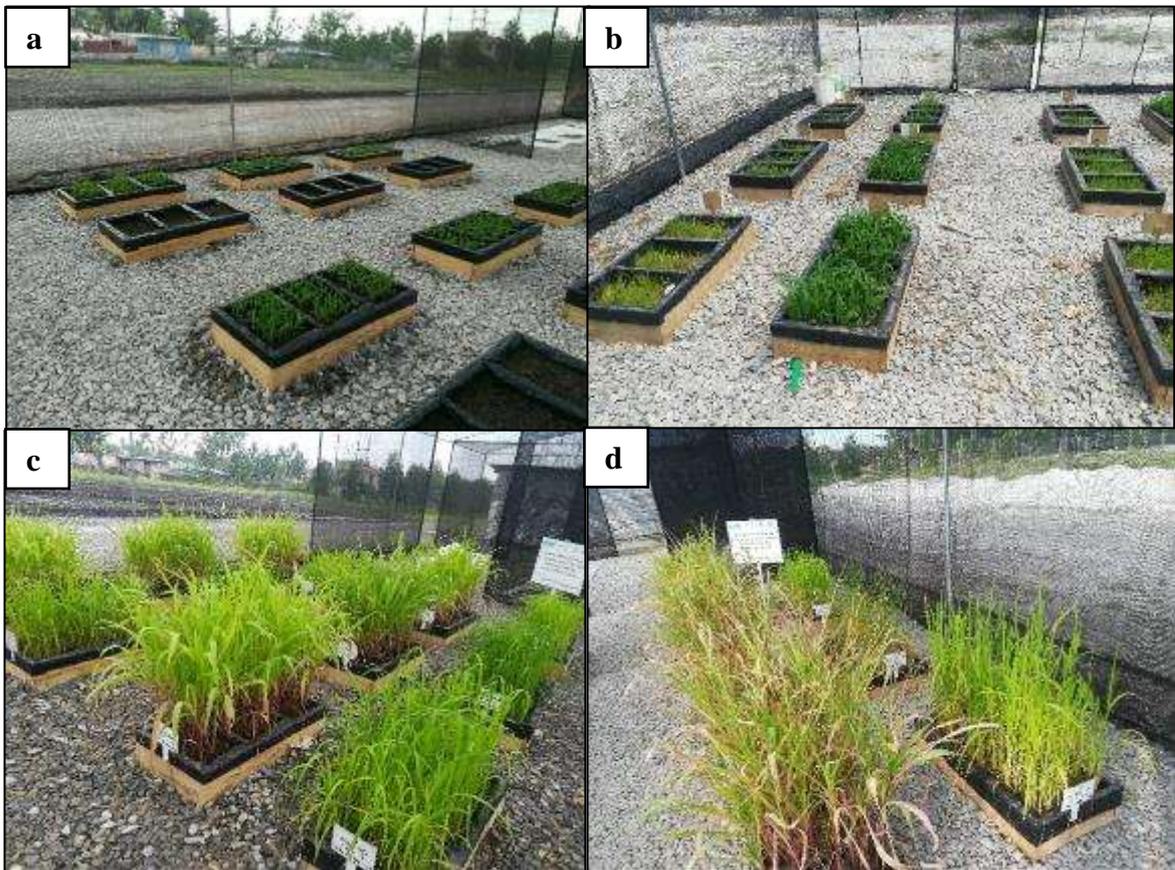


Figura 10. Proceso de multiplicación de los HMA nativos.

Nota: (a) germinación de semillas; (b) 15 días después de siembra; (c) 60 días después de siembra; (d) inicio del período de estrés hídrico. Fuente: Elaboración propia.

Etapa de laboratorio

a. Aislamiento y cuantificación de esporas

El aislamiento de esporas de HMA nativos de cacao provenientes de tres provincias de la región San Martín, siguiendo la metodología propuesta por León, (2006), con modificaciones, se realizó a través de la técnica de tamizado húmedo y decantación, metodología de Gerdemann y Nicolson, (1963) y solución de sacarosa (Jenkins, 1964), con modificaciones. Como primer paso del procedimiento se preparó dos soluciones azucaradas, al 20 % y 60 % respectivamente, luego se colocó a refrigerar por un tiempo aproximado de una hora para lograr la formación de dos interfaces al momento de mezclarlos en los tubos de falcón.

El procedimiento consistió en coger una placa Petri y pesar 20 g de muestra de suelo, y se agregó suficiente agua hasta completar el nivel de la placa para humedecer y suavizar la muestra, se dejó reposar por dos minutos. Luego se colocó en un recipiente con capacidad de 5 L, al cual se le llenó de agua en un 80 % de su capacidad y se agitó por 30 segundos haciendo uso de una baqueta de madera, luego se dejó reposar la mezcla por un periodo de 30 segundos y en seguida se vació con cuidado sólo el sobrenadante sobre los tamices de 250 y 38 μm , el mismo modo se repitió 5 veces y luego se descartó el restante del recipiente.

Después se enjuagó cada tamiz, el contenido del tamiz de 38 μm se colocó en un tubo de falcón que con anterioridad se colocó solución azucarada 10 ml al 20 % seguido de 20 ml al 60 % y se procedió a colocar en refrigeración hasta terminar de procesar todas las muestras. Posteriormente se sometieron a proceso de centrifugación a 3500 rpm/5 minutos para precipitar las partículas de suelo y suspender las esporas en la interfaz generado entre las dos soluciones azucaradas. Finalmente se retiraron cada tubo de la centrífuga y se colocó el contenido sobrenadante en un tamiz de 38 μm , en seguida se procedió a lavar con agua corriente para eliminar restos de sacarosa, dejando libre a las esporas. Luego haciendo uso de una pizeta se colocó las esporas en una placa Petri delineada (1 cm) con el fin de facilitar el conteo de las esporas e identificación de los morfotipos. Finalmente se procedió a observar las esporas haciendo uso de un microscopio estereoscópico a 2X de aumento (Figura 11).



Figura 11. Aislamiento y cuantificación de esporas

Nota: (a) soluciones azucaradas 20 % y 60 %; (b) muestras de suelo rizosférico; (c) pesado de 20 g de muestra; (d) placas con muestras humedecidas; (e) envases de 5 litros para decantación; (f) tamizado de las muestras; (g-h) tubo de falcón con soluciones azucaradas y con muestras; (i) proceso de centrifugación; (j) observación, separación y cuantificación de esporas. *Fuente:* Elaboración propia.

b. Aislamiento de esporas e identificación de morfotipos

De cada muestra procesada con la metodología propuesta por León, (2006), descrita en el proceso anterior y con el uso de una micropipeta de 10 ml, comenzó el proceso de aislamiento, separación y limpieza de las esporas de las muestras presentes en las placas Petri (ver Apéndice 3). De cada muestra con contenido de esporas, se colocó sobre papel filtro y con ayuda de un estilete se limpió con mucha precisión una por una cada espora, terminado el proceso de limpieza se depositó las esporas limpias en una luna de reloj con agua destilada, luego se separó y agrupó por color, tamaño y forma y fueron montados en una lámina porta objetos con soluciones del reactivo lactoglicerina, polivinil-lactoglicerina (PVLG) y PVLG más Melzer. Concluido el proceso de montaje, las laminillas portan objeto, fueron trasladadas a una plancha de proporción calorífica no mayor de 40 centígrados por tres días para ayudar el secado y reacción de los reactivos. Finalmente, cada laminilla se llevó al microscopio para ser observados minuciosamente a cada una de las esporas presentes en las muestras (Figura 12).

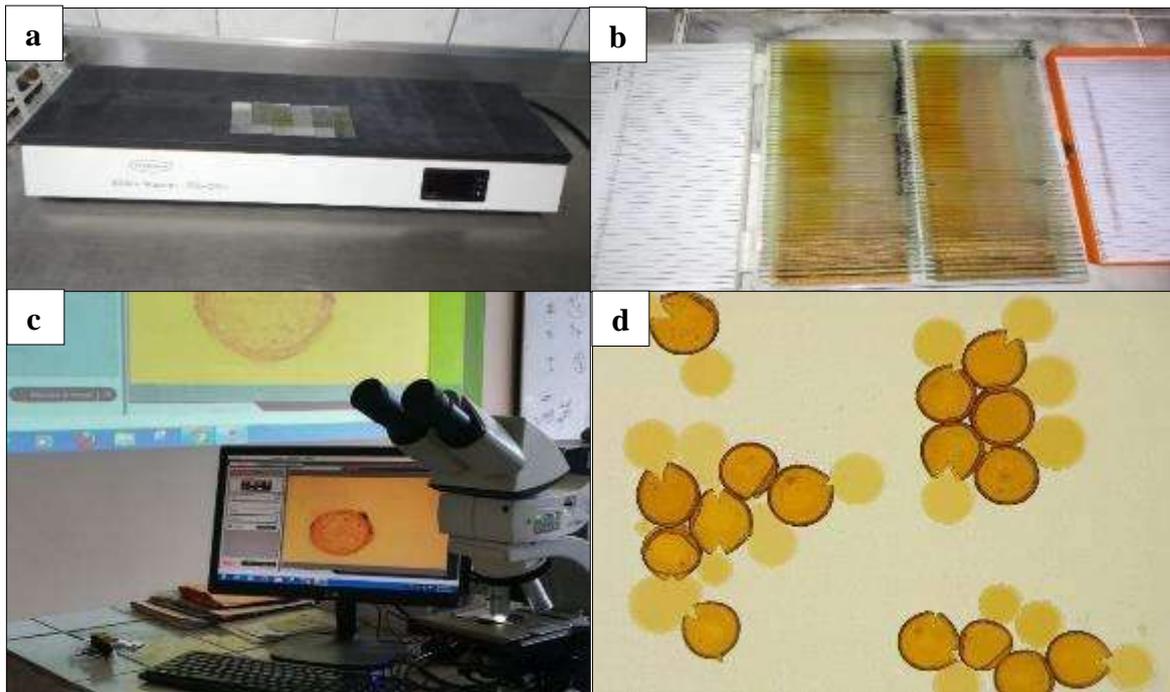


Figura 12. Aislamiento de esporas e identificación de morfotipos

Nota:(a) secado de reactivo; (b) caja con láminas conteniendo esporas; (c) observación al microscopio; (d) agrupación de esporas viables. *Fuente:* Elaboración propia.

c. Tinción y montaje de raíces de las plantas trampa (Colonización Micorrízica)

La tinción de las raíces se realizó de acuerdo con la técnica de Phillips y Hayman, (1970) con modificaciones. Para ello, las raíces se colocaron en placas Petri con agua por dos minutos para lavar de restos de suelo adherido y después se depositaron en tubos de ensayo de 16 x 150 mm y en donde se agregó hidróxido de potasio (KOH) al 10 % hasta cubrir la muestra por un tiempo de 3 horas con el fin de hidratar las raíces. Luego los tubos fueron colocados en baño maría a 90 °C durante 45 minutos con la finalidad de remover el contenido citoplasmático y clarificar el tejido cortical de las raíces. Una vez sacado del baño maría, rápidamente se agregó agua oxigenada (H₂O₂) de 20 volúmenes por un tiempo de 1 minuto a temperatura ambiente para clarificar los pigmentos de las raíces, luego se desechó el contenido líquido restante y ligeramente se procedió a lavar las raíces con agua corriente entre dos y tres veces. Posteriormente, en cada tubo se agregó tinta azul Parker (5.7 %), hasta cubrir la muestra y se dejó reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente y recurrido ese tiempo fueron colocadas en baño maría por un tiempo de 15 minutos más a 90 °C. Concluido el tiempo se desechó el excedente de tinta de los tubos y se enjuagó las raíces entre 2 y 3 veces con lactoglicerol. Finalmente, las raíces teñidas fueron conservadas con lactoglicerol a temperatura ambiente hasta su evaluación.

Una vez concluido la etapa de tinción, se procedió a la etapa de montaje de las raíces en las láminas porta objeto, proceso que consistió en vaciar en una placa Petri todas las raíces teñidas contenidas dentro de los tubos de ensayo que fueron conservadas con Lactoglicerol, en la cual se tomó una laminilla porta objeto y con ayuda de una pinza se montó en dos campos un total de 20 raíces (10 raíces por cada campo), cada raíz de 1.5 cm y se colocó las laminillas cubre objeto cuidadosamente, quedando listas para su evaluación en el microscopio (Figura 13). La evaluación se realizó en el microscopio a 10x, 20x y 40x de aumento en la que se logró observar presencia y ausencia de estructuras micorrizas de los HMA (hifas, arbuscúlos, esporas y vesículas) (ver Apéndice 4,5,6, y 7), siguiendo la metodología de Brundrett *et al.* (1996).

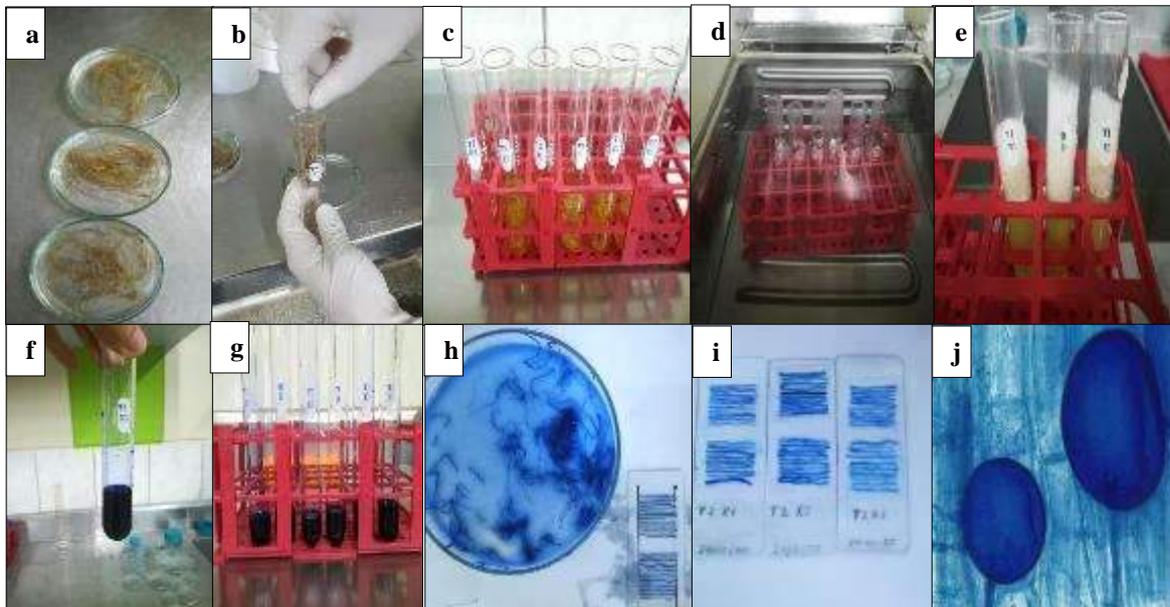


Figura 13. Tinción y montaje de raíces de las plantas trampa.

Nota: (a) lavado de raíces de restos de suelo; (b) colocación de raíces a tubos de ensayo; (c) muestras con KOH; (d) muestras en baño maría; (e) muestras con agua oxigenada de 20 volúmenes; (f) muestra con tinta Parker; (g) muestras en lactoglicerol; (h) selección y montaje de raíces; (i) lamininas con raíces montadas listas para evaluar; (j) presencia de vesículas observadas con objetivo 10x a escala de 50 μm . *Fuente:* Elaboración propia.

2.1.4. Tratamientos

El estudio fue constituido por 12 tratamientos con 3 tres repeticiones, compuestos por el factor A, las tres provincias como fuente de inóculo de esporas de HMA (Mariscal Cáceres, Lamas y Rioja), el factor B, los dos clones de cacao (CCN y ICS) y el factor C, los dos tipos de plantas trampa (arroz y maíz). La combinación de los tratamientos se describe a continuación (Tabla 2).

Tabla 2

Descripción de los tratamientos en estudio

Provincias	Clones	Planta trampa (PT)	Tratamientos
Mariscal Cáceres (MC)	CCN	Arroz (A)	T1
Lamas (L)	ICS	Arroz (A)	T2
Lamas (L)	CCN	Arroz (A)	T3
Mariscal Cáceres (MC)	CCN	Maíz (M)	T4
Rioja (R)	CCN	Maíz (M)	T5
Rioja (R)	ICS	Maíz (M)	T6
Mariscal Cáceres (MC)	ICS	Arroz (A)	T7
Lamas (L)	CCN	Maíz (M)	T8
Rioja (R)	CCN	Arroz (A)	T9
Lamas (L)	ICS	Maíz (M)	T10
Rioja (R)	ICS	Arroz (A)	T11
Mariscal Cáceres (MC)	ICS	Maíz (M)	T12

Fuente: Elaboración propia.

2.1.5. Unidades experimentales

La población total estuvo constituida por 600 kg de material mezclado (suelo rizosférico + arena de río esterilizada) distribuidos en 12 tratamientos con 3 tres repeticiones, teniendo un total de 36 unidades experimentales (Tabla 3). Cada unidad experimental albergó 16 kg del material mezclado. De la población total sólo se consideró como muestra 100 g de material biológico multiplicado por tratamiento (33.3 g por repetición).

Tabla 3*Distribución de las unidades experimentales del estudio*

Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Tratamientos
A1B1C1	A1B1C1	A1B1C1	T1
A1B1C2	A1B1C2	A1B1C2	T2
A1B2C1	A1B2C1	A1B2C1	T3
A1B2C2	A1B2C2	A1B2C2	T4
A2B1C1	A2B1C1	A2B1C1	T5
A2B1C2	A2B1C2	A2B1C2	T6
A2B2C1	A2B2C1	A2B2C1	T7
A2B2C2	A2B2C2	A2B2C2	T8
A3B1C1	A3B1C1	A3B1C1	T9
A3B1C2	A3B1C2	A3B1C2	T10
A3B2C1	A3B2C1	A3B2C1	T11
A3B2C2	A3B2C2	A3B2C2	T12

Fuente: Elaboración propia.**2.1.6. Identificación de variables y su mensuración****a. Número de esporas de HMA**

Se refiere a la presencia de esporas viables de hongos micorrízicos arbusculares que son posibles de cuantificar y observar su conformación (agrupados o dispersos) dentro de un grupo determinado de muestras, generalmente son expresados en número de individuos (esporas) presentes en una cantidad de volumen de suelo seco (Robles *et al.*, 2013). La cuantificación de esporas HMA nativos extraídos suelos asociados a plantaciones de cacao y reproducidos mediante multiplicación en cultivos trampa durante 80 días, fue realizado a través de la metodología de tamizado húmedo y decantación propuesta por (León, 2006), acondicionando algunas modificaciones.

b. Caracterización por morfotipos de esporas nativas predominantes de HMA

Para la caracterización de morfotipos, las esporas fueron separadas de acuerdo con sus características morfológicas como color, tamaño y forma; asimismo, su reacción con el reactivo PVLG y PVLG + Melzer. Las esporas fueron cuantificadas y separadas por morfotipos como indicador estimado de la diversidad poblacional de las muestras, las cuales se detallan en los resultados. Se consideraron morfotipos predominantes las que tuvieron un

número mayor de 10 individuos (esporas) por muestra de suelo (Sandoval, 2019). El procedimiento de aislamiento de esporas fue realizado en el Laboratorio de Biología y Genética Molecular de la Universidad Nacional de San Martín -Tarapoto - San Martín.

c. Porcentaje de colonización micorrízica

El proceso de tinción de raíces fue realizado utilizando metodología de tinción propuesta por (Phillips y Hayman, 1970). Las muestras estuvieron conformadas por pequeñas raíces (secundarias y terciarias) extraídas de las plantas de arroz y maíz después de 80 días de desarrollo en vivero. De todas las raíces contenidas en las muestras, solamente fueron utilizados 20 segmentos de raíces y de 1.5 cm de longitud, las cuales se montaron en laminas porta objeto (10 raíces por cada campo), quedando listas para su evaluación en el microscopio.

El proceso de evaluación de la colonización micorrízica se realizó mediante la metodología propuesta por Brundrett *et al.* (1996), que consistió en ubicar en la mira del microscopio un segmento de la raíz y dividirlo en 3 zonas de observación (superior, intermedio e inferior) (Figura 14). Cada zona se observó minuciosamente y se marcó en un cuadernillo la presencia y ausencia de estructuras micorrízicas (vesículas, arbuscúlos e hifas), proceso que se hizo con los 20 segmentos montados en la lámina portaobjeto (Figura 15).

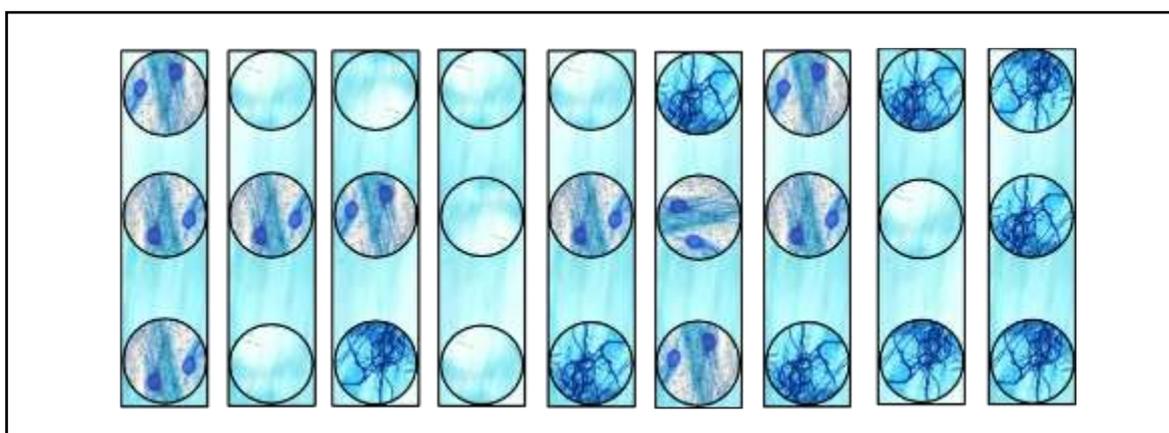


Figura 14. Proceso de evaluación de la colonización micorrízica

Nota: Lámina porta objeto que sostiene a los segmentos de raíces y campos de observación: presencia y ausencia de estructuras micorrízicas. Según metodología propuesta por Brundrett *et al.* (1996). Fuente: Elaboración propia.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
✓	x	✓	✓	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	x	✓
✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	x	✓	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Figura 15. Cálculo de la colonización micorrízica

Nota: Lámina con 20 segmentos de raíces: x=Ausencia; ✓=Presencia

Fuente: Elaboración propia.

Para el cálculo de la colonización micorriza de HMA en las raíces de las plantas trampa se llevó a cabo a través de la siguiente fórmula matemática.

$$\% \text{ Colonización micorrízica} = \frac{\text{Nº de segmentos colonizados}}{\text{Nº total de segmentos evaluados}} \times 100$$

2.1.7. Diseño estadístico del experimento

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial 3 X 2 X 2, 3A (Fuentes de inóculo HMA) x 2B (Clon de cacao) x 2C (cultivo trampa), con 03 repeticiones distribuidos aleatoriamente.

Los análisis se realizaron según el siguiente modelo matemático.

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + E_{ijkl}$$

Y_{ijkl} = Valor de i-ésimo nivel del factor A, j-ésimo nivel del factor B, k-ésimo nivel del factor C y l-ésima repetición

μ = media general

α_i = efecto del i-ésimo nivel del factor A

β_j = efecto del j-ésimo nivel del factor B

γ_k = efecto del k-ésimo nivel del factor C

$(\alpha\beta)_{ij}$ = efecto de la interacción de los factores A y B

$(\beta\gamma)_{jk}$ = efecto de la interacción de los factores B y C

$(\alpha\gamma)_{ik}$ = efecto de la interacción de los factores A y C

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$ = efecto de la interacción de los factores A, B y C

E_{ijkl} = error

La Tabla 4 muestra los factores comprendidos en la investigación.

Tabla 4

Diseño estadístico del experimento

Factor A (Fuentes de inóculo HMA)	Factor B (Clon de cacao.)	Factor C (Plantas trampa)
A1: HMA - Rioja	B1: ICS.	C1: <i>Oryza sativa</i> L.
A2: HMA-Lamas	B2: CCN.	C2: <i>Zea mays</i> L.
A3: HM- Mariscal Cáceres		

Fuente: Elaboración propia.

2.1.8. Análisis estadístico de datos

Todos los datos obtenidos de la investigación fueron depositados y tabulados en hojas de cálculo Excel, los cuales fueron procesados y analizados mediante el uso del software estadístico **R**. Previo a ello, se realizó una prueba de comparación de normalidad de datos (Shapiro-Wilk), un análisis de varianza (ANVA) y Duncan $=p < 0.05$ (para homocedasticidad u homogeneidad de varianzas).

CAPÍTULO III: RESULTADOS

3.1. Número de esporas de HMA (Densidad)

3.1.1. Conteo inicial de esporas

Se realizó un conteo inicial de la densidad de esporas (ver Apéndice 8) presentes por cada 100 g de suelo rizosférico nativo de los clones ICS y CCN de cacao (de las plantaciones pertenecientes a las provincias de Lamas, Mariscal Cáceres y Rioja, de la Región San Martín (Tabla 5).

Tabla 5

Promedio de la densidad inicial de esporas de HMA en 100 g de campo

Tratamientos	Promedio conteo inicial
T1 (MC-CCN-A)	182.22
T2 (L-ICS-A)	337.78
T3 (L-CCN-A)	222.22
T4 (MC-CCN-M)	216.67
T5 (R-CCN-M)	222.22
T6 (R-ICS-M)	205.56
T7 (MC-ICS-A)	194.44
T8 (L-CCN-M)	301.11
T9 (R-CCN-A)	227.78
T10 (L-ICS-M)	295.56
T11 (R-ICS-A)	198.89
T12 (MC-ICS-M)	246.67

Fuente: Elaboración propia.

La Tabla 6 y la Figura 16 muestran el ANVA y la Prueba Breusch-Pagan test ($p < 0.05$), para el número de esporas inicial. Los datos si cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza (ver Apéndice 9).

Tabla 6*ANVA del número de esporas inicial de esporas en 100 g de suelo de campo*

FV	SC	gL	CM	F	p-valor
Modelo	77 914.61	11	7083.15	0.46	0.9084
Provincia	47 954.75	2	23 977.37	1.57	0.2295
Clon	2844.44	1	2844.44	0.19	0.6703
Planta	3871.74	1	3871.74	0.25	0.6197
Provincia*clon	9123.78	2	4561.89	0.30	0.7451
Provincia*planta	2770.85	2	1385.43	0.09	0.9138
Clon*planta	2075.41	1	2075.41	0.14	0.7160
Provincia*clon*planta	9273.62	2	4636.81	0.30	0.7415
Error	367 544.22	24	15 314.34		
Total	445 458.82	35			

Fuente: Elaboración propia.

Según el análisis de varianza (Tabla 6), indica que no existen diferencias significativas en las interacciones estudiadas.

El estudio permitió demostrar que las muestras de suelo asociados a los clones de cacao ICS y CCN de las tres provincias hubo presencia de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (Tabla 5). La muestra que presentó la mayor cantidad de esporas en 100 g de suelo corresponde a los clones pertenecientes de la provincia de Lamas: con 317 esporas para el clon ICSS y 262 esporas para CCN, seguido de la provincia de Rioja con 202 y 225 para los clones ICS y CCN respectivamente, y la provincia de Mariscal Cáceres con 221 esporas para el clon ICS y 199 para CCN, siendo esta última la provincia con menor promedio total de esporas.

3.1.2. Cuento final de esporas

Se realizó el conteo final de esporas en 100 g de suelo (ver Apéndice 10), y la tabla 7 muestra la densidad esporas promedio, después de la multiplicación con plantas trampa.

Tabla 7

Promedio de la densidad final de esporas por tratamiento en 100 g de suelo

Tratamientos	Promedio conteo final
T1 (MC-CCN-A)	5733.33
T2 (L-ICS-A)	5450.00
T3 (L-CCN-A)	4250.00
T4 (MC-CCN-M)	14 160.00
T5 (R-CCN-M)	11 000.00
T6 (R-ICS-M)	7510.00
T7 (MC-ICS-A)	174 766.67
T8 (L-CCN-M)	7553.33
T9 (R-CCN-A)	2886.67
T10 (L-ICS-M)	4053.33
T11 (R-ICS-A)	3693.33
T12 (MC-ICS-M)	67 726.67

Fuente: Elaboración propia.

La Tabla 8 muestran el ANVA para el número de esporas final de HMA propagados en dos tipos de plantas trampa y evaluados a 80 días después de la siembra (DDS) en condiciones de vivero. Los datos de densidad final no cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza por lo que se procedió a realizar una transformación logarítmica, luego de la cual si se cumplieron los supuestos (ver Apéndice 11).

Tabla 8*ANVA del número de esporas de HMA multiplicados*

FV	SC	gL	CM	F	p-valor
Modelo	51.29	11	4.66	93.59	<0.0001**
Provincia	25.50	2	12.75	255.98	<0.0001**
Clon	4.94	1	4.94	99.25	<0.0001**
Planta	1.27	1	1.27	25.44	<0.0001**
Provincia*clon	14.10	2	7.05	141.48	<0.0001**
Provincia*planta	1.99	2	0.99	19.97	<0.0001**
Clon*planta	2.86	1	2.86	57.45	<0.0001**
Provincia*clon*planta	0.62	2	0.31	6.26	0.0065**
Error	1.20	24	0.05		
Total	52.48	35			

*Nota: **= Altamente Significativo**Fuente: Elaboración propia.*

El análisis de varianza (Tabla 8), indica que existen diferencias altamente significativas (**) en todos los factores estudiados incluido la interacción triple, lo que significa un resultado estadísticamente muy bueno, mostrando además una media de 25 732 esporas, con un coeficiente de variabilidad de 2.44 % y un coeficiente de determinación (R^2) de 98 %, estos resultados indican un alto grado de confiabilidad en la toma de datos y afinidad de la variable respuesta con los tratamientos estudiados, estando dentro del rango de dispersión aceptable, para trabajos de investigación a nivel de vivero. Continuación se muestran las figuras obtenidas para cada factor con presencia de significancia estadística.

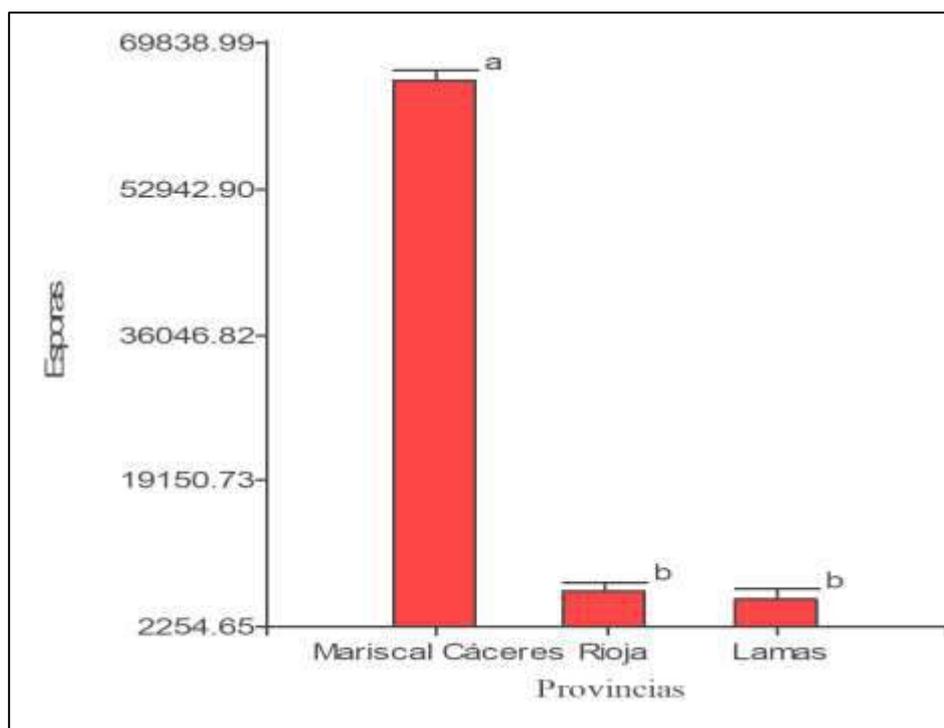


Figura 16. Prueba de Duncan ($p < 0.05$) para el factor provincias en la variable densidad de esporas.

Nota: Medias diferentes indican diferencias significativas. Fuente: Elaboración propia.

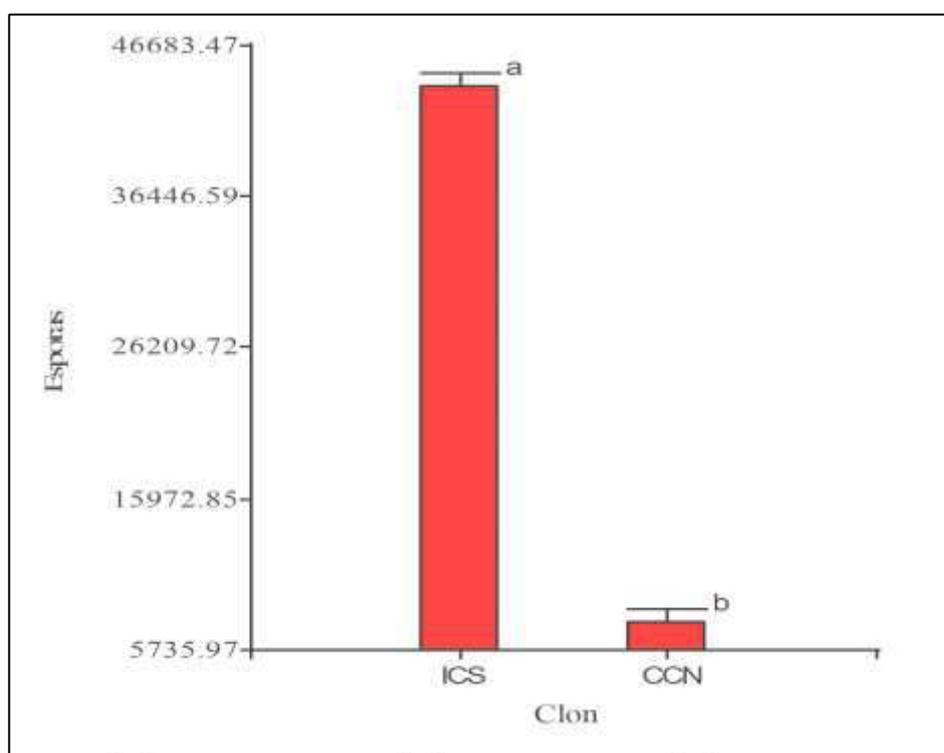


Figura 17. Prueba de Duncan ($p < 0.05$) para el factor clon en la variable densidad de esporas.

Nota: Medias diferentes indican diferencias significativas. Fuente: Elaboración propia.

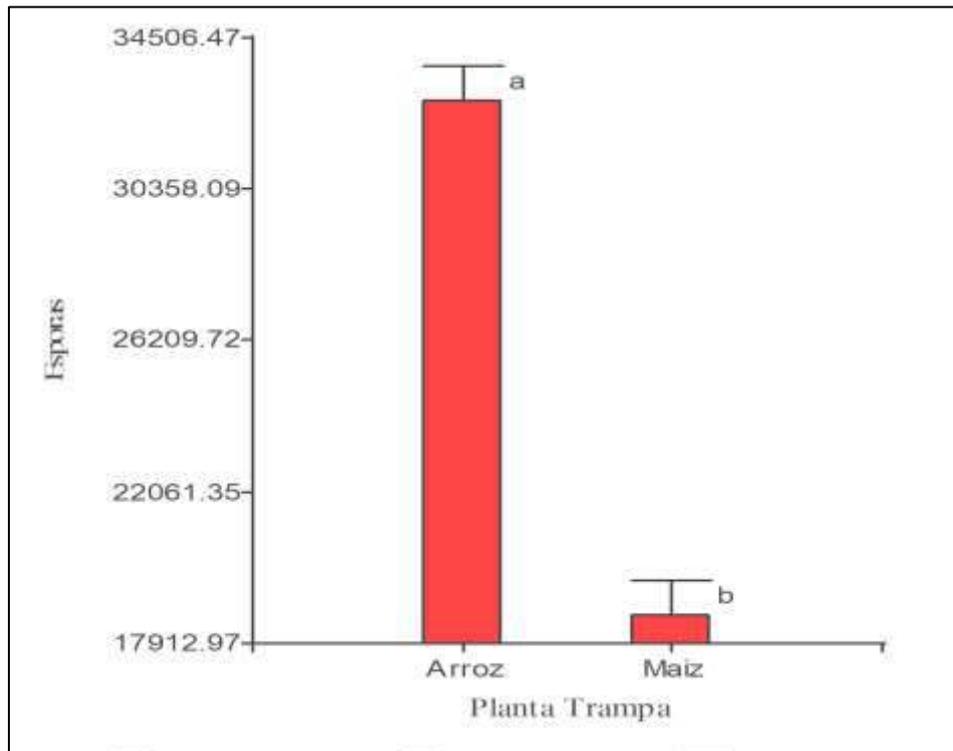


Figura 18. Prueba de Duncan ($p < 0.05$) para las plantas trampa en la variable densidad de esporas.

Nota: Medias diferentes indican diferencias significativas. Fuente: Elaboración propia.

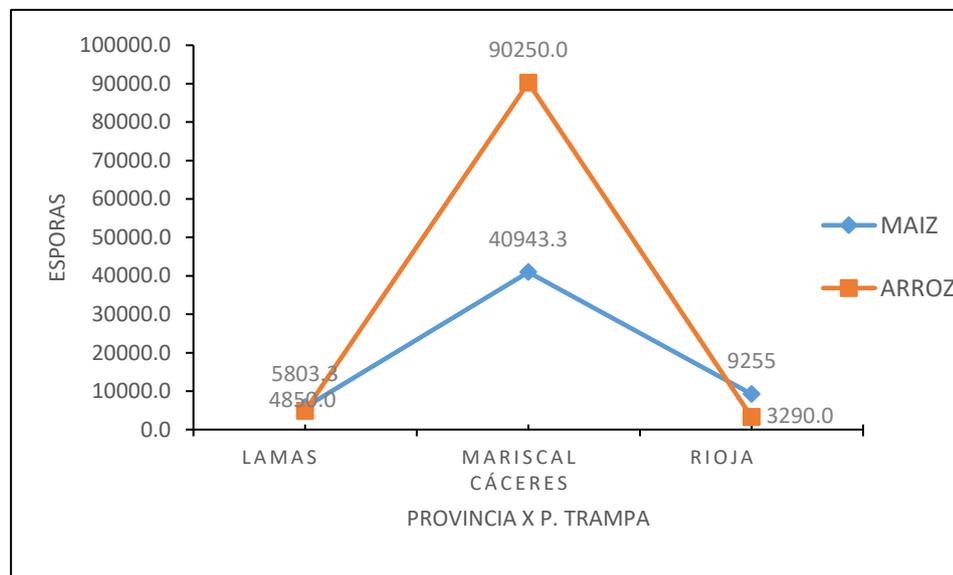


Figura 19. Efecto de interacción entre provincias y plantas trampa respecto al número de esporas.

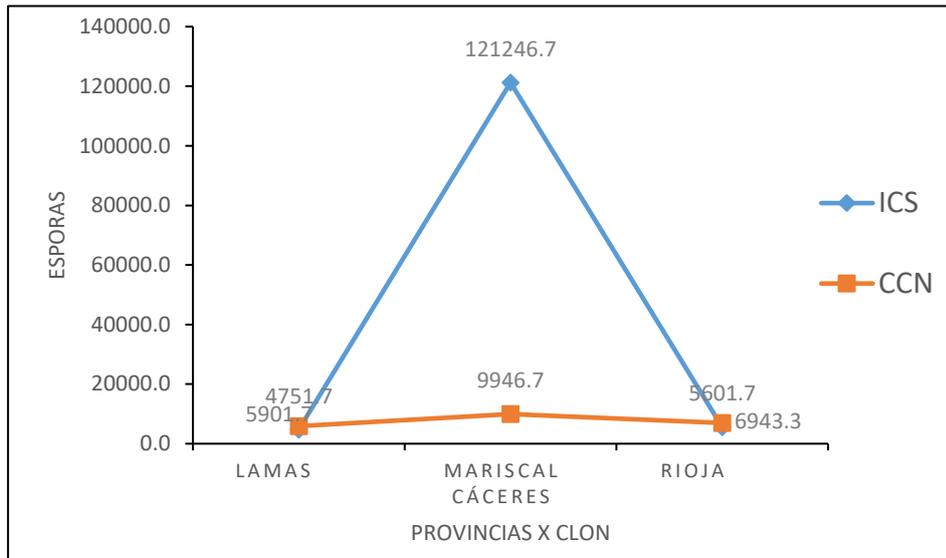


Figura 20. Efecto de interacción entre provincias y clon respecto al número de esporas. Fuente: elaboración propia

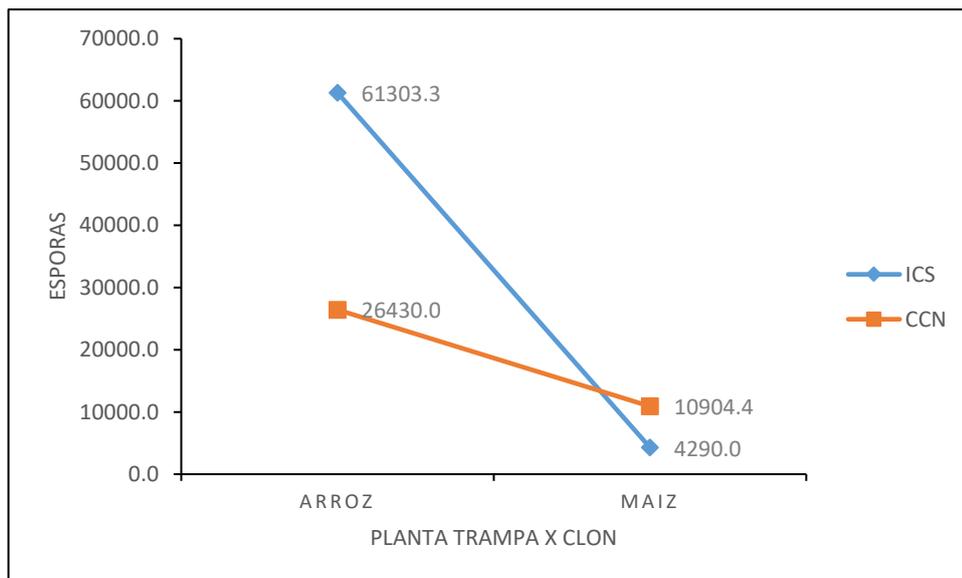


Figura 21. Efecto de interacción entre plantas trampa y clon respecto al número de esporas. Fuente: Elaboración propia.

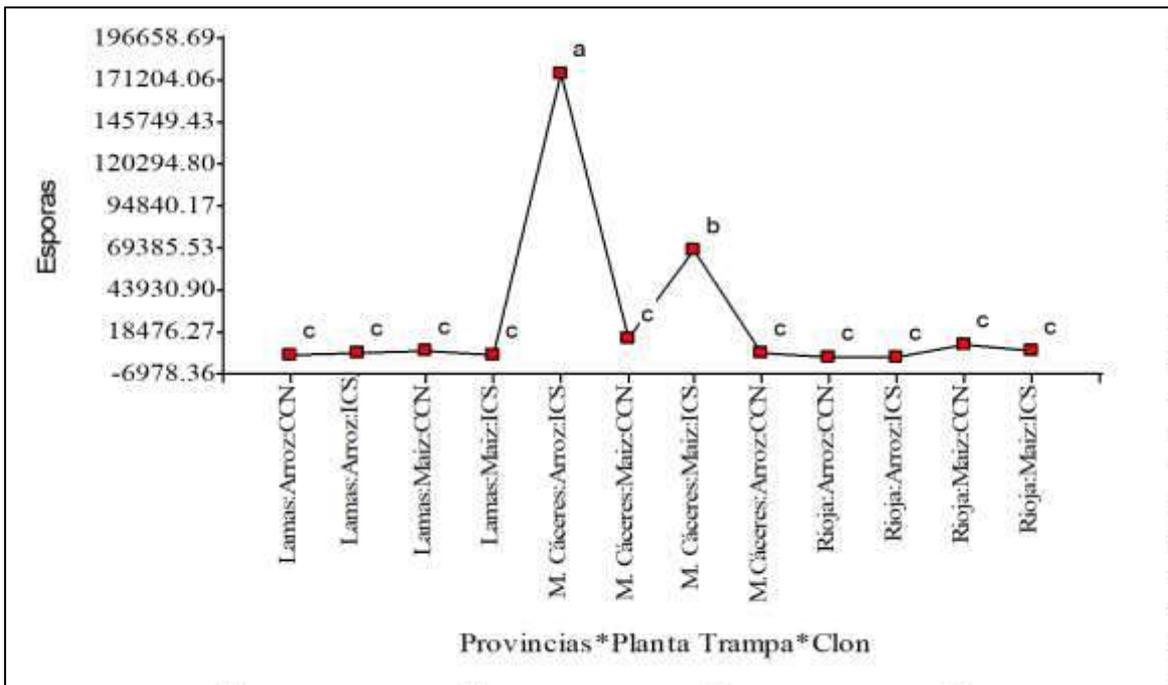


Figura 22. Prueba de Duncan ($p < 0.05$) de los factores provincia, planta trampa y clon respecto al número de esporas final de HMA.

Nota: Medias diferentes indican diferencias significativas. Fuente: Elaboración propia.

La Figura 16, muestra el análisis de Duncan ($p < 0.05$) para el factor provincias en relación con la variable número esporas (densidad), demostró que la fuente de inóculo de la provincia Mariscal Cáceres fue estadísticamente diferente al de las provincias Rioja y Lamas respectivamente.

La Figura 17, muestra el análisis de Duncan ($p < 0.05$) para el factor clon en la variable densidad de esporas, el suelo rizosférico del clon ICS mostró ser estadísticamente diferente al clon CCN, siendo este último el que menor cantidad de esporas reportó.

La figura 18, muestra la Prueba de Duncan ($p < 0.05$) para las plantas trampa en la variable densidad de esporas. La planta trampa que menor capacidad para multiplicar esporas fue la planta de maíz, siendo ampliamente superado por la planta de arroz, demostrándose la existencia de diferencias estadísticas entre sí.

La Figura 19, muestra el efecto de la interacción entre provincias y plantas trampa respecto al número de esporas, el cual demostraron que los suelos de la provincia de Mariscal Cáceres y multiplicados en las plantas de arroz fueron superiores al de las demás provincias, a pesar de haberse multiplicado en las dos plantas trampa. Asimismo, la Figura 20, muestra el efecto de la interacción entre provincias y clon respecto al número de esporas, los cual demostraron que los suelos del clon ICS provenientes de la provincia de Mariscal Cáceres obtuvieron 121246.7 esporas, siendo superior clon CCN que mostró 9946.7 esporas. Además, permitió demostrar que la cantidad de esporas obtenidas de la multiplicación con los suelos de las demás provincias Lamas y Rioja presentaron valores inferiores.

La Figura 21, muestra el efecto de la interacción entre plantas trampa y clones respecto al número de esporas, el cual demostró que el suelo de los clones ICS Y CCN inoculados en la planta de arroz presentaron mayor capacidad de esporulación con 61 303.3 y 26 430 esporas en 100 g de suelo seco siendo superior a lo obtenido en las plantas de maíz que obtuvieron 4290 esporas para el clon ICS y 10 904 para CCN, lográndose así demostrar que la planta de arroz presentó mayor capacidad para la multiplicación de esporas.

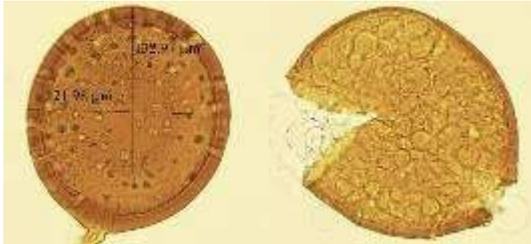
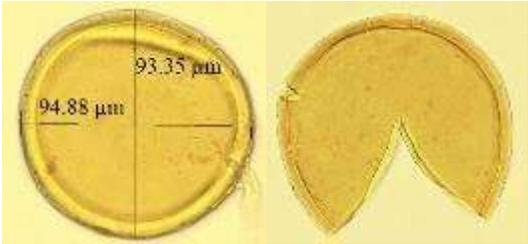
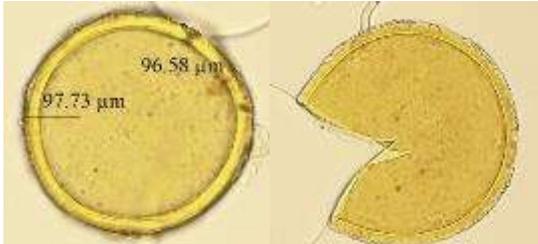
La figura 22, muestra la Prueba Duncan ($p < 0.05$) de los factores provincia, planta trampa y clon respecto al número de esporas final de HMA, muestra que el T7 (Mariscal Cáceres: ICS: Arroz) obtuvo el mayor número de esporas de HMA (174 766. 67 esporas en promedio), seguido del T12 (Mariscal Cáceres: ICS: Maíz) con 67 726. 67 esporas de HMA en promedio, lo que demuestra que, la fuente de inóculo Mariscal Cáceres influyó sobre la esporulación micorrícica, en especial medida con la planta trampa arroz (independientemente del tipo de clon, que fue ICS para ambos). Otro dato importante a favor del arroz sería que este cultivo tiene mayor densidad radicular que el maíz, lo que favoreció la multiplicación micorrícica extrarradicular. Todo esto en comparación con los demás tratamientos, quienes no tuvieron diferencias estadísticas significativas entre sí, al estar en un rango mucho menor (entre 2000 y 14000 esporas).

3.2. Caracterización por morfotipos de esporas nativas predominantes de HMA

Teniendo en cuenta las características morfológicas (tamaño, forma, color, y reacción al reactivo Melzer) de las esporas de HMA colectados de suelos rizosférico de cacao pertenecientes a tres provincias de la región San Martín (Rioja, Lamas y Mariscal Cáceres) y multiplicados bajo condiciones de vivero haciendo uso de dos plantas trampa (arroz y maíz) por un periodo de 60 días de crecimiento y 20 días de estrés hídrico, se logró identificar 38 morfotipos predominantes presentes en los distintos tratamientos (Tabla 9).

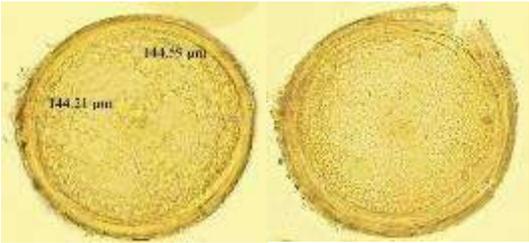
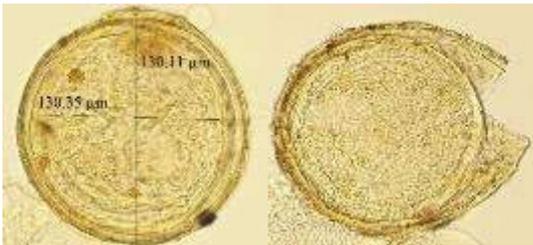
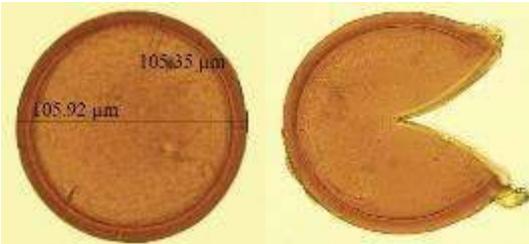
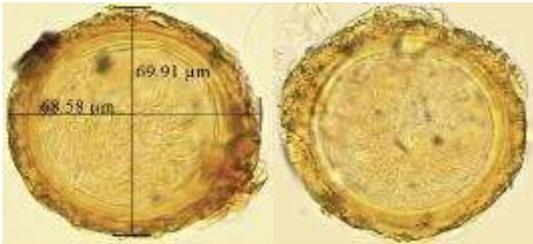
Tabla 9

Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes

CÓDIGO	MELZER	PVLG	CARACTERÍSTICAS
M1			<p>Color: Marron Forma: Globosa Tamaño : 121.98 μm - 132.97 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M2			<p>Color: Amarillo oscuro Forma: Globosa Tamaño : 97.73 μm - 96.58 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>

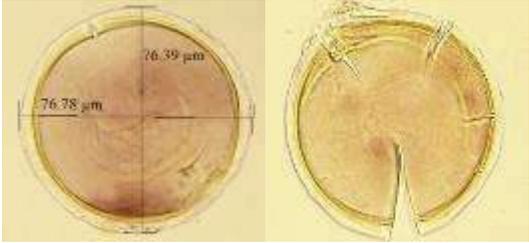
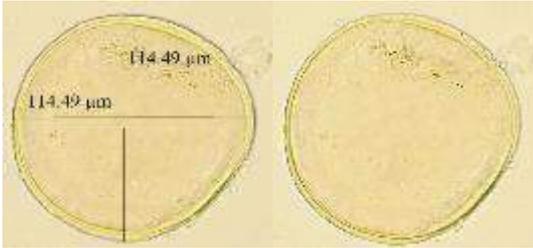
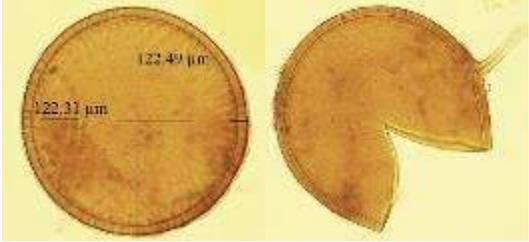
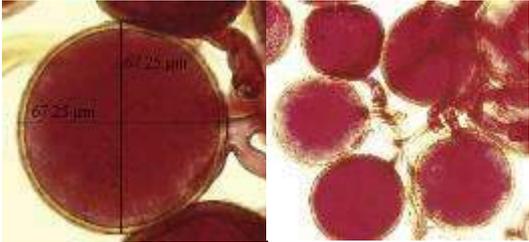
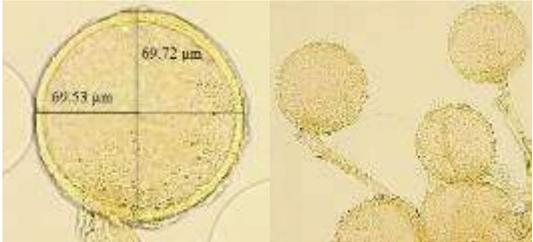
Nota: M=Morfotipos. *Fuente:* Elaboración propia.

Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes (continuación)

CÓDIGO	MELZER	PVLG	CARACTERÍSTICAS
M3			<p>Color: Amarillo claro Forma: Globosa Tamaño : 130.35 μm - 130.11 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M4			<p>Color: Marron Forma: Globosa Tamaño : 109.35 μm - 111.82 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No Género: Glomus</p>
M5			<p>Color: Amarillo oscuro Forma: Globosa Tamaño : 68.58 μm - 69.91 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>

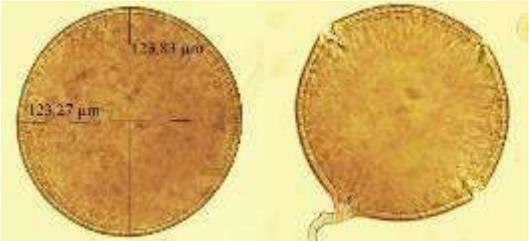
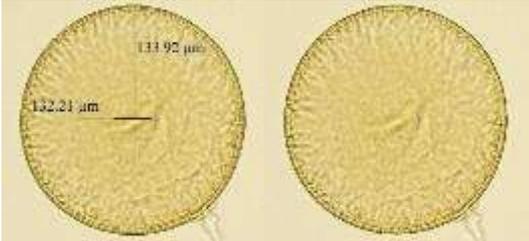
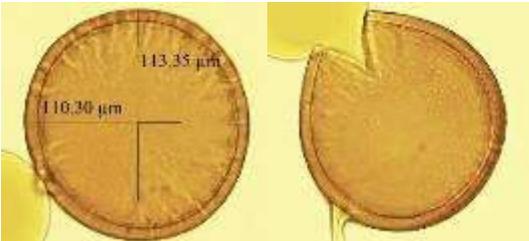
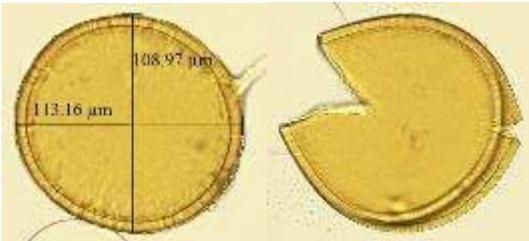
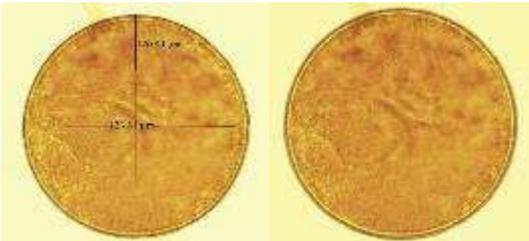
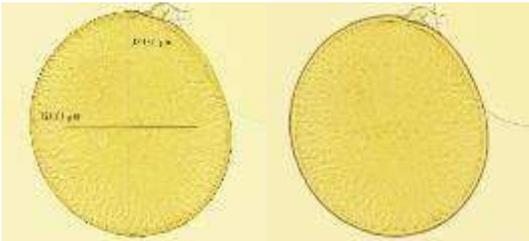
Nota: M=Morfotipos. Fuente: Elaboración propia.

Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes (continuación)

CÓDIGO	MELZER	PVLG	CARACTERÍSTICAS
M6			<p>Color: Amarillo claro Forma: Globosa Tamaño : 114.49 μm - 114.49 μm Reaccion a reactivo Melzer: Si Ornamentacion: No</p>
M7			<p>Color: Amarillo Oscuro Forma: Globosa Tamaño : 116.21 μm - 116.01 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M8			<p>Color: Amarillo Claro Forma: Globosa Tamaño : 69.53 μm - 69.72 μm Reaccion a reactivo Melzer: Si Ornamentacion: No</p>

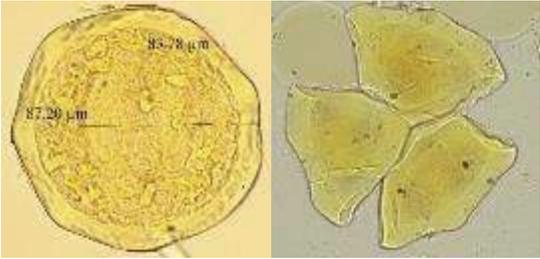
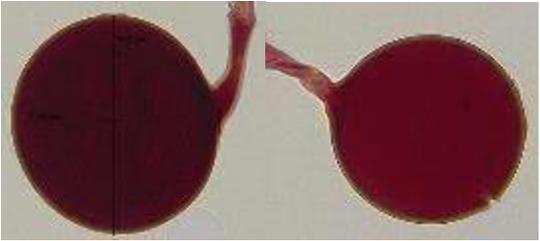
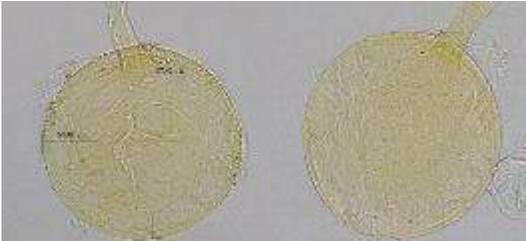
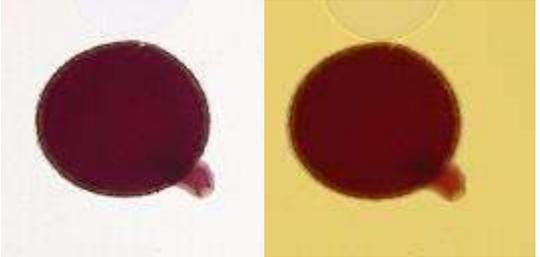
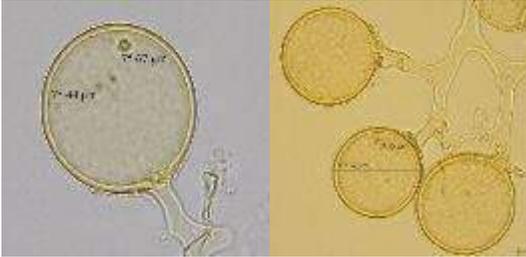
Nota: M=Morfotipos. Fuente: Elaboración propia.

Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes (continuación)

CÓDIGO	MELZER	PVLG	CARACTERÍSTICAS
M9			<p>Color: Amarillo claro Forma: Globosa Tamaño : 132.21 µm - 132.92 µm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M10			<p>Color: Amarillo Oscuro Forma: Globosa Tamaño : 113.16 µm - 108.97 µm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M11			<p>Color: Amarillo Forma: Globosa esferica Tamaño : 121.61 µm – 133.01 µm Reaccion a reactivo Melzer: Si Ornamentacion: No</p>

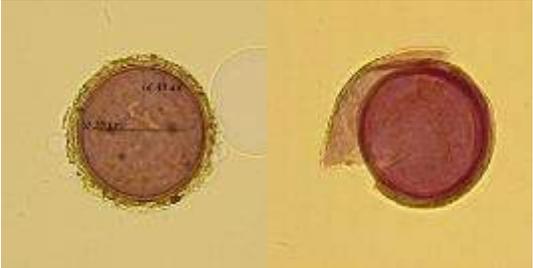
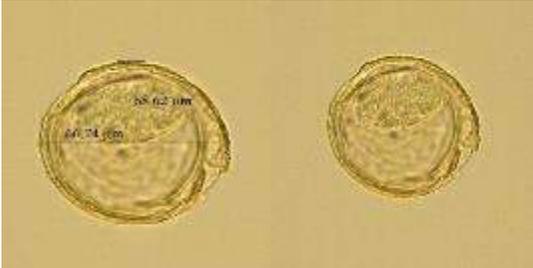
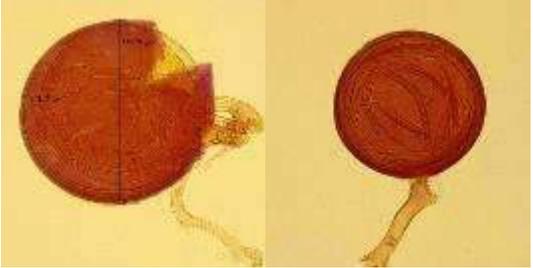
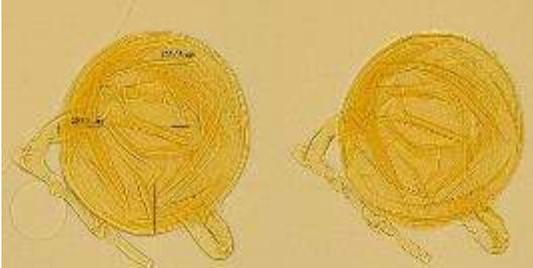
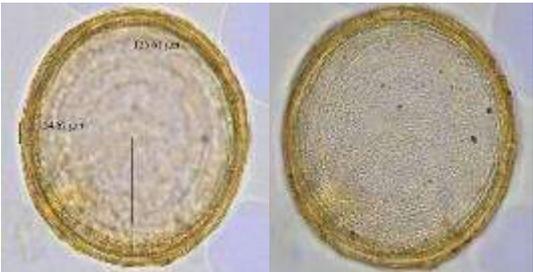
Nota: M=Morfotipos. Fuente: Elaboración propia.

Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes (continuación)

CÓDIGO	MELZER	PVLG	CARACTERÍSTICAS
M12			<p>Color: Amarillo claro Forma: Poligon-globosa Tamaño : 106.81 μm - 113.03μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M13			<p>Color: Amarillo claro Forma: Globosa esferica Tamaño : 88.01 μm - 87.42 μm Reaccion a reactivo Melzer: Si Ornamentacion: No</p>
M14			<p>Color: Amarillo claro Forma: Globosa Tamaño : 75.44 μm - 75.67 μm Reaccion a reactivo Melzer: Si Ornamentacion: No</p>

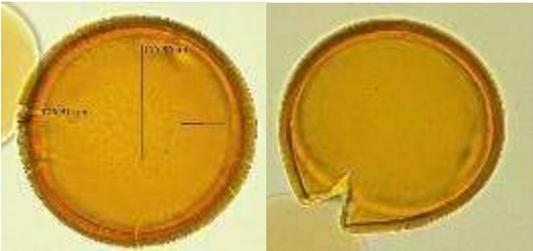
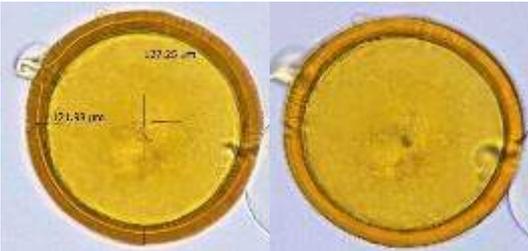
Nota: M=Morfotipos. Fuente: Elaboración propia.

Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes (continuación)

CÓDIGO	MELZER	PVLG	CARACTERÍSTICAS
M15			<p>Color: Amarillo claro Forma: Globosa Tamaño : 66.74 μm - 68.62 μm Reaccion a reactivo Melzer: Si Ornamentacion: No</p>
M16			<p>Color: Amarillo brillante Forma: Globosa Lisa Tamaño : 128.08 μm - 128.08 μm Reaccion a reactivo Melzer: Si Ornamentacion: No</p>
M17			<p>Color: Amarillo Forma: Globosa Tamaño : 132.45 μm - 132.97 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>

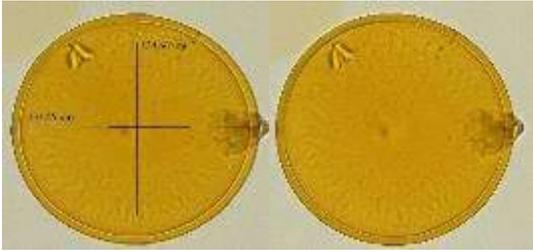
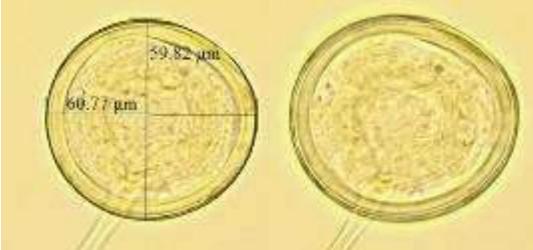
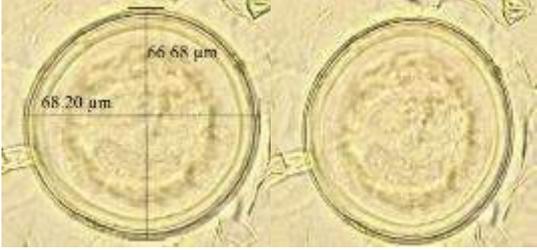
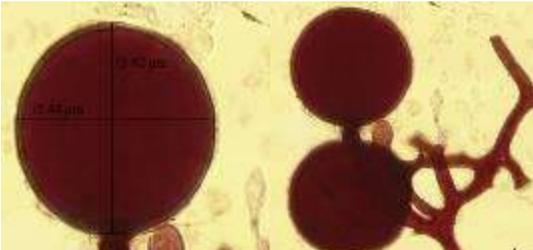
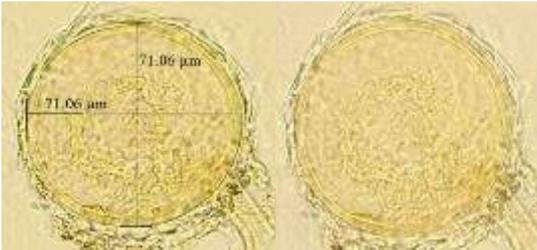
Nota: M=Morfotipos. Fuente: Elaboración propia.

Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes (continuación)

CÓDIGO	MELZER	PVLG	CARACTERÍSTICAS
M18			<p>Color: Amarillo oscuro Forma: Globosa Tamaño : 128.08 μm - 131.01 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M19			<p>Color: Amarillo oscuro Forma: Globosa Tamaño : 131.05 μm - 134.78 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M20			<p>Color: Amarillo oscuro Forma: Globosa Tamaño : 121.98 μm - 127.25 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>

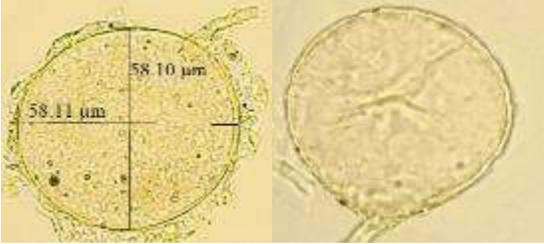
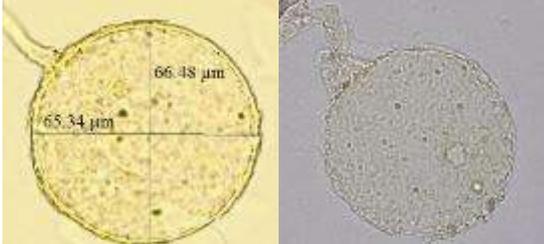
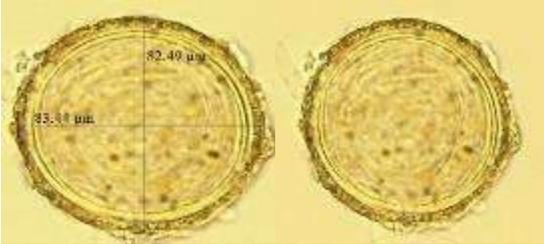
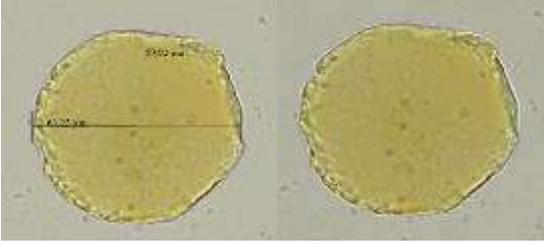
Nota: M=Morfotipos. Fuente: Elaboración propia.

Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes (continuación)

CÓDIGO	MELZER	PVLG	CARACTERÍSTICAS
M21			<p>Color: Amarillo Forma: Globosa Tamaño : 115.74 μm - 116.91 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M22			<p>Color: Amarillo Forma: Globosa Tamaño : 68.20 μm - 66.68 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M23			<p>Color: Amarillo Forma: Esferica Tamaño : 71.06 μm - 71.06 μm Reaccion a reactivo Melzer: Si Ornamentacion: No</p>

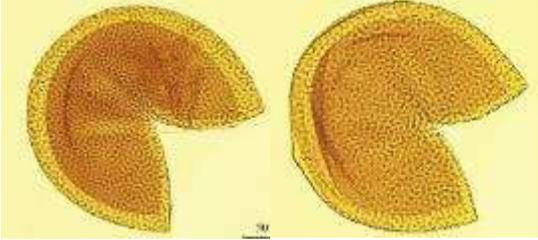
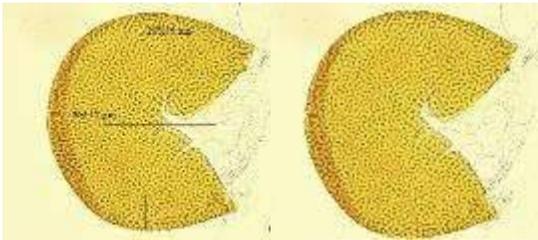
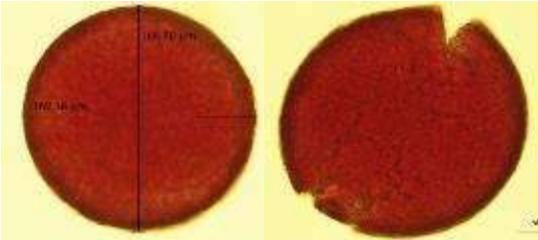
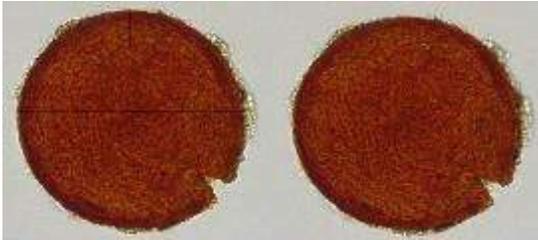
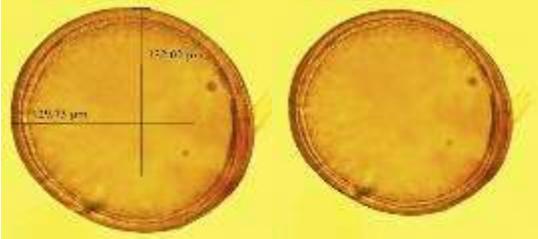
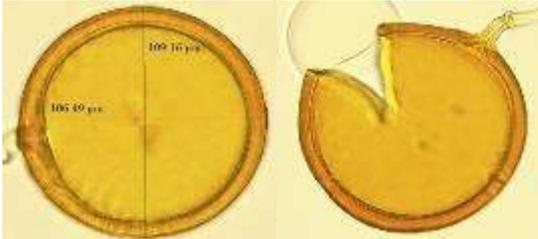
Nota: M=Morfotipos. Fuente: Elaboración propia.

Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes (continuación)

CÓDIGO	MELZER	PVLG	CARACTERÍSTICAS
M24			<p>Color: Hialino Forma: Globosa Tamaño : 65.34 μm - 66.48 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M25			<p>Color: Amarillo claro Forma: Globosa Tamaño : 62.49 μm - 62.48 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M26			<p>Color: Amarillo Claro Forma: Poligono Tamaño : 60.87 μm - 61.34 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>

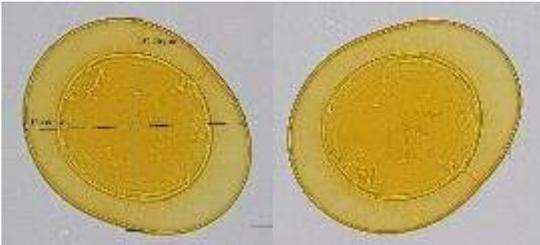
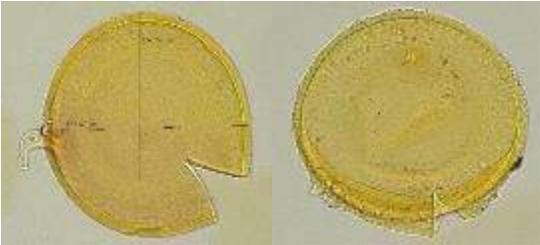
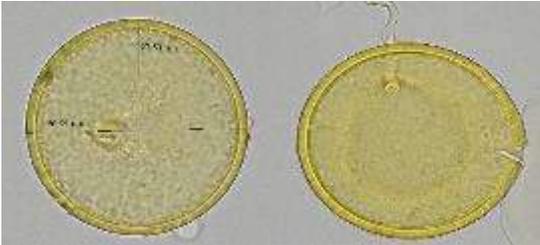
Nota: M=Morfotipos. Fuente: Elaboración propia.

Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes (continuación)

CÓDIGO	MELZER	PVLG	CARACTERÍSTICAS
M27			<p>Color: Amarillo Forma: Globosa Tamaño : 202.12 μm - 205.36 μm Reaccion a reactivo Melzer: Si Ornamentacion: Si Género: Acaulospora</p>
M28			<p>Color: Marron rojizo Forma: Rugosa Tamaño : 169.16 μm - 169.50 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M29			<p>Color: Amarillo Oscuro Forma: Globosa Tamaño : 106.49 μm - 109.16 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>

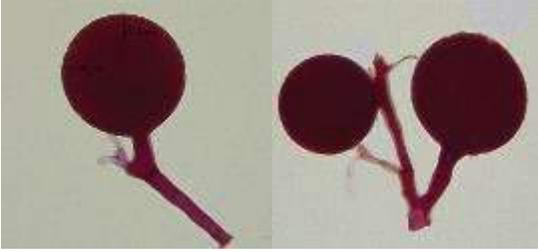
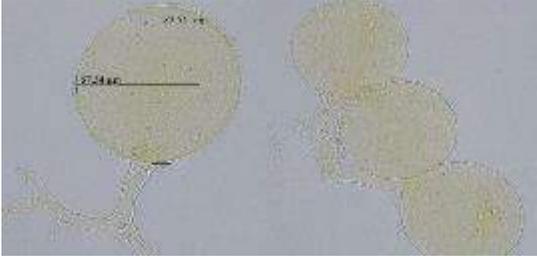
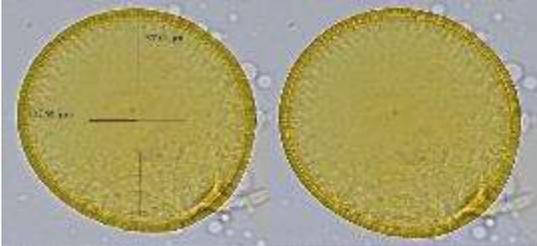
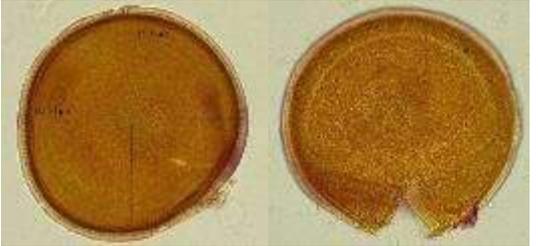
Nota: M=Morfotipos. Fuente: Elaboración propia.

Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes (continuación)

CÓDIGO	MELZER	PVLG	CARACTERÍSTICAS
M30			<p>Color: Amarillo Forma: Globosa Tamaño : 139.66 μm - 137.36 μm Reaccion a reactivo Melzer: Si Ornamentacion: No Género: Acaulospora</p>
M31			<p>Color: amarillo claro Forma: Globosa Tamaño : 97.84 μm - 97.53 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M32			<p>Color: amarillo claro Forma: Esferica Tamaño : 127.74 μm - 127.84 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>

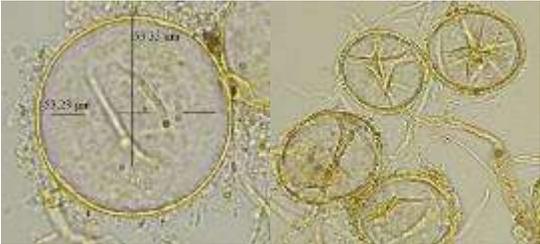
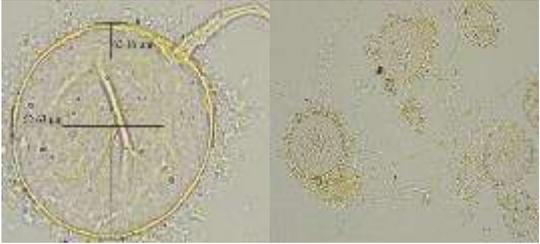
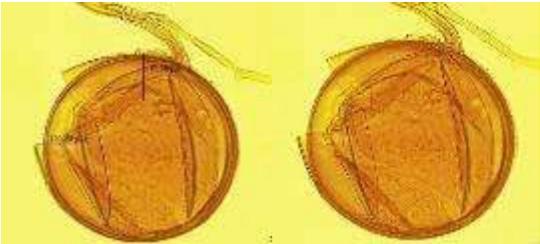
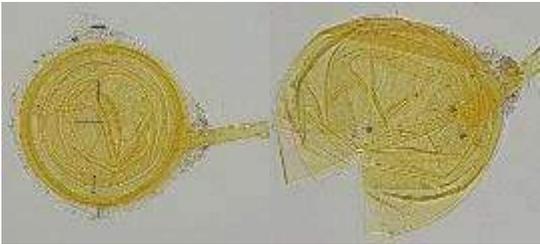
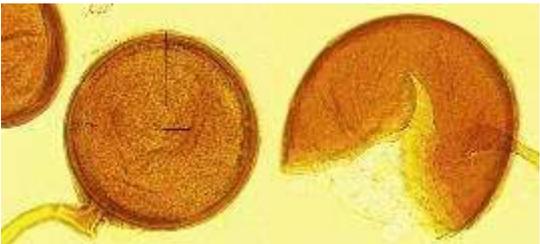
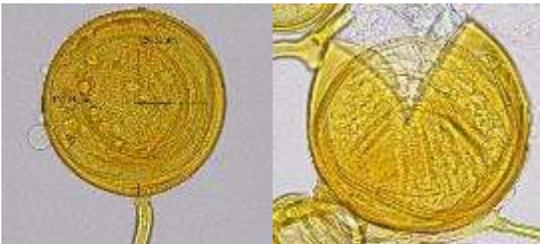
Nota: M=Morfotipos. Fuente: Elaboración propia.

Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes (continuación)

CÓDIGO	MELZER	PVLG	CARACTERÍSTICAS
M33			<p>Color: amarillo claro Forma: Esferica Tamaño : 87.54 μm - 87.54 μm Reaccion a reactivo Melzer: Si Ornamentacion: No</p>
M344			<p>Color: Amarillo Forma: Globosa Tamaño : 127.96 μm - 137.01 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M35			<p>Color: Amarillo oscuro Forma: Esferica con pergoraciones Tamaño : 143.66 μm - 140.67 μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: Si Género: Acaulospora</p>

Nota: M=Morfotipos. *Fuente:* Elaboración propia.

Morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares predominantes (continuación)

CÓDIGO	MELZER	PVLG	CARACTERÍSTICAS
M36			<p>Color: Hialina Forma: Globosa Tamaño : 53.23 μm - 53.23μm Reaccion a reactivo Melzer: No Ornamentacion: No</p>
M37			<p>Color: Amarillo Forma: Globosa Tamaño : 156.02 μm - 149.32μm Reaccion a reactivo Melzer: Si Ornamentacion: No</p>
M38			<p>Color: Amarillo oscuro Forma: Globosa Tamaño: 120.44 μm - 120.32μm Reaccion a reactivo Melzer: Si Ornamentacion:No</p>

Nota: M=Morfotipos. Fuente: Elaboración propia.

3.2.1. Densidad de esporas por morfotipos totales predominantes

El estudio también permitió demostrar que de los 38 morfotipos encontrados, el que mayor densidad presentó fue el M24 con 192 527.6 esporas, que representó el 20.78 % del total, y el morfotipo que menor número de esporas presentó fue el M28 con 1465.7 esporas que representó el 0.16 %. (Tabla 11 y Figura 23).

Tabla 10

Densidad de esporas de los morfotipos totales predominantes

Morfotipos	Número de esporas	Morfotipos	Número de esporas
M1	6880	M20	13169
M2	9485	M21	5960
M3	1638	M22	7068
M4	19984	M23	55768
M5	1629	M24	192528
M6	3258	M25	14336
M7	11820	M26	1673
M8	3336	M27	7392
M9	7048	M28	1466
M10	8869	M29	18616
M11	2005	M30	2380
M12	1913	M31	7736
M13	80038	M32	1540
M14	173308	M33	6444
M15	3989	M34	5565
M16	18761	M35	8808
M17	4110	M36	151413
M18	6580	M37	23234
M19	8362	M38	28241

Fuente: Elaboración propia.

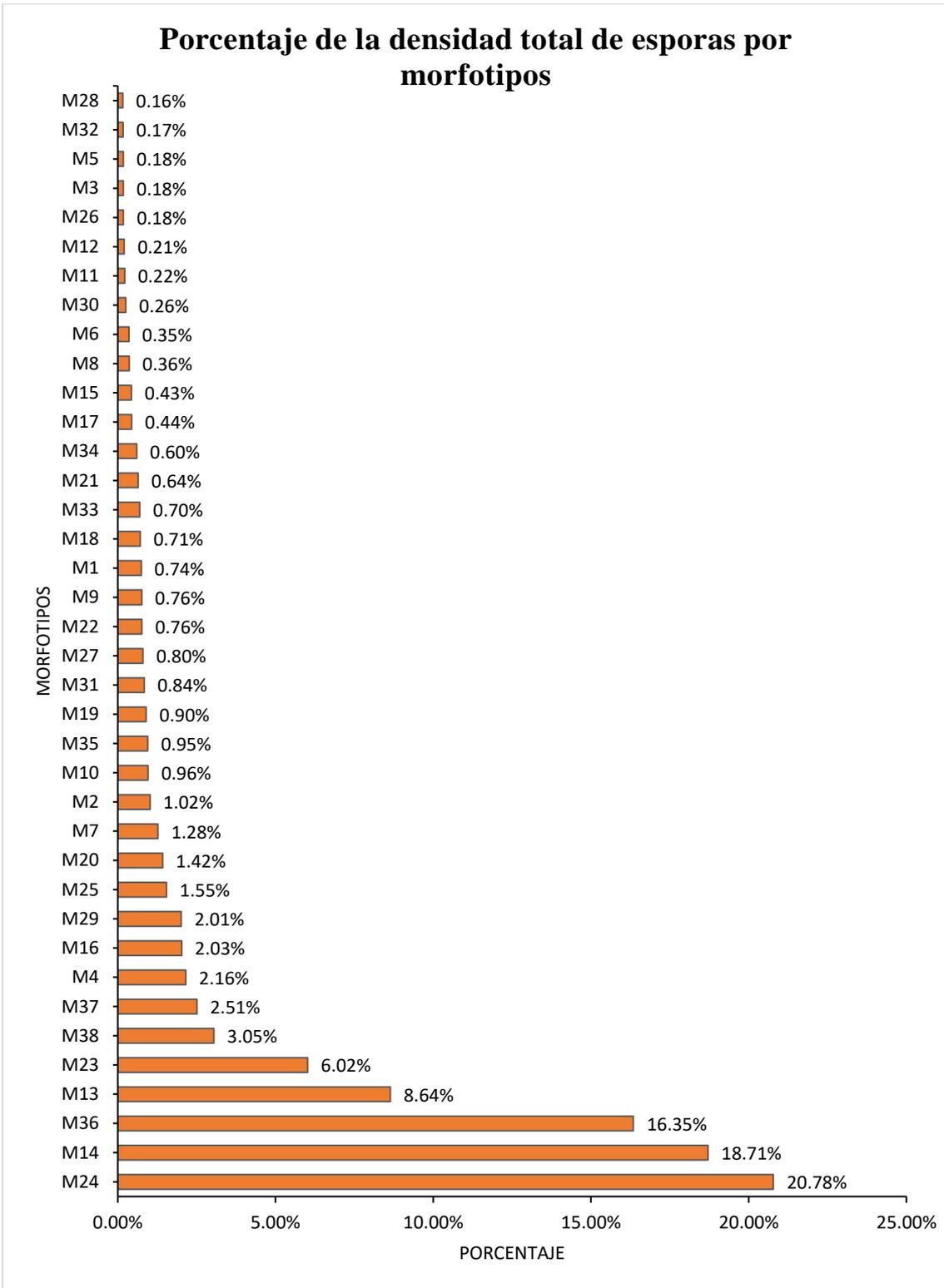


Figura 23. Representación porcentual de la densidad total de los morfotipos

Fuente: Elaboración propia.

Tomando en cuenta la presencia de los morfotipos predominantes obtenidos a los 80 días de haber sido inoculados en dos plantas trampa, se logró determinar que existen ciertos morfotipos que no tuvieron presencia al menos en uno de las plantas trampa como se muestra en la Tabla 12, en el cual los morfotipos M (25,26,27,28 y 35) solamente tuvieron presencia en la planta trampa de maíz mas no en la planta de arroz a pesar que el suelo rizosférico utilizado para su inoculación y proceso de multiplicación son de las mismas parcelas de las tres provincias mencionadas en el estudio, característica que podría estar condicionados a factores que se debatirán en las discusiones del presente estudio.

Tabla 11

Especificidad de los morfotipos predominantes presentes las plantas trampa

Morfotipos	Arroz	Maíz	Morfotipos	Arroz	Maíz
M1	3796	3084	M20	3360	9810
M2	1809	7676	M21	3431	2529
M3	860	778	M22	2337	4731
M4	7470	12515	M23	34812	20956
M5	1204	425	M24	140996	51531
M6	1393	1866	M25	0	14336
M7	6986	4834	M26	0	1673
M8	2467	869	M27	0	7392
M9	2892	4156	M28	0	1466
M10	3166	5703	M29	3885	14731
M11	1266	739	M30	1247	1133
M12	1347	567	M31	1755	5981
M13	78450	1588	M32	765	775
M14	153566	19742	M33	1180	5264
M15	255	3734	M34	1376	4189
M16	383	18378	M35	0	8808
M17	474	3636	M36	83888	67525
M18	2537	4043	M37	15729	7505
M19	3880	4481	M38	21379	6862

Fuente: Elaboración propia.

3.3. Porcentaje de colonización micorrízica

La Tabla 13 muestran el ANVA para el porcentaje de colonización micorrízica radicular en las plantas trampa y evaluados a 80 días después de la siembra (DDS) en condiciones de vivero. Datos sin transformar por cumplimiento de hipótesis de normalidad de datos (ver Apéndice 13 y 14).

Tabla 12

ANVA del porcentaje de colonización micorrízica radicular en plantas trampa

FV	SC	gL	CM	F	p-valor
Modelo	2296.41	11	208.76	6.18	0.0001
Provincia	178.45	2	89.22	2.64	0.0919
Clon	69.50	1	69.50	2.06	0.1644
Planta	1782.25	1	1782.25	52.74	<0.0001
Provincia*clon	79.62	2	39.81	1.18	0.3250
Provincia*planta	26.58	2	13.29	0.39	0.6791
Clon*planta	69.39	1	69.39	2.05	0.1648
Provincia*clon*planta	90.63	2	90.63	1.34	0.2805
Error	811.01	24	33.79		
Total	3107.42	35			

Nota: p <0.05 Presentan diferencias significativas

Fuente: Elaboración propia.

El análisis de varianza (Tabla 13), indica que existe diferencias altamente significativas (**) solamente en el factor planta trampa y no significativo (N.S) en los demás factores incluido la interacción triple, lo que muestra que solo los tipos de plantas trampas fueron influyentes sobre la colonización micorrízica radicular, esto posiblemente a que todos los tratamientos mostraron colonización (sin destacarse un factor en especial). Además, se muestra una media de 87.59 %, con un coeficiente de variabilidad de 6.64 % y un coeficiente de determinación (R^2) de 7.74 %, lo que indica un alto grado de confiabilidad en la toma de datos y afinidad de la variable respuesta con los tratamientos estudiados, demostrando estar dentro del rango de dispersión aceptable, para trabajos de investigación a nivel de vivero.

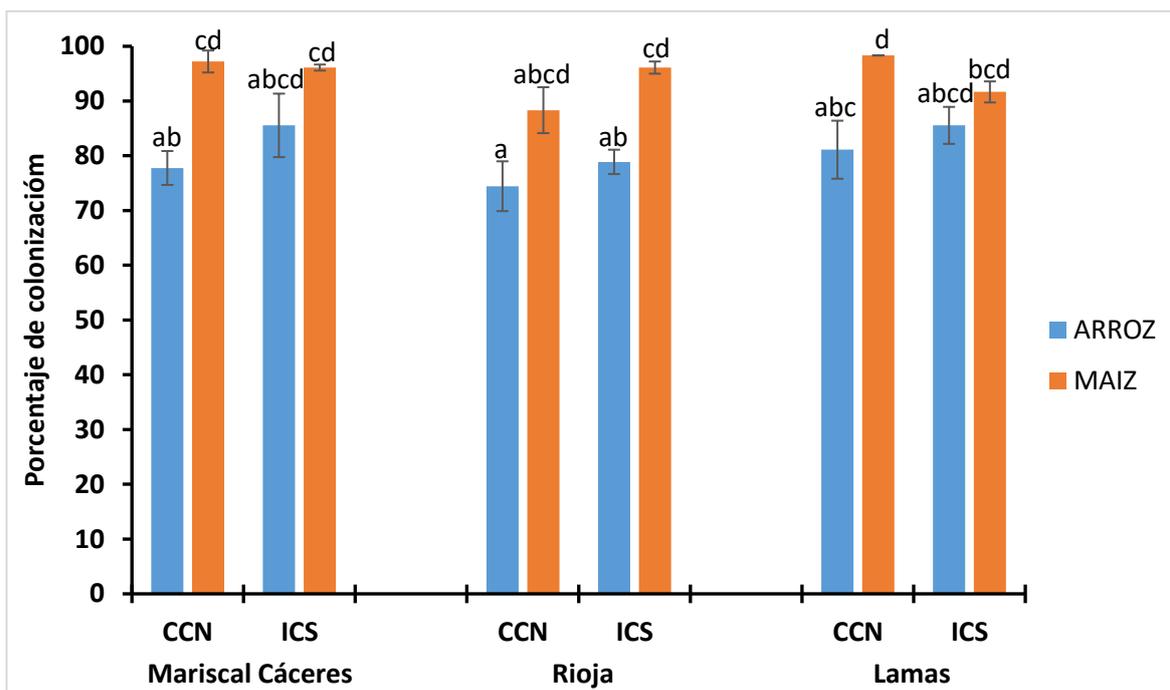


Figura 24. Prueba comparación de medias ($p < 0.05$) para el porcentaje de colonización
 Nota: Letras iguales no muestran diferencias estadísticas. Fuente: Elaboración propia.

El análisis de comparación de medias de ($p < 0.05$) (Figura 24) para el porcentaje de colonización radicular de esporas de HMA inoculadas y multiplicadas en dos tipos de plantas trampa, muestra que el tratamiento 8 (Lamas: CCN: Maíz) obtuvo el mayor porcentaje de colonización radicular (98.33 % en promedio), seguido de los tratamientos T4 (Mariscal Cáceres: CCN: Maíz), T12 (Mariscal Cáceres: ICS: Maíz) y T6 (Rioja: ICS: Maíz) con 97.22 %; 96.11 % y 96.11 % de colonización en promedio respectivamente, lográndose demostrar que las esporas colonizaron en gran medida al cultivo trampa maíz (independientemente del tipo de provincia y el clon de cacao), corroborando así la eficiencia de las esporas presentes en estos suelos. Del total de los tratamientos evaluados, hubo tratamientos que presentaron resultados que fluctuaron entre 70 – 90 % de colonización, además de no presentaron diferencias estadísticas significativas entre sí. Estos resultados indican que, la planta trampa maíz es muy eficiente en la simbiosis micorriza arbuscular, en mayor medida que el arroz, y que no necesitó de los demás factores (sin diferencia estadística) para favorecer la capacidad de colonización radicular de las plantas trampa.

3.4. Correlación entre número de esporas y colonización micorrízica

Con respecto a la correlación entre el número de esporas y el porcentaje de colonización micorrízica, el valor de Pearson (0.084) indica que ambas variables no están correlacionadas entre sí, demostrándose que cada valor de las variables obtenido es independiente.

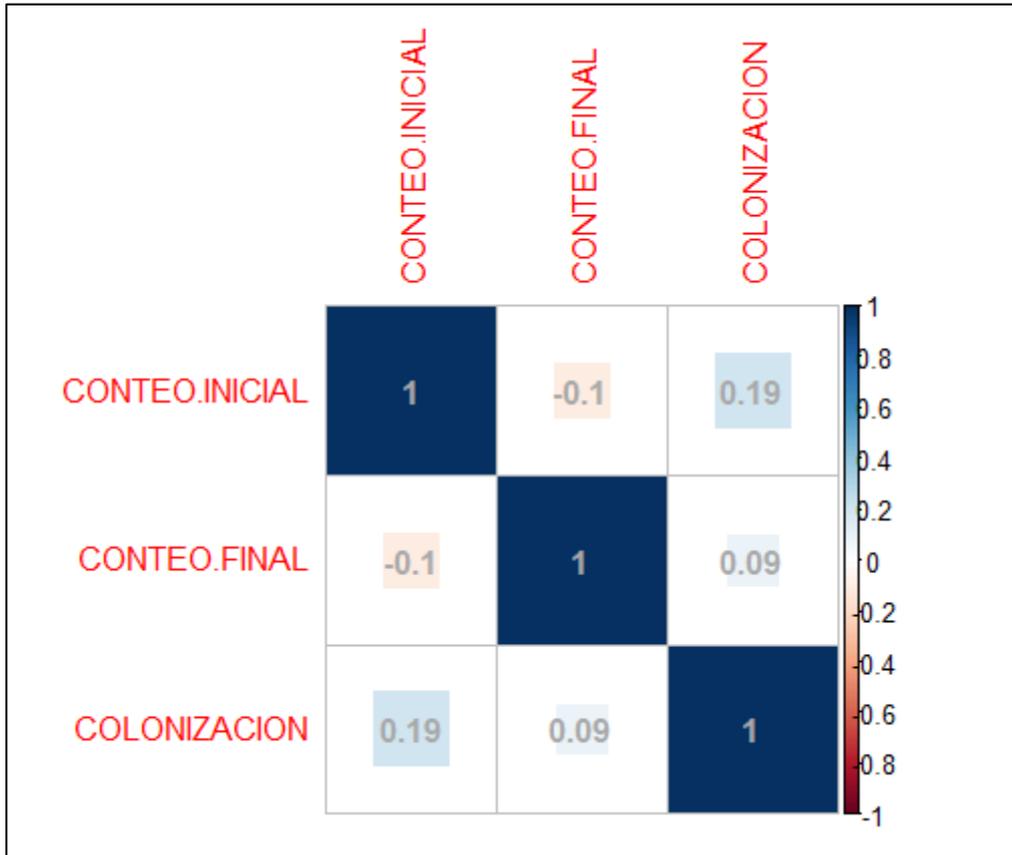


Figura 25. Análisis de correlación número de esporas y colonización.

Nota: No hay correlación entre el conteo inicial de esporas, final y colonización por lo que no sería necesario realizar un análisis de regresión *Fuente:* Elaboración propia.

3.5. Correlación entre número de esporas y parámetros físico químico del suelo

Con los resultados de los análisis de suelos (Apéndice 15) y mostrados en la Tabla 13, se realizó el análisis de correlación los cuales se muestran en la figura 26.

Tabla 13

Análisis de suelo de las muestras colectadas de campo

Provincias	Clones	pH	C.E ds/m	(%) CaCO ₃	MO (%)	N (%)	P (ppm)	K(ppm)
Mariscal Cáceres	ICS	5.96	0.41	-0.30	5.16	0.23	12.88	355.00
Mariscal Cáceres	CCN	6.27	0.28	-0.30	3.27	0.15	16.54	112.50
Rioja	ICS	5.27	0.43	-0.30	5.87	0.26	45.00	68.00
Rioja	CCN	5.77	0.62	-0.30	5.83	0.26	60.00	107.00
Lamas	ICS	5.75	0.17	-0.30	4.74	0.21	6.92	123.00
Lamas	CCN	5.35	0.57	-0.30	3.87	0.17	10.38	161.00

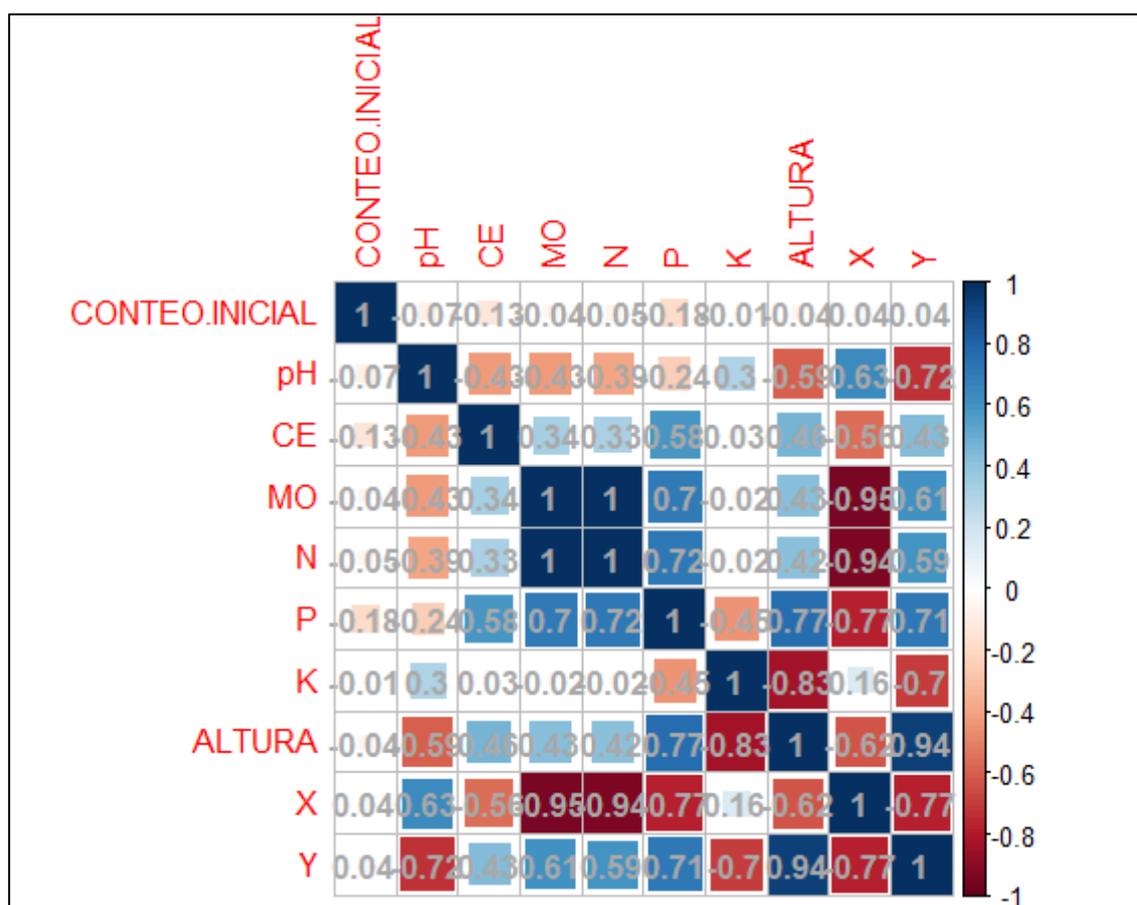


Figura 26. Análisis de correlación número de esporas y parámetros del suelo.

Nota: No hay correlación entre el conteo inicial de esporas y los parámetros de suelo por lo que no sería necesario realizar un análisis de regresión. Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO IV: DISCUSIONES

4.1. Número de esporas de HMA

4.1.1. Conteo inicial de esporas

Con los resultados obtenidos se logró determinar que los suelos asociados a plantaciones de cacao de los clones ICS Y CCN pertenecientes a la provincia de Mariscal Cáceres presentaron menor promedio total de esporas, con 221 esporas para el clon ICS y 199 para CCN, y la provincia de Lamas: con 317 esporas para el clon ICSS y 262 esporas para CCN, fue la que presentó el mayor número de esporas viables en 100 g de suelo, a pesar de presentar variaciones del número de esporas estas no mostraron diferencias estadísticas entre sí. Por lo tanto, la cantidad de esporas presentes en un suelo rizosférico natural estaría notablemente influenciada por los componentes físicos y químicos del suelo asociado a la planta hospedante (Hernández y Monroy, 2019), las condiciones y época del muestreo (Peña *et al.*, 2006), además, por las condiciones geográficas de los lugares de extracción ya que influyen en la variación de la distribución y densidad de esporas (Arévalo, 2016).

En tal sentido, la cantidad de esporas reportada en el presente estudio resulta similar con investigaciones preliminares. Una de ellas, en la que caracterizaron la población de hongos micorrízicos arbusculares de tres clones de cacao (ICS95, CCN51 y FSA12), reportó que el clon CCN51 presentó un total de 169 esporas por cada 100 g de suelo rizosférico, el clon ICS 95 con 139 y el clon FSA 12 con 220, siendo este último el que presentó el número mayor de esporas (Hernández y Monroy, 2019). De la misma manera, con el estudio de la prospección de la densidad de esporas y colonización de HMA en cacao silvestre de Ucayali y Madre de Dios, el cual mostró valores entre 140 y 180 esporas/100 g suelo, siendo Ucayali el que tuvo una tendencia de mayor cantidad de esporas, no obstante, no presentaron diferencias estadísticas entre sí (Arévalo, 2016).

Por otro lado, los resultados mostrados por Rojas *et al.* (2014) que tuvo como objetivo conocer la abundancia y diversidad de HMA asociados con cacao (*Theobroma cacao* L.) en tres diferentes agroecosistemas en la Amazonía peruana, obtuvieron valores entre 780 a 1100 esporas por cada 100 g de suelo de campo, donde AGR-1 y AGR-2, mostraron valores de (542.5 y 540) esporas respectivamente, sin embargo, el AGR-3 registró un promedio superior con 917.5 esporas, demostrando ser estadísticamente significativo. Sin embargo, estos valores resultaron ser mayores a la densidad de esporas reportada en este estudio, ya que se contabilizaron un aproximado de 228 y 246 esporas/100 g suelo para los clones ICSS y CCN respectivamente. En consecuencia, las diferencias con respecto a la cantidad de esporas encontradas en el presente estudio, podría estar influenciadas por la geografía del área, la metodología de obtención y conservación de las muestras, además de las condiciones físicas y químicas del suelo.

4.1.2. Conteo final de esporas

La presente investigación permitió demostrar que las plantas trampa inoculadas con esporas nativas de suelos asociados a dos clones de cacao provenientes de tres provincias de la Región San Martín, tienen una amplia capacidad de multiplicar esporas en condiciones de vivero, puesto que presentó una media de 25732 esporas, asimismo, T7 compuesto por plantas de arroz inoculados con suelo rizosférico proveniente de la provincia de Mariscal Cáceres, del clon ICS presentó el mayor número de esporas de HMA con 174766.67 esporas en 100 g de suelo, mientras que el T9 comprendido por suelo rizosférico proveniente de la provincia de Rioja, del clon CCN, inoculado en plantas de arroz presentó menor cantidad de esporas con 2886.67 en 100 g de suelo. Por otro lado, T12 inoculado en maíz con suelo rizosférico proveniente de Mariscal Cáceres, del clon ICS mostró 67726.67 esporas en 100 g de suelo en promedio. Lo que indica que los suelos rizosféricos proveniente de la provincia de Mariscal Cáceres influyeron sobre la esporulación micorrícica, en especial medida con la planta trampa arroz, independientemente del tipo de clon, que fue ICS para ambos. Otro dato importante a favor del arroz sería que este cultivo tiene mayor densidad radicular que el maíz, lo que favoreció la multiplicación micorrícica extrarradicular. Todo esto en comparación con los demás tratamientos, quienes no tuvieron diferencias estadísticas significativas entre sí, al estar en un rango mucho menor (entre 2000 y 14000 esporas).

En efecto, el uso de suelo rizosférico nativo de cacao inoculadas en las plantas trampa demostraron tener efectividad para el uso en los procesos de multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares nativos, tal como lo demostró Asano y Dooring, (1997), utilizando plantas trampa de la especie de gramínea (*Brachiaria decumbens*) bajo condiciones de vivero, logró obtener 43700 esporas de *Glomus albidum* y 56400 esporas de *G. fasciculatum* en 100 g de suelo, cuyo resultado es menor al reportado por el presente. Asimismo, supera ampliamente a lo demostrado por Molina *et al.* (2006) quienes evaluaron la multiplicación de esporas de hongos micorrízicos arbusculares asociadas a las plantaciones aliso (*Alnus acuminata* H.B.K.) y empleó como cultivos trampa a brachiaria (*Brachiaria decumbens*) y raygrass beef builder (*Lolium perenne*) en distintos sustratos más una solución nutritiva de Bazamid al 0.05 % , reportando una cantidad mínima de 7600 y máxima de 19900 esporas en 100 gramos de suelo seco durante un periodo de 4 meses y 14 días de estrés hídrico.

Del mismo modo, Chaiyasen *et al.* (2016), mostraron un número total que osciló entre 1081 y 9050 esporas en 100 g de suelo haciendo uso de tres plantas trampa (*Zea mays*, *Sorghum bicolor* y *Mimosa invisa*) y diferentes sustratos en invernadero durante un periodo de 90 días y con 7 días de estrés hídrico. Un estudio similar, realizó Pérez (2019), quien mostró que la planta trampa (*Oryza sativa* L.) presentó la mayor cantidad de esporas en promedio con un total de 1261 esporas, siendo ampliamente superior a las plantas de maíz con 196 esporas en 100 g de suelo.

En síntesis, la cantidad de esporas obtenidos producto de la multiplicación se fundamenta que las plantas trampa es un factor determinante en el incremento de poblaciones de HMA que generalmente se encuentran en simbiosis fúngica obligada (Muñoz, 2000). Asimismo, se podría inferir que el suelo micorrízico de la fuente de inóculo Mariscal Cáceres podría contener algún componente físico o químico que haya intervenido a favor de la esporulación, además de haber interactuado con una planta altamente micorrízica como el arroz.

La eficacia de una planta trampa para la multiplicación de esporas depende ampliamente de las condiciones de la fuente de inóculo. Los resultados de este estudio mostraron que la planta trampa de arroz presentó condiciones favorables para la multiplicación, debido a que este cultivo tiene mayor densidad radicular comparado al cultivo de maíz. Asimismo, cabe recalcar que depende en gran medida de las especies dominantes de hongos micorrízicos arbusculares y su propagación varía de acuerdo con el cultivo trampa (Selvakumar *et al.* 2016), en otras palabras, la cantidad de especies individuales de HMA varía dependiendo de la rizosfera de las plantas (Selvakumar *et al.* 2016).

También es importante agregar que la esporulación de los HMA no solamente está definida por la presencia de esporas en el suelo rizosférico nativo utilizado como inóculo, si no que existe otras estructuras fúngicas (arbúsculos e hifas) que durante el proceso del conteo inicial no se pueden identificar, pero si tienen capacidad de propagación, que al utilizar diferentes consorcios micorrízicos nativos es probable que haya abundante cantidad de unidades de infección y menor presencia de esporas Prieto *et al.* (2011), que resulte favorable en el incremento de micorrización de las plantas (Pérez *et al.* 2012 y Gallegos *et al.* 2009).

Sin embargo, existe evidencia que indica que no todos los consorcios micorrízicos logran realizar la esporulación, puesto que estaría influenciada por el suelo, condiciones medioambientales y características fisiológicas de las plantas trampa. (León, 2006), particularidades que podrían explicar la razón por la cual el T7 establecido por suelo rizosférico de la provincia de Mariscal Cáceres inoculado en plantas de arroz presentó el mayor número de esporas de HMA en promedio a los 80 días de multiplicación.

4.2. Caracterización por morfotipos de esporas nativas predominantes de HMA

De acuerdo a los estudios realizados sobre los suelos rizosféricos de cacao pertenecientes a tres provincias de la región San Martín (Rioja, Lamas y Mariscal Cáceres), se logró identificar la presencia de 38 morfotipos predominantes presentes en los distintos tratamientos. De los cuales, el que mayor presencia de morfotipos presentó fue el T8 con un total de 16 morfotipos, y en menor abundancia se presentó en el T6 con un total de 6 morfotipos diferentes.

Además, la investigación logró demostrar que de los 38 morfotipos encontrados, el que mayor densidad presentó fue el M24 con 192527.6 esporas, que representó el 20.78 %, y el morfotipo que menor densidad presentó fue el M14 con 1465.7 esporas que representó el 0.16 % del total de esporas. Tomando en cuenta la presencia de los morfotipos predominantes obtenidos a los 80 días de haber sido inoculados en dos plantas trampa, se logró determinar que existen ciertos morfotipos que no tuvieron presencia al menos en uno de las plantas trampa, en el cual los morfotipos M (25,26,27,28 y 35) solamente tuvieron presencia en la planta trampa de maíz mas no en la planta de arroz a pesar que el suelo rizosférico utilizado para su inoculación y proceso de multiplicación son de las mismas parcelas de las tres provincias mencionadas en el estudio.

En síntesis, esta premisa coincide con estudios anteriores realizados por Declerck *et al.* (1995) citado por Alarcón y Ferrera (1999), en el cual demostraron la existencia de factores intrínsecos que determinan las respuestas de micorrización de un hongo micorrízico arbuscular influenciado por el genotipo de la planta hospedante, ya que, es posible encontrar diversos grados de dependencia y respuesta micorrízica entre plantas de una misma especie. Dicha compatibilidad entre ambos genotipos (hospedante-simbionte) será muy determinante para la propagación. Además, existen factores edáficos y ambientales que se relacionan estrechamente de forma influyente con una especie o grupo de especies de hongos micorrízicos arbusculares y son determinantes para la preparación de los inóculos utilizados para la reproducción y multiplicación de esporas HMA (Hernández y Salas, 2009).

Por otro lado, es preciso indicar que existe la probabilidad que cada especie o morfotipos presentes en el suelo rizosférico o inóculo se comporten de forma diferenciada entre sí durante el proceso de multiplicación a través de la utilización de plantas trampa, condicionando su presencia y ausencia en una u otra planta hospedera (Del Águila *et al.*, 2018). Además, es preciso indicar que, es probable que cada especie o morfotipos presentes en el suelo rizosférico o inóculo se comporten de forma diferenciada entre sí durante el proceso de multiplicación dependiendo de la planta trampa utilizada, condicionando su presencia o ausencia en función a la planta hospedera (Del Águila *et al.*, 2018). Por lo tanto, las esporas de los morfotipos que no tuvieron presencia en ambos cultivos (arroz y maíz), estarían siendo específicas para una sola planta trampa hospedera o podrían estar influenciadas por otros factores que condicionan su desarrollo en el proceso de micorrización y multiplicación en las plantas hospederas.

4.3. Porcentaje de colonización micorrízica

El estudio de multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de suelos de cacao de tres provincias de la región San Martín propagadas en dos plantas trampa en condiciones de vivero, demostró la capacidad de los HMA para colonizar las raíces de las plantas trampa, siendo mayor en las raíces de las plantas de maíz que en las de arroz, puesto que, el T8 compuesto por suelo rizosférico de la provincia de Lamas, del clon CCN e inoculado en plantas de maíz, fue quien presentó mayor porcentaje de colonización radicular en promedio (98.33 %), y el T9 conformado por suelo rizosférico de la provincia de Rioja, del clon CCN registró menor porcentaje de colonización con 74.4% en raíces de arroz, en tal sentido presentaron diferencias estadísticas entre ambos. Además, del total de los tratamientos evaluados, hubo tratamientos que presentaron resultados que fluctuaron entre 70 % – 90 % de colonización, sin embargo, no presentaron diferencias estadísticas significativas entre sí.

Dichos resultados estarían avalados con resultados de investigaciones preexistentes, como lo demostrado por De Dieu Habiyaemye *et al.* (2018), quienes indicaron que las raíces de planta de maíz inoculadas con HMA presentaron un porcentaje de colonización que osciló de 10 % a 100 % y con una colonización media de 40 %, asimismo, Dang *et al.* (2018), en la cual estudiaron la capacidad simbiótica de los hongos micorrízicos arbusculares en plantas trampa de corto periodo vegetativo (*Zea mays*, *Oryza sativa*, *Bidens pilosa*, *Plantago spp.* y

Pensacola bahía), y demostraron que la tasa más alta de colonización por HMA observaron en las plantas de maíz con un total de 67 % mientras que el más bajo se presentó en *Bidens pilosa* con 15 %, siendo estadísticamente diferentes. Por otro lado, Chaiyasen *et al.* (2016) evaluaron la influencia de las plantas trampa y sustratos en la propagación de esporas de HMA, demostraron que la planta trampa (*Zea mays*) presentó 65 % de colonización radicular sembrados con sustrato de vermiculita, siendo superior a *Sorghum bicolor* y *Mimosa invisa* con valores menores a 43 % y 35 % respectivamente, siendo el factor planta trampa estadísticamente diferente entre sí.

Del mismo modo, Carreón *et al.* (2013) obtuvieron un porcentaje de colonización total con valores superiores al 70 %, siendo de mayor en las plantas de pastos (88.9 %) y tabaco (81 %), pero la planta de maíz obtuvo un total de (78.4 %), resultados que demuestran la eficacia de la planta de maíz para la colonización de los hongos micorrízicos arbusculares para la reproducción. Sin embargo, el estudio realizado por Pérez, (2019) sobre la producción masiva de HMA haciendo uso de plantas trampas (*Oryza sativa*, *Zea mays* y *Brachiaria brizantha*) demostró que el porcentaje más alto se reportó en *Oryza sativa* con promedio de 24.49 %, superando estadísticamente a *Zea mays* con 17.18 % y *Brachiaria brizantha* con 5.80 %, esto posiblemente por los factores nutricionales y tipo del suelo intervinientes durante el proceso de multiplicación.

Una de las razones para explicar esta observación es que el maíz es una planta altamente micotrófica facultativa, de crecimiento rápido y con un sistema radicular extenso y ramificado (Bustamante y Zambrano, 2017), principalmente por ser una planta monocotiledónea, característica importante para ser colonizada (Sharma *et al.* 2017), permitiendo así la amplia proliferación de estructuras de esporas HMA en la raíz de la planta. Además, la conformación anatómica, fenológica y fisiológica del sistema radicular de las plantas trampa podría estar relacionada con el alto porcentaje de colonización de los HMA (Sharma *et al.* 2017 ; Carballar, 2009), como es el caso de la planta de maíz, el cual posee en su raíces dos cubiertas tipo mucilaginosas, uno espeso que se adjunta a las células epidérmicas y otro gelatinoso que se produce en la cubierta de la raíz, que a medida que la raíz va creciendo, este manto de mucilago se separa conjuntamente con células hipodérmicas y epidérmicas, característica principal que la diferencia de las raíces de otras plantas, ya que

producto de la presencia de este mucílago se separa con las células corticales de la raíz favoreciendo a mayor grado de colonización (De Dieu Habiyaemye *et al.* 2018). Esta característica no está presente en la planta de arroz, debido a la presencia abundante de tejido aerenquimático en la raíz (Gutjahr *et al.* 2009) que produce la disminución del tejido cortical, siendo en este último la zona donde se produce la simbiosis y por ende la colonización (Lambais y Ramos, 2010). Asimismo, el arroz cuenta con raíces laterales finas que presentan mayor resistencia a la colonización por esporas de hongos micorrízicos arbusculares taxonómicamente diferentes (Vallino *et al.* 2014), razón por la cual el porcentaje de colonización en la planta de arroz fue menor.

Asimismo, la colonización de las plantas con hongos micorrízicos arbusculares no genera cambios severos de la morfología externa de la raíz, pero sí la estructura interna, ya que sintetizan una serie de pigmentos cuando son colonizadas por HMA (Salas, 2004). De esta manera, la colonización de las raíces por HMA está estrechamente relacionada con los factores fisiológicos de la planta (Arévalo, 2016) debido a que los hongos micorrízicos arbusculares modifican a menudo el intercambio gaseoso de las raíces de las plantas (Augé *et al.* 2016) por medio de cambios del medio de interacción (raíz-hongo) y del medio de la composición de los gases del ambiente a nivel radicular del cultivo hospedante (Mena *et al.* 2011). En tal sentido, los niveles de crecimiento de la raíz de las plantas son fundamentales para permitir la colonización por ciertos hongos micorrízicos arbusculares (Del Val *et al.* 1999). Por lo tanto, el mayor porcentaje de colonización presentado en las plantas de maíz podría estar facultado por la interacción compatible entre la planta huésped y el inóculo de HMA (Carrenho *et al.* 2002), puesto que la planta hospedera puede definir el desarrollo de colonización de los HMA.

Otra de las razones para explicar la superioridad de colonización de las raíces de la planta de maíz sobre la planta de arroz es que existen investigaciones anteriores donde se ha demostrado que los niveles de colonización micorrízica varía incluso a nivel de genotipos de plantas dentro de las mismas especies (Tawaraya, 2003), independientemente del género (De Dieu Habiyaemye *et al.* 2018). Tal como lo demostró Hernández *et al.* (2006), la cual realizaron un estudio de inoculación micorrízica y su efecto en el crecimiento de dos leguminosas *Acacia farnesiana* y *Prosopis glandulosa*, y reportaron un porcentaje de

colonización entre 61.7 % y 67.2 % en *Acacia farnesiana* y menores a 5 % y 20 % en *Prosopis glandulosa*. Del mismo modo Sandoval, (2019) demostró diferencias entre dos especies de leguminosas forrajeras, *Leucaena leucocephala* y *Centrosema macrocarpum*, los cuales mostraron una colonización de 28.87 % y 72.89 % respectivamente. Coincidiendo con el presente estudio en donde ambas plantas trampa son distintas en género y especie, pero pertenecientes a la misma familia taxonómica (gramíneas) además que en las gramíneas no existe un patrón definido de colonización por HMA (Sangabriel *et al.* 2010).

4.4. Correlación entre número de esporas con colonización micorrízica

El presente estudio demostró que no existe correlación directa (Pearson 0.084) entre el número de esporas y el porcentaje de colonización micorrízica. Este efecto podría estar relacionado con la influencia de factores propios de las fuentes de suelo rizosférico utilizadas como inóculo sobre el proceso de esporulación y colonización de las esporas de HMA. Esta premisa es avalada por Abud *et al.* (2016), el cual concluye que la diversidad de especies y el número de esporas inoculadas en plantas trampa tienen relación con factores endógenos (genéticos), tipo de raíz, fisiología y grado de micotrofia de su hospedante y a la disponibilidad nutricional del suelo.

En tal sentido, lo demostrado por el presente estudio coincide con lo reportado por diversos autores, tal es el caso de Abud *et al.* (2016) donde con un valor de Pearson de -0.098 demostró la no existencia de una correlación lineal entre número de esporas presentes en el suelo y el porcentaje de colonización micorrízica en la raíz. Asimismo, Thougnon *et al.* (2014) demostró que la correlación entre la abundancia de esporas y la colonización micorrízica fue baja ($r = 0.37$) y sin significancia estadística ($p = 0.197$). De igual manera Peñaloza, (2019) indicó que el número de esporas no presentó correlación con el porcentaje de colonización registrados en los cultivos trampa estudiados, al igual que otros autores (Hernández y Monroy, 2019; Hernández *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2012 y Carballar, 2009).

Dada a las diferencias encontradas, es importante mencionar que la existencia de una mayor colonización por parte de los HMA no está determinada por un alto número de esporas presentes el suelo, debido a la influencia de otros factores (biológicos y edáficos) en el momento de la colonización y esporulación (Rodríguez *et al.*, 2015) como son las hifas que presentan un desarrollo precoz provocando la infección (colonización) temprana y a mayor nivel en las raíces de las plantas a diferencia de las esporas que su proceso de desarrollo es más lento (Thougnon *et al.* 2014). Por lo tanto, se infiere que el grado de mayor esporulación de los HMA no siempre se correlaciona con la capacidad de colonización de éstos, pudiendo ser inversa o directamente proporcional entre sí, logrando así demostrar que la mayor eficacia de los hongos micorrízicos arbusculares estaría relacionado en mayor grado a su capacidad específica de infectar las raíces de los cultivos y no en la cantidad de esporas que puedan encontrarse en el suelo.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

- La planta trampa con mayor eficiencia de multiplicación de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) fue la planta de arroz debido a que presentó mayor esporulación.
- El número de esporas nativas viables de HMA en 100 g de suelo rizosférico puede ordenarse de forma descendente de la siguiente manera: T7 (Mariscal Cáceres: ICS: Arroz), T12 (Mariscal Cáceres: ICS: Maíz), T4 (Mariscal Cáceres: CCN: Maíz), T5 (Rioja: CCN: Maíz), T8 (Lamas: CCN: Maíz), T6 (Rioja: ICS: Maíz), T1 (Mariscal Cáceres: CCN: Arroz), T2 (Lamas: ICS: Arroz), T3 (Lamas: CCN: Arroz), T10 (Lamas: ICS: Maíz), T11 (Rioja: ICS: Arroz) y T9 (Rioja: CCN: Arroz).
- Se encontraron 38 morfotipos diferentes, siendo el M24 el que presentó mayor cantidad de esporas (192527.6), representando el 20.78 % del total presentes en los 12 tratamientos. Asimismo, los morfotipos que mayor presencia tuvieron fueron M4 Y M29 presentes en 9 tratamientos diferentes.
- El porcentaje de colonización micorrízica fue mayor en el tratamiento 8 (Lamas: CCN: Maíz) con un valor de 98.33 % y fue menor en el tratamiento 9 (Rioja: CCN: Arroz) con un valor de 74.44 %.
- Según el análisis realizado con los parámetros de los suelos y los factores estudiados, no se evidenció correlación directa entre sí, por lo que no comprendería realizar un análisis de regresión múltiple.

CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES

- Si se desea realizar la multiplicación de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) a gran escala se recomienda utilizar plantas de arroz como planta trampa con un tiempo de estrés hídrico no menor a 20 días.
- Se recomienda realizar análisis fisicoquímico de suelos de cada tratamiento para observar la influencia de factores edáficos sobre el comportamiento de la diversidad de las esporas de HMA presentes.
- Se debe realizar la identificación molecular de las de esporas de HMA propagadas para comprender la compatibilidad específica con las raíces de las plantas trampa.
- Evaluar la adaptabilidad de las micorrizas multiplicados en vivero y su interacción en las plantaciones de cacao con fines productivos.

REFERENCIAS

- Abud, Y. C., Gómez, D. N., Beltrán, N. Á. M., Alvarado, H. M., y Varela, F. L. (2016). Diversidad de hongos micorrícicos arbusculares provenientes de la rizósfera de aguacate (*Persea americana* Mill) y selección de plantas trampa para su propagación. *Biológicas Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias*, 18(2), 1-9. Recuperado de: https://www.biologicas.umich.mx/index.php?journal=biologicasypage=articleyop=vi ewypath%5B%5D=BiologicasVol18No2_2106_1-9
- Aguilar, C., y Dreyer, B. (2009). Manual sobre técnicas utilizadas en investigaciones sobre micorrizas. Recuperado de https://www.academia.edu/download/61020730/Aguilar___Dreyer_200920191025-105302-ycwxov.pdf.
- Aguilar, U. W., Arce, A. P., Galiano, M. F., y Torres, C. T. J. (2016). Spore isolation and evaluation of inoculation methods in the production of mycorrhizae in trap crops. *Revista Tecnología En Marcha*, 29(7), 5-14. <https://doi.org/10.18845/tm.v29i7.2700>
- Aguilera, G. L. I., Olalde, P. V., Arriaga, M. R., Contreras, A. R. (2007). Micorrizas arbusculares. *Ciencia Ergo Sum, Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, vol. 14, (3), 300-306. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=104/10414307>
- Alarcón, A.; Ferrera, C. R. (1999). Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra Latinoamericana*, vol. 17, pp. 179-191. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, México. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=573/57317302>
- Arévalo, H. C.O. (2016). *Prospección de la densidad de esporas y colonización de micorrizas en cacao silvestre de Ucayali Madre de Dios*. Tesis de grado. Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Agronomía. Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/1968>.
- Asano, E. G. J y Dooring H. (1997). Ensayos para definir una técnica adecuada en la multiplicación de las Micorrizas Vesículo Arbusculares MVA. *Informe técnico*. Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca CVC, Cali, Colombia. 38p
- Augé, RM., Toler, HD y Saxton, AM (2016). Mycorrhizal stimulation of leaf gas exchange in relation to root colonization, shoot size, leaf phosphorus and nitrogen: a quantitative

analysis of the literature using meta-regression. *Frontiers in plant science*, 7, 1084. doi.org/10.3389/fpls.2016.01084

Barrera, B. Silvia. (2009). El uso de los hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 7, 123-132. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v7n1/v7n1a14.pdf>

Berruti, A., Lumini, E., Balestrini, R. y Bianciotto, V. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: let's benefit from past successes. *Fronteras en microbiología*, 6, 1559. doi.org/10.3389/fmicb.2015.01559

Boyetchko, S. M., y Tewari, J. P. (1995). Susceptibility of barley cultivars to vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Canadian journal of plant science*, 75(1), 269-275. doi:10.4141/cjps95-048

Brundrett, M. C., Piché, Y., y Peterson, R. L. (1984). A new method for observing the morphology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Canadian Journal of Botany*, 62(10), 2128-2134. doi:10.1139/b84-290

Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. y Malajczuk, N. (eds) (1996). Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. *Australian Centre for International Agricultural Research ACIAR Monograph 32*. 374 + x p. Recuperado de: <http://ageconsearch.umn.edu/record/119356/files/32.pdf>

Buelbas, O. y Peñates W. (2008). *Caracterización de géneros de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) y vesículo arbusculares (HMVA) nativos, asociadas con el pasto angleton (Dichanthiu maristatum), bajo diferentes fuentes de abonamiento en la hacienda Casanare, Municipio de Tolu, Sucre*. (Tesis de grado). Universidad de Sucre, Sucre, Colombia. Recuperado de: <https://repositorio.unisucre.edu.co/bitstream/001/429/2/633.202B928.pdf>

Bustamante, C. A., y Zambrano, E. W. N. (2017). *Eficiencia de la multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), nativos en Zea mays L. en condiciones de invernadero, mayo-diciembre, 2014*. (Tesis de grado) Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú. Recuperado de: <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/798>

Carballar, H. S. (2009). *Variación temporal de la diversidad de hongos de micorriza arbuscular y el potencial micorrízico en especies silvestres de Agave en Oaxaca*. (Tesis de maestría). Instituto Politécnico Nacional, Oaxaca, México. Recuperado de http://literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx:8080/xmlui/handle/LITER_CIIDIROAX/79

- Carrenho, R., Trufem, S. F.B. y Bononi, V. L.R. (2002). Effects of using different host plants on the detected biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi from an agroecosystem. *Brazilian Journal of Botany*, 25(1), 93-101. doi.org/10.1590/S0100-84042002000100012
- Carreón, A. Y., Jerónimo, T. E., Beltrán, N. M. D. L. Á., Martínez, T. M., Trejo, A. D., y Gavito, M. E. (2013). Aislamiento y propagación de cultivos puros de hongos micorrízicos arbusculares provenientes de huertas de aguacate con diferente manejo agrícola por la técnica de minirizotrófon. *Revista Mexicana de Micología*, 37, 29-39. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmm/v37/v37a5.pdf>
- Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza [CATIE], 2012. *Catálogo de clones de cacao seleccionados por el CATIE para siembras comerciales*. Wilbert Phillips-Mora et al- 1ª ed- 68 p, Turrialba, Costa Rica. ISBN 978-9977-57-571-1
- Chaiyasen, A., Chaiya, L., Douds, D. D., y Lumyong, S. (2016). Influence of host plants and soil diluents on arbuscular mycorrhizal fungus propagation for on-farm inoculum production using leaf litter compost and agrowastes. *Biological Agriculture y Horticulture*, 33(1), 52–62. doi:10.1080/01448765.2016.1187670
- Covacevich, F., Consolo, V. F. (2014). *Manual de protocolos: herramientas para el estudio y manipulación de Hongos Micorrízicos Arbusculares y Trichoderma*, 1ª ed. - Mar del Plata: Universidad Nacional de Mar del Plata, 50; 115 p. Recuperado de <http://hdl.handle.net/11336/108183>
- Dang, QH., Vu, DT y Pham, H. N. D. (2018). Ropagating arbuscular mycorrhizal fungi associated with coffee plant by using the herbaceous host. *Journal of Science Ho Chi Minh City Open University*, 8(1), 58-63. Recuperado de <http://journalofscience.ou.edu.vn/index.php/tech-en/article/view/338/267>
- Daniels, H.B.A., H.D. Skipper, 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In: *Schenck, N.C. (ed.), Methods and principles of mycorrhizal research*. American Society for Phytopathology, St Paul, Minn. pp. 29-37.
- Dávila, L., Ramos, C., y Rosales, C. (2009). *Multipliación de hongos micorrízicos arbusculares MA nativos de cultivo de cacao (Theobroma cacao) en maíz (Zea mays) bajo distintos tratamientos agronómicos*. (Tesis de grado). Universidad Popular del Cesar, Valledupar, Colombia.
- De Dieu Habiyaemye, J., Muthuri, C., Matiru, V., Nyaga, J., Mukuralinda, A., Ruganzu, V., Ngabonziza, JD y Sinclair, F. (2018). Indigenous arbuscular mycorrhizal fungi associated with tree species of the agroforestry systems of Rwanda and their potential to colonize maize roots. *African Journal of Microbiology Research*, 12 (36), 879-888. doi.org/10.5897/AJMR2017.8511

- Del Águila K., Vallejos, T. G. Arévalo, L. A. y Becerra, A. G. (2018). Inoculación de consorcios micorrízicos arbusculares en *Coffea arabica* L. variedad caturra en la región San Martín. *Información tecnológica*, 29(1), 137-146. doi.org/10.4067/S0718-07642018000100137
- Del Val, C., Barea, JM y Azcon-Aguilar, C. (1999). Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungus Populations in Heavy-Metal-Contaminated Soils. *Applied and Environmental Microbiology*®, 65 (2), 718-723.
- Dirección Regional de Agricultura San Martín-DRASAM. (2016). *Diagnóstico de la cadena de valor del cultivo del cacao*. Dirección de Productividad Agraria - DPA, San Martín, Perú. Recuperado de: <http://siar.regionsanmartin.gob.pe/documentos/diagnostico-cadena-valor-cultivo-cacao>
- Duran R, S., (2010). *Cultivo y explotación del cacao*. Colombia: Grupo Latino Editores, 2010. ISBN: 9789587360172
- Ek Chim, Jorge Luis (2019). *Establecimiento de la producción de hongos micorrízicos arbusculares asociados a cocotero a través de cultivos trampa*. (Tesis de maestría). Centro de Investigación Científica (CICY), A.C. Yucatán, México. Recuperado de <http://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/1567>
- Erazo T. G, E. (2013). *Evaluación de la efectividad de las micorrizas arbusculares nativas sobre el desarrollo y estado nutritivo en plantas de vivero de "cacao" (Theobroma cacao L.) en el Cantón Santo Domingo*. (Tesis de grado) Escuela Politécnica del Ejército, Santo Domingo. Recuperado de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/6833/1/T-ESPE-002484-A.pdf>
- Franco, N. J. D. (2008). *Efectos beneficiosos de las micorrizas sobre las plantas*. (Tesis de licenciatura en Biología). Universidad de Sevilla, España. Recuperado de https://www.ciaorganico.net/documypublic/200_infoagronomo.net_Micorrizas-beneficios.pdf
- Gallegos, E. G., Cruz, G. G., Cuecuecha, O. G. V., y Campos, E. M. Z. (2009). Respuesta de *Cassia tomentosa* desarrollada en tepetate con inoculación micorrízica bajo condiciones de invernadero. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(4), 816-825. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3394125>
- García, C. Luis; (2010). *Cultivares de Cacao del Perú*. Lima, Perú. MINAGRI, DEVIDA (2014) Segunda Reimpresión, junio 2014. 108 p.

- Garzón, L. P. (2016). Importancia de las micorrizas arbusculares (MA) para un uso sostenible del suelo en la amazonia colombiana. *Revista Luna Azul*, (42), 217-234. doi: 10.17151/luaz.2016.42.14
- Gerdemann, J. W., y 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. doi:10.1016/s0007-1536(63)80079-0
- Giovannetti, M., y Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *The New Phytologist*, 84(3), 489-500. Recuperado de <http://www.jstor.org/stable/2432123>
- Gomez, K., A. and Gomez, A. A. 1984. *Statistical procedure for agricultural research*. II ed. John Wiley and Sons, New York, pp.357-427.
- González, P. J., Rivera, R., Arzola, Joan., Morgan, O., y Ramírez, J. F. (2011). Effect of inoculating the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) strain *Glomus hoi-like* on the response of *Brachiaria hybrid* cv. Mulato II (CIAT 36087) to organic and nitrogen fertilization. *Cultivos Tropicales*, 32(4), 05-12. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v32n4/ctr01411.pdf>
- Guerra, S. B. E. (2008). Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. *Tecnología en Marcha*, Vol. 21-1, enero-marzo 2008, P. 191-201. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4835698.pdf>.
- Gutjahr, C., Casieri, L. y Paszkowski, U. (2009). *Glomus intraradices* induces changes in root system architecture of rice independently of common symbiosis signaling. *New Phytologist*, 182 (4), 829-837. doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02839.x
- Habte, M. y Osorio, N. (2001). *Arbuscular mycorrhizas: producing and applying arbuscular mycorrhizal inoculum*. CTAHR, College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa, Honolulu, Hawaii. P: 2-47. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10125/25589>
- Hart, M., y Klironomos, J. (2002). Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. *Mycorrhiza*, 12(4), 181–184. doi:10.1007/s00572-002-0169-6

- Hayman, D.; Barea, J. y Azcon, R. (1976). Vesicular arbuscular mycorrhiza in Southern Spain: its distribution in cross growing in soil of different fertility. *Phytopathologia mediterránea*, 15 (1): 1- 6. Recuperado de <http://www.jstor.org/stable/42684287>
- Hernández, B. Á. D., y Monroy, D. M. (2019). *Caracterización de hongos micorrízicos arbusculares asociados a tres clones de cacao (Theobroma cacao L.) en el Yopal (Casanare)*, (Tesis de grado). Universidad De Cundinamarca, Casanare, Colombia. Recuperado de <http://hdl.handle.net/20.500.12558/2474>
- Hernández, C.; Guadarrama, C., Sánchez, G., Ramos, Z. (2008). Micorriza arbuscular: colonización intrarradical y extracción de esporas. Pp. 1-16. En: Álvarez-Sánchez, J; Monroy-Ata, A (comp.). Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración. *Las prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias, UNAM*, México, D.F.
- Hernández, M, M., Cetina, A. V. M., González, C. M. C., y Cervantes, M. C. T. (2006). Inoculación micorrízica y su efecto en el crecimiento de dos leguminosas arbóreas. *Terra Latinoamericana*, 24(1), 65-73. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57311494008>
- Hernández, W y Salas, E. (2009). La inoculación con *Glomus fasciculaton* en el crecimiento de cuatro especies forestales en vivero y campo. *Agronomía Costarricense*, 33(1), pp. 17-30. Recuperado de https://www.mag.go.cr/rev_agr/v33n01-017.pdf
- Honrubia, M. (2009). The Mycorrhizae: a plant-fungus relation that has existed for more than 400 million years. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 66, (S1), 133-144. doi.org/10.3989/ajbm.2226
- Ingleby, K., 2007. Assessment of mycorrhizal diversity in soils and roots, and nursery inoculation to improve the survival and growth of seedlings. Mycorrhizal training manual. *Centre for Ecology and Hydrology*. PENICUIK. 87p.
- Instituto Nacional de Innovación Agraria-INIA, (2019). *Sistematización de los subproyectos de cacao financiados por el instituto nacional de innovación agraria a través del programa nacional de innovación agraria*. Primera edición: mayo 2019. *Hecho Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú* N. 2019-07021 Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA. Recuperado de <https://www.pnia.gob.pe/wp-content/uploads/2019/06/cacao.pdf>
- Iriarte, H. J., Crespo, E. M., Torres, M. L., Ontivero, E., Risio, L. V., Menoyo, E. y Ballesteros, S. (2018). *Manual de metodologías para el trabajo con hongos y sus simbiosis*. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia Universidad Nacional de San Luis. (1ª ed.) *San Luis: Nueva Editorial Universitaria* 70. p. Universidad pública en San Luis, Argentina,

- Jenkins, W. (1964). A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease repórter*, 48, 692.
- Lambais, M. R y Ramos, A. C. (2010) Biochemical signals and their transduction in arbuscular mycorrhizas. In: *Siqueira JO et al (eds) Mycorrhizas: 30 years of science in Brazil*. UFLA, Lavras.
- Leiva, J. (2009). *Evaluación del hongo nematófago Pochonia Chlamydosporia, en el control del nematodo del nudo Meloidogyne sp., en el cultivo de sacha inchi 70 Plukenetia Volubilis bajo condiciones de vivero*. Universidad Nacional de San Martín (UNSM). Tarapoto, Perú. 136 pp.
- León, V. D. (2006) *Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (Manihot esculenta sp) en dos regiones de la Amazonía colombiana*. (Tesis de grado). Pontifica Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10554/8323>
- López, C. Y. M., Cunias, R. M. Y., Carrasco, V. Y. L. (2020). El cacao peruano y su impacto en la economía nacional. *Universidad y Sociedad*, 12(3), pp. 344-352. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/rus/v12n3/2218-3620-rus-12-03-344.pdf>
- Lugo, M., Giordano, P., Urcelay, C. y Crespo, E. (2011). Colonización radical por endófitos fúngicos en *Trithrinax campestris* (Arecaceae) de ecosistemas semiáridos del centro de Argentina. *Sociedad Argentina de Botánica; Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*; 46 (3-4): 213-222. Recuperado de <http://ref.scielo.org/238jqz>
- Madrid, C. M., Fernández, C. E. y Casares, S. A. (2016). *Producción de inóculo fúngico para la micorrización de árboles destinados a recuperar zonas degradadas por la actividad industrial*. (Proyecto de Investigación Aplicada) Universidad de Oviedo, España. Recuperado de <https://www.researchgate.net/publication/305215763>
- Malembaka, R. (2020). *Characterization and screening of native arbuscular mycorrhizal fungi isolates from maize (Zea mays L.) Agro ecosystems in South Kivu, Democratic Republic of Congo* (Tesis doctoral), Universidad de Nairobi, Democratic Republic of Congo. Recuperado de: <http://erepository.uonbi.ac.ke/handle/11295/153051>
- March, N. M. F. (2020). *Comparación del perfil de ácidos grasos (ESI-MS y RMN) y el contenido de metilxantinas (HPLC-DAD) en granos de Theobroma cacao de siete regiones del Perú*. (Tesis de maestría), Pontificia Universidad Católica, Lima, Perú. Recuperado de <http://hdl.handle.net/20.500.12404/16106>

- Mena, E. A., Fernández, S. K., Jerez, M. E., Olalde, P. V., y Serrato, R. (2011). Influence of *Glomus hoi*-like inoculation and a concentrated species of AMF on sorghum plant development submitted or not to water stress. *Cultivos Tropicales*, 32(1), 16-27. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193222352002>
- Menge, J. A. 1984. Inoculum production in VA mycorrhiza. *Soil Science Society*. 42: 926-930.
- Ministerio de Agricultura y Riego (2016). *Estudio del Cacao en el Perú y el Mundo*. Dirección de Estudios Económicos e Información Agraria, Primera Edición. Recuperado de <https://bibliotecavirtual.minagri.gob.pe/index.php/analisis-economicos/estudios/2016/21-estudio-del-cacao-en-el-peru-y-en-el-mundo/file>
- Ministerio de Agricultura y Riego-Dirección General de Políticas Agrarias - Dirección de Estudios Económicos e Información Agraria MINAGRI-DGPA-DEEIA, (2019). *Observatorio de COMMODITIES: Cacao*. (Acosta Reátegui, J. M.) Recuperado de https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/440890/commodities_cacao_marzo2019.pdf
- Molina, M., Medina, M. y Restrepo, L. F. (2006). Evaluación de sustratos y cultivos trampa bajo condiciones controladas para la obtención de hongos micorrízogenos de Aliso (*Alnus acuminata* H.B.K.). *Livestock Research for Rural Development*, 18, (26). Recuperado de: <http://www.lrrd.org/lrrd18/2/moli18026.htm>
- Muñoz, M. C. D. V. (2000). *Diversidad de hongos formadores de micorrizas arbusculares en suelos contaminados con metales pesados*. (Tesis doctoral), Universidad de Granada, España. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=141082>
- Olivo Fernández, K. J. (2019). *Estandarización del proceso de esporulación masiva de hongos micorrízicos arbusculares HMA bajo condiciones controladas*. (Tesis de grado), Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Guayaquil, Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/45251>
- Palella, S. S., y Martins, P. F. (2012), *Metodología de la investigación cuantitativa* (3ra Ed) Fondo Editorial de la Universidad Pedagógica Experimental Libertador (FEDUPEL) Caracas, Venezuela.
- Parihar, M., Chitara, M., Khati, P., Kumari, A., Mishra, P. K., Rakshit, A., Rana, K., Meena, V. S., Singh, A. K., Choudhary, M., Ram, H., Pattanayak, A., Tiwari, G., Jatav, S. S.

- y Bisht, J. K. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi: abundance, interaction with plants and potential biological applications. *In Advances in Plant Microbiome and Sustainable Agriculture*, 19 (pp. 105-143). Springer, Singapore. doi.org/10.1007/978-981-15-3208-5_5
- Peña, V C. P., Cardona, G. I., Mazorra, A., Arguellez, J. H. Y Arcos, A. L. (2006). Micorrizas arbusculares de la amazonia colombiana. *Catalogo Ilustrado. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI*, 90 p. Recuperado de https://sinchi.org.co/files/publicaciones/publicaciones/pdf/catalogo_micorrizas%20para%20web.pdf
- Peñaloza, D. A. (2019). *Aplicación de hongos micorrízicos arbusculares en la producción de plantas de selva baja caducifolia con fines de reforestación*. (Tesis de maestría) Universidad Autónoma del Estado De Morelos, México.
- Pérez C, A., Rojas, S, J., y Montes, V. D. (2011). Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el caribe colombiano. *Revista Colombiana De Ciencia Animal*, 3(2), 366-385. <https://doi.org/10.24188/recia.v3.n2.2011.412>
- Pérez, A. F. J. (2019). *Producción masiva de hongos micorrízicos arbusculares utilizando plantas trampa e inóculo de suelo rizosférico de café proveniente de diferentes altitudes de San Martín*. (Tesis de grado) Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto, Perú. Recuperado de: <http://tesis.unsm.edu.pe/handle/11458/3587>.
- Pérez, L.Y. D. C., Álvarez, S. J. D., Mendoza, V. J., Pat, F. J. M., Gómez, Á. R., y Cuevas, L. (2012). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México. *Gayana. Botánica*, 69(1), 46-56. doi.org/10.4067/S0717-66432012000100006
- Pérez, S. E. I. (2001) *Prospección y aplicación de micorrizas en especies vegetales autóctonas del matorral, para favorecer la revegetación de ecosistemas mediterráneos degradados*. (Tesis doctoral) Universidad de Granada, España. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10481/35586>
- Phillips, J. M., y 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(1), 158–181. doi:10.1016/s0007-1536(70)80110-3

- Piliarová, M., Ondreickova, K., Hudcovicova, M., Mihálik, D. y Kraic, J. (2019). Arbuscular Mycorrhizal Fungi – Their Life and Function in Ecosystem. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*. 65(1)3-15. doi.org/10.2478/agri-2019-0001
- Posada, R. y Sieverding, E. (2014): Arbuscular mycorrhiza in Colombian coffee plantations fertilized with coffee pulps as organic manure. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 87, 243-248 (2014), doi:10.5073/JABFQ.2014.087.034
- Prieto, B. O., Belezaca, P. C., Mora, S. W., Vallejo, Z. E., Gutiérrez, L. V., Pinargote, M. E. (2011). Inoculación de *Brachiaria decumbens* con hongos formadores de micorriza arbuscular nativos del trópico húmedo ecuatoriano. *Ciencia y Tecnología* 4(2) 9-18.
- Priyadharsini P., Muthukumar T. (2015). Insight into the role of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable agriculture. In: *Thangavel P., Sridevi G. (eds) Environmental Sustainability. Springer, New Delhi*. doi.org/10.1007/978-81-322-2056-5_1
- Raut, S. B., Deokar, C. D., Navale, A. M. y Dahatonde, J. A. (2019). On-farm Production of Arbuscular Mycorrhizal (AM) Fungi Using Trap Crop Cycles. *Int.J.Curr.Microbiol. App.Sci.* 8(10): 1084-1101. doi: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.810.128>
- Rengifo, B. (2019). *Niveles de abonamiento con gallinaza más dosis uniforme con roca fosfórica en el rendimiento de Cacao (Theobroma cacao L.), en parcela demostrativa, Caballo Cocha, Loreto.* (Tesis de grado) Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Loreto, Perú.
- Rivera, R. y Fernández, K. (2003). El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe. *La Habana: INCA*. 166 p. doi.10.13140/2.1.1813.920
- Robles, C. (2009). Variación temporal de la diversidad de hongos de micorriza arbuscular y el potencial micorrízico en especies silvestres de Agave en Oaxaca. *Instituto Politecnico Nacional (IPN)*. Oaxaca, México. 80 pp.
- Robles, M. D.; Robles, C.; Rivera, B.F., Ortega, L.M., y Pliego, M.L. (2013). Inoculación con consorcios nativos de hongos de micorriza arbuscular en *Agave angustifolia* Haw. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(6), pp.1231-1240. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263128353014>
- Rodríguez, L. C.P., Navarro, D. L., Arboleda, V. J. W., Valencia, J. A., y Valle, M. R. H. (2015). Hongos micorrícicos arbusculares asociados a plantas de *Zea mays* L. en un agroecosistema del Atlántico, Colombia. *Agronomía*, 23 (1), pp. 20-34. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/2631/263128353014.pdf>

- Rojas, M. K. C., Elizarbe, M. C., Gárate, D. M. H., Ayala, M. D., Ruiz, C. P., y Sieverding, E. (2014). Hongos de micorriza arbuscular en tres agroecosistemas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la amazonia peruana. *Folia Amazónica*, 23(2), 149-156. doi.org/10.24841/fa.v23i2.20
- Sáenz Hernández, U. N., y Nicoya Roque, I. C. (2017). *Evaluación de la producción de cepas de micorrizas aisladas de la empresa Monte Rosa del departamento de Chinandega, utilizando tres sustratos (*Sorghum bicolor* L, *Zea mays*, *Saccharaum officinarum* L) en el período de producción 2016-2017*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Autónoma De Nicaragua, León, Nicaragua.
- Salas, E. 2004. Las micorrizas y su importancia para el manejo y conservación de los árboles del trópico. *Memoria del I congreso sobre suelos forestales y de ordenación territorial ¿son los suelos forestales diferentes?* Universidad Nacional-INISEFOR. Heredia, Costa Rica.
- Sandoval Flores, D. T. (2019). *Caracterización de Hongos Micorrízicos Arbusculares nativos predominantes, provenientes de pasturas de la zona de Cuñumbuque, San Martín y propagados en especies forrajeras*. (Tesis de grado). Universidad Nacional De San Martín, Tarapoto, Perú
- Sandoval, P. J. F., Pérez, U. A., Rodríguez, A., y Rojas, E. T. (2020). Alta presencia de cadmio resulta en baja diversidad de hongos formadores de micorrizas arbusculares asociados a cacao (*Theobroma cacao* L.). *Acta Biológica Colombiana*, 25(3), 333 - 344. doi.org/10.15446/abc.v25n3.78746
- Sangabriel, C.W., Trejo, A. D., Soto, E. A., Ferrera, C. R., y Lara, C. L. (2010). Potencial de colonización de hongos micorrízico-arbusculares en suelos cultivados con papayo bajo diferentes manejos de producción. *Revista mexicana de micología*, 31, 45-52.
- Saparrat, M. C. N., Ruscitti, M. F., y Arango, M. C. (2020). Micorrizas arbusculares. *Libros de Cátedra*. Universidad Nacional de La Plata – *Editorial de la Universidad de La Plata*. Buenos Aires, Argentina. Recuperado de: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/99599>
- Selvakumar, G., Kim, K., Walitang, D., Chanratana, M., Kang, Y., Chung, B., y Sa, T. (2016). Trap culture technique for propagation of arbuscular mycorrhizal fungi using different host plants. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*, 49(5), pp. 608-613. doi.org/10.7745/KJSSF.2016.49.5.608

- Selvakumar, G., Shagol, CC, Kang, Y., Chung, BN, Han, SG y Sa, TM (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi spore propagation using single spore as starter inoculum and a plant host. *Journal of Applied Microbiology*, 124 (6), pp.1556-1565. doi.org/10.1111/jam.13714.
- Sharma, S., Sharma, S., Aggarwal, A., Sharma, V., Singh, M. J., y Kaushik, S. (2017). Multiplication of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Mycorrhizal Fungi*, pp. 154-168.
- Shruti, K., Sharma, R., Dipta, B., Pawar, R. y Kaushal, R. (2017). mass multiplication of indigenous arbuscular mycorrhizae for temperate fruit crops. *The Bioscan*. 12(1): pp. 145-148.
- Smith, S., Read, D. (2008). Mycorrhizal Symbiosis, *Elsevier Edition. Third Edition*. pp. 10-90.
- Tawarayana, K. (2003). Arbuscular mycorrhizal dependency of different plant species and cultivars. *Soil Science and Plant Nutrition*, 49 (5): pp. 655–668, doi:10.1080/00380768.2003.10410323.
- Thioye, B., Kane, A., Faria S. M.D., Fall, D., Sanogo D., Ndiaye, C., Sanon, K. B., Soule, A., Duponnois, R., Sylla, S. N., Bâ, A. M. (2018). Growth response of different species and provenances of jujube seedlings to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. *En: Giri B., Prasad R., Varma A. (eds) Root Biology. Biología del suelo, Springer, Cham*, vol. 52 (21). pp. 501-519 501–519. doi:10.1007/978-3-319-75910-4_21
- Thougnon, I. A. J., Eyherabide, M., Echeverría, H. E., Sainz Rozas, H. R., y Covacevich, F. (2014). Capacidad micotrófica y eficiencia de consorcios con hongos micorrícicos nativos de suelos de la provincia de Buenos Aires con manejo contrastante. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(2), pp. 133–143. doi:10.1016/s0325-7541(14)70062-8
- Tirado, A. P. A. (2017). *Presencia De Esporas De Hongos Micorricíco Arbusculares En Suelos Del Bosque Alto Andino, Parque Natural Chicaque*. (Tesis de grado). Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá D.C., Colombia.
- Trouvelot, A., Kough, J. y Gianinazzi, P. V. (1986). Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. *Recherche de methodes d'estimation ayaniune signification fonctionnelle. Proc. 1st Eur. Symp. Mycorrhizae. Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. Dijón. INRA, París, Francia*.

- Vallino, M., Fiorilli, V. y Bonfante, P. (2014). La inundación del arroz afecta negativamente la ramificación de las raíces y la colonización de micorrizas arbusculares, pero no la viabilidad de los hongos. *Plant, Cell y Environment*, 37 (3), 557-572. <https://doi.org/10.1111/pce.12177>
- Vierheilig, H. (2004). Regulatory mechanisms during the plant – arbuscular mycorrhizal fungus interaction. *Canadian Journal of Botany*, 82(8), pp. 1166–1176. doi:10.1139/b04-015
- Villasagua, M. (2017). *Identificación de Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) en diferentes fincas productoras de cacao en la zona de Vinces-Ecuador*. (Tesis de grado). Universidad de Guayaquil; Facultad de Ciencias para el Desarrollo. Guayaquil, Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/20871>
- Walker, Christopher. (2005). A simple blue staining technique for arbuscular mycorrhizal and other root-inhabiting fungi. *Inoculum*. 56. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/230752393_A_simple_blue_staining_technique_for_arbuscular_mycorrhizal_and_other_root-inhabiting_fungi

TERMINOLOGÍA

Aislamiento de esporas: Consiste en la separación de esporas de una placa con presencia de diversas esporas hacia una luna de reloj con agua estéril, siendo diferenciadas por sus características externas visibles en el microscopio (color, tamaño y forma).

Baño maría: Proceso en el cual se logra calentar muestras en agua en un período de tiempo determinado y una temperatura de oscilación constante.

Centrifugación: Es un proceso mediante el cual se separan distintos contenidos (sólidos de líquidos) de diferentes densidades por medio de una fuerza rotatoria, permitiendo que el contenido menos denso permanezca en la superficie de una solución.

Cuantificación de esporas: Procedimiento que consiste en el recuento individual de las esporas viables presentes en un determinado volumen de suelo. Procedimiento indispensable para determinar la densidad de esporas presentes en un sustrato.

Decantación: Es un procedimiento de carácter físico utilizado para separar composiciones. Permite separar un sólido de un líquido o dos líquidos por la diferencia de sus densidades.

Estilete: Es utilizada principalmente como punzón para la limpieza de las esporas. Generalmente es fabricada de agujas con hoja larga y aguda.

Lactoglicerol. Solución líquida que se obtiene de la mezcla de tres componentes químicos (ácido láctico, glicerol y agua destilada) en proporción de volumen (1.1.1). Se utiliza en el proceso de post tinción de raíces y funciona como decolorante y preservativo (conservación) de muestras de raíces.

Material biológico: Sustrato compuesto por tierra y raicillas procedentes de la parte cercana al tronco principal de una planta, el cual caracteriza por la presencia de esporas de HMA, y que puede ser usado con otros sustratos para llevar a cabo la multiplicación de esporas.

Montar esporas: Procedimiento que consiste en colocar las esporas de HMA sobre una laminilla porta objeto juntamente con un reactivo para ser observados en el microscopio.

Multiplicación de HMA: Proceso que se refiere a la producción masiva de esporas dentro de un determinado tiempo, haciendo uso de material biológico nativo o comercial juntamente con plantas hospederas.

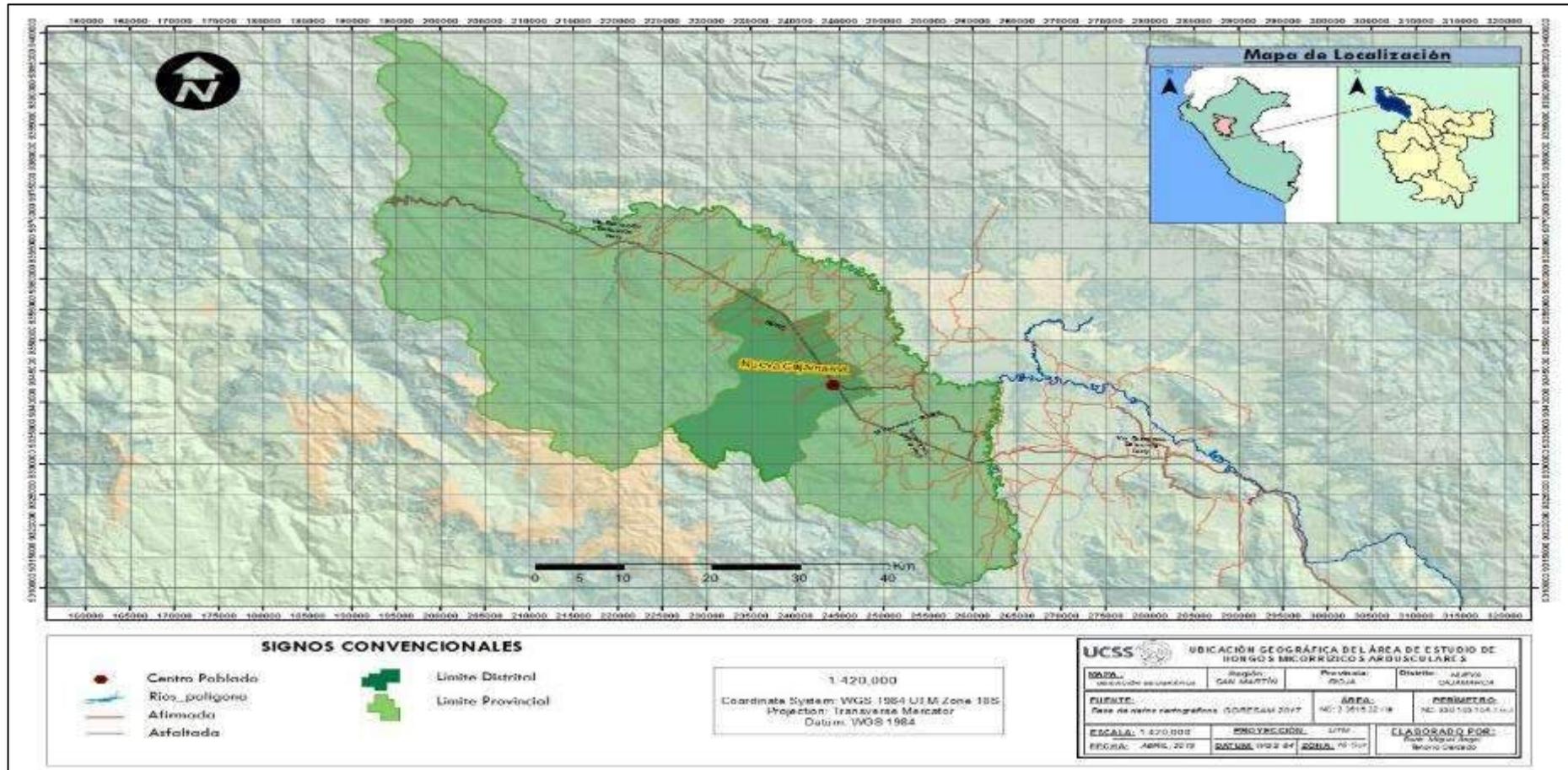
Simbiontes: Proceso característico de dos organismos que cohabitan de entre sí, en los que ambos se benefician sin ocasionarse daño alguno y es esencial para completar procesos de desarrollo que por ellos mismos serian incapaces de alcanzar. (hongos y plantas)

Sometimiento a estrés hídrico: El resultado de una reducción de la cantidad de agua disponible para una planta vegetal. Indispensable para lograr la esporulación de los HMA dentro del proceso de multiplicación de esporas.

Tamizado: es un método de carácter mecánico que es esencial para separar dos componentes solidos con diferentes dimensiones de sus partículas.

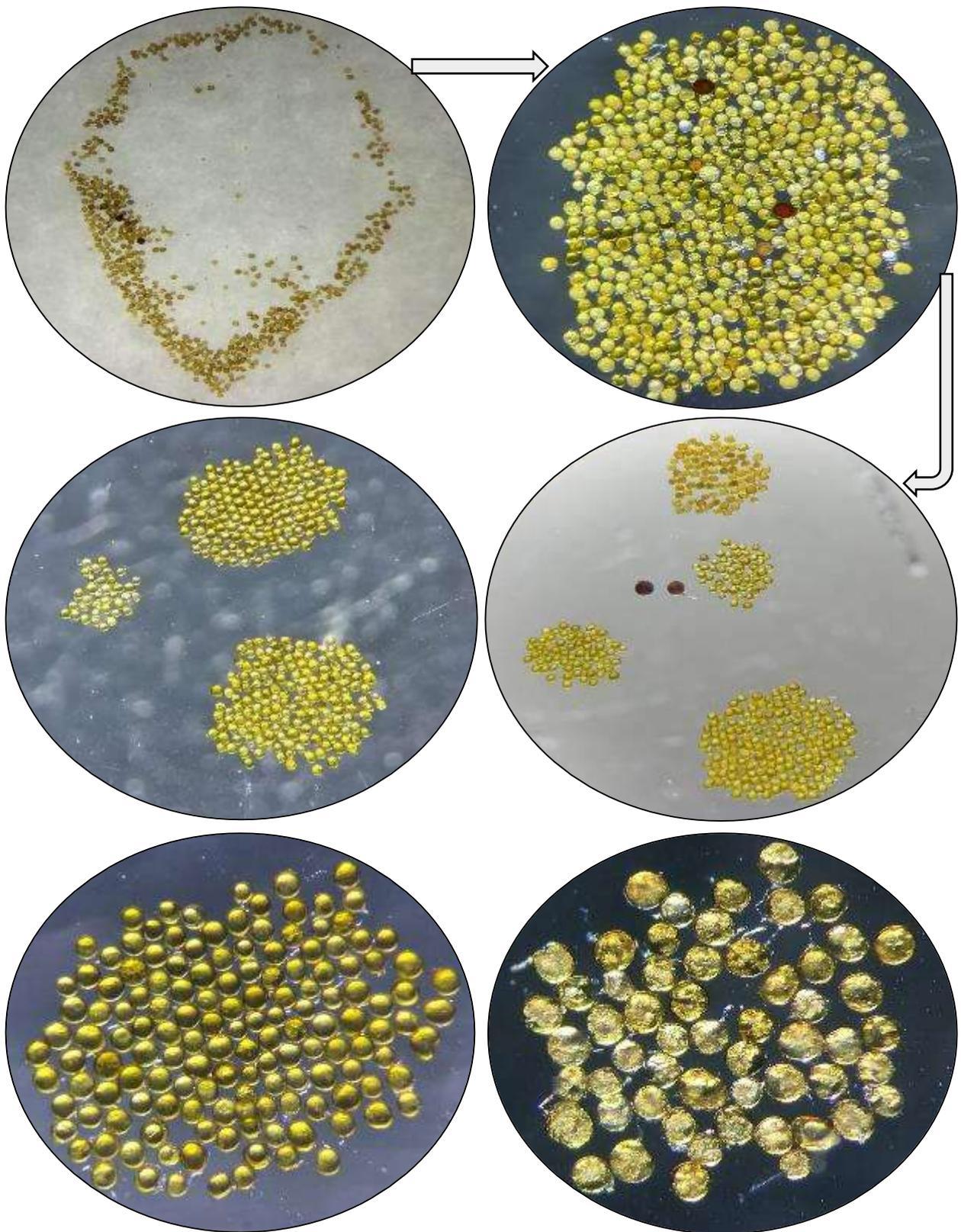
APÉNDICES

Apéndice 1. Ubicación geográfica del distrito Nueva Cajamarca, Rioja



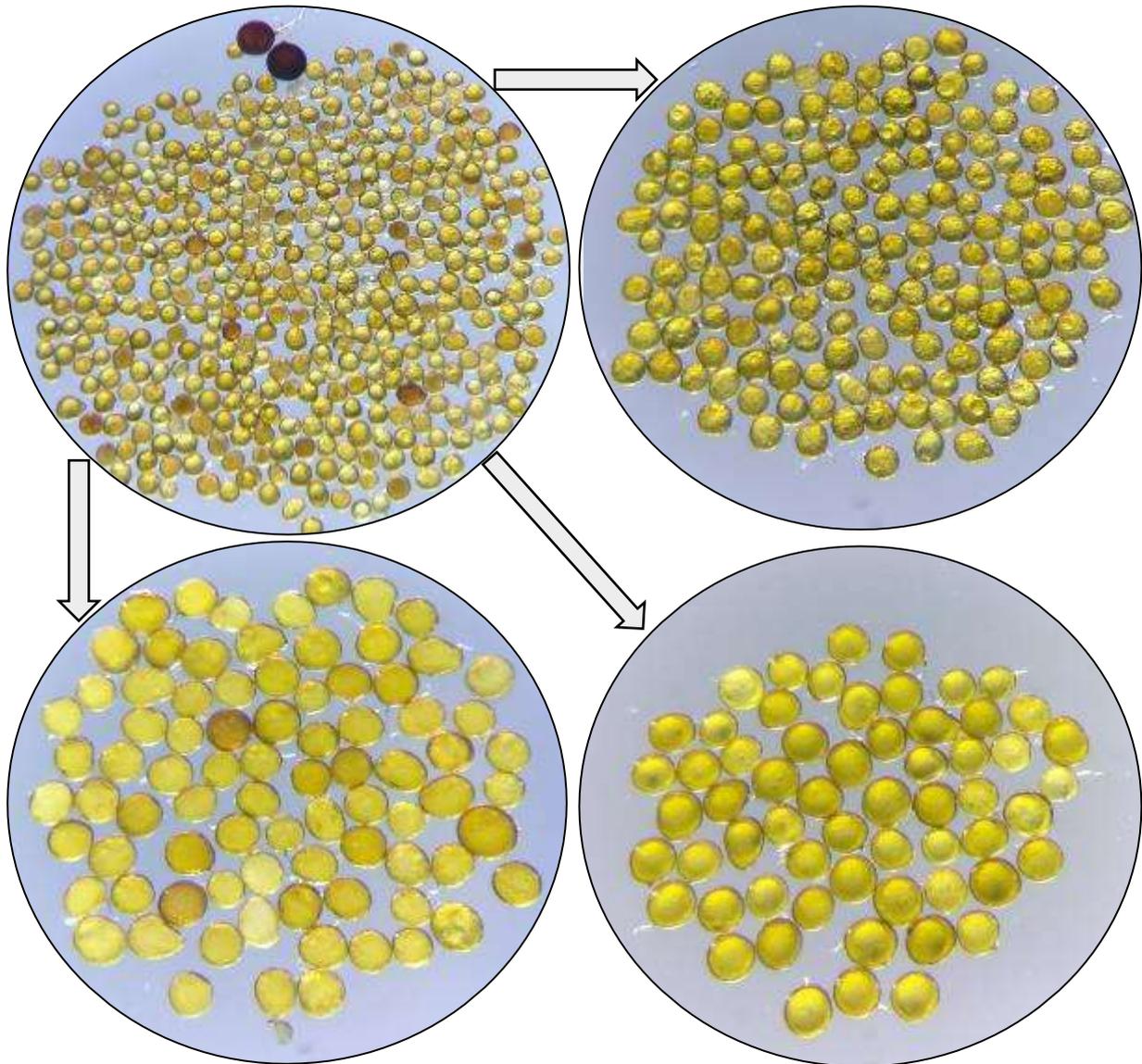
Fuente: Elaboración propia.

Apéndice 3. Aislamiento de esporas e identificación de morfotipos



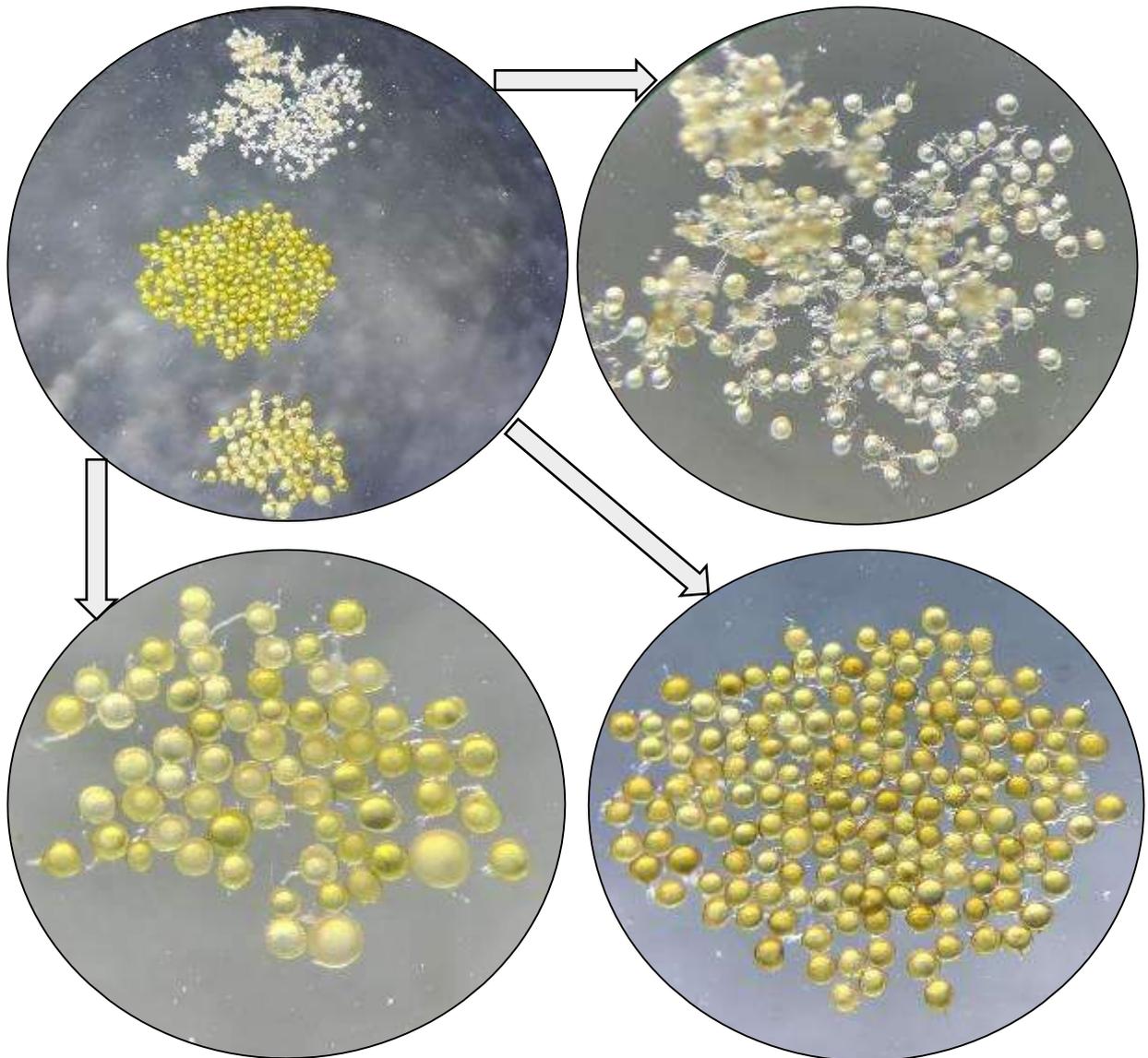
Fuente: Elaboración propia

Aislamiento de esporas e identificación de morfotipos(continuación)



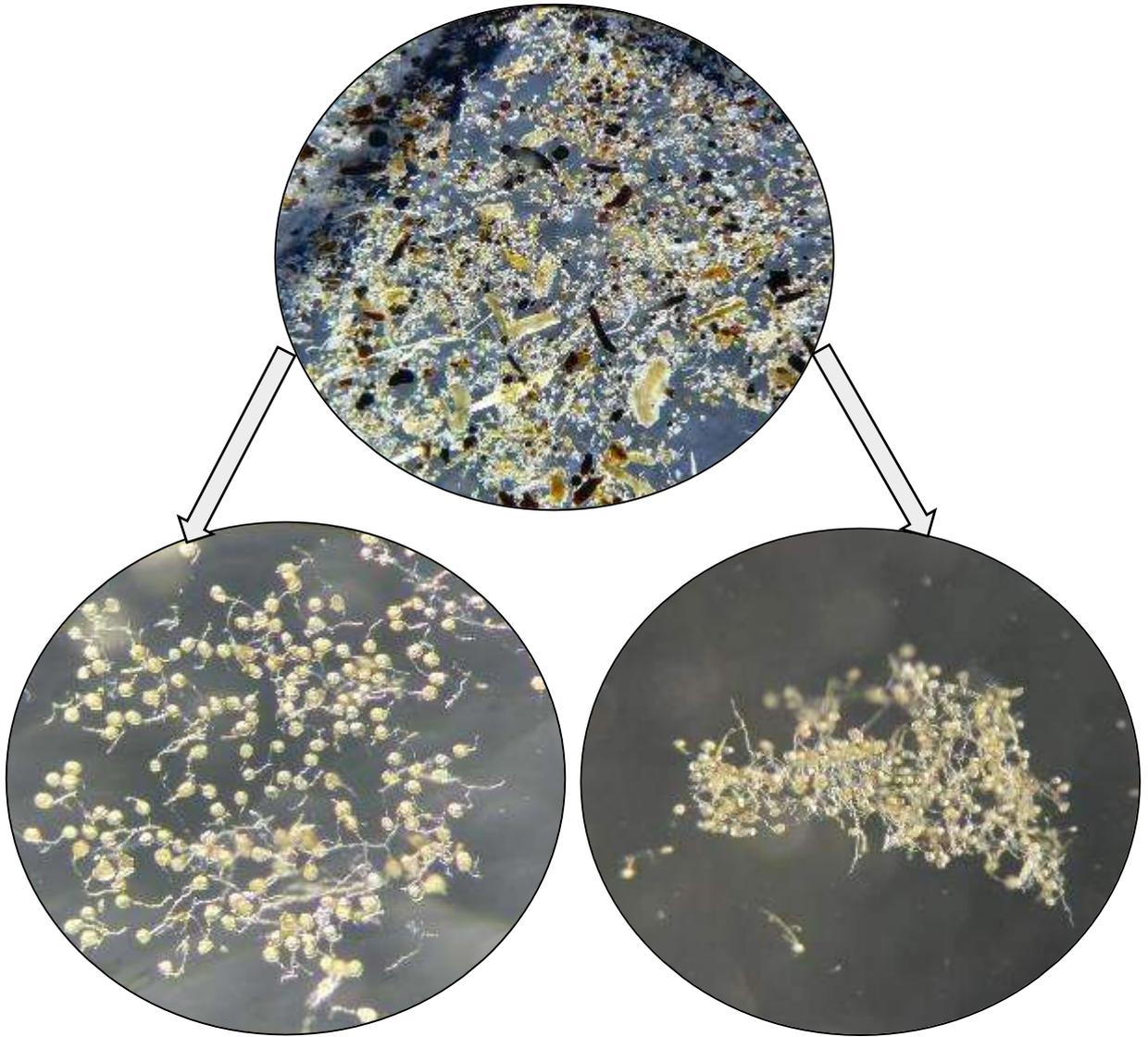
Fuente: Elaboración propia

Aislamiento de esporas e identificación de morfotipos(continuación)



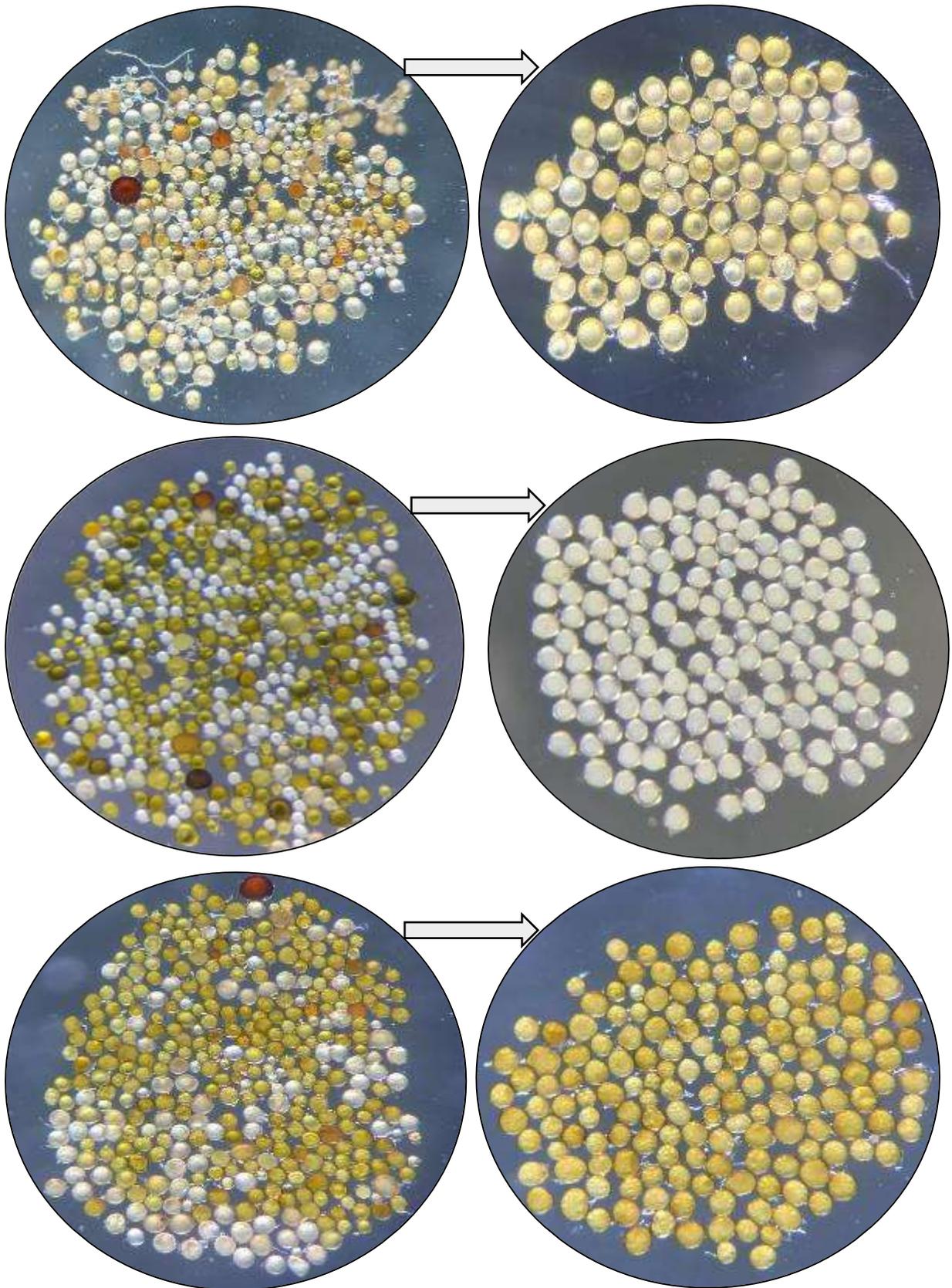
Fuente: Elaboración propia

Aislamiento de esporas e identificación de morfotipos(continuación)



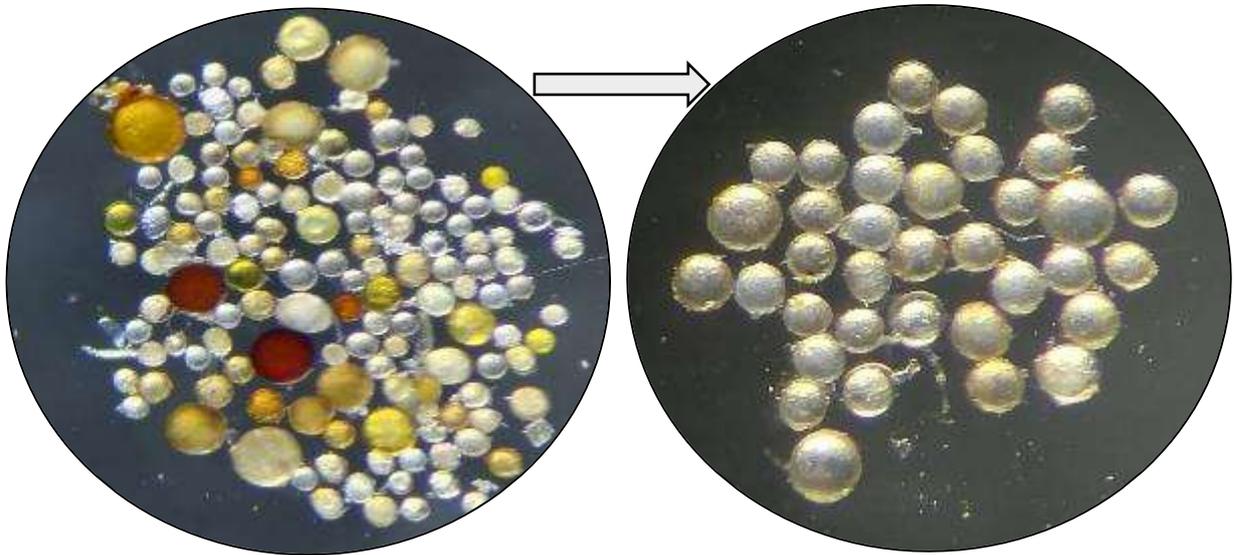
Fuente: Elaboración propia

Aislamiento de esporas e identificación de morfotipos(continuación)



Fuente: Elaboración propia

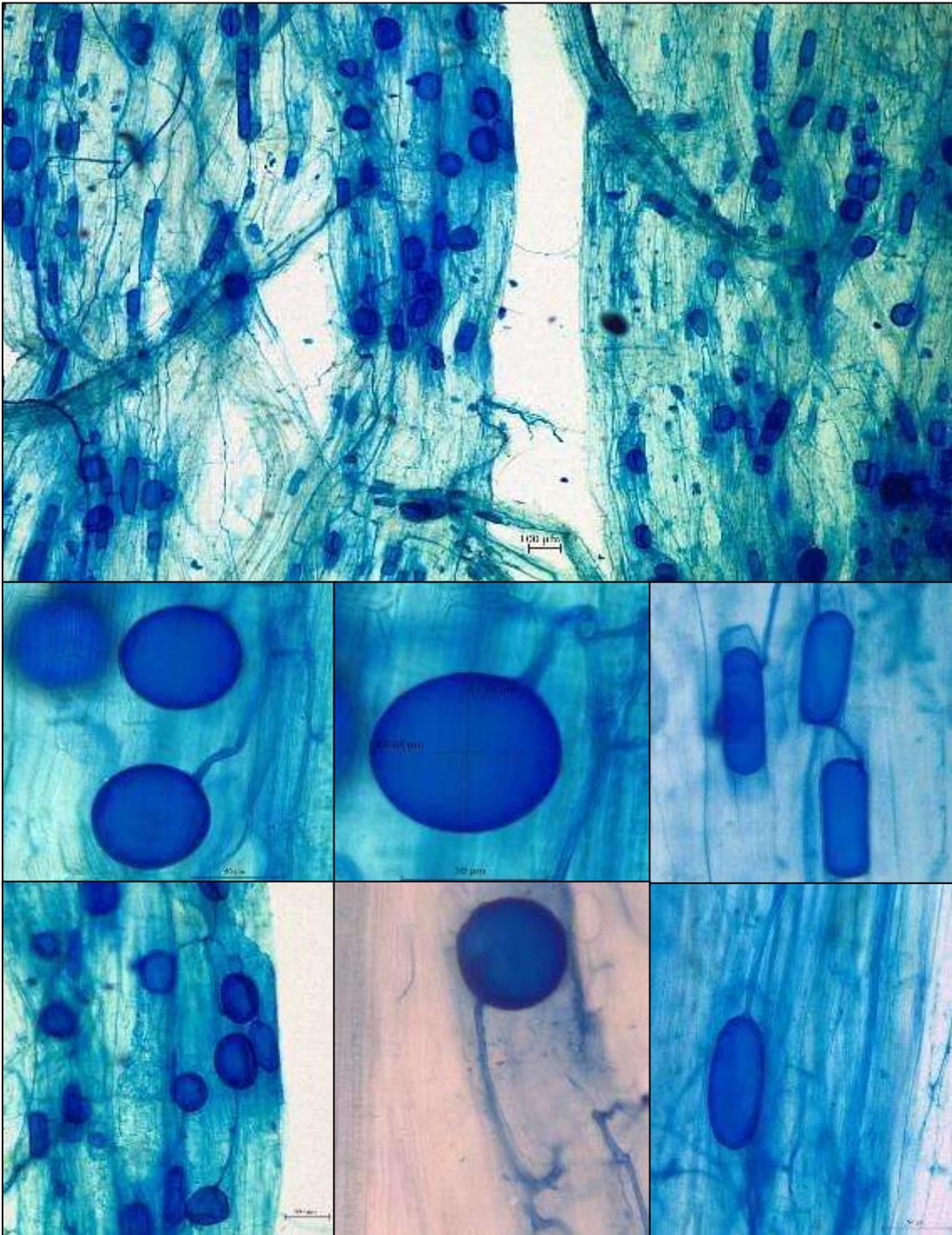
Aislamiento de esporas e identificación de morfotipos(continuación)



Fuente: Elaboración propia

Apéndice 4. Presencia de esporas y vesículas de HMA en las raíces de las plantas

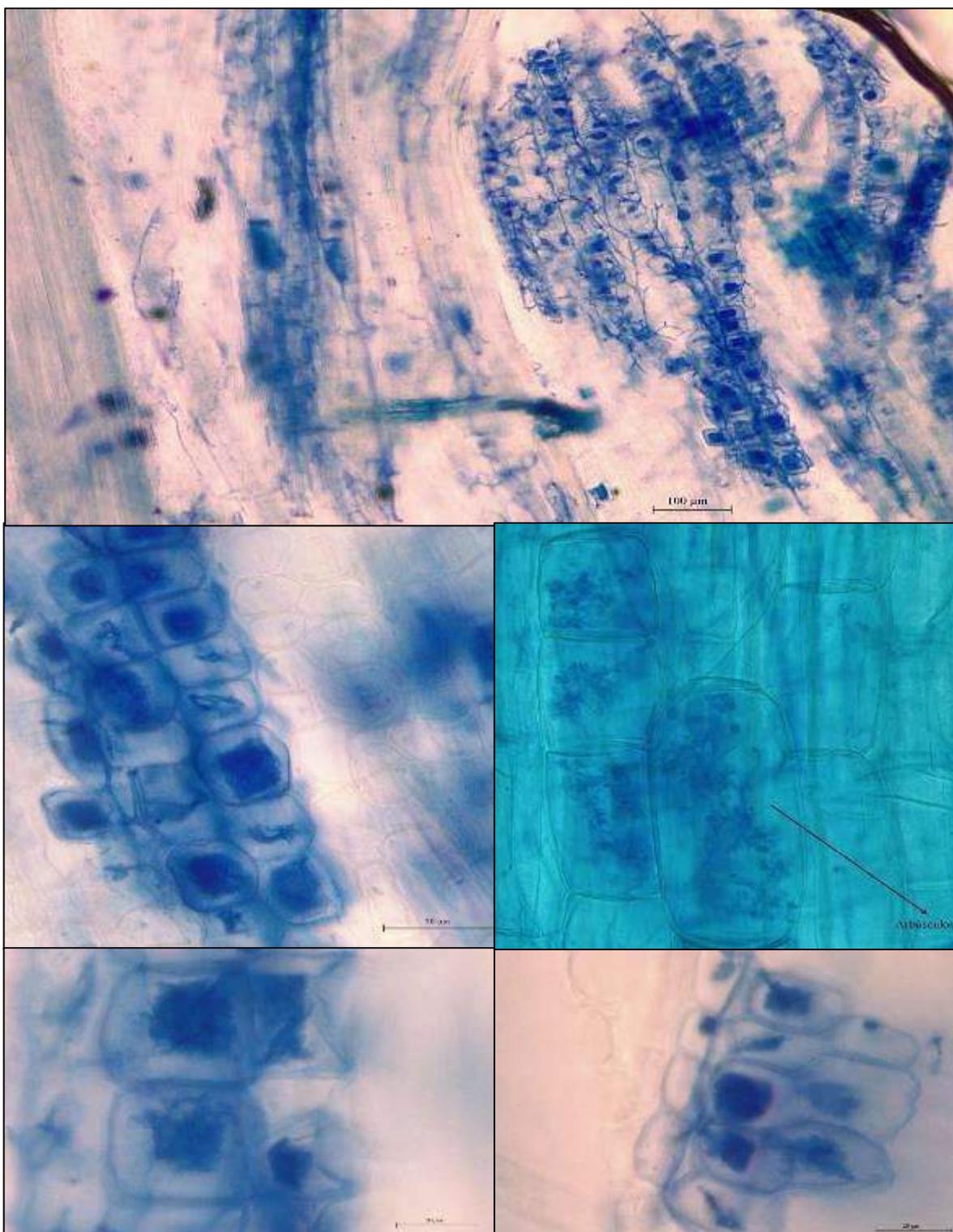
trampa



Nota: Imágenes obtenidas con el microscopio Leica DM100-LED a diferentes escalas.

Fuente: Elaboración propia.

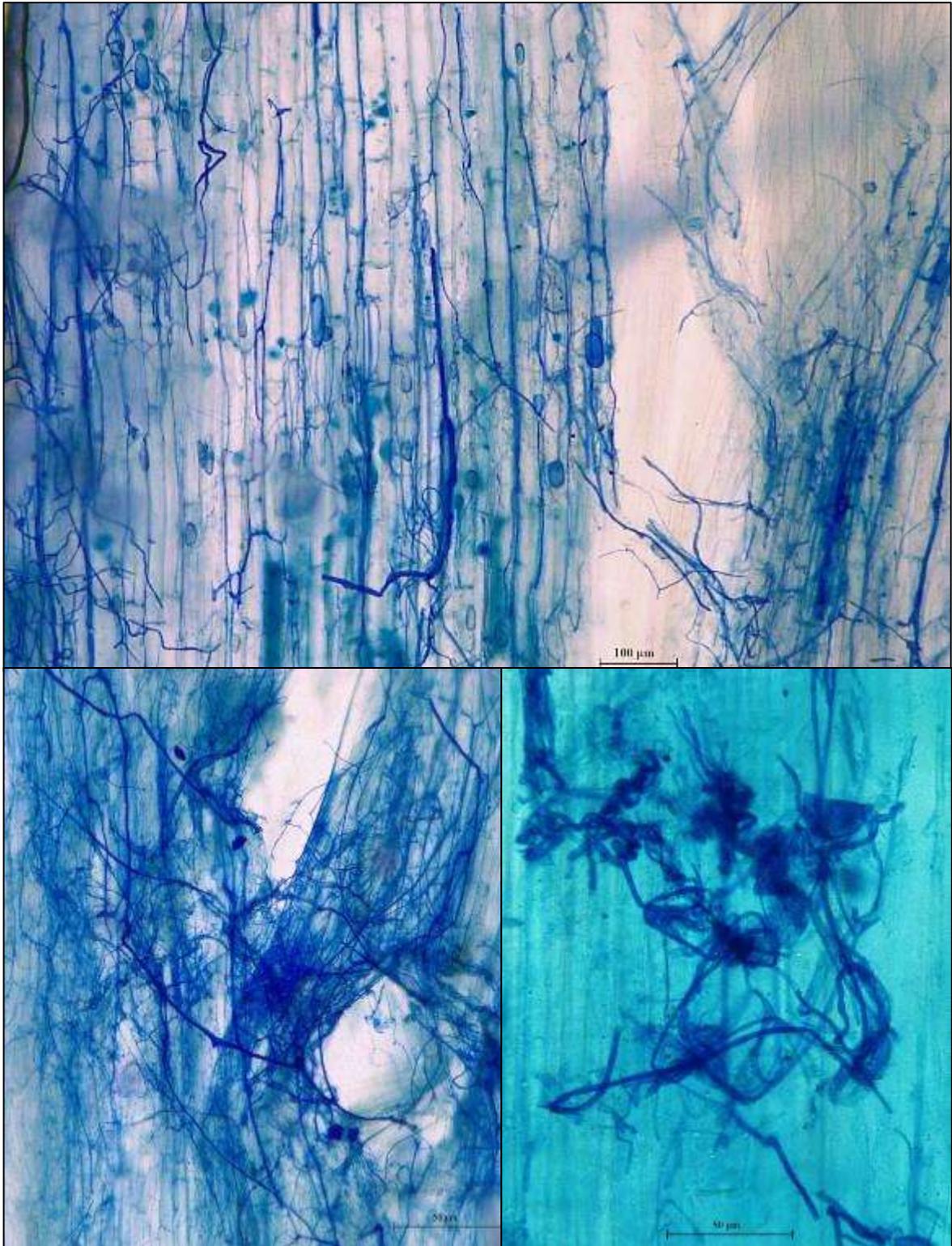
Apéndice 5. Presencia de arbusculos de HMA en las raíces de las plantas trampa



Nota: Imágenes obtenidas con el microscopio Leica DM100-LED a diferentes escalas.

Fuente: Elaboración propia.

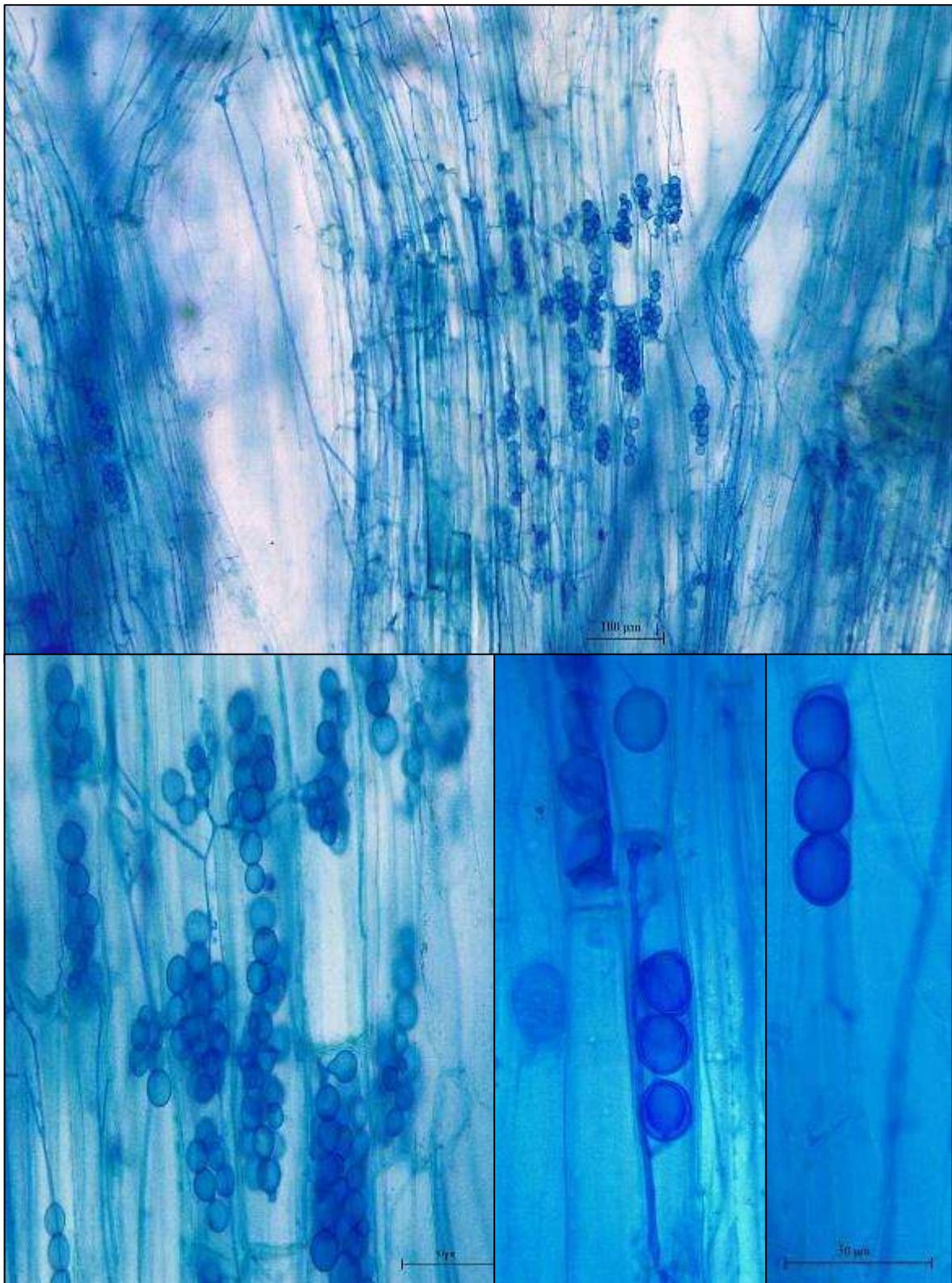
Apéndice 6. Presencia de hifas y micelio extra e intra radicular en las raíces de las plantas trampa



Nota: Imágenes obtenidas con el microscopio Leica DM100-LED a diferentes escalas.

Fuente: Elaboración propia.

Apéndice 7. Presencia de agrupaciones de esporas HMA en las raíces de las plantas
trampa



Nota: Imágenes obtenidas con el microscopio Leica DM100-LED a diferentes escalas.

Fuente: Elaboración propia.

Apéndice 8. Conteo inicial de la densidad de esporas presentes en 100 g de suelo

Provincias	Clones	Planta trampa	Tratamientos	Conteo inicial
Mariscal Cáceres	CCN	Arroz	T1	196.67
Mariscal Cáceres	CCN	Arroz	T1	200.00
Mariscal Cáceres	CCN	Arroz	T1	150.00
Lamas	ICS	Arroz	T2	113.33
Lamas	ICS	Arroz	T2	610.00
Lamas	ICS	Arroz	T2	290.00
Lamas	CCN	Arroz	T3	216.67
Lamas	CCN	Arroz	T3	316.67
Lamas	CCN	Arroz	T3	133.33
Mariscal Cáceres	CCN	Maíz	T4	196.67
Mariscal Cáceres	CCN	Maíz	T4	146.67
Mariscal Cáceres	CCN	Maíz	T4	306.67
Rioja	CCN	Maíz	T5	216.67
Rioja	CCN	Maíz	T5	316.67
Rioja	CCN	Maíz	T5	133.33
Rioja	ICS	Maíz	T6	266.67
Rioja	ICS	Maíz	T6	190.00
Rioja	ICS	Maíz	T6	160.00
Mariscal Cáceres	ICS	Arroz	T7	336.67
Mariscal Cáceres	ICS	Arroz	T7	136.67
Mariscal Cáceres	ICS	Arroz	T7	110.00
Lamas	CCN	Maíz	T8	220.00
Lamas	CCN	Maíz	T8	160.00
Lamas	CCN	Maíz	T8	523.33
Rioja	CCN	Arroz	T9	283.33
Rioja	CCN	Arroz	T9	256.67
Rioja	CCN	Arroz	T9	143.33
Lamas	ICS	Maíz	T10	196.67
Lamas	ICS	Maíz	T10	476.67
Lamas	ICS	Maíz	T10	213.33
Rioja	ICS	Arroz	T11	240.00
Rioja	ICS	Arroz	T11	200.00
Rioja	ICS	Arroz	T11	156.67
Mariscal Cáceres	ICS	Maíz	T12	156.67
Mariscal Cáceres	ICS	Maíz	T12	333.33
Mariscal Cáceres	ICS	Maíz	T12	250.00

Apéndice 9. Pruebas de normalidad de datos y homocedasticidad de varianzas para la variable Densidad de esporas iniciales

Los datos de densidad inicial cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza

Prueba Shapiro Wilk (para normalidad):

W = 0.95523, p-value = 0.2329, el p value es mayor a 0.05 por lo que si se cumple la normalidad de los datos.

Prueba Breusch-Pagan test (para homocedasticidad u homogeneidad de varianza):

BP = 16.241, df = 11, p-value = 0.06201, p value es mayor a 0.05 por lo que si se cumple la homogeneidad de varianza

Apéndice 10. Conteo final de la densidad de esporas presentes en 100 g de suelo

Provincias	Clones	Planta trampa	Tratamientos	Conteo final
Mariscal Cáceres	CCN	Arroz	T1	7480
Mariscal Cáceres	CCN	Arroz	T1	4650
Mariscal Cáceres	CCN	Arroz	T1	5070
Lamas	ICS	Arroz	T2	4190
Lamas	ICS	Arroz	T2	5330
Lamas	ICS	Arroz	T2	6830
Lamas	CCN	Arroz	T3	3860
Lamas	CCN	Arroz	T3	4130
Lamas	CCN	Arroz	T3	4760
Mariscal Cáceres	CCN	Maíz	T4	17270
Mariscal Cáceres	CCN	Maíz	T4	14180
Mariscal Cáceres	CCN	Maíz	T4	11030
Rioja	CCN	Maíz	T5	10970
Rioja	CCN	Maíz	T5	11740
Rioja	CCN	Maíz	T5	10290
Rioja	ICS	Maíz	T6	6270
Rioja	ICS	Maíz	T6	8330
Rioja	ICS	Maíz	T6	7930
Mariscal Cáceres	ICS	Arroz	T7	186200
Mariscal Cáceres	ICS	Arroz	T7	176900
Mariscal Cáceres	ICS	Arroz	T7	161200
Lamas	CCN	Maíz	T8	5860
Lamas	CCN	Maíz	T8	9830
Lamas	CCN	Maíz	T8	6970
Rioja	CCN	Arroz	T9	2210
Rioja	CCN	Arroz	T9	3060
Rioja	CCN	Arroz	T9	3390
Lamas	ICS	Maíz	T10	4460
Lamas	ICS	Maíz	T10	2290
Lamas	ICS	Maíz	T10	5410
Rioja	ICS	Arroz	T11	3710
Rioja	ICS	Arroz	T11	2850
Rioja	ICS	Arroz	T11	4520
Mariscal Cáceres	ICS	Maíz	T12	68040
Mariscal Cáceres	ICS	Maíz	T12	63840
Mariscal Cáceres	ICS	Maíz	T12	71300

Apéndice 11. Pruebas de normalidad de datos y homocedasticidad de varianzas para la variable Densidad de esporas finales.

Los datos de densidad final no cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza por lo que se procedió a realizar una transformación logarítmica luego de la cual si se cumplieron los supuestos

Prueba Shapiro Wilk (para normalidad):

W = 0.97593, p-value = 0.6075, el p value es mayor a 0.05 por lo que si se cumple la normalidad de los datos.

Prueba Breusch-Pagan test (para homocedasticidad u homogeneidad de varianza):

BP = 18.414, df = 11, p-value = 0.07246, p value es mayor a 0.05 por lo que si se cumple la homogeneidad de varianza

Apéndice 12: Pruebas de normalidad de datos y homocedasticidad de varianzas para la variable Riqueza de morfotipos

Se trabajó con Kruskal Wallis (prueba estadística no paramétrica) ya que los datos no cumplían con el supuesto de normalidad y homogeneidad de varianza.

Tratamiento	N	DE	Mediana	H	p-valor
T1(MC-CCN-A)	3	0	14	34.30	0.0002
T2(L-ICS-A)	3	0	9		
T3(L-CCN-A)	3	0	14		
T4 (MC-CCN-M)	3	0	15		
T5 (R-CCN-M)	3	0	11		
T6 (R-ICS-M)	3	0	6		
T7(MC-ICS-A)	3	0	9		
T8(L-CCN-M)	3	0	16		
T9 (R-CCN-A)	3	0	8		
T10(L-ICS-M)	3	0	11		
T11 (R-ICS-A)	3	0	8		
T12 (MC-ICS-M)	3	0	13		

Apéndice 13. Porcentaje de colonización micorrízica en las plantas trampa

Provincias	Clones	Planta trampa	Tratamientos	% Colonización
Mariscal Cáceres	CCN	Arroz	T1	81.67
Mariscal Cáceres	CCN	Arroz	T1	80.00
Mariscal Cáceres	CCN	Arroz	T1	71.67
Lamas	ICS	Arroz	T2	80.00
Lamas	ICS	Arroz	T2	91.67
Lamas	ICS	Arroz	T2	85.00
Lamas	CCN	Arroz	T3	71.67
Lamas	CCN	Arroz	T3	90.00
Lamas	CCN	Arroz	T3	81.67
Mariscal Cáceres	CCN	Maíz	T4	100.00
Mariscal Cáceres	CCN	Maíz	T4	98.33
Mariscal Cáceres	CCN	Maíz	T4	93.33
Rioja	CCN	Maíz	T5	91.67
Rioja	CCN	Maíz	T5	80.00
Rioja	CCN	Maíz	T5	93.33
Rioja	ICS	Maíz	T6	95.00
Rioja	ICS	Maíz	T6	95.00
Rioja	ICS	Maíz	T6	98.33
Mariscal Cáceres	ICS	Arroz	T7	95.00
Mariscal Cáceres	ICS	Arroz	T7	86.67
Mariscal Cáceres	ICS	Arroz	T7	75.00
Lamas	CCN	Maíz	T8	98.33
Lamas	CCN	Maíz	T8	98.33
Lamas	CCN	Maíz	T8	98.33
Rioja	CCN	Arroz	T9	71.67
Rioja	CCN	Arroz	T9	68.33
Rioja	CCN	Arroz	T9	83.33
Lamas	ICS	Maíz	T10	95.00
Lamas	ICS	Maíz	T10	88.33
Lamas	ICS	Maíz	T10	91.67
Rioja	ICS	Arroz	T11	83.33
Rioja	ICS	Arroz	T11	76.67
Rioja	ICS	Arroz	T11	76.67
Mariscal Cáceres	ICS	Maíz	T12	96.67
Mariscal Cáceres	ICS	Maíz	T12	96.67
Mariscal Cáceres	ICS	Maíz	T12	95.00

Apéndice 14. Pruebas de normalidad de datos y homocedasticidad de varianzas para la variable Porcentaje de colonización

Prueba Shapiro Wilk (para normalidad):

$W = 0.97681$, $p\text{-value} = 0.637$, el p value es mayor a 0.05 por lo que si se cumple la normalidad de los datos.

Prueba Breusch-Pagan test (para homocedasticidad u homogeneidad de varianza):

$BP = 17.655$, $df = 11$, $p\text{-value} = 0.08993$, p value es mayor a 0.05 por lo que si se cumple la homogeneidad de varianza

Apéndice 15. Análisis de suelos rizosféricos colectados de las tres provincias de la región San Martín



INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES

INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN AGRÍCOLA PARA EL DESARROLLO DE LA AMAZONÍA PERUANA

CERTIFICADO INDECOPI N° 00073183

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS, FERTILIZANTES Y ALIMENTOS

REPORTE DE ANÁLISIS DE SUELOS – CARACTERIZACIÓN

N° SOLICITUD : AS0040-03-20
 SOLICITANTE : UNIVERSIDAD CATOLICA SEDES SAPIENTIAE
 PROCEDENCIA : SAN MARTIN - RIOJA
 CULTIVO : CACAO

FECHA DE MUESTREO : 27/06/2020
 FECHA DE RECEP. LAB : 17/06/2020
 FECHA DE REPORTE : 01/07/2020

Núm.	Número de la muestra				pH	C.E dS/m	CaCO ₃ (%)	M.O (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO			CLASE TEXTURAL	CIC pH 7.0	CATIONES CAMBIABLES					Suma de bases	% Sat. de bases	% Sat. de Al ³⁺
	Lab.	Camp.	%	Arenas								Limo	Arcilla	Ca ²⁺			Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺ ++				
																					cmol/kg			
01	20	06	0189	CLON ICS	5.27	0.43	<0.3	5.87	0.26	45.00	68	39.52	24.00	36.48	Fra-Arc	20.88	12.76	1.81	0.17	0.13	0.19	14.88	71.26	1.28

MÉTODOS:	HIDRIMETRO
TEXTURA	POTENCIOMETRO SUSPENSION SUELO-AQUA RELACION 1:2.5
pH	CONDUCTOMETRO SUSPENSION SUELO-AQUA 1:2.5
CONDUC. ELECTRICA	GAS - VOLUMETRICO
CARBONATOS	OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO ₃ 0.5M, pH 8.8 Exp. Vs
FOSFORO DISPONIBLE	OLSEN+COOH+IN, pH 7. Aluminio Aluminio
POTASIO Y SODIO INTERCAMBIABLE	MULLER Y BLACK
MATERIA ORGANICA	EXTRACT. NaOH+IN 4 (NH ₄ OH+COOH+IN, pH 7. Aluminio Aluminio
CALCIO Y MAGNESIO INTERCAMBIABLE	EXTRACT. NaOH IN VOLUMETRIA
ACIDEZ INTRE	WOODRUFF MODIFICADO
ACIDEZ POTENCIAL	ACIDEZ POTENCIAL+SUMA DE BASES
CIC pH 7.0	OLSEN Modificado extra. NaHCO ₃ 0.5M, pH 8.8 Aluminio Aluminio
Pa, Cl, Dry Ma	Suma de bases + Potenciometro 1M-Vs (pH 5.5 m)
EDR	Sinacolor / Turbidimetro (1+400 ml)
ADPFE	SPA 3068
METALES PESADOS	

Nota: El laboratorio no se responsabiliza por la metodología aplicada para la toma de la muestra del presente reporte.

La Banda de Shilcayo, 01 Julio del 2020

INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES
 TARAPOJO - PERU
 Cesar O. Arevalo Hernandez, MSc
 JEFE DE DPTO. DE SUELOS



INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES

INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN AGRÍCOLA PARA EL DESARROLLO DE LA AMAZONÍA PERUANA

CERTIFICADO INDECOPI N° 00072183

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS, FERTILIZANTES Y ALIMENTOS

REPORTE DE ANÁLISIS DE SUELOS – CARACTERIZACIÓN

N° SOLICITUD : AS0040-04-20
 SOLICITANTE : UNIVERSIDAD CATOLICA SEDES SAPIENTIAE
 PROCEDENCIA : SAN MARTIN - RIOJA
 CULTIVO : CACAO

FECHA DE MUESTREO : 27/05/2020
 FECHA DE RECEP. LAB : 17/06/2020
 FECHA DE REPORTE : 01/07/2020

Item	Número de la muestra				pH	C.E dS/m	CaCO ₃ (%)	M.O (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO			CIC pH 7.0	CATIONES CAMBIABLES					Suma de bases	% Sat. de bases	% Sat. de Al ³⁺	
	Lab.		Campo	Arena								Limo	Arcilla	CLASE TEXTURAL		Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺ +H ⁺				
	%			cmol/kg																				
01	20	06	0190	CLON CCN	5.77	0.62	<0.3	5.83	0.26	60.00	107	5.52	44.00	50.48	Arc	22.52	16.70	1.43	0.27	0.12	0.00	18.52	82.24	0.00

MÉTODOS:	HIDROMETRO
TEXTURA	POTENCIOMETRO SUSPENSIÓN SUELO-AGUA RELACION 1:2.5
pH	CONDUCTIMETRO SUSPENSIÓN SUELO-AGUA 1:2.5
CONDUC. ELECTRICA	GAS - VOLUMETRICO
CARBONATOS	OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO ₃ = 0.5M , pH 8.5 Esp. Vía
FOSFORO DISPONIBLE	(MILICIC-COOH)-IN , pH 7, Absorción Alémbic
POTASIO Y SODIO INTERCAMBIABLE	WALKLEY y BLACK
MATERIA ORGANICA	EXTRACT. K ₂ Cr ₂ O ₇ (0.1M)(O ₂ -COOH)-IN , pH 7, Absorción Alémbic
CALCIO Y MAGNESIO INTERCAMBIABLE	EXTRACT. EDT IN, VOLUMETRIA
ACIDEZ PITERG	WOODRUFF MODIFICADO
ACIDEZ POTENCIAL	ACIDEZ POTENCIAL+SUMA DE BASES
OC pH 7.0	OLSEN Modificado extra. NaHCO ₃ = 0.5M , pH 8.5 Absorción Alémbic
Fe, Cu, Zn y Mn	Espectro / Espectrometría UV-Vis (λ=625 nm)
BORO	Espectro / Turbidimetría (λ=420 nm)
AZUFRE	EPA 3500B
METALES PESADOS	

Nota: El laboratorio no es responsable por la metodología aplicada para la toma de la muestra del presente reporte.

La Banda de Shilcayo, 01 Julio del 2020

INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES
 TARAMBOTO - PERU
 Cesar O. Arévalo Hernández, MSc
 JEFE DE OPTO. DE SUELOS



INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES

INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN AGRÍCOLA PARA EL DESARROLLO DE LA AMAZONÍA PERUANA

CERTIFICADO INDECOPI Nº 00072183

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS, FERTILIZANTES Y ALIMENTOS

REPORTE DE ANÁLISIS DE SUELOS – CARACTERIZACIÓN

Nº SOLICITUD : AS0040-05-20
 SOLICITANTE : UNIVERSIDAD CATOLICA SEDES SAPIENTIAE
 PROCEDENCIA : SAN MARTIN - LAMAS
 CULTIVO : CACAO

FECHA DE MUESTREO : 28/05/2020
 FECHA DE RECEP. LAB : 17/06/2020
 FECHA DE REPORTE : 01/07/2020

Rem	Número de la muestra				pH	C.E dS/m	CaCO ₃ (%)	M.O (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO				CIC pH 7.0	CATIONES CAMBIABLES					Suma de bases	% Sat. de bases	% Sat. de Al ³⁺
	Lab.		Campo									Arena	Limo	Arcilla	CLASE TEXTURAL		Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺ +H ⁺			
												%					cmol/kg							
01	20	06	0191	CLON ICS	5.75	0.17	<0.3	4.74	0.21	6.92	123	19.52	26.00	54.48	Arc	17.98	11.00	2.55	0.31	0.12	0.00	13.98	77.76	0.00

MÉTODOS	
TEXTURA	: HEDROMETRO
pH	: POTENCIOMETRO - SUSPENSIÓN SUELO-AGUA RELACION 1:2.5
CONDUC. ELÉCTRICA	: CONDUCTIMETRO - SUSPENSIÓN SUELO-AGUA 1:2.5
CARBONATOS	: SAS - VOLUMÉTRICO
FOSFORO DISPONIBLE	: OLSEN MODIFICADO - EXTRACT. NaHCO ₃ +0.5M, pH 8.5 Eq. Vía
POTASIO Y SODIO INTERCAMBIABLE	: (NH ₄) ₂ CO ₃ -COOH+1N, pH 7. Absorción Atómica
MATERIA ORGÁNICA	: WALKLEY y BLACK
CALCIO Y MAGNESIO INTERCAMBIABLE	: EXTRACT. KCl+0.1N (NH ₄ OH-COOH+1N, pH 7. Absorción Atómica
ACIDEZ INTERC.	: EXTRACT. KCl 1N VOLUMETRIA
ACIDEZ POTENCIAL	: WOODRUFF MODIFICADO
CIC pH 7.0	: ACIDEZ POTENCIAL-SUMA DE BASES
Fe, Cu, Zn y Mn	: OLSEN Modificado extract. NaHCO ₃ +0.5M, pH 8.5 Absorción Atómica
BORO	: Extracción / Espectrometría UV-VIS (λ=595 nm)
AZUFRE	: Extracción / Turbidimetría (λ=420 nm)
METALES PESADOS	: EPA 3050B

Nota: El laboratorio no se responsabiliza por la metodología aplicada para la toma de la muestra de la presente recorte.

La Banda de Shilcayo, 01 Julio del 2020

INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES
 TAMBAYTO - PERU
 César G. Arevalillo Hernández, MSc
 JEFE DE DPTO. DE SUELOS



INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES

INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN AGRÍCOLA PARA EL DESARROLLO DE LA AMAZONÍA PERUANA

CERTIFICADO INDECOPI N° 00072183

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS, FERTILIZANTES Y ALIMENTOS

REPORTE DE ANÁLISIS DE SUELOS – CARACTERIZACIÓN

N° SOLICITUD : AS0040-06-20
 SOLICITANTE : UNIVERSIDAD CATOLICA SEDES SAPIENTIAE
 PROCEDENCIA : SAN MARTIN - LAMAS
 CULTIVO : CACAO

FECHA DE MUESTREO : 28/06/2020
 FECHA DE RECEP. LAB : 17/06/2020
 FECHA DE REPORTE : 01/07/2020

Rem	Número de la muestra				pH	C.E dS/m	CaCO ₃ (%)	M.O (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO			CLASE TEXTURAL	CIC pH 7.0	CATIONES CAMBIABLES					Suma de bases	% Sat. de bases	% Sat. de Al ³⁺
	Lab.	Campo	Arenas	Limo								Arcilla	Ca ²⁺	Mg ²⁺			K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺ +H ⁺					
																				cmol/kg				
01	20	06	0192	CLON CCN	5.35	0.57	<0.3	3.87	0.17	10.38	161	37.52	18.00	44.48	Arc.	17.90	7.11	2.26	0.41	0.12	0.19	9.90	55.31	1.91

MÉTODOS	MÉTODOS
TEXTURA	HORCIMENTO
pH	POTENCIOMETRO - SUSPENSION SUELO-AGUA RELACION 1:2.5
CONDUC. ELÉCTRICA	CONDUCTIMETRO - SUSPENSION SUELO-AGUA 1:2.5
CARBONATOS	GAS - VOLUMETRICO
FOSFORO DISPONIBLE	OLSEN MODIFICADO - EXTRACT. NaHCO ₃ +0.5M , pH 8.5 Esp. V/s
POTASIO Y SODIO INTERCAMBIABLE	(NH ₄) ₂ CH ₃ -COOH+1N , pH 7 Absorción Alómica
MATERIA ORGÁNICA	WALKLEY & BLACK
CALCIO Y MAGNESIO INTERCAMBIABLE	EXTRACT. K ₂ H ₂ O 1N s (NH ₄) ₂ CH ₃ -COOH+1N , pH 7 Absorción Alómica
ACIDEZ INTERC.	EXTRACT. KCl 1N VOLUMETRIA
ACIDEZ POTENCIAL	WOODRUFF MODIFICADO
CIC pH 7.0	ACIDEZ POTENCIAL-SUMA DE BASES
Fe, Cu, Zn y Mn	OLSEN Modificado extra: NaHCO ₃ +0.5M , pH 8.5 Absorción Alómica
BORO	Espectroscopia UV-Vis (n=525 nm)
AZUFRE	Espectroscopia / Turbidimetría (n=420 nm)
METALES PESADOS	EPA 3050B

Nota: El laboratorio no se responsabiliza por la metodología aplicada para la toma de la muestra del presente reporte.

La Banda de Shilcayo, 01 Julio del 2020

INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES
 TAPAPOTO - PERU
 Cesar O. Arévalo Hernández, MSc
 JEFE DE DPTO. DE SUELOS



INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES

INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN AGRÍCOLA PARA EL DESARROLLO DE LA AMAZONÍA PERUANA

CERTIFICADO INDECOPI N° 00072183

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS, FERTILIZANTES Y ALIMENTOS

REPORTE DE ANÁLISIS DE SUELOS – CARACTERIZACIÓN

N° SOLICITUD : A50040-07-20
 SOLICITANTE : UNIVERSIDAD CATOLICA SEDES SAPIENTIAE
 PROCEDENCIA : SAN MARTIN - MARISCAL CACERES
 CULTIVO : CACAO

FECHA DE MUESTREO : 29/05/2020
 FECHA DE RECEP. LAB : 17/06/2020
 FECHA DE REPORTE : 01/07/2020

Item	Número de la muestra				pH	C.E dS/m	CaCO ₃ (%)	M.O (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO			CIC pH 7.0	CATIONES CAMBIABLES					Suma de bases	% Sat. de bases	% Sat. de Al ³⁺	
	Lab.	Campo	Arena	Limo								Arcilla	CLASE TEXTURAL	Ca ²⁺		Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺ +H ⁺					
																				cmol/kg				
01	20	06	0193	CLON ICS	5.96	0.41	<0.3	5.16	0.23	12.88	355	11.52	32.00	56.48	Arc	33.52	26.47	2.03	0.91	0.11	0.00	29.52	88.07	0.00

MÉTODOS:	
TEXTURA	- HORIMETRO
pH	- POTENCIOMETRO - SUSPENSION SUELO-AGUA RELACION 1:2.5
CONDUC. ELECTRICA	- CONDUCTIMETRO - SUSPENSION SUELO-AGUA 1:2.5
CARBONATOS	GAS - VOLUMETRICO
FOSFORO DISPONIBLE	OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO ₃ +6.8M, pH 8.5 Exp. V/v
POTASIO Y SODIO INTERCAMBIABLE	(NH ₄) ₂ CO ₃ -COOH+IV, pH 7, Absorcion Atomica
MATERIA ORGANICA	WALKLEY y SLADE
CALCIO Y MAGNESIO INTERCAMBIABLE	EXTRACT. KOH+IV 4 (NH ₄) ₂ CO ₃ -COOH+IV, pH 7, Absorcion Atomica
ACIDEZ INTERO	EXTRACT. KOH - IV, VOLUMETRIA
ACIDEZ POTENCIAL	WOODRUFF MODIFICADO
CIC pH 7.0	ACIDEZ POTENCIAL+SUMA DE BASES
Fe, Cu, Zn y Mn	OLSEN Modificado extra. NaHCO ₃ +0.5M, pH 8.5 Absorcion Atomica
BORO	Extraccion/ Espectrometra LA-UV (λ=535 nm)
AZUFRE	Extraccion / Turbidimetria (λ=420 nm)
METALES PESADOS	EPA 3068B

La Banda de Shilcayo, 01 Julio del 2020

INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES
 TARAPOTO - PERU

 Cesar O. Arévalo Hernández, MSc
 JEFE DE DPTO. DE SUELOS

Nota: El laboratorio no se responsabiliza por la metodología aplicada para la toma de la muestra del presente reporte



INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES

INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN AGRÍCOLA PARA EL DESARROLLO DE LA AMAZONÍA PERUANA

CERTIFICADO INDECOPI N° 00072183

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS, FERTILIZANTES Y ALIMENTOS

REPORTE DE ANÁLISIS DE SUELOS – CARACTERIZACIÓN

N° SOLICITUD : AS0040-08-20
 SOLICITANTE : UNIVERSIDAD CATOLICA SEDES SAPIENTIAE
 PROCEDENCIA : SAN MARTIN - MARISCAL CACERES
 CULTIVO : CACAO

FECHA DE MUESTREO : 29/05/2020
 FECHA DE RECEP. LAB : 17/06/2020
 FECHA DE REPORTE : 01/07/2020

Item	Número de la muestra				pH	C.E dS/m	CaCO ₃ (%)	M.O. (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO			CLASE TEXTURAL	CIC pH 7.0	CATIONES CAMBIABLES					Suma de bases	% Sat. de bases	% Sat. de Al ³⁺
	Lab.	Campo	CIC	CLASE TEXTURAL								Arena	Limo	Arcilla			Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺ +H ⁺			
												%												
01	20	06	0194	CLON CCN	6.27	0.28	<0.3	3.27	0.15	16.54	112.50	43.52	22.00	34.48	Fra-Arc	19.36	15.56	1.40	0.29	0.12	0.00	17.36	89.67	0.00

MÉTODOS	
TEXTURA	: HEDRIMETRO
pH	: POTENCIOMETRO SUSPENSION SUELO-AGUA RELACION 1:2.5
CONDUC. ELECTRICA	: CONDUCTIMETRO SUSPENSION SUELO-AGUA 1:2.5
CARBONATOS	: GAS - VOLUMETRICO
FOSFORO DISPONIBLE	: DISEN MODIFICADO EXTRACT. NH ₄ CO ₃ +0.5M , pH 8.5 Exp. 1/6
POTASIO Y SODIO INTERCAMBIABLE	: (NH ₄) ₂ CO ₃ -COOH+1N , pH 7. Absorcion Atomica
MATERIA ORGANICA	: WALKLEY y BLACK
CALCIO Y MAGNESIO INTERCAMBIABLE	: EXTRACT. KD=0.1N + (NH ₄) ₂ CO ₃ -COOH+1N , pH 7. Absorcion Atomica
ACIDEZ INTERC.	: EXTRACT. KD. 1N. VOLUMETRIA
ACIDEZ POTENCIAL	: WOODRUFF MODIFICADO
CIC pH 7.0	: ACIDEZ POTENCIAL-SUMA DE BASES
Fe, Cu, Zn y Mn	: CLEEN Modificado extra. NH ₄ CO ₃ +0.5M , pH 8.5 Absorcion Atomica
BORO	: Extracción / Elapodrometra 1N ² /6 (p=100 min)
AZUFRE	: Extracción / Turbidimetrica (p=420 min)
METALES PESADOS	: EPA 3066

Nota: El laboratorio no se responsabiliza por la metodología aplicada para la toma de la muestra del presente reporte.

La Banda de Shilcayo, 01 Julio del 2020

INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES
 TARAPOTO - PERU

Cesar O. Arévalo Hernández, MSc
 JEFE DE DTO. DE SUELOS