

UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental



Una Institución Adventista

**Efecto biofertilizante de hongos micorrízicos arbusculares
nativos en plantas clonales de café (*Coffea arabica* var. caturra),
bajo condiciones de vivero en la región San Martín**

Por:

Heydi Lizeth Marlo Salazar

Asesor:

Ing. Ivone Vásquez Briones

Tarapoto, diciembre 2017

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA DEL INFORME DE TESIS

Ivone Vásquez Briones, de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, de la Universidad Peruana Unión.

DECLARO:

Que el presente informe de investigación titulado: ***“Efecto biofertilizante de hongos micorrízicos arbusculares nativos en plantas clonales de café (coffea arabica var. caturra), bajo condiciones de vivero en la región San Martín”*** constituye la memoria que presenta la **Bachiller Heydi Lizeth Marlo Salazar** para aspirar al título de Profesional de Ingeniero Ambiental cuya tesis ha sido realizada en la Universidad Peruana Unión bajo mi dirección.

Las opiniones y declaraciones en este informe son de entera responsabilidad del autor, sin comprometer a la institución.

Y estando de acuerdo, firmo la presente constancia en Tarapoto, a los 6 días del mes de diciembre del año 2018.



Ing. Ivone Vásquez Briones

Efecto biofertilizante de hongos micorrízicos arbusculares nativos en plantas clonales de café (*coffea arabica* var. caturra), bajo condiciones de vivero en la región San Martín

TESIS

Presentada para optar el título profesional de Ingeniero Ambiental

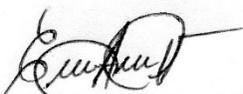
JURADO CALIFICADOR



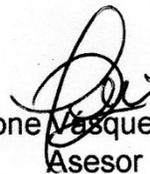
Ing. Jackson Edgardo Pérez Carpio
Presidente



Ing. Juan Eduardo Vigo Rivera
Secretario



Ing. Carmelino Alméstar Villegas
Vocal



Ing. Ivone Masquez Briones
Asesor

Tarapoto, 29 de diciembre de 2017

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios, que me da la fortaleza cada día para seguir adelante, y su amor incondicional, a mis queridos padres por el apoyo constante en cada etapa de mi vida; mis hermanos, por todo el apoyo brindado y todas las personas que me dan fuerzas necesarias para alcanzar las metas propuestas.

AGRADECIMIENTOS

- Al Dios amoroso, por su protección, porque es mi guía, y me conduce a seguir adelante.
- A mis padres José Heli Marlo Rimarachin y María Consuelo Salazar Delgado, por el cariño, el amor, el apoyo en todos los momentos y por depositar su confianza en mí, en especial a la mujer que, con su ejemplo, sus consejos, su fortaleza y perseverancia cultivaron en mí el deseo de luchar por mis metas, mi querida Mamá.
- A la Universidad Peruana Unión - Facultad de Ingeniería y Arquitectura, por darme la oportunidad de formarme en sus aulas, y así asimilar los conocimientos y valores cristianos para mi formación profesional y personal que me servirá para poder desenvolverme plenamente en el campo de mi carrera y en el camino de mi vida.
- A la Ing. Ivone Vásquez Briones por haber contribuido con la presente investigación y guiarme en el proceso.
- Al Programa Nacional de Innovación Agraria – PNIA por financiar el presente trabajo de investigación enmarcado en el proyecto de investigación: Biofertilización y Bioprotección de plantas clonales de café (*Coffea arabica* L.) Con micorrizas arbusculares en la región San Martín - CONTRATO N° 23-2015-INIA-PNIA/UPMSI/IE.

Tabla de Contenido

RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
SÍMBOLOS USADOS	xvi
CAPITULO I	17
INTRODUCCIÓN	17
1.1 Descripción de la realidad problemática	19
1.2 Justificación	22
1.3 Presuposición filosófica	25
1.4 Objetivos	26
1.4.1 Objetivo General	26
1.4.2 Objetivos Específicos	26
1.5 Variables	27
CAPITULO II	32
REVISIÓN DE LITERATURA	32
2.1 Antecedentes de la investigación	32
2.1 Revisión de literatura	35
2.1.1 Café	35
2.1.1.1 Morfología	36
2.1.1.1.1 Tallo	36
2.1.1.1.2 Hojas	36
2.1.1.1.3 Flores	37
2.1.1.1.4 Frutos y semillas	37

2.1.1.1.5	Raíz.....	37
2.1.1.2	Variedades de café.....	38
2.1.1.3	Café Caturra.....	39
2.1.2	Hongos Micorrízicos Arbusculares.....	40
2.1.2.1	HMA asociados al café.....	41
2.1.2.2	Tipos de HMA.....	42
2.1.2.3	Ventajas de los HMA.....	43
2.1.2.4	Beneficios de los HMA asociadas al cultivo de café.....	45
2.1.3	Condiciones edafoclimáticas para el desarrollo de los HMA.....	45
2.1.3.1	pH.....	45
2.1.3.2	Temperatura.....	46
2.1.3.3	Altitud.....	47
2.2	Estrés hídrico.....	48
2.2.1	Efectos fisiológicos del estrés hídrico.....	50
2.2.2	Estados de marchitez.....	51
2.3	Definición de términos.....	51
2.3.1	Café.....	51
2.3.2	Variedades de café.....	52
2.3.3	Café Caturra.....	52
2.3.4	Hongos micorrízicos arbusculares.....	52
CAPITULO III.....		53
3	MATERIALES Y MÉTODOS.....	53
3.1	Descripción del área de estudio.....	53

3.1.1	Ubicación del área de estudio	53
3.1.1.1	Localización y descripción de la zona	53
3.2	Diseño de la investigación.....	54
3.2.1	Enfoque de la investigación	55
3.2.2	Síntesis de la metodología.....	55
3.2.3	Equipos y Materiales.....	55
3.3	Formulación de hipótesis	57
3.5.1	Fase de campo	58
3.5.1.1	Georreferenciación de plantas seleccionadas.....	58
3.5.1.2	Colecta de muestras (Suelo y raíces).....	58
3.5.1.3	Origen y colecta de brotes de café	59
3.5.1.4	Aplicación hormonal en base a ácido indol-3-butírico (AIB)	59
3.6	Fase de vivero	60
3.6.1	Multiplicación de HMA en un cultivo trampa	61
3.6.2	Repique e inoculación con HMA a los plantones de cafeto	62
3.7	FASE DE LABORATORIO	63
3.7.1	Identificación y Cuantificación de esporas.....	63
3.7.2	Tinción de raíces	64
3.7.3	Tinción de Micelio Extraradical.....	65
3.7.4	Inducción de resistencia al estrés hídrico.....	67
3.7.5	Análisis nutricional de fósforo y nitrógeno.....	67
	CAPITULO IV.....	68
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	68

4.1	Resultados	68
4.1.1	Porcentaje de colonización	68
4.1.1.1	Frecuencia micorrízica	68
4.1.1.2	Intensidad micorrízica	70
4.1.2	Longitud de micelio extraradicular (cm)	72
4.1.3	Incremento en altura de la planta clonal (cm)	74
4.1.4	Incremento en diámetro de la planta clonal (mm)	76
4.1.5	Área foliar (cm ²)	78
4.1.6	Peso seco aéreo (g)	80
4.1.7	Peso seco radicular (g)	82
4.1.8	Análisis nutricional de N foliar (%) y fosforo	84
4.1.9	Estrés hídrico	88
4.1.10	Análisis de correlación de variables	90
CAPITULO V		99
5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	99
5.1	CONCLUSIONES	99
5.2	RECOMENDACIONES	100
ANEXOS		105

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Variedades de arábica cultivadas según la zona productora	39
Tabla 2: Clasificación taxonómica de los HMA.....	43
Tabla 3: Tratamientos en estudio con HMA nativos	54
Tabla 4: Análisis de varianza de incremento en altura de plantas clonales de cafeto.....	74
Tabla 5: Análisis de varianza de incremento en diámetro de plantas clonales de cafeto.	76
Tabla 6: Análisis de varianza del área foliar de las plantas clonales de cafeto.	78
Tabla 7: Análisis de varianza el peso seco aéreo de las plantas clonales de cafeto.	80
Tabla 8: Análisis de varianza el peso seco radicular de las plantas clonales de cafeto.....	82
Tabla 9: Análisis de varianza de la longitud de micelio extraradicular (cm) de los HMA- N presentes en plantones clonales de cafeto.....	72
Tabla 10: Análisis de varianza de la frecuencia micorrízica (%) de los HMA-N presentes en plantones clonales de cafeto. Datos convertidos arcsen $\sqrt{\%}$	68
Tabla 11: Análisis de varianza de la intensidad micorrízica (%) de los HMA-N presentes en plantones clonales de cafeto. Datos convertidos arcsen $\sqrt{\%}$	70
Tabla 12: Análisis de varianza de estrés hídrico producido en plantas clonales de cafeto.....	88
Tabla 13: Análisis de correlación lineal de Pearson entre la longitud de micelio extraradicular y las variables morfológicas evaluadas de las plantas clonales de cafeto.	90

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Prueba de Tukey P-Valor ($P < 0,05$) para la frecuencia micorrízica (%) de los HMA-N presentes en plántones clonales de café. Medias provenientes de datos originales. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.	69
Figura 2: Prueba de Tukey P-valor ($P < 0,05$) para la intensidad micorrízica (%) de los HMA-N presentes en plántones clonales de café. Medias provenientes de datos originales. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.	71
Figura 3: Prueba de Tukey P-Valor ($P < 0,05$) para el incremento en altura de planta clonal de café. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.	75
Figura 4: Prueba de Tukey P-Valor ($P < 0,05$) para el incremento en diámetro de planta clonal de café. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.	77
Figura 5: Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para el área foliar de la planta clonal de café. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.	79
Figura 6: Prueba de Tukey P-Valor ($P < 0,05$) para el peso seco aéreo de la planta clonal de café. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.	81
Figura 7: Prueba de Tukey P-Valor ($P < 0,05$) para el peso seco radicular de la planta clonal de café. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.	83
Figura 8: Prueba de Tukey P-Valor ($P < 0,05$) para la longitud de micelio extraradicular de la planta clonal de café. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.....	73
Figura 9: Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para el porcentaje de estrés hídrico producido en plantas clonales de café. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.....	89

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Ficha de evaluación de colonización micorrízicos	105
Anexo 2: Ficha de evaluación de segmentos de raíz	106
Anexo 3: Ficha de evaluación de sistema de radicular y aéreo	107
Anexo 4: Instalaciones de viveros y laboratorios de micorrizas	108
Anexo 5: Instalaciones de viveros y laboratorios de micorrizas	109
Anexo 6: Repique e inoculación con HMA a los plántones de caféto	110
Anexo 7: Identificación y cuantificación de esporas	111
Anexo 8: Tinción de raíces de café	112
Anexo 9: Tinción de micelio extraradical	113
Anexo 10: Inducción de resistencia al estrés hídrico	114
Anexo 11: Grados de marchites	115
Anexo 12: Análisis de caracterización de suelos en la parcela de café en la provincia de Rioja.....	115
Anexo 13: Análisis de caracterización de suelos en la parcela de café en la provincia del Dorado	116
Anexo 14: Análisis de caracterización de suelos en la parcela de café en la provincia de Moyobamba /altura 1/ caturra.....	117
Anexo 15: Análisis de caracterización de suelos en la parcela de café en la provincia de Moyobamba /altura 2/ caturra.....	118
Anexo 16: Análisis de caracterización de suelos en la parcela de café en la provincia de Lamas	119

Anexo 17: Análisis de caracterización de suelos en la parcela de café en la provincia de Huallaga.....	120
Anexo 18: Análisis de suelo que fueron usados para el repique de los plantones de café.....	121
Anexo 19: Evaluaciones de variables estudiadas.....	122

RESUMEN

En Perú, el cultivo de café es uno de los principales cultivos que se puedan desarrollar, al mismo tiempo ha sido duramente atacado por plagas y enfermedades, una de las enfermedades más comunes es el de la roya que a la vez es ocasionada por el hongo *Hemileia vastatrix*, que ataca a la planta y la debilita haciendo que los agricultores no puedan aprovechar su producto. El objetivo de la investigación es evaluar el efecto biofertilizante de los hongos micorrízicos arbusculares nativos en plantas clónales de café (*Coffea arabica* var. caturra) en condiciones de vivero en la región de San Martín, evaluándose las variables morfológicas (altura, diámetro y estrés hídrico) y fúngicas (colonización, área foliar, sistema radicular, biomasa aérea, micelio extraradical). El ensayo se instaló en vivero, optando por un (D.C.A), diseño completamente al azar, los 11 tratamientos a evaluados tuvieron 3 repeticiones, una unidad experimental será un plantón, lo que dio un total de 99 plantones o unidades experimentales. Los resultados obtenidos indicaron la influencia positiva de los HMA nativos en las variables morfológicas y fúngicas de las plantas, siendo el T7 con fuente de inóculo de el Dorado A1 (altura 800 a 1000 msnm) el mejor tratamiento en los resultados obtenidos del estudio, así mismo se pudo ver que los tratamientos que fueron inoculados fueron superiores al tratamiento testigo T0.

ABSTRACT

In Peru, coffee cultivation is one of the main crops that can be developed, at the same time it has been hard hit by pests and diseases, one of the diseases is the rust that is also caused by the fungus *Hemileia vastatrix*, which attacks the plant and weakens it making farmers unable to take advantage of the production of their product. The objective of this research was to evaluate the biofertilization effect of native arbuscular mycorrhizal fungi on coffee clonal plants (*Coffea arabica* var. Caturra) under nursery conditions in the San Martin region, evaluating the morphological variables (height, diameter and water stress) and fungi (colonization, leaf area, root system, aerial biomass, mycorrhiza). The trial was installed in nursery, having a completely randomized design (D.C.A), each of the 11 treatments to be evaluated will have 9 replicates, the experimental unit will be a seedling, which will give a total of 99 seedlings or experimental units. The results indicate that the influence of the native hma on the morphological and fungal variables was significant, being the T7 treatment with inoculum source of the Dorado A1 (height 800 to 1000 msnm), also it was possible to see that the treatments with source of inocula were higher than the control treatment T0.

SÍMBOLOS USADOS

HMA: Hongos micorrízicos arbusculares

MINAGRI: Ministerio de Agricultura y Riego

JNC: Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología – FONDECYT

RPM: Revoluciones por minuto

P: Fosforo

Zn: Zinc

Cu: Cobre

KOH: Hidróxido de potasio

MG: Grado de marchites

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

El café (*Coffea arabica L.*) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial, siendo cultivado en más de 70 países. Este cultivo ocupa el segundo lugar en comercialización, representando uno de los productos más negociados a nivel mundial según (Andrade, *et al.*, 2009). El café genera una importante fuente de ingresos para muchos países en desarrollo (África, Asia y América Latina), generando directa o indirectamente millones de puestos de trabajo (Davis, *et al.*, 2006).

En América Latina, el Perú, es uno de los países en vías de desarrollo dedicados a la actividad caficultora, siendo su principal producto agrícola de exportación, la cual involucra a más de 2 millones de peruanos. En el Perú, las principales regiones productoras son Junín (75,750 TM), Cajamarca (51,510 TM) y San Martín (66,660 TM); por lo tanto, este cultivo juega un papel primordial en la estructura económica, social, estándar de vida y desarrollo de estas regiones y del país (JNC, 2013). En este sentido, es necesario dar importancia al manejo del cultivo y en especial a la actividad biológica del suelo y la función de estos microorganismos en la nutrición de las plantas (Montilla, 2010). Uno de los microorganismos más estudiados son los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA); estos microorganismos desarrollan relaciones simbióticas con aproximadamente el 90% de especies de plantas que colonizan la tierra (Smith y Read, 2008). Estos hongos micorrízicos les proporcionan a las plantas nutrientes minerales, principalmente fósforo y agua, mediante un sistema ramificado de hifas extraradiculares capaz de explorar el suelo más allá de la zona de influencia de las raíces.

Además, el desarrollo de la simbiosis induce cambios en la fisiología de la planta que la hace más resistente a diferentes tipos de estreses ambientales (Barea, *et al.*, 1980; Smith y Read, 2008). Numerosos estudios mostraron la presencia natural de estos microorganismos en fincas cafetaleras, así como la presencia de estructuras micorrízicas en sus raíces (López, *et al.*, 1983; Balota y López 1996; Pavan, *et al.*, 1999; Colozzi-Filho y Cardoso 2000; Theodoro, *et al.*, 2003; Muleta, *et al.*, 2007). Sin embargo, en el Perú no existen trabajos de investigación abordando la dinámica natural de estos microorganismos en el cultivo de café. (Celerino, *et al.*, 2013), menciona que los Hongos Micorrízicos es de suma importancia debido a que desempeñan un papel clave en los ecosistemas terrestres regulando los ciclos de nutrientes y del carbono, y tienen influencia directa en la estructura del suelo y la multifuncionalidad del ecosistema. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo de investigación consistió en evaluar la diversidad de Hongos Micorrízicos Arbusculares nativos y su potencial micorrízica en el cultivo de café (*Coffea arabica L.*) en diferentes condiciones agroecológicas de la región San Martín. Este trabajo se realizó en el marco del proyecto “Biorestauración de suelos con hongos micorrizas nativos en fincas con cafés arábigos (*Coffea arabica. L*) En la amazonia peruana”. Con el Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología – FONDECYT.

1.1 Descripción de la realidad problemática

La presente investigación pretende estudiar el efecto biofertilizante de los hongos micorrízicos arbusculares nativos (HMA) en las plantas clonales de café en condiciones de vivero en la región de san Martín, mediante su evaluación y seguimiento.

El café, al igual que otras especies vegetales cultivadas, es atacado por diversas plagas y enfermedades. En el Perú se han reportado 14 especies de hongos, 4 de nemátodos y 36 especies de insectos que ocasionan daño a este cultivo, los cuales causan daños a la planta sobre todo a la raíz; pero los problemas fitosanitarios más importantes son la roya amarilla, los nemátodos parásitos de plantas y la “broca” del café (Shuller, 2003). Uno de los problemas que trae consigo el bajo rendimiento del café, es ambiental, en el cual se puede ver lo siguiente: degradación permanente de los suelos, baja producción de biomasa y disminución de cobertura del suelo, erosión de la superficie del suelo, reducción de la cantidad de insumos orgánicos, el productor hace muy poco o nada, por invertir en saneamiento ambiental, provocando la destrucción de la biodiversidad, el agricultor emigra a la selva propiciando la tala de los bosques y la secuela de actividades de degradación ambiental. (Sánchez *et al.*, 2000). El uso continuo de fertilizantes químicos y pesticidas como fungicidas sistémicos, disminuye o elimina la flora nativa de hongos micorrizógenos y otros componentes de la microflora y fauna del suelo. Es una tecnología propia de sistemas agrícolas convencionales, siendo muy dañina para el medio ambiente por sus

consecuencias como (contaminación del manto freático, erosión de los suelos, pérdida de biodiversidad, etc.) Y los propios suelos. Según (Peterson, 2010),

Las micorrizas son una simbiosis mutualista entre los hongos del suelo y las raíces de las plantas superiores, y estas se encuentran prácticamente en todos los hábitats de la tierra, desde ecosistemas acuáticos a desiertos, hasta los bosques tropicales, en diferentes altitudes y latitudes. (Peterson, 2010). La capacidad del sistema radical para establecer relaciones simbióticas recíprocas y mutualistas con microorganismos es una de las estrategias de mayor éxito. Desde el punto de vista ecológico se considera que el establecimiento de esta asociación mutualista mejora el nivel nutricional de los dos simbiosis, ya que el hongo recibe compuestos carbónicos de la planta hospedante y ésta se beneficia mediante el incremento en la captación de nutrientes, lo cual hace un mutualismo perfecto (García-Garrido y Ocampo, 2002). Para Peterson, (2010), el uso de micorrizas se considera como una tecnología limpia usada como estrategia importante que han desarrollado las plantas para sobrevivir en condiciones del suelo pobres en nutrientes. El autor menciona que hacer una correcta selección y aplicación de hongos micorrízicos, mejora la nutrición y el crecimiento de las plantas, por lo que se consideran como fertilizantes biológicos o biofertilizante

En la actualidad existe un marcado interés en el manejo de la rizósfera, así como en el análisis de los efectos positivos de ciertos microorganismos del suelo sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas. (Contreras, Gómez, et al., 2013).

Esta investigación plantea cumplir con uno de los ejes contemplados en la Agenda de Investigación AMBIENTAL AL 2021, en la cual se encuentran objetivos que instan al Desarrollo de tecnologías que permitan la recuperación de suelos degradados, Usos y tratamientos. Así mismo instando a los investigadores a continuar y mejorar la situación de la diversidad biológica salvaguardando los ecosistemas, las especies y la diversidad genética. Por ello, esta investigación pretender ayudar con la reducción de productos químicos, usando tecnologías limpias que nos permitan recuperar la vitalidad de nuestros suelos.

Por tales motivos se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿Los hongos micorrízicos arbusculares tienen efecto de biofertilización para las plantas de café?

La presente investigación se llevará a cabo en las instalaciones del IIAP (Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana) de la región San Martín.

1.2 Justificación

Actualmente los agricultores buscan solucionar sus problemas ante el ataque de enfermedades y plagas, especialmente la enfermedad de la roya ocasionada por el hongo *Hemileia vastatrix*, que ataca a la planta y la debilita haciendo que los agricultores sufran las consecuencias. Así mismo buscan la recuperación de sus suelos los cuales está casi en su totalidad dependientes de fertilizantes de origen sintéticos, como los pesticidas y otros agroquímicos que degeneran los nutrientes y microorganismos encontrados en el suelo en su estado natural, esta dependencia es beneficiosa para la nutrición de la planta.

Por ello el presente proyecto busca dar una alternativa saludable y sostenible al medio ambiente, así como a los propios agricultores. La importancia de esta investigación radica en el aporte de conocimientos con el objetivo de mejorar la disponibilidad de nutrientes en el suelo, protección al ambiente, mantener la conservación del suelo desde el punto de vista de fertilidad y biodiversidad de las plantaciones.

Asimismo, con la investigación se busca generar información sobre el uso benéfico de estos microorganismos (HMA), la cual hasta el momento es muy limitada en nuestro país y región, de tal forma los agricultores puedan usar y trabajar con tecnologías limpias que no contaminen el medio ambiente tales como productos orgánicos, de alta eficiencia y de bajo costo para sus cultivos.

Para Saggin (2005), la eficiencia de los HMA nativos depende de muchas condiciones ambientales, una de ellas la presencia de P (fosforo), el nivel de colonización y su capacidad de forma rápidamente un extenso y ramificado micelio extraradicular. La longitud extraradicular permite a la planta absorber más rápida y eficientemente los nutrientes presentes en el suelo, de transferir los nutrientes para toda la planta, promover los beneficios nutricionales, la estabilización, modificación fisiológica, alivio al estrés hídrico, entre otras que permite tener los hongos micorrízicos. (Saggin Júnior & Silva, 2005). “La longitud radical se ve influenciada por la condición de suelo y dosis de fósforo y en menor grado por la interacción de las dos anteriores, así como por la interacción, condición de suelo – genotipo” (Portilla Cruz, Molina Gayosso, Ortiz Monasterio, & Manske, 1998).

“El estrés hídrico limita el rendimiento de las plantas. La micorriza favorece el crecimiento y confiere resistencia a la sequía” (Ruscitti, M. F.; Arango, M. C.; Ronco, M. G.; Peluso, O.; Beltrano, 2007). Según (Augé et al., 2003; Augé, 2004), citado por (Citlalli Harris-Valle, Martín Esqueda, 2009), los suelos colonizados por HMA contienen más agregados estables al agua que los suelos carentes de HMA. El desarrollo de micelio extraradicular permite a las raíces tener un mayor acceso al agua del suelo y aumentar así su hidratación, lo que mejora el metabolismo vegetal aun en condiciones de estrés ambiental.

Para Marschner y Dell (1994), citado por (Soria-Colunga, Tiscareño-iracheta, & Loredó-osti, 2010) “la colonización micorrízicos aumenta el desarrollo de las plantas al incrementar la asimilación de nutrimentos vía incremento en la absorción del área

superficial radical, o por la movilización de las fuentes de nutrimentos aprovechables (por la excreción de compuestos quelatantes) lo que contribuye a una mejor utilización de ciertas fuentes de fósforo orgánico por la planta micorrizadas y una mayor tasa de flujo (dos a seis veces más) debido a la longitud de las hifas externas”.

1.3 Presuposición filosófica

Las presuposiciones de esta investigación están establecidas en la cosmovisión cristiana del investigador, sus creencias en la vida y en la identificación de poder restaurar la creación de Dios se ha deteriorado con la entrada del pecado. Esta investigación propone velar por el cuidado y recuperación de los recursos renovables (suelo) con elementos orgánicos presentes en la naturaleza, así mismo poder observar el beneficio que pueden tener los seres microscópicos en las plantas, suelo y el ser humano, mejorando su calidad de vida y protegiendo la creación de Dios.

El supuesto de la premisa fundamental de la vida, la existencia de todos los seres vivos, creados por Dios, plantas y flores tiende a perfeccionar el gusto y el juicio, mientras que el familiarizarse con las útiles y hermosas creaciones de Dios ejerce una influencia que refina y ennoblece la mente al referirla al Hacedor y Señor de todo (Testimonies, vol. 4, p. 136 (1876), El Hogar Cristiano, Ventajas del campo). En el libro de génesis 1:31 el señor declaro que todo lo creado era bueno en gran manera, de ahí que la creación tiene un gran valor, no solo para Dios sino también para el hombre.

En las escrituras las palabras reveladas por Dios, manifiestan que él creó todo ser viviente y que el pecado hizo que los hombres, pecadores por naturaleza, convirtamos la creación de Dios en elementos destructores para uno mismo. Las escrituras mencionan que Dios protege la vida y la quiere restaurar, es por ello que con esta investigación se plantea mejorar la calidad de suelo con la ayuda de un biofertilizante orgánico que pueda restaurar su capacidad original, proteger a las plantas de enfermedades y plagas.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

- Evaluar el efecto biofertilizante de hongos micorrízicos arbusculares nativos en plantas clonales de café (*Coffea arabica* var. caturra) en condiciones de vivero en la región de San Martín, 2016.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de los HMA nativos sobre las variables fúngicas (% de colonización, longitud de micelio extraradical (MER)), en plantones clonales de café.
- Evaluar el efecto de los HMA nativos sobre las variables que caracterizan la morfología de las plantas de café (altura, diámetro, área foliar, sistema radicular, biomasa aérea, nitrógeno y fósforo foliar, estrés hídrico).
- Evaluar la influencia de HMA nativos en la resistencia de plantas clonales de café sometidas a un estrés hídrico.
- Evaluar la correlación entre la variable de micelio extraradical con las variables morfológicas (altura, diámetro, área foliar, peso seco aéreo y radicular).

1.5 Variables

- **Variables independientes**

- Fuente de inóculos

Agente en el que se encuentran los hongos micorrízicos arbusculares nativos.

Las fuentes de inóculo procedieron de las provincias de Lamas, Rioja, Moyobamba, Huallaga y El Dorado; todas ellas dentro de la región San Martín. En cada provincia se seleccionarán áreas productoras de café ubicadas de manera que se cumplan con los pisos altitudinales diferentes (800-1000, 1000-1200 m.s.n.m). Además, se tendrá en cuenta que las fincas seleccionadas cumplan con la variedad de café (Caturra).

- **Variables dependientes**

- Morfológicas
- Peso seco de la biomasa aérea

El desarrollo de la biomasa aérea de la planta y el incremento del sistema radicular mejorando el desarrollo de la planta.

Para la evaluación de la variable peso seco de la biomasa aérea, se tomaron 3 plantones previamente lavadas y se cortaron en dos partes separando la parte aérea de la parte radicular; tomando únicamente la parte aérea, del cual se llegó a obtener un peso fresco, siendo luego llevada a una estufa con una temperatura de 60 °C, por un periodo de 3 días, luego se procedió a realizar los pesos respectivos con la ayuda de una balanza analítica (OHAUS), siguiendo la metodología propuesta por Leiva (2009) con modificaciones.

- Peso seco del sistema radicular

Para la determinación de esta variable, se siguió el mismo procedimiento que la descrita para el peso seco de la biomasa aérea.

- Área foliar

Los HMA ayudan en el incremento de la producción del área foliar en plantas de café inoculadas, por lo que la incorporación de los hongos (MA) como una tecnología tendiente a la sustentabilidad.

Para esta evaluación se tomaron fotografías de los plántones de cafeto estudiados por cada tratamiento, tomando fotografías de todos los pares de hojas verdaderas con que contaba cada plantón (como se muestran en los anexos), luego estas hojas fueron llevadas a un programa de computadora llamado “ASSESS, *Image Analysis software for plant disease quantification*”, el cual nos permitió obtener un dato más exacto sobre el área foliar de los plántones. Metodología propuesta por Leiva (2009) con modificaciones.

- Altura de la planta

La intervención de los hongos micorrízicos ayudan en el crecimiento de las plantas y su desarrollo.

En la medición de la altura se tomó como punto de partida la base del tallo y como punto de referencia el meristemo apical o yema terminal, utilizando una regla milimetrada. Estas evaluaciones se realizaron cada 15 después de la infestación con la fuente de inóculo, por un periodo de 3 meses, siguiendo la metodología propuesta por Gelpud *et al.*, (2011).

- Diámetro de la planta

El desarrollo del diámetro de la planta ayuda que los nutrientes de la planta lleguen con mayor facilidad.

- Estrés hídrico

Los HMA ayudan en la tolerancia a estrés hídrico de la planta, hace que la planta incremente busque agua disponible para sobrevivir.

- Fosforo y nitrógeno foliar

Los HMA son capaces de captar y transportar el fosforo y nitrógeno presente en el suelo, mejorando la capacidad de desarrollo de la planta.

- **Fúngicas**

- Porcentaje de colonización

La presencia de los hongos micorrízicos ayuda en la colonización de las raíces de la planta, haciendo que estas aprovechen mejor los nutrientes presentes en el suelo.

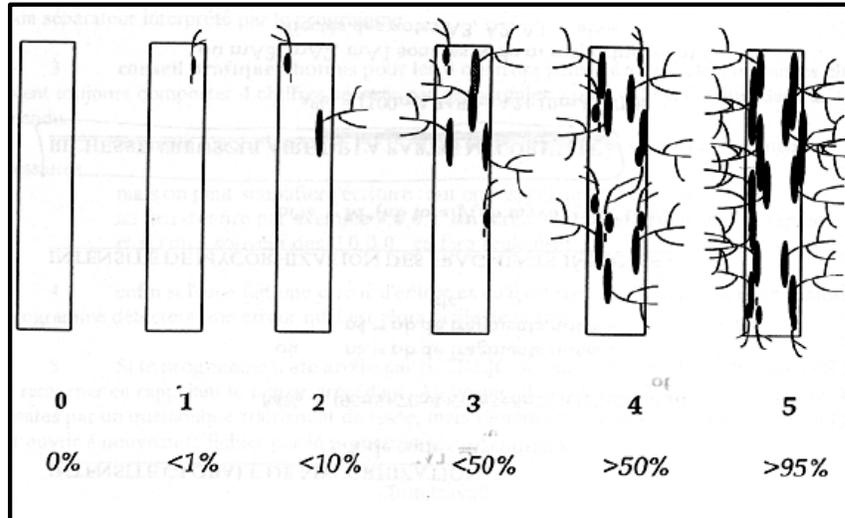
Se realizó utilizando raíces tiernas (secundarias y terciarias) de cafeto, siguiendo las metodologías de tinción de raíces propuesta por Phillips y Hayman (1970) y el protocolo de la técnica sistemática de porta objetos propuesta por León (2006) con modificaciones.

Para determinar el porcentaje de micorrización a nivel del sistema radicular se calculó siguiendo la metodología propuesta por Trouvelot *et al.*, (1986, citado en Gañán, Bolaños y Asakawa, 2011).

$$\%M = (n1 + 5(n2) + 30(n3) + 70(n4) + 95(n5)/N$$

N= Número total de segmentos observados

n=Números de segmentos asignados con el índice 0, 1, 2, 3, 4 y 5



Escala gradual de intensidad de colonización, según Trouvelot et al., (1986, citado en Gañán *et al.*, 2011).

Para esta variable colonización micorrízica, donde se evaluó (frecuencia micorrízica (%) e intensidad micorrízica (%)), estos mismos se transformaron con la transformación de Bliss o transformación angular $\arcsen \sqrt{\%}$ (Box y Hunter, 1989).

- Longitud de micelio extraradical (MER)

El micelio está en la raíz, la cual busca los nutrientes presentes en el suelo, que de por sí sola no puede absorber.

Se realizó utilizando la técnica del gel semisólido y cuantificación por el método de intersección de cuadrantes, metodologías propuestas por Robles (2009) con modificaciones. En la cual las muestra que previamente fueron preparadas siguiendo la metodología de tinción de micelio extraradical, fueron llevados a un microscopio estereoscópico de 5X, en la cual se contaron las intersecciones hifa-línea y se transformaron a longitud de micelio por unidad de peso de suelo utilizando la fórmula de Newman, (1966, citado en Robles, 2009).

$$R = \frac{AN}{2H}$$

R= Longitud de micelio por unidad de peso de suelo

A= Área de la placa

N= Número de intersecciones

H= Longitud total de las líneas de la placa (en cm)

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes de la investigación

El cultivo del café con el paso de los años ha experimentado significativos cambios debido a la implementación de nuevas tecnologías, lo cual ha generado numerosas experiencias exitosas y en algunos otros casos, resultados poco eficaces como lo son a consecuencia la aplicación de malas prácticas en su manejo agronómico. (Marín, 2012). El crecimiento y el desarrollo vegetativo del café, están relacionados con factores medioambientales y edáficos de las zonas cafetaleras tales como: ubicación del predio (altitud, latitud), clima (temperatura, luz, humedad, precipitación) y tipo de suelo (características físicas y químicas).

La eficiencia de los HMA nativos depende de muchas condiciones ambientales, una de ellas la presencia de fosforo (P), el nivel de colonización y su capacidad de forma rápidamente un extenso y ramificado micelio extraradicular. Los hongos micorrízicos permiten a través de la longitud extraradicular del micelio, permite a la planta absorber más rápida y eficiente los nutrientes presentes en el suelo, de transferir los nutrientes para toda la planta, promover los beneficios nutricionales, la estabilización de sus nutrientes, modificación fisiológica y el alivio al estrés hídrico. (Saggin Júnior & Silva, 2005). “La longitud radical se ve influenciada por la condición de suelo y dosis de fósforo y ya en menor grado por la interacción de las dos anteriores, así como por la interacción, condición de suelo – genotipo” (Portilla Cruz, Molina Gayosso, Ortiz Monasterio, & Manske, 1998).

Para Soria-Colunga (citado por Tiscareño-iracheta, & Loredó-osti, 2010) afirma: “la colonización micorrízica aumenta el desarrollo de las plantas cuando estas mismas incrementan la asimilación de nutrientes vía incremento en la absorción del área superficial radical, o por la movilización de las fuentes de nutrientes aprovechables (por la excreción de compuestos quelatantes) lo que contribuye a una mejor utilización de ciertas fuentes de fósforo orgánico por las plantas micorrizadas y una mayor tasa de flujo (dos a seis veces más) debido a la longitud de las hifas externas de los micelios”.

Estudios realizados en el departamento de San Martín muestran que, en la provincia de Lamas, se encontró un máximo de 2055 esporas/10 gr. de suelo de hongos micorrízicos arbusculares nativos, con una altitud de 1200-1400 m.s.n.m, en la variedad de café caturra. Así mismo cabe indicar que en la provincia de Moyobamba presentó un máximo de 1193 esporas/10 g. de suelo en la altitud de 1200-1400 m.s.n.m, variedad Nacional. Y la mínima densidad fue reportada en la provincia El Dorado con 420 esporas/10 g. de suelo en la altitud 800-1000 m.s.n.m, variedad Pache. En cuanto a la mayor riqueza morfológica, en la provincia de Lamas se encontraron un máximo de 27 morfotipos de hma a una altitud de 1200 -1400 m.s.n.m, en variedad Pache; seguidamente en la provincia de Moyobamba se encontraron 23 morfotipos de hma en la altitud de 800-1000 m.s.n.m, variedad Pache. En cuanto a las altitudes y variedad de café, no se detectaron diferencias estadísticas entre ellos, sugiriendo que las variedades Pache, Caturra y Nacional, y altitudes que van desde 800 a 1400 m.s.n.m, no tiene una influencia directa en la colonización micorrízica en el cultivo de café en la región San Martín (Coral, 2015).

FEDERACAFE (2010) hace mención sobre los cafés de mayor altitud, los cuales han demostrado tener una correlación positiva con la alta retención de ácidos y azúcares de las plantas que, en el caso del café, son importantes para los atributos del café, los cuales son: acidez, dulzor y suavidad de la bebida. La planta de café, al reaccionar ante las menores temperaturas, se protege desarrollando un metabolismo más lento, protegiéndose así de un entorno que considera adverso. La incidencia del clima edáfico afecta las plantaciones de café ya que a mayor altitud (2100 msnm) hay una menor desgaste de la vida de la planta de cafeto mientras que a menor altitud (1931 msnm) la planta sufre cambios drásticos en su estructura, haciéndola más propensa a desgastarse y su vida productiva es más corta y el fruto es de menor tamaño y menor calidad (Díaz, 2014).

El estrés hídrico limita el rendimiento de las plantas. La micorriza favorece el crecimiento y confiere resistencia a la sequía. Ruscitti (2007). Según (Augé et al, 2003; Augé, 2004), citado por (Citlalli Harris-Valle , Martín Esqueda, 2009), los suelos colonizados por HMA contienen más agregados estables al agua que los suelos carentes de HMA. El desarrollo de micelio extraradical permite a las raíces tener un mayor acceso al agua del suelo y aumentar así su hidratación, lo que mejora el metabolismo vegetal aun en condiciones de estrés ambiental.

2.1 Revisión de literatura

2.1.1 Café

El Café es un cultivo perenne, producido por el árbol del cafeto. Estos arbustos requieren una temperatura elevada (20° a 25° C) y una humedad atmosférica importante. Es una planta de semi-sombra, que hay que proteger de los fenómenos climáticos como lo son: vientos y las temperaturas bajas. La primera cosecha de un árbol de café se produce alrededor de los 2 años, tomando aún hasta 2 o 3 años más que el árbol alcance su producción normal. Los árboles pueden producir frutos de calidad hasta 20 años, posteriormente la calidad del fruto declinará (Melorose, et al., Careas, 2015).

El cafeto es la planta estimulante más difundida en el mundo, por su importancia económica. Ocupa grandes áreas montañosas y boscosas de América y África. Es fuente fundamental de divisas en Colombia, Brasil, Perú, Costa Rica, Etiopía etc. Se cultiva en casi todos los países tropicales y aparece como uno de los productos máspreciado de la agricultura (Rica, 2015).

Se cultiva en altitudes comprendidas entre 800 y 1.800 msnm, temperaturas medias entre 17 y 23 °C, precipitación anual entre 1200-1800 mm bien distribuidos en el transcurso del año, con valores de humedad entre 75-85 %. Las enfermedades foliares que comúnmente lo afectan son la Antracnosis *Colletotrichum gloeosporioides* Penz y la *Cercosporiosis* y Cooke y Br., asociadas a condiciones ambientales y deficiencias nutricionales (las plantas que carecen de nutrientes en el suelo), las cuales hacen que estas enfermedades logren una mayor relevancia en algunas condiciones particulares (Penz, 2006).

Taxonomía

Para (Francisco et al., n.d.) citado por (Coral, 2015b), al cultivo de café se le clasifica de la siguiente manera: el cafeto pertenece al grupo Fanerógama, de la clase Angiospermas, sub-clase Dicotiledónea, del orden Rubiales, familia Rubiácea, del género *Coffea*, perteneciendo a la especie *arabica* L, cuyo nombre científico *Coffea arabica*. La raíz central es pivotante, su longitud en una planta adulta es de 50 a 60 cm aproximadamente, las raíces secundarias (de sostén y laterales) se originan a partir de la pivotante; de las secundarias, generalmente se desarrollan los pelos absorbentes que, en un alto porcentaje (80-90%), se encuentran en los primeros 30 cm del suelo, con un radio de 2 a 2.5 m a partir de la base del tronco. Los pelos absorbentes son muy importantes porque le permiten a la planta la absorción de agua y nutrientes del suelo (Marin, 2012) y (Melorose et al., 2015).

2.1.1.1 Morfología

2.1.1.1.1 Tallo

Es leñoso, erecto y de longitud diversa según su variedad. Presenta la particularidad de producir tres tipos de yemas que originan diferentes partes de la planta: el tallo, las ramas y las hojas (Marin, 2012).

2.1.1.1.2 Hojas

La lámina de la hoja mide de 12 a 24 cm de largo por 5 a 12 cm de ancho, renovando su forma de elíptica a lanceolada. En las axilas de las hojas se presentan

las yemas florales, siendo el número promedio de flores por nudo de 40 flores, 20 en cada axila de las plantas (Marin, 2012).

2.1.1.1.3 Flores

La floración del café es señaladamente temporal, generalmente concuerda con la presencia de las primeras lluvias. (Marin, 2012); El número de floraciones varía según la precipitación de la zona en la que se encuentra. Cuando se abre la flor, las anteras ya han soltado gran cantidad de polen; por esta razón, la autofecundación se da en un alto porcentaje. Una vez que el polen alcanza los óvulos, la polinización se completa durante cuatro o seis días (Marin, 2012).

2.1.1.1.4 Frutos y semillas

El fruto es una baya drupácea con dos almendras cada una con sus respectivos embriones, que constituyen la semilla del cafeto (Marin, 2012).

2.1.1.1.5 Raíz

La raíz principal es pivotante, su longitud en una planta adulta es de 50 a 60 cm aproximadamente, las raíces secundarias (de sostén y laterales) se originan a partir de la pivotante; de las secundarias, generalmente se desarrollan los pelos absorbentes que, en un alto porcentaje (80-90%), se encuentran en los primeros 30 cm del suelo, con un radio de 2 a 2.5 m a partir del pie del tronco. Los pelos absorbentes son muy trascendentales porque le permiten a la planta la absorción de agua y nutrientes del suelo en el que se encuentran (Marin, 2012).

2.1.1.2 Variedades de café

Los cafés tienen por origen botánico, principalmente, dos especies: *Coffea arabica* y *Coffea canephora* o Robusta y algunas especies menos comunes como *Coffea excelsa* y *Coffea liberica*. La representación de las dos especies más sobresalientes de este fruto son las de variedad Arábica y Canephora. (Díaz, 2014). Las mejores calidades del café, son los arábigos procesados por la vía húmeda conocidos como suaves, los cuales se caracterizan por su acidez en la taza, un delicado y abundante aroma, pero sobre todo un excelente cuerpo; usualmente los cafés con estas características en los mercados son los más costosos. (Díaz, 2014) citado de (Riaño, 2010).

La mayoría de las variedades que se cultivan pertenecen a la especie *Coffea arabica* L que representa el 99% del café de exportación. La otra especie de importancia comercial es *Coffea canephora*, con la producción de Robusta como variedad importante. Sin embargo, las variedades comerciales de mayor calidad y aceptación en el mercado mundial son las variedades Arábicas (Rica, 2015).

Tabla 1: Variedades de arábica cultivadas según la zona productora

Zona	Cultivar
Piura	Típica, Caturra
Jaén	Típica, Caturra, pache, bourbon
Amazonas	Típica, Caturra, pache
San Martín	Típica, Caturra, pache, Catimor
Huánuco	Típica, Caturra, Catimor
Junín	Típica, Caturra, pache, Catimor
Pasco	Típica, Caturra, pache, Catimor
Ayacucho	Típica, Caturra
Cusco	Típica, Caturra
Puno	Típica, Caturra, Catimor
La libertad	Típica, Caturra, Catimor

Fuente: Cobián (2012)

2.1.1.3 **Café Caturra**

Es una mutación de la variedad Bourbon descubierta en Brasil con una alta producción y buena calidad, pero que requiere de una amplia atención y fertilización. La planta es la más baja, con un núcleo grueso y muchas ramas secundarias. *Tiene* hojas grandes con bordes ondulados, siendo muy similares al Bourbon. Se adapta bien en casi cualquier ambiente e el que este, pero mejora en ambientes de entre los 500 y 1700 m.s.n.m. con precipitaciones anuales entre 2500- 3500 mm. A mayor altitud aumenta la calidad, pero disminuye la producción (Cobián, 2012).

Es una planta de porte bajo (2.5 m), tronco grueso y poco ramificado e inflexible. Posee entrenudos muy cortos en las ramas y en el tallo lo que lo hacen un alto productor de cafeto. Sus hojas son grandes, de borde ondulado, anchas, elípticas,

gruesas y de color verde oscuro. Las hojas nuevas son de color verde claro. Es un arbusto de un aspecto general compacto y de mucho vigor. Las ramas laterales forman un ángulo bien cerrado con el tronco. Su sistema radical está bien desarrollado lo que le permite adaptarse a diferentes condiciones climáticas. Es una variedad muy precoz y de alta producción por lo que requiere un manejo adecuado. El rendimiento y la calidad del grano son buenas. (Marín, 2012). La adaptación de esta variedad es muy amplia, particularmente en cuanto a la altitud y el potencial productivo es muy destacado, ya que a pesar de su tamaño pequeño la cualidad de presentar entrenudos muy cortos y ramificación secundaria abundante, posibilita una alta productividad. Se puede sembrar a una densidad de 5.000 plantas por hectárea, aunque en condiciones muy favorables para el cultivo, la consistencia puede ser un poco mayor (Penz, 2006).

2.1.2 Hongos Micorrízicos Arbusculares

En la agricultura, el uso de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) tiene un gran potencial biotecnológico debido a que facilitan la disponibilidad de nutrientes para las plantas. Por lo tanto, plantas micorrizadas poseen una ventaja importante con respecto a las no micorrizadas viéndose eso en la producción (Klironomos, 2003). La relevancia de este tipo de hongos son que en las zonas áridas y semiáridas se caracterizan, principalmente, por la baja fertilidad del suelo y la escasa precipitación, limitando el crecimiento y desarrollo de las especies vegetales, por lo que la presencia de HMA nativos puede ser una ventaja para las plantas de zonas áridas y semiáridas que forman micorrizas (Esperón & Camargo 2015).

La planta al igual que los hongos reconocen señales para que entre ellas no se inicie un mecanismo de defensa, sino que se colonicen; si en una plantación se carece de fósforo, al hacerse la inoculación los resultados obtenidos serán grandes en cuanto al crecimiento hifal en las plantas, el resultado se puede ver a las dos semanas de iniciado el experimento. (Claves, 2009). La glomalina es un buen bioindicador del efecto que produce la fertilización inorgánica sobre los HMA, microorganismos que están íntimamente relacionados con el nivel nutricional de las plantas (Conforto, *et al* 2010).

Estudios realizados en Chile muestran que es preferible trabajar con HMA nativos que, con los inoculados, ya que estos presentaron mejores resultados. (Claves, 2009). Los HMA producen la glomalina que constituye uno de los muchos mecanismos de interacción bioquímicos, fisicoquímicos y biológicos mediados por los HMA, que favorecen a la agregación del suelo, la incorporación de materia orgánica al mismo y por tanto a evitar su erosión y lixiviación, al tiempo que proveen la aireación, infiltración y conservación del agua (Esperón *et al.*, 2015).

2.1.2.1 HMA asociados al café

Investigaciones colombianas, muestran que en la etapa de crecimiento del café se ha registrado un aumento en el crecimiento, peso seco y absorción de nutrientes de *Glomus manihotis*, *G. oculatum*, *G. macrocarpum* y *Entrophospora colombiana*. Entre las especies evaluadas, *Glomus manihotis*, *G. oculatum*, *G. macrocarpum* y *Entrophospora colombiana* favorecieron el crecimiento, peso seco y

absorción de nutrimentos. El incremento de las MA nativas tardó siete meses, tiempo al cabo del cual se observaron los cultivos para seleccionar los que presentaron mayor población de esporas y de micelio externo. (Rivillas, 2000).

2.1.2.2 Tipos de HMA

Tradicionalmente los estudios taxonómicos de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) se han basado en la morfología y aspecto de las esporas. Numerosas familias y géneros han sido distinguidos primordialmente por la unión de la hifa y el modo de formación de la espora, mientras que la subestructura de las paredes de las esporas jugó un papel importante en la identificación de las especies. (Perez *et al.*, 2011).

Tabla 2: Clasificación taxonómica de los HMA

Phylum Glomeromycota	Familias	Géneros
Clase Glomeromycetes		
Ordenes (4)		
Glomerales	Glomeraceae	Glomus Funneliformis Rhizophagus Sclerocystis
	Claroide o glomeraceae	Claroideoglomus
Diversisporales	Diversisporaceae	Redeckera, Diversispora, Otospora
	Acaulosporaceae	Acaulospora
	Entrophosporaceae	Entrophospora
	Gigasporaceae	Gigaspora, Scutellospora, Racocetra
	Pacisporaceae	Pacispora
Archaeosporales	Geosiphonaceae	Geosiphon
	Ambisporaceae	Ambispora
	Archaeo sporaceae	Archaeospora
Paraglomerales	Paraglomeraceae	Paraglomus

Fuente: Fernández (2012)

2.1.2.3 Ventajas de los HMA

Los hongos micorrízicos arbusculares son capaces de alterar la estructura de comunidades de plantas y que la biodiversidad y la productividad de los ambientes dependen de la variedad de hongos micorrízicos. (Peterson, 2010). La diferencia en crecimiento micelial y estrategias de toma de fósforo en especies de HMA pueden jugar un papel importante (Charles & Alonso, 2015) citado de (Smith *et al*, 2000), y podría incluso significar que una amplia diversidad de HMA, puede estar relacionada con un incremento en la eficiencia de extracción de nutrientes y por lo tanto en los

beneficios al hospedero (Kernaghan, 2005) y explicaría la presencia de diversos HFMA en suelos y en raíces (Lebrón, *et al*, 2012) .

Las micorrizas son una de las estrategias más significativas que han desarrollado las plantas para sobrevivir en condiciones del suelo necesitados de nutrientes. Se sabe desde hace tiempo que una correcta selección y aplicación de hongos micorrízicos, mejora la nutrición y el crecimiento de las plantas, por lo que se consideran como fertilizantes biológicos o biofertilizante ecológicos. Esta mejora nutricional es debida, por un lado, a que el micelio de los hongos micorrízicos es capaz de explorar un mayor volumen de suelo en busca de nutrientes y de penetrar en poros del suelo más pequeños, que las raíces.(Peterson, 2010). La fisiología de la planta micorrizada cambia completamente cuando se asocia al hongo. Mediante el micelio externo, el contacto entre las raíces y el medio se incrementa considerablemente. La inoculación con hongos formadores de micorrizas es conocida por incrementar el crecimiento de muchas especies de plantas. Es atribuido un incremento en la toma de nutrimentos, especialmente los de difusión limitada tales como: P (fosforo), Zn (zinc), Cu (cobre), etc.; producción de sustancias promotoras de crecimientos, tolerancia a estrés hídricos; salinidad, estrés por trasplante; resistencia a plantas por Fitopatógenos e interacción sinérgica con otros microorganismos benéficos del suelo. (Perez *et al.*, 2011).

2.1.2.4 Beneficios de los HMA asociadas al cultivo de café

Para Peterson (2010), los HMA nativos, en plantaciones de café los hma son defensoras de los cultivos, la cual permiten la reducción de los fertilizantes y los fitofármacos agrotóxicos en aquellas plantas que las posean, son las que intervienen en la interacción de micorrizas con otros microorganismos benéficos de la rizósfera, por consiguiente las plantas colonizadas presentan un grado significativo de bioprotección frente a los organismo patógenos (Campos *et al.*, 2013) . Estos hongos mejoran la nutrición fosforada induce el crecimiento radical, aumenta la capacidad de absorción de agua y de nutrientes del sistema radical y afecta a procesos celulares en raíces. El estrés ambiental influye en la incidencia y severidad de las infecciones patogénicas en las plantas, y predisponen en muchos casos a contraer enfermedades. El estrés que afectan mayoritariamente a las plantas es el nutricional, la sequía y las toxicidades Entry (citado por Del Mar *et al.*, 2011). Las plantas micorrizadas son más tolerantes a estos estreses y, por tanto, son menos susceptibles a enfermedades. Es una alternativa barata y rentable para el productor e inocua para el ambiente.

2.1.3 Condiciones edafoclimáticas para el desarrollo de los HMA

2.1.3.1 pH

El pH, influyen tanto en la colonización micorrízica como en el número de esporas. Los HMA *Acaulospora morrowiae* y *Acaulospora scrobiculata* han sido reportadas en un rango de pH entre 3.8 y 8.0 y se adaptan a diversos niveles de fertilidad, mientras que especies de *Glomus* se adaptan a casi cualquier tipo de suelo

y condiciones edafoclimáticas. El nivel de pH perturba el número de esporas presentes en el suelo debido a que un ligero aumento de este cambia el nivel de saturación de aluminio, causando una disminución en este parámetro, por lo que, en arcillas, por ejemplo, mejora la capacidad de intercambio catiónico del suelo favoreciendo la densidad poblacional de micro-organismos, en nuestro caso la esporulación de HMA (Claves, 2009).

El efecto del pH puede estar relacionado con la disponibilidad de P, lo cual puede afectar la función del HMA, aunque se considera que los HMA pueden tolerar condiciones contrarias de pH por modificación de la micorrizósfera durante el proceso de toma de nutrientes. En general, se considera que los HMA se adaptan al pH del suelo de su origen y por ello se puede convertir en un factor limitante para el establecimiento de HMA, Sylvia (citado por Perez *et al.*, 2011).

2.1.3.2 Temperatura

Los rangos de temperatura del suelo para la formación de la simbiosis pueden variar entre 18 y 40°C, con un óptimo cercano a los 30°C. Se ha observado que la combinación humedad - temperatura del suelo tienen mayor efecto en la colonización, encontrándose rangos óptimos para algunos géneros de HFMA, Matsubara y Harada (citado por López, *et al.*, 2015).

2.1.3.3 Altitud

La altitud influye notoriamente en la distribución temporal y espacial de los elementos del clima, los cuales a su vez inducen variadas respuestas fenológicas del cultivo de café, representadas en las tasas de crecimiento, patrones de floración y distribución de la cosecha. (Ramirez, *et al.*, 2010). (Díaz, 2014) menciona que el café crece de manera apropiada en la zona tórrida en lugares que reúnen condiciones especiales de suelo, temperatura, altitud y radiación solar. (Clarke & Macrae, 1985). A mayor altitud (2.100 m.s.n.m) hay un menor desgaste de la vida de la planta de cafeto mientras que a menor altitud (1.931 m.s.n.m) la planta sufre cambios drásticos en su estructura, haciéndola más expuesta a desgastarse y su vida productiva es más corta y el grano de café es de menor tamaño y menor calidad. (CENICAFE, 1990). Los cafés de mayor altitud, han demostrado tener una correlación positiva con la alta conservación de ácidos y azúcares de las plantas.(Díaz, 2014). Las lluvias aumentan con la altitud hasta un nivel máximo que varía de acuerdo con la vertiente de la cordillera. Hay regiones con limitaciones de agua en algunas épocas, debido a la distribución de las lluvias y la baja capacidad de retención de humedad de los suelos.(Díaz, 2014). Un aspecto importante de estas asociaciones es su universalidad, dado que la gran mayoría de las plantas que crecen sobre la corteza terrestre son capaces de desarrollarlas, estando presentes en la casi totalidad de los ecosistemas terrestres (Allen,1991), tanto longitudinal como altitudinalmente.(Cornejo, 2016).

2.2 Estrés hídrico

El estrés se identifica como una desviación significativa de las condiciones óptimas para la vida, que ocasionan cambios en todo el nivel eficaz de los organismos y desde un punto de vista biológico, el estrés tiene una connotación más amplia, refiriéndose a los cambios ambientales que alteran al estado fisiológico de las plantas, Larche (1995).

Una planta sometida a estrés hídrico reduce su desarrollo (Augé, 2001). Una estrategia para resistir tales condiciones de estrés es la asociación con un determinado HMA, ya que la interacción permite a la planta aclimatarse y continuar con el aprovechamiento de nutrimentos en las etapas sucesivas del desarrollo (Ruiz-Lozano et al., 1995 y Bhoopander y Mukerji, 2004).

Biológicamente, el estrés se describe como cualquier factor del medio ambiente que disturba el normal funcionamiento de un organismo y capaz de inducir una “tensión” potencialmente perjudicial en el organismo viviente (Kramer, 1989), por otra parte estrés es la situación de un individuo vivo o de alguno de sus órganos o aparatos que por exigir de ellos un rendimiento muy superior al normal, los pone en riesgo próximo de enfermar (Armas et al, 1988), técnicamente, ocurre cuando hay pérdida de agua en las plantas, o una parte de ella, causando un potencial negativo del agua, medidos en términos de presión (bars), llega debajo de -0,5 hasta -1,0 bars, se dice que existe estrés y para la mayoría de los cultivos, el punto de marchitez permanente se alcanza cuando el suelo llega a una deficiencia de -20bars. Las hojas de las plantas pueden, generalmente, tolerar deficiencias más altas que - 20bars por

periodos cortos (algunas horas), pero si la deficiencia sigue, resulta en una marchitez permanente por Slatyer and Goode (1967).

A causa de su papel esencial en el metabolismo de las plantas, el déficit de agua afecta rápidamente los procesos que van desde la fotosíntesis hasta la respiración. El agua es un agente químico que imparte orden y estructura en las biomoléculas y ayuda a la interacción entre estas, además de ser una fuente de protón-electrón, la carencia de agua ha sido la principal fuerza selectiva en la evolución de las plantas y su habilidad para hacer frente a los déficits hídricos es una determinante fundamental en su distribución y en la distribución y productividad de las plantas cultivadas (Fisher and Turner, 1978). El término déficit hídrico en las plantas, significa insuficiencia interna de agua, esta misma puede ser inducida por escasez de agua en el suelo o porque la pérdida de agua por transpiración persiste hasta ser mayor que la tasa de absorción de agua por las raíces, es decir, cuando al balance hídrico se torna negativo (Larcher, 1977), normalmente el balance hídrico debe ser positivo ya que las intensidades con que ocurren los principales procesos fisiológicos y metabólicos de las plantas están estrechamente relacionadas con el balance y turgencia de sus células, tejidos y órganos (Kramer, 1989). El término “sequía” se refiere usualmente a una condición por la cual el agua no puede ser aprovechada en forma satisfactoria por la planta, produciéndose un déficit hídrico en los tejidos al punto de afectar el crecimiento y desarrollo por Billins (1968).

Desde el punto de vista agrícola, la sequía es definida como la situación que existe cuando hay insuficiente agua disponible para un cultivo, es decir cuando el nivel de humedad en el suelo es insuficiente para cubrir las necesidades de agua por la planta en un determinado estado de desarrollo, lo cual produce en la planta déficits hídricos y ocasiona la reducción en los rendimientos de producción, Kramer (1989).

2.2.1 Efectos fisiológicos del estrés hídrico

El estrés hídrico puede causar diversos efectos en la planta, así como la pérdida de agua en los tejidos que puede provocar una reducción en la presión hidrostática al interior de las células la cual origina un incremento en la concentración de macromoléculas y solutos de menor peso molecular, además, una reducción en la actividad del potencial químico del agua presente en la planta. Todos estos efectos pueden influenciar en los procesos metabólicos por Carruthers y Clark (1981). El proceso más sensible al estrés hídrico es el crecimiento celular. Cuando la presión de turgencia en una célula vegetal decae, la expansión celular es deprimida produciéndose por lo tanto una abierta correlación entre la disminución del tamaño celular y el grado de estrés de agua en los tejidos vegetales. Además, el desarrollo celular, la división celular, la síntesis de proteína y paredes celulares son los más afectados en tejidos de rápido crecimiento. Deficiencias severas de agua afectan directamente los niveles de enzimas en las plantas. Bajo estrés moderado algunos niveles de enzimas son aumentados, así como, las enzimas involucradas en la hidrólisis y deshidrogenación. En general, el estrés hídrico origina una disminución en los niveles de enzimas.

2.2.2 Estados de marchitez

En un estudio de tolerancia a la desecación y a la sequía, se describen cinco estados de marchitez hasta el PMP (Punto de Marchitez Permanente). A continuación, se describen los estados de marchitez. (1) Ligeramente marchita: Hojas verdes, pero con un ángulo ligeramente torcido. (2) Marchita: Hojas verdes con un ángulo de 45°, sus extremos comienzan a plegarse y hay necrosis limitada. (3) Severamente marchita: Hojas verde con el ángulo de 90°, con un excesivo pliegue y la necrosis es más extensiva. (4) Cercana a la muerte: Muchas de las hojas necróticas, extensivo pliegue en las hojas. (5) Muerte: Todas las hojas necróticas, hojas frágiles que se caen (Tyree et al., 2003).

2.3 Definición de términos

2.3.1 Café

El cafeto es la planta estimulante más difundida en el mundo, por su importancia económica, ocupa grandes áreas montañosas y boscosas de los continentes de América y África. Es fuente fundamental de divisas en Colombia, Brasil, Perú, Costa Rica, Etiopía etc. Se cultiva en casi todos los países tropicales y aparece como uno de los productos máspreciado de la agricultura (Rica, 2015).

2.3.2 Variedades de café

Los cafés tienen por origen botánico, principalmente, dos especies: Coffea Arábica y Coffea Canephora o Robusta y algunas especies menos comunes como Coffea Excelsa y Coffea Libérica (Díaz, 2014).

2.3.3 Café Caturra

Es una mutación de la variedad Bourbon descubierta en Brasil con una alta producción y buena calidad, pero que requiere de una amplia atención y fertilización. La planta es más baja, con un núcleo grueso y muchas ramas secundarias. Tiene hojas grandes con bordes ondulados similares al Bourbon (Marin, 2012).

2.3.4 Hongos micorrízicos arbusculares

El uso de estos hongos, permite que se incremente la adaptación y que la fertilización sea más eficiente, es por ello que en el caso de los cultivos se podría ahorrar cantidades importantes de fertilizantes minerales e igualmente lograr una absorción de los nutrientes disponibles en el suelo (Mujica & Fuentes, 2012).

CAPITULO III

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción del área de estudio

3.1.1 Ubicación del área de estudio

El área de investigación de biofertilización, se llevará a cabo en las instalaciones del invernadero de propagación vegetativa del Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana (IIAP), sede San Martín, ubicado en el Jr Belén Torres de Tello N°135, Morales-Tarapoto-San Martín, cuyas coordenadas son: N 928365 y E 0347742 a una altitud de 332 m.s.n.m. con temperaturas promedio de 25.44°C, una precipitación de 72.3 mm/mes (IIAP, 2013).

3.1.1.1 Localización y descripción de la zona

El área de estudio abarcará las provincias de Lamas, Rioja, Moyobamba, Huallaga y El Dorado; todas ellas dentro de la región San Martín. En cada provincia se seleccionarán áreas productoras de café ubicadas de manera que se cumplan con los pisos altitudinales diferentes (800-1000, 1000-1200 m.s.n.m). Además, se tendrá en cuenta que las fincas seleccionadas cumplan con la variedad de café (Caturra).

3.2 Diseño de la investigación

Según el propósito y la naturaleza de la investigación, esta corresponde a un diseño experimental completamente al azar (D.C.A). Cada uno de los 11 tratamientos a evaluar tendrá 3 repeticiones, distribuidos, la unidad experimental será un plantón, lo que dará un total de 33 plantones o unidades experimentales.

Tabla 3: Tratamientos en estudio con HMA nativos

TRATAMIENTO	Código	DESCRIPCIÓN	HMA (Esporas)
0	T0	Sin Micorriza (Absoluto)	0
1	R-A1-C	Con HMA de Rioja, Altitud (800-1000)	2000
2	R-A2-C	Con HMA de Rioja, Altitud (1000-1200)	2000
3	M-A1-C	Con HMA de Moyobamba, Altitud (800-1000)	2000
4	M-A2-C	Con HMA de Moyobamba, Altitud (1000-1200)	2000
5	L-A1-C	Con HMA de Lamas, Altitud (800-1000)	2000
6	L-A2-C	Con HMA de Lamas, Altitud (1000-1200)	2000
7	DO-A1-C	Con HMA de El Dorado, Altitud (800-1000)	2000
8	DO-A2-C	Con HMA de El Dorado, Altitud (1000-1200)	2000
9	H-A1-C	Con HMA de Huallaga, Altitud (800-1000)	2000
10	H-A2-C	Con HMA de Huallaga, Altitud (1000-1200)	2000

Fuente: *Elaboración propia 2016*

La inoculación con las diferentes fuentes de inóculo se realizó al momento del repique (una vez obtenidos los brotes de café enraizados).

3.2.1 Enfoque de la investigación

Es cuantitativo y según los autores consiste en:

Hernández, *et al.*, 2010. Es cuantitativo cuando “Usa la recolección de datos para probar hipótesis, con base en la medición numérica y el análisis estadístico, para establecer patrones de comportamiento y probar teorías”. Parte de una idea, que va acotándose y, una vez delimitada, se derivan objetivos y preguntas de investigación, se revisa la literatura y se construye un marco o una perspectiva teórica.

3.2.2 Síntesis de la metodología

Se utilizará un diseño completamente al azar (DCA, con 3 repeticiones considerándose las provincias. Se probará dos tipos de alturas (800-1000 msnm y 1000-1200 msnm) y la variedad de café (caturra). Se generará una base de datos en el programa Microsoft Excel 2013 y éstas serán sometidas a un análisis de variancia y prueba de rangos múltiples de Duncan (0,05) para determinar la naturaleza de las diferencias entre tratamientos, para ello se utilizará el programa SPSS 22.

3.2.3 Equipos y Materiales

Para la realización de esta investigación se necesitará lo siguiente:

Materiales

- Placas Petri PYREX
- Probetas 1 L SCHOTT
- Vaso precipitado SCHOTT

- Porta y cubre objeto
- Tubos falcón 50ml CORNING
- Tubos de ensayo SCHOTT
- Etiquetas

Equipos

- Centrifuga MEMMERT
- Microscopio binocular NICON ECLIPSE E200
- Estereoscopio 3X RATING 100-240
- Estuche de disección MRNZHER
- Tamices RETSCH
- Micropipetas PYREX
- Balanza OHAUS

Insumos

- Hidróxido de potasio
- Agua oxigenada
- Azúcar blanca
- Ácido acético
- Azul de trypano
- Glicerol
- Ácido láctico

3.3 Formulación de hipótesis

Se formulará únicamente las hipótesis del investigador, que de acuerdo a los objetivos de estudio son cuatro.

H_1 = Los HMA nativos tienen un efecto biofertilizante en las variables fúngicas en las plantas clonales de café (*Coffea arabica*).

H_2 = Los HMA nativos tienen un efecto biofertilizante en las variables morfológicas en las plantas clonales de café (*Coffea arabica*).

H_3 = Los HMA nativos tienen influencia en la resistencia de las plantas clonales de café sometidas a estrés hídrico.

H_4 = La correlación entre la variable de micelio extraradical influye en las variables morfológicas (altura, diámetro, área foliar, peso seco aéreo y radicular).

3.4 Instrumentos de recolección de datos

Para la recolección de datos se usaron fichas de evaluación, para ello, se usaron las fichas mostradas en los anexos 1 y 2.

3.5 Procedimiento

3.5.1 Fase de campo

3.5.1.1 Georreferenciación de plantas seleccionadas

En las cinco provincias cafetaleras (Lamas, Moyobamba, Rioja Huallaga y El Dorado), se realizará la georreferenciación de las plantas de cafeto con las que se llegará trabajar para realizar dicha investigación. Se tomó en consideración que las muestras sean realmente representativas con la parcela para así tener datos más concisos.

3.5.1.2 Colecta de muestras (Suelo y raíces).

La colecta de las plantas de cafeto que fueron georreferenciadas de las cinco provincias, de las cuales se tomaron muestras de suelo (2 kg.), simultáneamente tomándose raíces (secundarias y terciarias) de la planta, a una profundidad entre 0 – 20 cm, siguiendo la metodología propuesta por (León, 2006). Estas muestras se obtuvieron de 03 fincas cafetaleras por cada provincia, para ello se utilizó una palana para extraer las muestras, las cuales se depositaron en una bolsa plástica colocándole los datos respectivos del lugar para de esta manera evitar confusión al momento del traslado al sitio donde se realizó dichas evaluaciones, que en este caso será el invernadero del IIAP.

3.5.1.3 Origen y colecta de brotes de café

El material vegetativo de *Coffea arabica*, se obtuvo de los patrones identificados y seleccionados, con características sobresalientes de productividad, calidad de taza y tolerancia a la roya. Se utilizaron los brotes de las provincias de Lamas, Rioja, Moyobamba, Dorado y Huallaga, estas muestras fueron previamente inducidas, siendo que son seleccionadas para la recolección de brotes, donde los brotes a usar fueron de 80 días de edad. Dicha actividad se realizó con una tijera de mano, desinfectada con alcohol (96%).

Luego del manejo de las plantas madres se procedió a aislar los brotes colocándolos en bolsa de papel, seguidamente a la caja de tecnopor, para enseguida agregar el agua el mismo que permitió tener una temperatura casi homogénea evitando así el estrés hídrico y deterioro de los brotes durante el traslado desde la finca a las instalaciones del centro de investigación.

3.5.1.4 Aplicación hormonal en base a ácido indol-3-butírico (AIB)

Se aplicó una dosis de AIB a partir del ácido indol-3-butírico químicamente puro, diluido en una solución de alcohol al 96%. La preparación de la dosis de hormona se realizó en laboratorio. La utilización de esta hormona es para lograr un brote ideal para enraizamiento, los brotes colectados fueron preparados eliminando las partes oxidadas del corte de colecta y hasta el 30% del área foliar la cual permitirá la estimulación sobre la iniciación de raíces. (Hartmann y Kester, 1989; citado por Vázquez, 2015).

Posteriormente a la preparación de los brotes para el enraizamiento, se sumergieron estos mismos en una solución fúngica de antracol, en un periodo de 3 minutos. Luego se prosiguió a la siembra de los brotes de café en pellets. Los brotes se colocaron con sus respectivas etiquetas por especie, altitud y provincia, finalmente estos fueron depositados en los microtúneles para su enraizamiento.

El proceso de enraizamiento en microtúnel fue por un periodo de dos meses y el riego se dio cuatro veces al día por un periodo de 1 minuto y el riego del ambiente de la misma manera. Debido a la humedad que se generó en el microtúnel, fue necesario una adecuada limpieza de hojas caídas, limpieza de la superficie interna y externa del microtúnel con una solución de agua y lejía para prevenir la propagación de patógenos, esta actividad se realizó una vez a la semana.

3.6 Fase de vivero

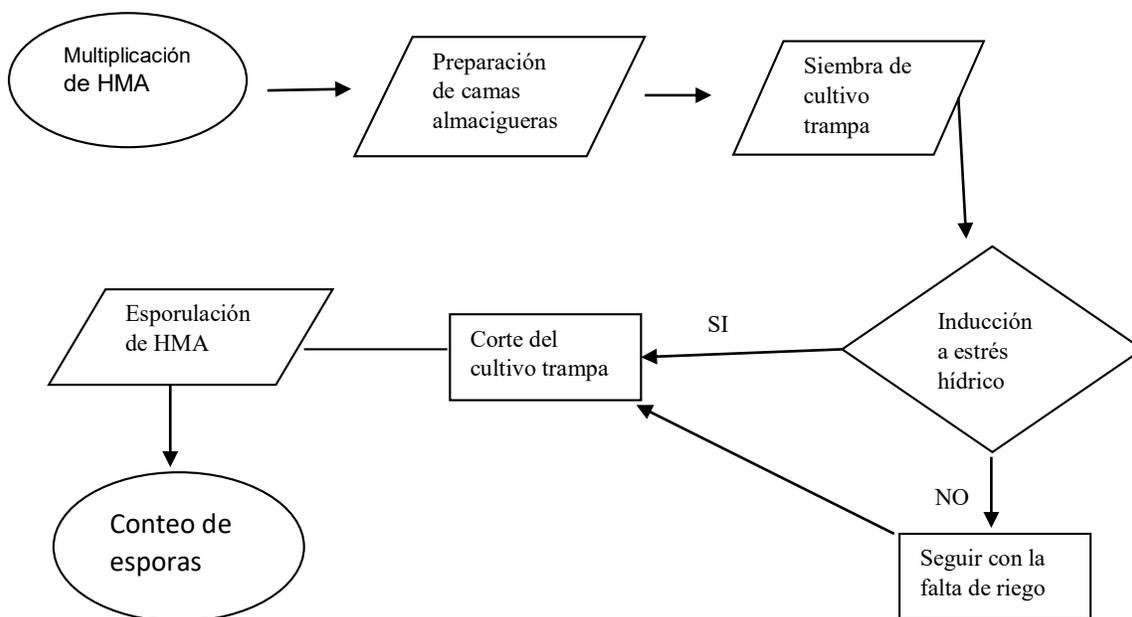
La conducción del experimento se realizó en las instalaciones de vivero y laboratorio (anexo 3) del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). Esta investigación estará bajo la responsabilidad científica de los ingenieros Decny Omar Chinchay Rubio, Geomar Vallejos Torres.

Las evaluaciones de las distintas variables estudiadas se realizaron en el Laboratorio de Micorrizas, ubicada dentro del mismo Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP).

3.6.1 Multiplicación de HMA en un cultivo trampa

La multiplicación de la fuente de inóculo se realizó en camas almacigueras, conteniendo las diferentes fuentes de inóculo de HMA nativos que previamente fueron colectadas de las fincas cafetaleras de las cinco provincias ya mencionadas, estas fuentes fueron mezcladas con arena lavada de río en proporción de 50:50, así mismo se utilizó maíz como planta trampa, luego se procedió al corte de las plantas con la finalidad de ocasionar en ellas un estrés hídrico, para así las esporas que se encontraron colonizando las plantas de maíz, en afán de sobrevivir empiece el proceso de esporulación e incrementen la cantidad de esporas que hubo en un inicio (Tamil Nadu Agricultural University, 2016). Ver anexo 4.

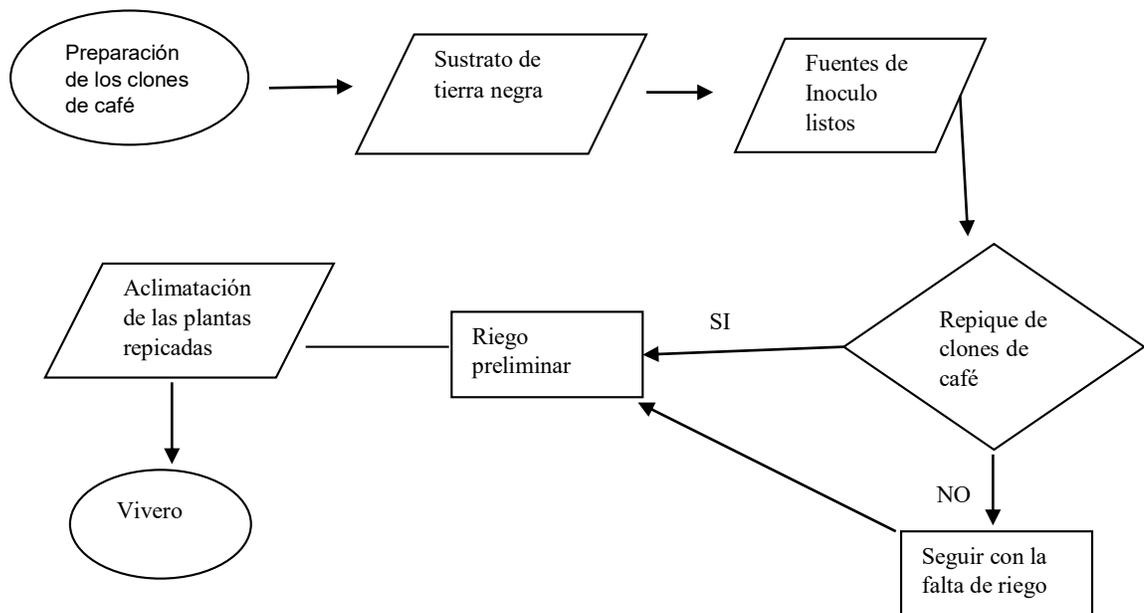
Diagrama de flujo de multiplicación de HMA



3.6.2 Repique e inoculación con HMA a los plántones de cafeto

El repique se realizó colocando las plántulas de cafeto traídas de la cama germinadora en pellets sobre bolsas almacigueras con sustrato de tierra negra (ver anexo 09) más arena de río en proporciones de 2:1, agregándole en ello una porción de fragmentos de raíces micorrizadas procedentes de las raíces del maíz y una cantidad en promedio de 3000 esporas de HMA procedente de cada cama multiplicadora. Ver anexo 5.

Diagrama de flujo de repique de plantas clonales de café



3.7 FASE DE LABORATORIO

3.7.1 Identificación y Cuantificación de esporas.

La cuantificación de esporas de HMA, se realizó mediante la técnica del tamizado húmedo y decantación, para los suelos rizosféricos provenientes de las diferentes provincias, siguiendo la metodología propuesta por (León, 2006), con algunas modificaciones. Se realizó 2 cuantificaciones, la primera para saber la densidad de esporas de las muestras que se trajo de campo y la segunda para determinar la cantidad de esporas antes de su inoculación a los plantones de cafeto.

PROCEDIMIENTO

Se pesó 10 gramos. de muestra de suelo y se disolvió en suficiente agua, en un frasco de aprox. 5 L, se colocó los 10 g de la muestra y llenó con agua hasta el 80% de la capacidad del frasco, se agitó por 10 s y dejando reposar la mezcla según la textura de la muestra inicial, siendo esta arenoso, el tiempo de reposo es de 35 s, y si es limoso el tiempo fue de 60s a 90 s, con los tamices de 250 y 38 micras (μm) se tamizó la mezcla, repitiendo este procedimiento 5 veces y lo que quedó en el frasco se descartó, luego se lavó cada tamiz y el sobrenadante del primero (250 μm) se colocó en una placa de Petri, y el sobrenadante del segundo (38 μm) se colocó en tubo falcon en el que previamente se colocó 20 ml de azúcar al 20 % seguido de 20ml de azúcar al 60%. Luego se puso en refrigeración hasta llegar a terminar el ensayo con todas las muestras, se centrifugo por 4 minutos a 2400 rpm, se vació el contenido y sobre el tamiz de 38 micras, lavamos y el sobrenadante se colocó en una placa de Petri, luego se observó en un microscopio estereoscópico a 30 aumentos. Ver anexo 6.

3.7.2 Tinción de raíces

La tinción se realizó de acuerdo con la técnica de Phillips y Hayman (1970) con modificaciones. Para esto se colocaron las raíces en tubos de ensayo de 50 ml, conteniendo una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% hasta cubrir la muestra por 24 horas. Después se colocó en baño maría a 90°C durante 30 minutos con la finalidad de remover el contenido citoplasmático y clarificar el tejido cortical, luego se lavó tres veces con agua corriente hasta eliminar todo el KOH. Posteriormente las raíces fueron sumergidas en agua oxigenada durante 90 minutos a temperatura ambiente, para aclarar los pigmentos de la raíz, luego se lavaron con vinagre blanco de 2-3 veces para acidificar las muestras. Finalmente, las raíces fueron sumergidas en tinte azul de trypano (0.25%), y colocadas en baño maría a 90°C durante 60 minutos, en seguida se lavaron entre 2-3 veces con vinagre (50%) para eliminar el exceso de tinta. Por último, las raíces teñidas fueron conservadas en vinagre blanco, hasta su evaluación. Ver anexo 7.

Técnica sistemática de portaobjeto

Sobre una lámina porta objetos se puso 30 segmentos de raíces aproximadamente de 1 cm. en forma vertical, cuidadosamente amasados, con la finalidad de facilitar la observación del tejido interno, sobre estas raíces se adicionó gotas de lactoglicerol. Las observaciones se realizaron a 40X de aumento en un microscopio, donde se registrarán el grado de colonización de micelios del hongo expresadas en porcentaje. Metodología propuesta por (León, 2006) con modificaciones.

3.7.3 Tinción de Micelio Extraradical

El MER constituye la interface activa entre el suelo y la planta, y se considera la estructura más importante para el cumplimiento de la función de la micorriza en cuanto a captación de nutrientes y agua (Melorose et al., 2015), citado de (Whittingham & Read, 1982). La determinación de su longitud por unidad de masa de suelo es un indicador del posible beneficio que reciben las plantas de esta estructura y de su contribución al mejoramiento de las propiedades físicas del suelo (Tisdall, 1991).

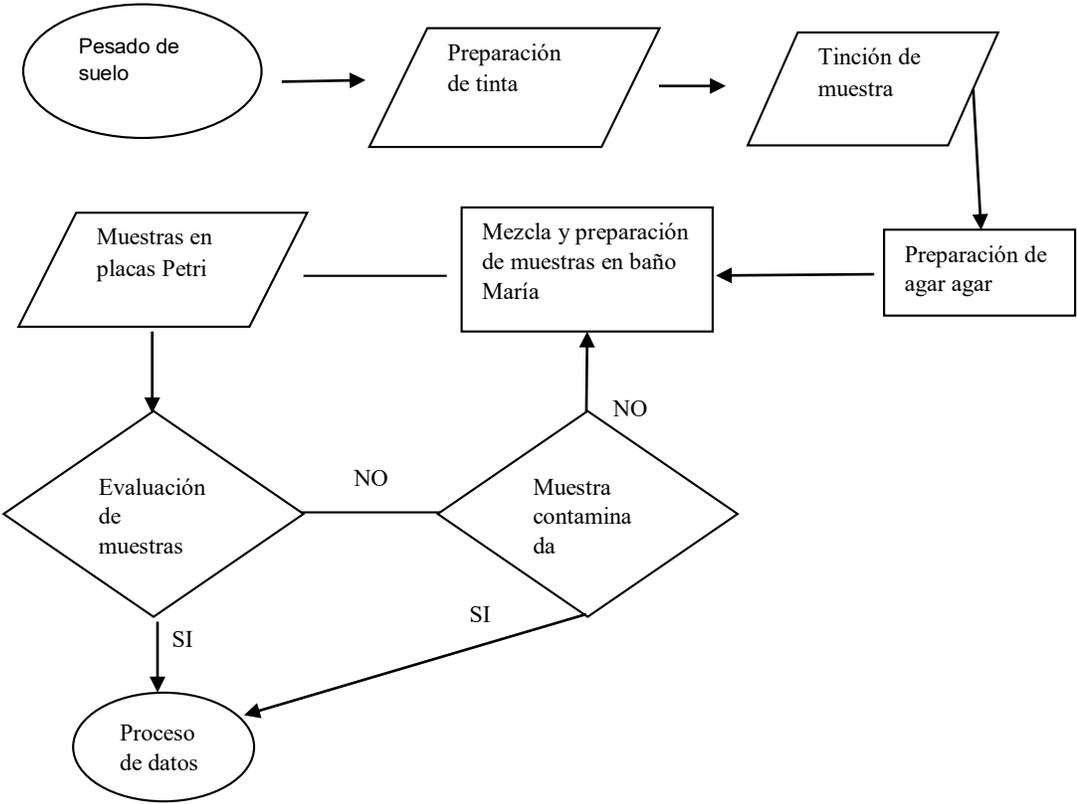
PROCEDIMIENTO

Se pesó una submuestra de 1 g de suelo previamente secado al aire y colocarlo en un vaso precipitado de 200 mL, agregamos una pequeña cantidad de vinagre y dejamos por de 10 minutos, esto es para dispersar los agregados del suelo y acidificar los segmentos de micelios, agregamos así mismo 20 mL de solución de PELIKAN al 10% disuelto en ácido acético, dejamos a T° ambiente por 30 minutos, enrazamos a 100 ml con agua destilada, colocando las muestras en baño María (90 °C) por un periodo de 90 minutos, las muestra fueron agitadas constantemente:

Para eliminar las fracciones más finas del suelo la mezcla resultante se pasó por tamices con diferente luz de malla (250 μm y 38 μm), el material retenido en ambos tamices se deposita nuevamente en el mismo vaso precipitado con una cantidad de 30 mL de agua destilada, se calentó esta muestra en baño María (90°C) por 1 minuto y posteriormente enraza a 100 ml. (agregando 70 ml con agar-agar al 0.64%), esta solución se dejó por aproximadamente 5 minutos más en Baño María (90°C). La concentración final de esta solución fue de 0.45% de agar-agar, en el Baño María se

agitó la mezcla para homogeneizar la suspensión y tomamos 10 ml. con una jeringa y se depositó este volumen distribuyendo homogéneamente, en la placa Petri, se dejó enfriar hasta la formación de un gel semisólido y observo en el Estereomicroscopio a 5x de aumentos, colocando en la base de la placa una rejilla cuadriculada exactamente 0.5 cm². Ver anexo 8.

Diagrama de flujo de tinción de micelio extraradical



3.7.4 Inducción de resistencia al estrés hídrico

Se sometió a estrés hídrico a plantas de café, que fueron inoculados con hma nativos (anexo 9 y 10), los cuales cumplieron la función de colonización de las plantas de cafeto. Para someter a estrés hídrico a las plantas se homogenizo el peso de todas, e inicialmente se procedió a dar un riego medido a cada planta para reducir errores en cuanto a disparidad de las mismas, este tiempo fue de 1 mes considerándole como un tiempo adecuado. Así mismo después de homogenizar las plantas, se procedió a someterlas a estrés hídrico por un periodo de 18 días. Para esta prueba, se tuvo 10 tratamientos inoculados y 1 tratamiento testigo (Anexo 9). Durante la ausencia de riego, se evaluaron los grados de marchites de las plantas cada 3 días gradualmente para así ver si al finalizar las plantas pueden recuperarse y sobrevivir en una sequía.

3.7.5 Análisis nutricional de fósforo y nitrógeno

El análisis nutricional, se realizó en el laboratorio de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Ver anexo 19.

CAPITULO IV

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

4.1.1 Porcentaje de colonización

4.1.1.1 Frecuencia micorrízica

Como se puede observar en la tabla 4, el análisis de varianza determinó significancia estadística entre los tratamientos, aceptándose por lo tanto que la frecuencia micorrízica en las plantas clonales de la variedad caturra dependen de la procedencia de los HMA nativos.

Tabla 4: Análisis de varianza de la frecuencia micorrízica (%) de los HMA-N presentes en plántones clonales de cafeto. Datos convertidos $\arcsen \sqrt{\%}$.

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	10136,084	10	1013,608	1034,103	0,01 *
Error	53,910	55	0,980		
Total	10189,994	65			

a. $R^2(\%) = 99,4$ b. $CV(\%) = 2,66$

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 99,4% y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 2,66%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y la frecuencia micorrízica en las plantas clonales;

estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero.

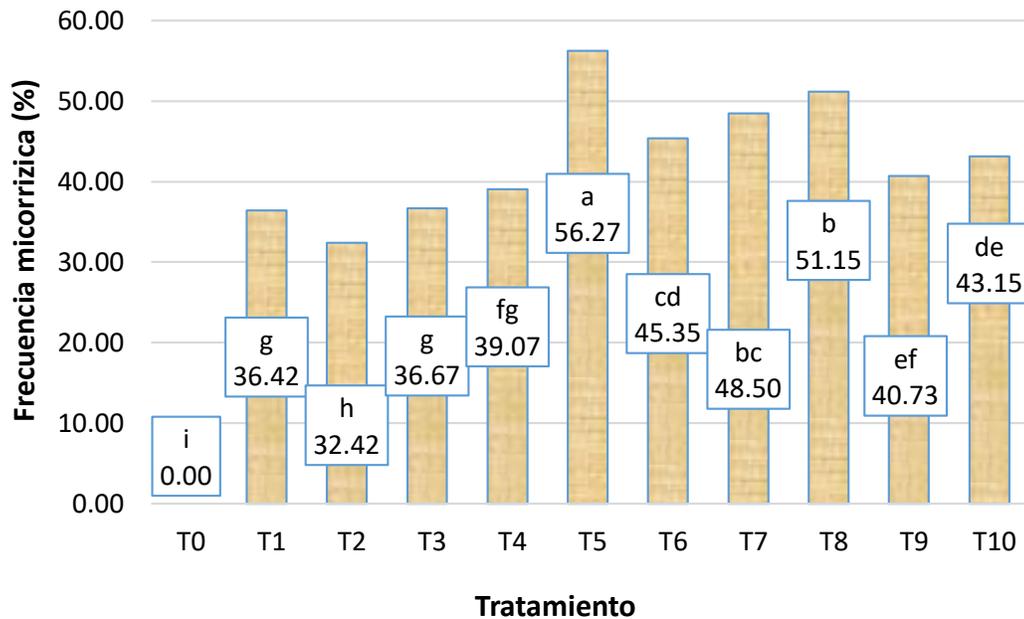


Figura 1: Prueba de Tukey P-Valor ($P < 0,05$) para la frecuencia micorrizica (%) de los HMA-N presentes en plántones clonales de café. Medias provenientes de datos originales. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

La figura 1 muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey con un nivel de confianza al 95 % para la variable de frecuencia micorrizica de planta. Se puede visualizar que los tratamientos T5 (56,27%), T8 (51,15%) obtuvieron los mayores promedios de incremento en altura de planta clonal, con diferencias significativas, estando en el grupo (a y b), así mismo le sigue tratamiento T7 (48,50%) que está en el grupo (c). Así mismo el tratamiento testigo, al no haber sido inoculado con HMA-N, presenta la menor frecuencia micorrizica (0,00%).

4.1.1.2 Intensidad micorrízica

Como se puede observar en la tabla 5, el análisis de varianza determinó significancia estadística entre los tratamientos, aceptándose por lo tanto la intensidad micorrízica en las plantas clonales de la variedad caturra dependen de la procedencia de los HMA nativos.

Tabla 5: Análisis de varianza de la intensidad micorrízica (%) de los HMA-N presentes en plántones clonales de café. Datos convertidos $\arcsen \sqrt{\%}$.

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	3135,597	10	313,560	748,031	0,00 *
Error	23,055	55	0,419		
Total	3158,652	65			

a. $R^2(\%) = 99,1$ b. $CV(\%) = 3,28$

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 99,1 % y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 3,28%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y la intensidad micorrízica de las plantas clonales; estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero.

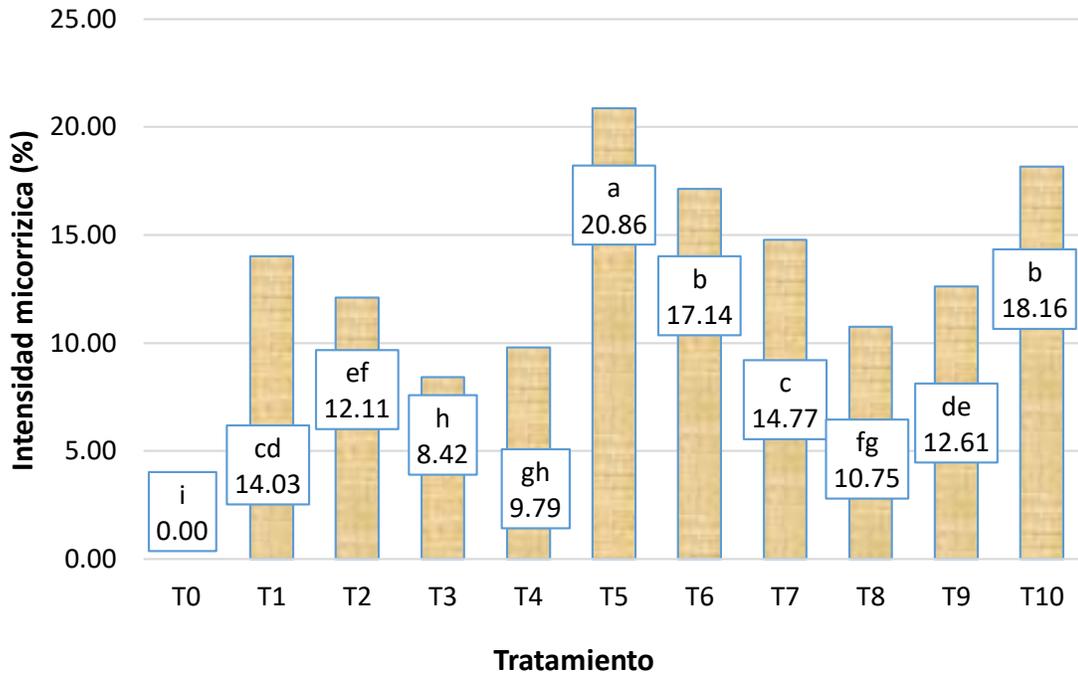


Figura 2: Prueba de Tukey P-valor ($P < 0,05$) para la intensidad micorrizica (%) de los HMA-N presentes en plántulas clonales de café. Medias provenientes de datos originales. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

La figura 2 muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey con un nivel de confianza al 95 % para la variable de intensidad micorrizica de planta. Se puede visualizar que los tratamientos T5 (20,86%), T10 (18,16%) obtuvieron los mayores promedios de intensidad micorrizica en las plantas clonales, con diferencias significativas, estando en el grupo (a y b), así mismo le sigue tratamiento T7 (14,77%) que está en el grupo (c). Así mismo el tratamiento testigo, al no haber sido inoculado con HMA-N, presenta la menor intensidad micorrizica (0,61%), estando en el grupo (i).

4.1.2 Longitud de micelio extraradicular (cm)

En la tabla 6, el análisis de varianza determinó significancia estadística entre los tratamientos, aceptándose por lo tanto la longitud de micelio extraradical en las plantas clonales de la variedad caturra dependen de la procedencia de los HMA nativos.

Tabla 6: Análisis de varianza de la longitud de micelio extraradicular (cm) de los HMA-N presentes en plantones clonales de cafeto.

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	8161,852	10	816,185	409,421	0,01 *
Error	109,643	55	1,994		
Total	8271,496	65			

a. $R^2(\%) = 98,4$ b. $CV(\%) = 5,17$

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 98,4 % y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 5,17%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados en micelio extraradical en las plantas clonales; estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero.

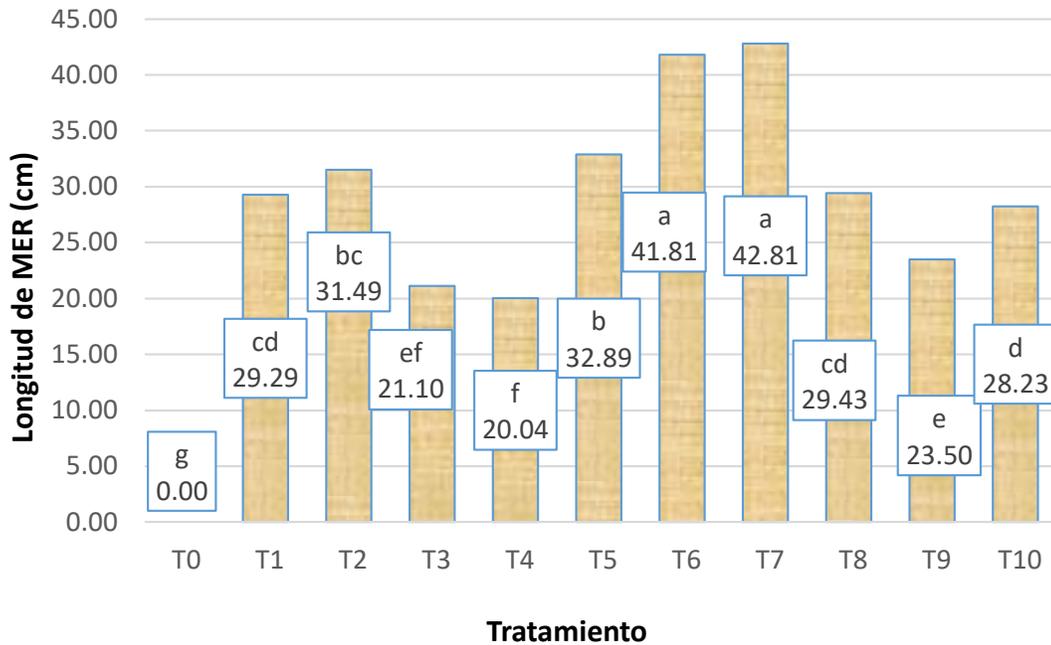


Figura 3: Prueba de Tukey P-Valor ($P < 0,05$) para la longitud de micelio extraradical de la planta clonal de cafeto. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

La figura 3 muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey con un nivel de confianza al 95 % para la variable micelio extraradical de planta. Se puede visualizar que los tratamientos T7 (42,81 cm), T6 (41,82 cm) obtuvieron los mayores promedios de micelio extraradical en la planta clonal, con diferencias significativas en cuanto a los otros tratamientos, estando en el grupo (a), Así mismo el tratamiento testigo, al no haber sido inoculado con HMA-N, presento el menor de micelio extraradical T0 (0,61 cm), estando en el grupo (g).

4.1.3 Incremento en altura de la planta clonal (cm)

En la tabla 7, el análisis de varianza determinó significancia estadística entre los tratamientos, aceptándose por lo tanto que el incremento en la altura en las plantas clonales de la variedad caturra dependen de la procedencia de los HMA nativos.

Tabla 7: Análisis de varianza de incremento en altura de plantas clonales de café.

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	97,969	10	9,797	199,938	0,01 *
Error	2,695	55	0,049		
Total	100,664	65			

a. $R^2(\%) = 96,8$ b. $CV(\%) = 5,30$

Como se puede observar en la tabla 7, el análisis de varianza determinó significancia estadística entre los tratamientos, aceptándose por lo tanto que el incremento en la altura en las plantas clonales de la variedad caturra dependen de la procedencia de los HMA nativos.

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 96,80 % y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 5,30%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y el incremento de altura en las plantas clonales; estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

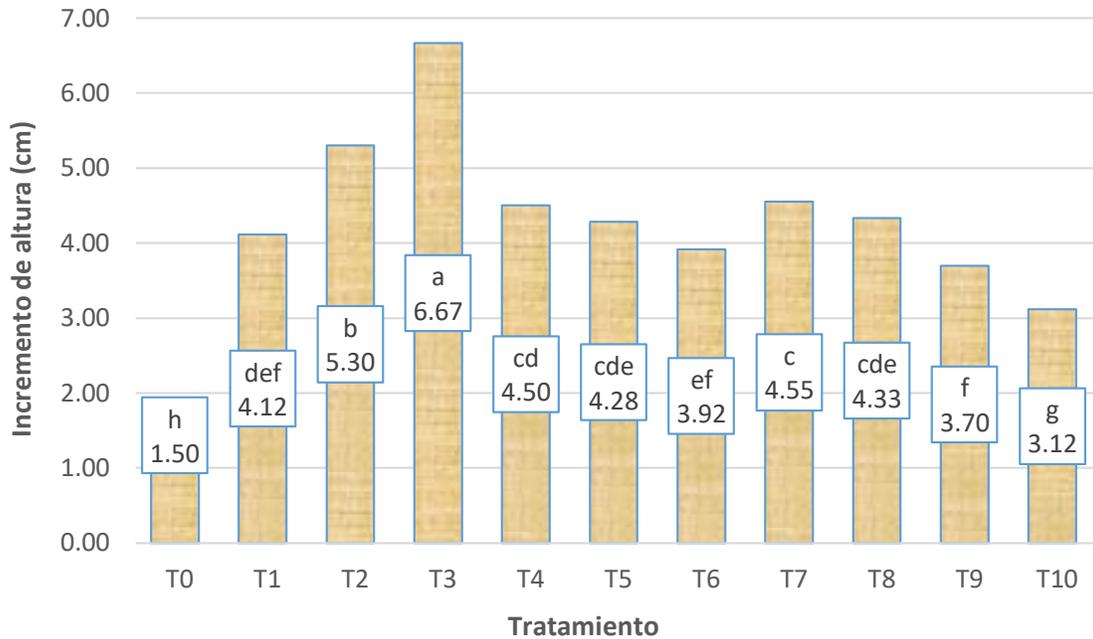


Figura 4: Prueba de Tukey P-Valor ($P < 0,05$) para el incremento en altura de planta clonal de café. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

La figura 4 muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey con un nivel de confianza al 95 % para la variable incremento en altura de planta. Se puede visualizar que los tratamientos T3 (6,67 cm), T2 (5,30 cm) obtuvieron los mayores promedios de incremento en altura de planta clonal, con diferencias significativas, estando en el grupo (a y b), así mismo le sigue tratamiento T7 (4,55 cm) que está en el grupo (c). Así mismo el tratamiento testigo, al no haber sido inoculado con HMA-N, presentó el menor de incremento en altura (1,50 cm) perteneciendo al grupo (h).

4.1.4 Incremento en diámetro de la planta clonal (mm)

En la tabla 8, el análisis de varianza determinó significancia estadística entre los tratamientos, aceptándose por lo tanto que el incremento de diámetro en las plantas clonales de la variedad caturra dependen de la procedencia de los HMA nativos.

Tabla 8: Análisis de varianza de incremento en diámetro de plantas clonales de cafeto.

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	42,064	10	4,206	31,097	0,01 *
Error	7,440	55	0,135		
Total	49,503	65			

a. $R^2(\%) = 82,2$ b. $CV(\%) = 17,07$

Como se puede observar en la tabla 8, el análisis de varianza determinó significancia estadística entre los tratamientos, aceptándose por lo tanto que el incremento en el diámetro en las plantas clonales de la variedad caturra dependen de la procedencia de los HMA nativos.

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 82,2 % y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 17,07%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y el incremento de diámetro en las plantas clonales; estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero.

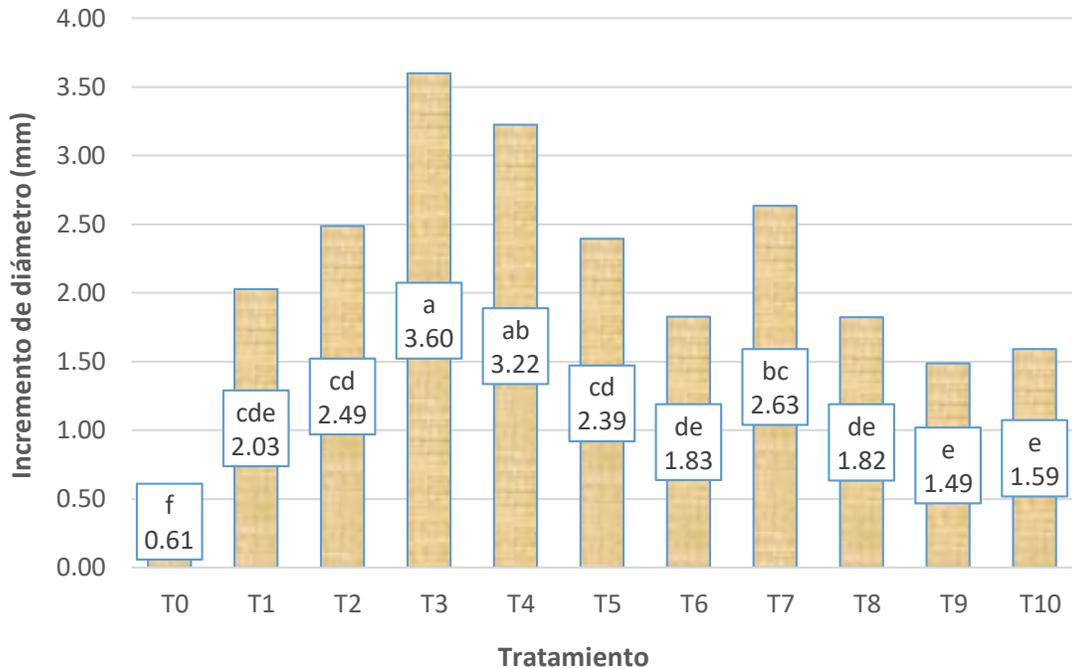


Figura 5: Prueba de Tukey P-Valor ($P < 0,05$) para el incremento en diámetro de planta clonal de café. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

La figura 5 muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey con un nivel de confianza al 95 % para la variable de diámetro en la planta. Se puede visualizar que los tratamientos T3 (3,60 cm), T4 (3,22 cm) obtuvieron los mayores promedios de incremento de diámetro de planta clonal, con diferencias significativas, estando en el grupo (a y ab), así mismo le sigue tratamiento T7 (2,63 cm) que está en el grupo (bc). Así mismo el tratamiento testigo, al no haber sido inoculado con HMA-N, presento el menor de incremento de diámetro T0 (0,61 cm), estando en el grupo (f).

4.1.5 Área foliar (cm²)

En la tabla 9, el análisis de varianza determinó significancia estadística entre los tratamientos, aceptándose por lo tanto que el área foliar en las plantas clonales de la variedad caturra dependen de la procedencia de los HMA nativos.

Tabla 9: Análisis de varianza del área foliar de las plantas clonales de café.

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	122923,940	10	12292,394	1100,385	0,01 *
Error	614,405	55	11,171		
Total	123538,345	65			

a. R²(%) = 99,4 b.CV(%)= 2,08

El coeficiente de determinación (R²) fue de 99,4 % y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 2,08%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y el área foliar en las plantas clonales; estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero.

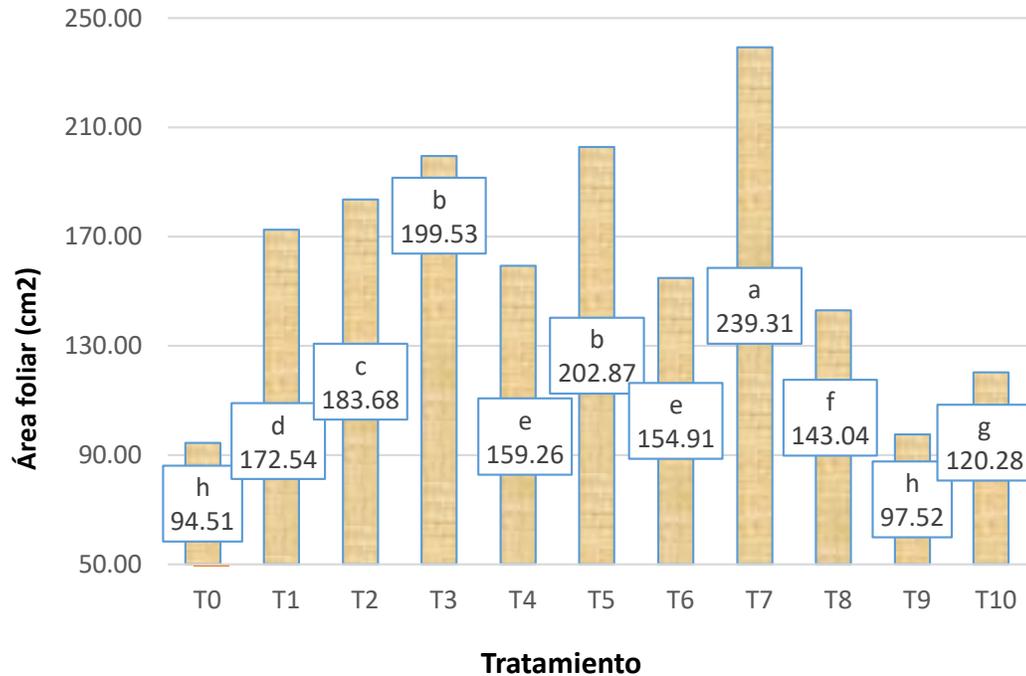


Figura 6: Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para el área foliar de la planta clonal de cafeto. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

La figura 6 muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey con un nivel de confianza al 95 % para la variable incremento en altura de planta. Se puede visualizar que los tratamientos T7 (239,31 cm²), T4 (202,87 cm²) obtuvieron los mayores promedios en área foliar, con diferencias significativas, estando en el grupo (a y b), así mismo le sigue tratamiento T7 (14,77%). que está en el grupo (c). así mismo el tratamiento testigo, al no haber sido inoculado con HMA-N, presento el menor resultado en esta variable T0 (94,51 cm²), estando en el grupo (h).

4.1.6 Peso seco aéreo (g)

En la tabla 10, el análisis de varianza determinó significancia estadística entre los tratamientos, aceptándose por lo tanto el peso seco aéreo en las plantas clonales de la variedad caturra dependen de la procedencia de los HMA nativos.

Tabla 10: Análisis de varianza el peso seco aéreo de las plantas clonales de cafeto.

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	5,446	10	0,545	817,695	0,01 *
Error	0,037	55	0,001		
Total	5,483	65			

a. $R^2(\%) = 99,2$ b. $CV(\%) = 3,01$

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 99,2 % y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 3,01%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y el peso seco aéreo en las plantas clonales; estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero.

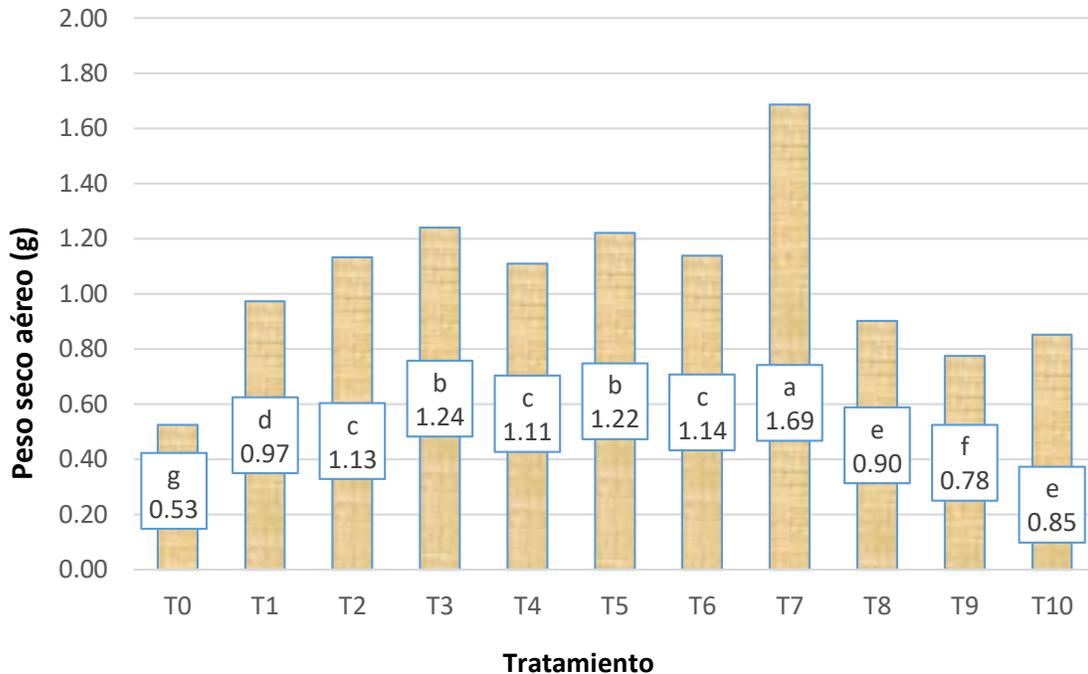


Figura 7: Prueba de Tukey P-Valor ($P < 0,05$) para el peso seco aéreo de la planta clonal de café. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

La figura 7 muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey con un nivel de confianza al 95 % para la variable de peso seco aéreo de planta. Se puede visualizar que los tratamientos T7 (1,69 g), T3 (1,24 g) obtuvieron los mayores promedios de peso seco aéreo de planta clonal, con diferencias significativas, estando en el grupo (a y b), así mismo el tratamiento testigo, al no haber sido inoculado con HMA-N, presentó el menor peso seco aéreo T0 (0,53 g), estando en el grupo (g).

4.1.7 Peso seco radicular (g)

En la tabla 11, el análisis de varianza determinó significancia estadística entre los tratamientos, aceptándose por lo tanto que el peso seco radicular en las plantas clonales de la variedad caturra dependen de la procedencia de los HMA nativos.

Tabla 11: Análisis de varianza el peso seco radicular de las plantas clonales de café.

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	2,628	10	0,263	238,207	0,01 *
Error	0,061	55	0,001		
Total	2,689	65			

a. $R^2(\%) = 97,7$ b. $CV(\%) = 6,50$

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 97,7 % y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 6,50%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y el peso seco radicular en las plantas clonales; estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero.

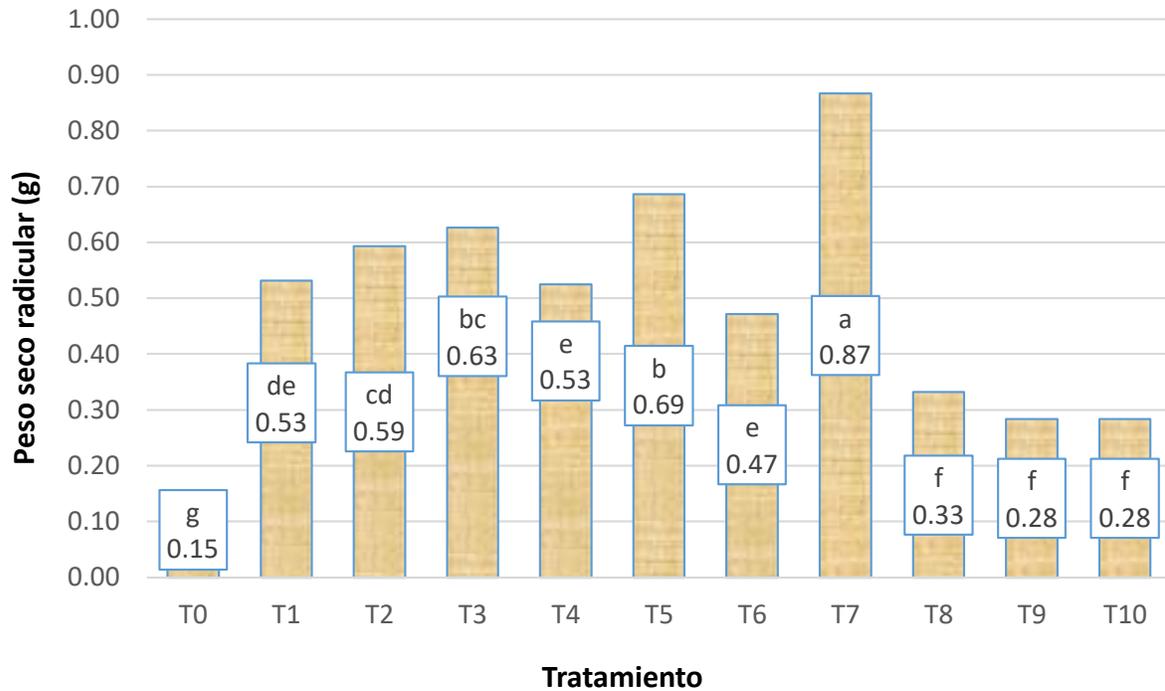


Figura 8: Prueba de Tukey P-Valor ($P < 0,05$) para el peso seco radicular de la planta clonal de cafeto. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

La figura 8 muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey con un nivel de confianza al 95 % para la variable de peso seco radicular de la planta. Se puede visualizar que los tratamientos T7 (0,87 cm), T5 (0,69 cm) obtuvieron los mayores promedios de peso seco radicular de planta clonal, con diferencias significativas, estando en el grupo (a y b), así mismo le sigue tratamiento T3 (0,63 cm) que está en el grupo (bc). Así mismo el tratamiento testigo, al no haber sido inoculado con HMA-N, presenta el menor peso seco radicular T0 (0,15 cm) estando en el grupo (g).

4.1.8 Análisis nutricional de N foliar (%) y fosforo

Como se puede observar en la tabla 12, el análisis de varianza determinó significancia estadística entre los tratamientos, aceptándose por lo tanto que el porcentaje de contenido porcentual de N foliar en las plantas clonales de la variedad caturra dependen de la procedencia de los HMA- N.

Tabla 12: Análisis de varianza del contenido de N foliar (%) en plantas clonales de cafo. Datos convertidos $\arcsen \sqrt{\%}$.

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	8,545	10	0,854	79,365	0,01 *
Error	0,237	22	0,011		
Total	8,782	32			

a. $R^2(\%) = 96,10$ b. $CV(\%) = 1,11$

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 96,10 % y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 1,11 %; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y los valores de contenido porcentual de N foliar en las plantas clonales; además estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

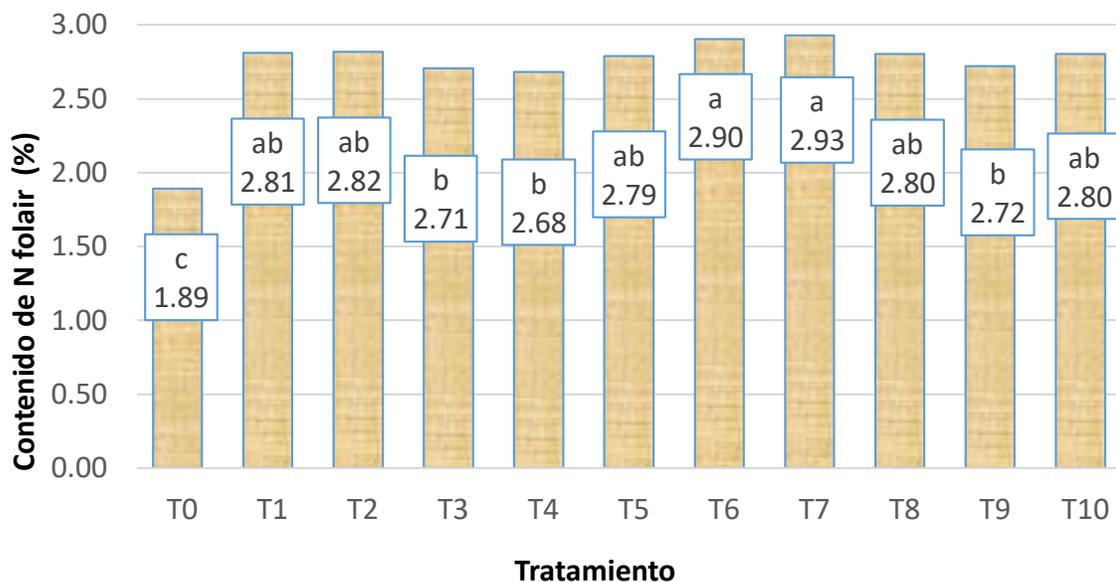


Figura 9: Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para los valores de contenido porcentual de N foliar presente en plantas clonales de cafeto. Medias provenientes de datos originales. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

La figura 9 muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey con un nivel de confianza al 95 % para la variable de nitrógeno de la planta. Se puede visualizar que los tratamientos T7 (2.93 %), T6 (2.90 %) obtuvieron los mayores promedios en contenido de nitrógeno foliar presente en la planta clonal, pero con diferencias no significativas a los otros tratamientos, estando en el grupo (a). Así mismo el tratamiento testigo, al no haber sido inoculado con HMA-N, presentó el menor contenido de nitrógeno presente en la planta T0 (1.89 %) estando en el grupo (c).

Como se puede observar en la tabla 13, el análisis de varianza determinó significancia estadística entre los tratamientos, aceptándose por lo tanto que el porcentaje de contenido porcentual de P foliar en las plantas clonales de la variedad caturra dependen de la procedencia de los HMA- N.

Tabla 13: Análisis de varianza del contenido de P foliar (%) en plantas clonales de café. Datos convertidos arcsen $\sqrt{\%}$.

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	2,406	10	0,241	8,907	0,01 *
Error	0,594	22	0,027		
Total	3,000	32			

a. $R^2(\%) = 71,20$ b. $CV(\%) = 7,47$

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 71,20 % y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 7,47%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y los valores de contenido porcentual de P foliar en las plantas clonales; además estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

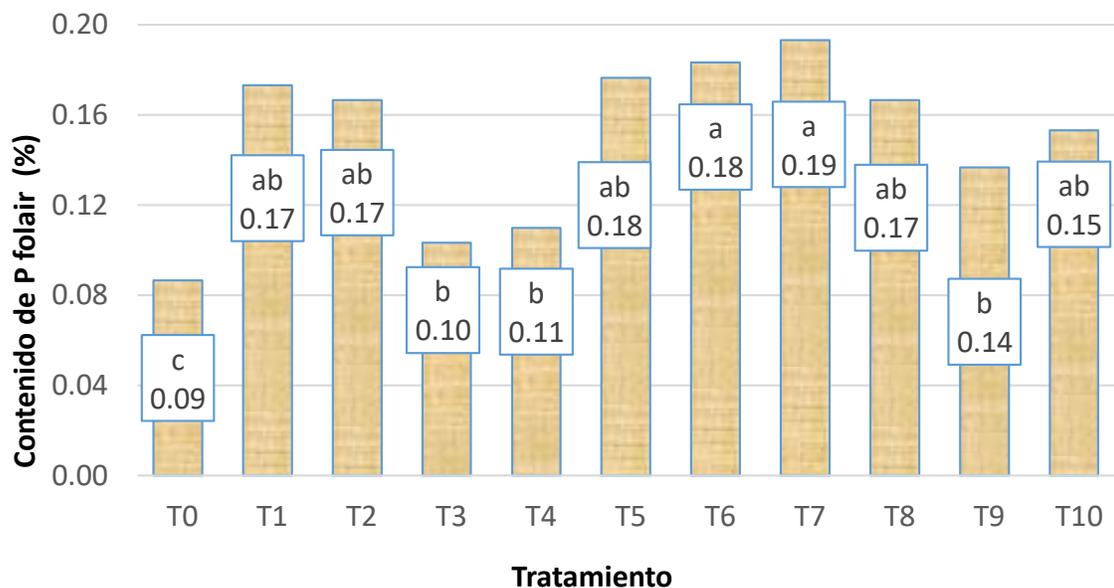


Figura 10: Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para los valores de contenido porcentual de P foliar presente en plantas clonales de cafeto. Medias provenientes de datos originales. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

La figura 10 muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey con un nivel de confianza al 95 % para la variable de nitrógeno de la planta. Se puede visualizar que los tratamientos T7 (0.19 %), T6 (0.18 %) obtuvieron los mayores promedios en contenido de fosforo foliar en la planta clonal, pero con diferencias no significativas a los otros tratamientos, estando en el grupo (a). Así mismo el tratamiento testigo, al no haber sido inoculado con HMA-N, presento el menor contenido de nitrógeno presente en la planta T0 (0.09 %) estando en el grupo (c).

4.1.9 Estrés hídrico

En los resultados obtenidos, se puede apreciar los grados de marchites de las plantas de café sometidas a estrés hídrico, en estos podemos ver hasta qué grado de marchites podría resistir una planta con ausencia de riego. El estrés hídrico en las plantas provoca muchas veces su muerte, es por ello que al usar los hma nativos en las plantas e inducirlas a un periodo de estrés, mostro resultados significativos a comparación con el tratamiento testigo. Ello también demostró que las plantas sometidas a un periodo de 18 días, las plantas mueren en su totalidad.

En el anexo 10 muestran los grados de marchites de las plantas de café a los 03, 06, 09, 12, 15 y 18 días, en esto indica que hubo diferencias significativas a partir del día 09, 12, 15 y 18. Mientras que las plantas no inoculadas con micorrizas, tuvieron un acelerado grado de marchites.

Tabla 14: Análisis de varianza de estrés hídrico producido en plantas clonales de cafeto.

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	396,486	10	39,649	9,289	0,01 *
Error	93,905	22	4,268		
Total	490,391	32			

a. $R^2(\%) = 72,10$ b. $CV(\%) = 5,72$

Como se puede observar en tabla 14, el análisis de varianza determinó significancia estadística entre los tratamientos, aceptándose por lo tanto que el porcentaje de estrés hídrico producido en las plantas clonales de la variedad caturra dependen de la procedencia de los HMA- N.

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 72,10 % y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 5,72%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y el porcentaje de estrés hídrico producido en las plantas clonales; además estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

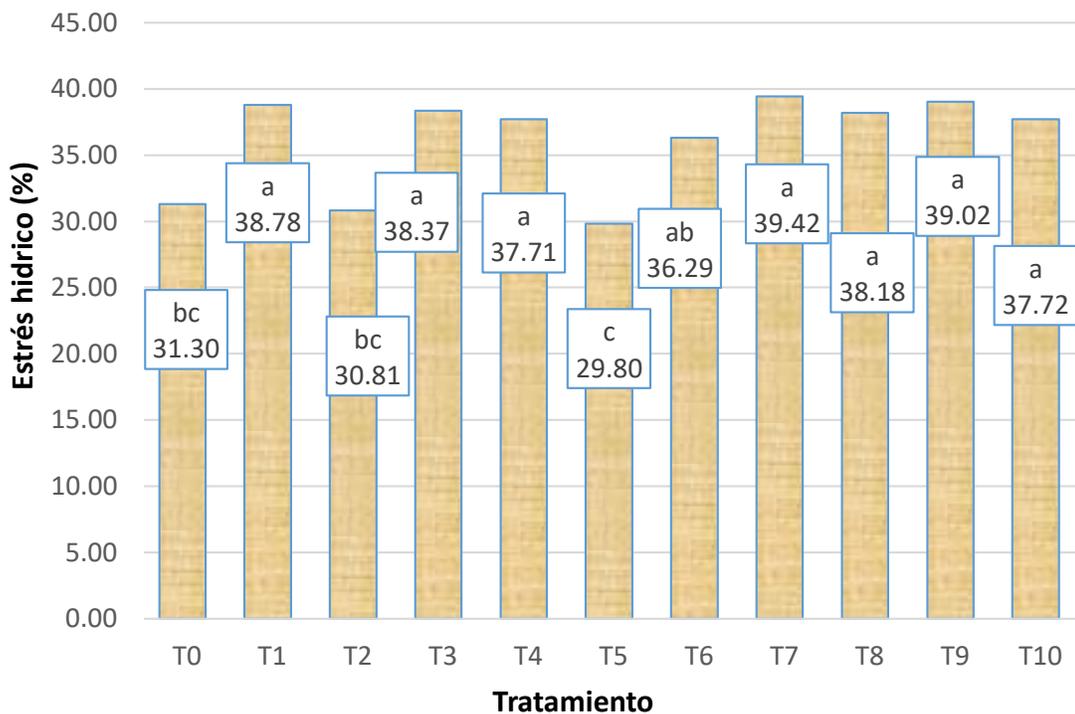


Figura 11: Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para el porcentaje de estrés hídrico producido en plantas clonales de cafeto. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

4.1.10 Análisis de correlación de variables

La tabla 15 muestra que las correlaciones entre la longitud de micelio extraradicular con la variables morfológica de incremento de diámetro planta clonal, fueron positivas y del tipo correlación baja por pertenecer al rango de +0,20 a +0,40; para la variable incremento de altura de planta fue positiva y del tipo correlación moderada por pertenecer al rango de +0,40 a +0,60; finalmente para las variables área foliar, peso seco aéreo y peso seco radicular, fue positivo y del tipo correlación alta por pertenecer al rango de +0,6 a +0,8; corroborado a lo expuesto por EVANS y MILLER (1988).

Tabla 15: Análisis de correlación lineal de Pearson (p-valor 0.05) entre la longitud de micelio extraradicular y las variables morfológicas evaluadas de las plantas clonales de cafeto.

Variab les morfológicas	Longitud de micelio extraradicular
Incremento de altura planta (cm)	0,42
Incremento de diámetro planta (mm)	0,30
Área foliar (cm ²)	0,61
Peso seco aéreo (gr)	0,72
Peso seco radicular (gr)	0,62

Fuente: Elaboración propia, 2017.

La tabla 15, muestra correlaciones positivas lo que explica una relación directa proporcional de la longitud de micelio extraradicular ha influenciado en el crecimiento y desarrollo de las plantas clonales de cafeto, y que los consorcios de HMA-N han sido

efectivos en todos los tratamientos inoculados en comparación al testigo sin inóculo de HMA-N.

Estas correlaciones se explicarían por los cambios de orden fisiológico ocurridos en las plantas clonales inoculadas a causa de la simbiosis con los HMA-N que, en consecuencia, luego de la colonización y del desarrollo del micelio extraradicular, fueron las que lograron incorporar los nutrientes necesarios para incrementar sus tasas de crecimiento y desarrollo significativamente mayores en comparación con las plantas no inoculadas (tratamiento testigo). Dichos incrementos se vieron reflejados en cada una de las variables morfológicas evaluadas y por ende en el análisis estadístico de esta investigación, los cuales fueron discutidos en cada una de las variables estudiadas.

4.2 Discusión

Carreón (2012), menciona que los HMA nativos apoyan el crecimiento de la planta al provocar la morfología del sistema radical durante el proceso de infección, lo cual provoca un gran impacto en los mecanismos, como una mejor absorción de agua, incremento en el suplemento de nutrientes inmóviles en el suelo, principalmente el fósforo, aumentando la tolerancia al estrés abiótico.

Para el porcentaje de colonización evaluados por intensidad micorrízica y frecuencia micorrízica, las evaluaciones realizadas nos muestran que en cuanto a la IM: la fuente de inóculo de la provincia de Lamas con 20.86%, Huallaga 18.16% y Dorado 14.77%; para FM: los tratamientos con las fuentes de inóculos de las provincias que mejor FM obtuvieron fueron la provincia de Lamas 56.27% (T5), el Dorado 51.15% (T10) y Huallaga 48.50% (T7), resultados similares a Coral (2015), pues en su investigación realizada obtuvo resultados favorables en cuanto al porcentaje de colonización, teniendo un 16,5% con la fuente de inóculo de la provincia de Lamas. Por lo contrario, los mismos resultados no sucedió en cuanto a las provincias de Dorado (4.6%), puesto que, en su investigación, esta provincia fue una de las más bajas en cuanto a colonización micorrízica.

La intensidad y frecuencia micorrízica se han visto reflejados más en algunos tratamientos (T5 (Lamas), T10 (Huallaga) y T7(Dorado)), puede estar influenciada en gran medida por el Ph (Ver anexos 12, 13, 14, 15, 16, 17 y 18), ya que el sustrato con el que se trabajó en vivero contenía un pH de 5.73, y según Barea y Jeffries (1994, citado en León, 2006) los HMA se pueden adaptar a varios tipos de pH pudiéndoles

encontrar en suelos con pH que van desde 2.7 – 9.2, teniendo respuestas positivas a pH ácidos como alcalinos dependiendo de las especies o géneros; esto nos demuestra que los tratamientos que presentaban una baja colonización, contenían una deficiente composición de especies o géneros que no se podían adaptar con facilidad al pH del suelo de vivero, a diferencia de los tratamientos T5 (Lamas), T10 (Huallaga) y T7 (Dorado), quienes respondieron positivamente a dicha simbiosis planta-Hongo, obteniendo los más altos porcentajes en FM y IM. Los resultados reflejados en esta variable tienen cierta similitud con lo encontrado por Carbajal, (2009) quien también obtuvo una buena respuesta en porcentaje de colonización (53.3%) por parte de los HMA en el cultivo de *Hypericum* bajo condiciones de vivero, siendo en un principio inoculados con hma

El análisis de comparación de medias de Tukey (figura 6) muestra que los tratamientos que más sobresalieron estadísticamente a diferencia de los testigos fueron el T9 con 168.5 cm., seguidamente de los tratamientos T7 (42,81 cm), T6 (41,82 cm) respectivamente. Contrario a esto, fue el T4 el que presentó el menor valor con 20.04 cm; mientras que los testigos T0 tuvo valores de 0 cm de longitud de micelio, debido a no fue inoculado con HMA nativos. Los resultados obtenidos en los mejores tratamientos, nos demuestran si existe una estrecha relación con el porcentaje de colonización, a relación con el desarrollo de altura y diámetro, ya que los tratamientos que tuvieron los mejores valores en altura y diámetro no fueron los mismos en longitud de micelio extraradical, pudiendo deberse también a la composición de especies o géneros presentes en cada tratamiento; siendo estos resultados totalmente diferentes a lo encontrado en otros cultivos a nivel de campo, tal como lo menciona Robles

(2009), siendo al mismo tiempo diferentes a los resultados obtenidos por Chinchay (2016), en el cual sus mejores tratamientos fueron el T9 (Dorado) y T5 (Lamas), a diferencia de los resultados en esta investigación.

En el presente estudio se encontró que todos los consocios de HMA estudiados mostraron efectos benéficos para la altura de plantas clonales de café a nivel de invernadero, con incremento de hasta 4.5 veces más que el propio testigo. Dentro de las fuentes de inóculos beneficiosos se obtuvo los tratamientos T3 (Moyobamba), T2 (Rioja) y T7 (Dorado) los más eficientes, manifestando incrementos en altura de café de 6.67 cm; 5,30 cm y 4,55 cm respectivamente; resultados similares encontró (Del Águila-Parillo, 2016), con incrementos de altura de 35% a 40% respecto al testigo; no obstante (Fernández y otros, 2005) encontraron incrementos de altura más sobresalientes, en promedio 73.3% respecto al testigo. Los beneficios de los HMA en esta variable se refuerzan a lo mencionado por (Siqueira y otros, 1993) donde mencionan que en varias investigaciones determinaron que las plantas de café presentan respuestas positivas principalmente en altura, a la inoculación con Hongos Micorrízicos Arbusculares.

En cuanto a área foliar, dentro de la efectividad de los hma nativos estudiados para esta variable, se identificó a los mejores tratamientos, siendo ellos el T7 con 239.31 cm², T5 con 202.87 cm² y T3 con 199.53 cm², resultados que se asemejan a los reportados por (Chinchay-Rubio, 2016), que encontró datos en área foliar de 384.26 cm² y 445.75 cm² en trabajos realizados en micorrizas en café en la región San Martín. Los datos encontrados en área foliar, son coherentes con lo encontrado

en la variable altura de plantas, esto se refuerza a lo explicado por (Augé, 2001), en la que manifiesta que la micorrización de hongo-planta, genera incrementos de las tasas fotosintéticas, logrando plantas con buenas características en estas dos variables, principalmente en la parte foliar.

La diferencia significativa encontradas entre las provincias, podría ser por la relación de pH y la fertilidad del suelo que presentan las zonas muestreadas, esto es debido que el grado de colonización micorrízica, se ve influenciada en gran medida por el pH y fertilidad de suelo (Barea, J. M. Y. Azcón-Aguilar, 1982, Dávila, *et al.*, 2009).

En la variable materia seca aérea (peso seco aéreo), se encontró que los consorcios de HMA estudiados presentaron buena acumulación de esta en las plantas clonales de café, determinando que los tratamientos T7 (1.69), T3 (1.24) y T5 (1.22) fueron los más sobresalientes, comparado con el tratamiento testigo T0 que presentó 0.53 g de materia seca, obteniendo el menor valor al no presentar hongos micorrízicos; resultados similares encontró (Del Águila-Parillo, 2016) para esta variable, obteniendo biomasa seca aérea, que oscilaron de 2,31 g a 2.70 g, lo mismo paso en la investigación que realizo Los resultados reflejados en esta variable tienen cierta similitud con lo encontrado por Leguizamón (1995) quien también obtuvo los mayores pesos secos de la biomasa aérea en plantones de café que se inocularon con HMA al momento.

Los beneficios encontrados, biomasa seca aérea y radicular, el incremento de altura, se correlaciona a los beneficios encontrados en área foliar de las plantas clonales de café, observando en los resultados, que todas las plantas con fuente de

inoculo mostraron mejores resultados respecto al testigo que obtuvo el menor valor en todas las variables estudiadas.

Los beneficios encontrados en la biomasa radicular (peso seco radicular) estuvieron estrechamente relacionados con lo obtenido en biomasa aérea y el Micelio extraradical, esto es explicado que, al incrementarse la materia seca aérea y el micelio, aumenta la materia seca del sistema radicular (Chinchay-Rubio, 2016). Según Hernández y otros (2008), la efectividad de los HMA en las plantas son influenciados principalmente al micelio extra-radical de los hongos, el mismo que funciona como un sistema radical complementario, extendiéndose más allá de la zona de agotamiento de nutrientes cercana a la raíz (Bucher, 2006), cumpliendo funciones de búsqueda, absorción y transporte de nutrientes para la planta; especialmente aquellos de lenta difusión en la solución del suelo como son el fósforo, zinc, cobre y amonio. Esto se refuerza a lo mencionado por (Peña-Venegas y Cardona, 2010), que un pelo radical puede absorber los nutrientes a 2 mm a la redonda y con los HMA las plantas pueden absorber los nutrientes hasta 40 veces más, a través de la amplia exploración del micelio extraradical. Encontrándose en el presente trabajo de investigación, que las 10 fuentes de inóculos de HMA presentaron buena longitud de micelio externo, identificando dentro de ellos, a los tratamientos T7 (42.81 cm), T6 (41.81 cm), T5 (32.89 cm) como los más sobresalientes, no obstante, estos valores encontrados, fueron inferiores a los encontrados por (Del Águila-Parillo, 2016) y (Chinchay-Rubio, 2016) con extensiones de micelio externo de 148.72 cm y 168.5 cm respectivamente. Las bajas extensiones de micelio encontrados en la investigación, pudo haber estado

influenciado por la procedencia de los consorcios, así como también por las condiciones particulares del suelo (Hart y Reader, 2002).

El uso de “hongos” micorrízicos arbusculares, junto con la fertilización NPK, permite lograr efectos benéficos significativos sobre el contenido de nutrientes de las plantas, su crecimiento vegetativo y su producción (Boucher, 1999; Díaz *et al.*, 2007). El uso adecuado de este binomio, permite establecer sistemas autosostenibles, con reducidas aplicaciones de productos químicos y resultados económicamente rentables (Baar, 2008). Estas observaciones sustentan los resultados obtenidos en el trabajo de Arnaldo (2014), Por otra parte, se ha demostrado que las plantas pobremente fertilizadas y en simbiosis con *Glomus sp.*, presentan mejor desarrollo, debido a que el crecimiento del “hongo” se favorece en presencia de niveles bajos de nutrientes, especialmente fósforo (Purakayastha, 2001; Govindarajulu *et al.*, 2005). Este comportamiento, también fue observado en el presente estudio, en el que la concentración de nutrientes más baja (“NPK 60-90-120”) indujo resultados más elevados e incrementos significativos, en presencia del “hongo” micorrízico arbuscular. Es por ello que en esta investigación se puede observar que los hma nativos, ayudan en la concentración de N y P en la planta, mejorando así el desarrollo de la misma.

Para Trigozo (2012), las plantas de cacao colonizadas con micorrizas presentaron menor GM (grado de marchites) a los 6 DDSE, a comparación del control, Bae *et al.* (2009), menciona que *Trichoderma hamatum* genera mayor peso seco en la planta durante un estrés hídrico, y Harman *et al.* (2004), el efecto de los métodos de inoculación de *Trichoderma* endófito (TE) en el grado de marchitez de plantas de cacao

a los 0, 6 y 9 DDSE, indica que existen diferencias significativas entre métodos para los días 6 y 9 DDSE; mientras que, para el día cero no hubo diferencias significativas. Las plantas inoculadas con el método de inoculación en semilla resultaron con menor grado de marchitez; mientras que, con el método de infestación en suelo resultaron con mayor grado de marchitez. Por ello en esta investigación se realizó el inducimiento a estrés hídrico a la planta para ver el grado de marchites al que llegan con el paso de los días, siendo el T7 (Dorado) el tratamiento que menor grado de marchites obtuvo por lo cual, podemos decir que el MER ayuda en cuanto a la búsqueda de nutrientes y presencia de agua en el suelo.

CAPITULO V

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

El tratamiento que mostró mejor respuesta a las variables fúngicas, fue el tratamiento T7 (Dorado), tanto en intensidad micorrízica, frecuencia micorrízica e MER. La inoculación de los HMA-N fue positivo en los resultados obtenidos, siendo así esta una alternativa limpia a usar para el desarrollo de las plantas de café.

Los HMA-N presentaron efectos positivos en los parámetros morfológicos de las plantas clonales de café excepto el tratamiento testigo T0 que no fue inoculado; logrando identificar a la mejor fuente de inóculos, el tratamiento T7 (Dorado), el Tratamiento T5 (Huallaga) y el tratamiento T3, colectados de la zona rizosférica de plantas de café variedad caturra, procedentes de las provincias de San Martín.

Las plantas que se indujeron a estrés hídrico a los 9 y 12 días presentaron resistencia a la falta de riego, a diferencia de tratamiento testigo que, al ser sometido a un proceso de estrés hídrico, la tolerancia es menor a los tratamientos que fueron inoculados con HMA-N de las diversas provincias.

La correlación de la variable MER con las variables morfológicas relacionadas, nos indica que existe una relación positiva, indicando así la relación directa. Estas correlaciones explican el crecimiento y desarrollo de plantas de café y la simbiosis con los HMA-N; Dichos incrementos se vieron reflejados en cada una de las variables morfológicas evaluadas y por ende en el análisis estadístico de esta investigación, los cuales fueron discutidos en cada una de las variables estudiadas.

5.2 RECOMENDACIONES

Realizar ensayos con consorcio de HMA-N específicos en las plantas clonales de café variedad caturra en condiciones de vivero, en el cual se pueda averiguar que consorcio trabaja mejor con la planta y le ayuda en su desarrollo.

Realizar ensayos experimentales con los resultados obtenidos con las fuentes de inóculos en fincas cafetaleras, para la cual se muestre la realidad en campo y como contrarrestar la competencia de los HMA-N.

Tener un equipo de medición para estrés hídrico, para obtener resultados más exactos, esto mismo para no tener margen de error y evitar cualquier mal cálculo en los resultados que podamos obtener y así mismo contar con tecnología ya establecida y ahorrar tiempo en campo.

Realizar un estudio de identificación de géneros y especies de hongos micorrízicos arbusculares nativos, para así trabajar con los consorcios ya específicos. Así se puede cultivar que genero ayuda a la planta y poder multiplicarla.

REFERENCIAS

- Alonso-contreras, R., Aguilera-gómez, L. I., Rubí-arriaga, M., González-huerta, A., & Olalde-potugal, V. (2013). Influencia de hongos micorrízicos arbusculares en el crecimiento y desarrollo de *Capsicum annuum* L . * Arbuscular mycorrhizal fungi influence on growth and development of *Capsicum annuum* L . Resúmen Introducción, 4, 77–88.
- Campos, M. A. da S., da Silva, F. S. B., Yano-Melo, A. M., de Melo, N. F., Pedrosa, E. M. R., & Maia, L. C. (2013). Responses of guava plants to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi in soil infested with *Meloidogyne enterolobii*. *Plant Pathology Journal*, 29(3), 242–248. <http://doi.org/10.5423/PPJ.OA.10.2012.0156>
- Charles, N. J., & Alonso, J. M. (2015). Uso y manejo de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y humus de lombriz en tomate (*solanum lycopersicum* L .), bajo sistema protegido Management and use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and earth worm humus in tomato (*Solanum lycopersicum* L . *Cultivos Tropicales*, 36(1), 55–64.
- Chinchay, D. (2016). Efecto de hongos micorrízicos arbusculares nativos sobre el nematodo agallador de raíces (*Meloidogyne* spp.) en plantones de café (*coffea arabica*) variedad caturra en la región san martín.
- Citlalli Harris-Valle , Martín Esqueda, E. M. V.-S. y A. E. C. (2009). Water stress tolerance in plant-arbuscular mycorrhizal fungi interaction: energy metabolism and physiology. *Carbon*, 32(4), 265–271.
- Claves, P. (2009). Como una alternativa para la agricultura arbuscular mycorrhizal fungi as alternative to sustentable agriculture.
- Cobián, S. A. V. (2012). Mercados Café peruano : Aroma y Sabor para Nosotros y el Mundo.
- Conforto, C., Rovea, A., Boxler, M., March, G., Luna, C., Meriles, J., & Gil, S. V. (2010). La glomalina y su relación con la productividad del cultivo de maíz, (1), 23–25.

- Coral, L. (2015). "Estudio de la diversidad de hongos micorrízicos arbusculares nativos y su potencial micorrízico en el cultivo de café (*coffea arabica* L.) en diferentes condiciones agroecológicas de la región san martín." *Igarss 2015*, (1), 1–5. <http://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Cornejo, P. (2016). *Influencia de la cobertura vegetal sobre la diversidad y estructura de las comunidades de hongos micorrízicos y sus efectos en la estabilización de suelos degradados*.
- Del Mar Alguacil, M., Torrecillas, E., Lozano, Z., & Roldán, A. (2011). Evidence of differences between the communities of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing galls and roots of *Prunus persica* infected by the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(24), 8656–8661. <http://doi.org/10.1128/AEM.05577-11>
- Díaz, P. (2014). Efectos de la Altitud sobre la calidad del café torrefactado (*Coffea arábica* L. Var. Colombia) producido en los municipios de Buesaco y La Unión-Nariño, pertenecientes al Ecotopo E-220 A, 1–164.
- Esperón-rodríguez, M., Camargo-ricalde, S. L., & Esperón-rodríguez, M. (2015). - Efe.indd, (APRIL 2014).
- Fernández, K. S. (2012). Los sistemas de cultivo in vitro aplicados al estudio de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) Review In Vitro culture systems applied to AMF studies. *Cultivos Tropicales*, 33(2), 33–43.
- Francisco, A., Calad, U., Gonzalez, S. R., Villegas, L. E., Ramirez, F. V., Jairo, J., ... Auxiliar, G. (n.d.). Director Corpoica Regional 10, 4354453.
- Lebrón, L., Lodge, D. J., & Bayman, P. (2012). Differences in Arbuscular Mycorrhizal Fungi among Three Coffee Cultivars in Puerto Rico. *ISRN Agronomy*, 2012, 1–7. <http://doi.org/10.5402/2012/148042>
- León, D. (2006). Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca, 21–30.

- López-gómez, B. F., Alarcón, A., & Lara-herrera, R. Q. A. (2015). Selección de cepas de hongos micorrízicos arbusculares en dos sistemas de producción de Chile. *Rev. Mex. Cien. Agric.*, 6, 1203–1214.
- Marín Ciriaco, G. (2012). *Producción de cafés especiales*. Retrieved from http://www.desco.org.pe/sites/default/files/publicaciones/files/manual_cafe_selva_VF.pdf
- Marín, G. (2012). *Producción de cafés especiales-Manual técnico*.
- Melrose, J., Perroy, R., & Careas, S. (2015). No Title No Title. *Statewide Agricultural Land Use Baseline 2015*, 1, 1–87. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Mujica Pérez, Y., & Fuentes Martínez, A. G. (2012). Efecto a la biofertilización con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el cultivo del tomate en condiciones de estrés abiótico. *Cultivos Tropicales*, 33(4), 40–46.
- Penz, C. (2006). Relación Entre Micorrizas En Cafeto Y La Antracnosis Por.
- Perez, C. A., Rojas, S. J., & Montes, V. . D. (2011). Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el Caribe colombiano. *Rev Colombiana Cienc. Anim*, 3(2), 366–385.
- Peterson, L. (2010). Formulación del Proyecto: “Biofertilizantes, bioprotectores y biorestauradores Micorrizicos para la producción agroecológica en las fincas de los Productores de café,” 87.
- Portilla Cruz, I., Molina Gayosso, E., Ortiz Monasterio, I., & Manske, G. G. . (1998). Colonización micorrizica arbuscular, actividad fosfatasa y longitud radical como respuesta a estrés de Fósforo en trigo y triticale cultivados en un andisol. *Revista Terra*, 16(66), 55–61.
- Ramírez, V., Jaramillo, A., & Arcila, J. (2010). Rangos adecuados de lluvia para el cultivo de café en Colombia. *Avances Técnicos Cenicafé*, (395).
- Rica, C. (2015). Cultivo de Café, 0–32.

- Rivillas-osorio, C. A. (2000). sobre las laderas de las cordilleras Oriental, describir el aislamiento y la identificación, *51*(4), 245–262.
- Ruscitti, M. F.; Arango, M. C.; Ronco, M. G.; Peluso, O.; Beltrano, J. (2007). Effect of Simulated Drought Stress and *Glomus mosseae* Spore Inoculation on Growth, *25*, 135–143.
- Saggin Júnior, O. J., & Silva, E. M. R. Da. (2005). Micorriza arbuscular - Papel, funcionamento e aplicação da simbiose. *Processos Biológicos No Sistema Solo-Planta: Ferramentas Para Uma Agricultura Sustentável*, 101–149.
- Sánchez, C., Rivera, R., González, C., Cupull, R., Herrera, R., & Varela, M. (2000). Micorrizógenos (hma) sobre la producción del macizo montañoso guamuhaya.
- Soria-Colunga, J. C., Tiscareño-iracheta, M. Á., & Loredo-osti, C. (2010). en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*). *Rev.Mex.Mic.*, *31*, 1–4.

Anexo 2: Ficha de evaluación de segmentos de raíz

COLONIZACIÓN MICORRÍZICA (%)											
TTS	Planta	Prom. (30 segmentos de raíces)									

Anexo 4: Instalaciones de viveros y laboratorios de micorrizas



Laboratorio de micorrizas



Vivero de plantas micorrizadas, camas almacigueras.

Anexo 5: Instalaciones de viveros y laboratorios de micorrizas



Anexo 6: Repique e inoculación con HMA a los plantones de café



Brotos enraizados



Brote listo para la inoculación



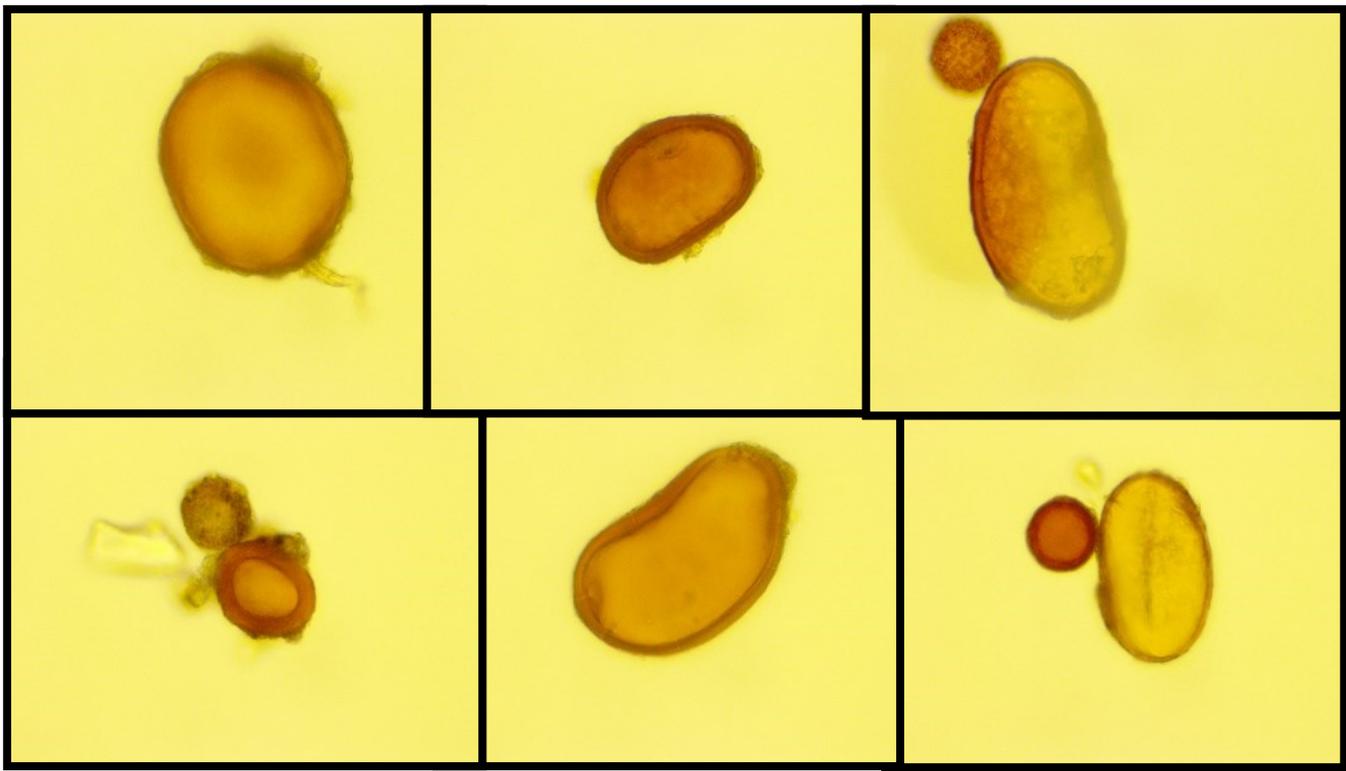
Se coloca el inoculo alrededor de la raíz



Riego de los plantones inoculados



Anexo 7: Identificación y cuantificación de esporas



Cuantificación de esporas

Anexo 8: Tinción de raíces de café



Raíces con KOH



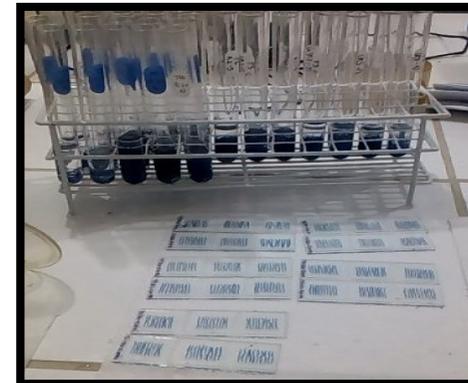
Lavado de Raíces



Eliminación de residuos de agua



Tinción con azul de trypano



Porcentaje de colonización

Anexo 9: Tinción de micelio extraradical



Pesado del gramo de



Preparación de tinta



Tinción de la muestra



Preparación de agar agar



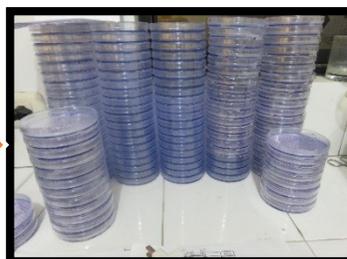
Muestras en baño maria



Agua destilada y



Muestras listas



Placas de muestras



Evaluación de muestras

Anexo 10: Inducción de resistencia al estrés hídrico



03 días de estrés hídrico



09 días de estrés hídrico



12 días de estrés hídrico



15 días de estrés hídrico



18 días de estrés hídrico

Anexo 11: Grados de marchites



Grado 0: No presenta marchites



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



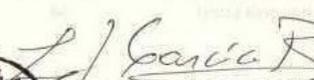
ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : IIAP

Departamento : SAN MARTIN Provincia : RIOJA
 Distrito : NARANJOS Predio :
 Referencia : H.R. 57762-026C-17 Fecha : 03/03/17

Lab.	Número de Muestra	pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase Textural	CIC	Cationes Cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat. De Bases
								Arena %	Limo %	Arcilla %			Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺ + H ⁺			
1764	R-A1-C	4.24	1.31	0.00	6.90	23.6	228	66	28	6	Fr.A.	14.40	7.13	1.00	0.34	0.08	0.20	8.75	8.55	59
1765	R-A2-C	3.82	1.30	0.00	10.90	6.6	128	52	40	8	Fr.	23.20	4.54	0.85	0.30	0.11	2.30	8.10	5.80	25
1766	R-A1-P	4.50	0.62	0.00	7.82	9.0	121	66	34	0	Fr.A.	19.63	8.16	1.03	0.28	0.08	0.20	9.75	9.55	49
1767	R-A2-P	3.96	0.56	0.00	5.27	7.8	76	58	34	8	Fr.A.	16.32	1.65	0.45	0.19	0.06	2.20	4.56	2.36	14
1768	R-A1-N	5.04	1.10	0.00	5.52	17.2	140	56	32	12	Fr.A.	16.96	10.60	1.30	0.25	0.05	0.10	12.30	12.20	72
1769	R-A2-N	4.03	0.59	0.00	10.34	16.6	132	48	40	12	Fr.	21.60	2.04	0.63	0.29	0.05	1.40	4.41	3.01	14

A = Arena ; A.Fr. = Arena Franca ; Fr.A. = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L. = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A. = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso ;
 Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A. = Arcillo Arenoso ; Ar.L. = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso


 Sady García Bendezú
 Jefe del Laboratorio



Av. La Molina s/n Campus UNALM - Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Anexo 12: Análisis de caracterización de suelos en la parcela de café en la provincia de Rioja

Anexo 13: Análisis de caracterización de suelos en la parcela de café en la provincia del Dorado



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
 FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : IIAP

Departamento : SAN MARTIN
 Distrito : ALAO
 Referencia : H.R. 57762-026C-17

Provincia : EL DORADO
 Predio :
 Fecha : 03/03/17

Número de Muestra	Lab	Claves	pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase Textural	CIC	Cationes Cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat. De Bases
									Arena %	Limo %	Arcilla %			Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺³ + H ⁺			
1782		D-A1-C	5.73	0.66	0.00	5.52	9.3	272	50	32	18	Fr	23.20	15.20	2.13	0.55	0.04	0.10	18.03	17.93	77
1783		D-A2-C	4.66	1.85	0.00	4.65	4.8	273	34	44	22	Fr	22.40	13.10	1.77	0.58	0.03	0.10	15.58	15.48	69
1784		D-A1-P	4.89	0.93	0.00	3.91	2.8	141	60	26	14	Fr. A	16.00	6.84	1.15	0.31	0.06	0.20	8.56	8.36	52
1785		D-A2-P	4.49	2.27	0.00	7.68	3.0	222	50	36	14	Fr	24.16	14.40	1.68	0.48	0.04	0.30	16.91	16.61	69
1786		D-A1-N	5.92	0.84	0.00	3.94	5.0	154	54	22	24	Fr. Ar. A	22.88	17.00	2.00	0.38	0.04	0.30	19.73	19.43	85
1787		D-A2-N	4.21	1.80	0.00	5.86	2.5	258	34	44	22	Fr	24.16	13.30	1.67	0.58	0.03	0.20	15.79	15.59	65

A = Arena ; A.Fr. = Arena Franca ; Fr.A. = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L. = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A. = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso ; Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A. = Arcillo Arenoso ; Ar.L. = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso



Sady García Bendezu
 Sady García Bendezu
 Jefe del Laboratorio

Anexo 14: Análisis de caracterización de suelos en la parcela de café en la provincia de Moyobamba /altura 1/ caturra



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : IIAP

Departamento : SAN MARTIN
 Distrito : INDAÑE
 Referencia : H.R. 57762-026C-17

Provincia : MOYOBAMBA
 Predio :
 Fecha : 03/03/17

Lab	Número de Muestra Claves	pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase Textural	CIC	Cationes Cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat. De Bases
								Arena %	Limo %	Arcilla %			Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺³ + H ⁺			
1770	M-A1-C	4.33	0.38	0.00	6.50	18.0	119	58	32	10	Fr. A	20.80	6.66	2.18	0.29	0.05	0.50	9.69	9.19	44

A = Arena ; A.Fr. = Arena Franca ; Fr.A. = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L. = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A. = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso ;
 Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A. = Arcillo Arenoso ; Ar.L. = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso



Sady García Bendezu
Sady García Bendezu
 Jefe del Laboratorio

Anexo 15: Análisis de caracterización de suelos en la parcela de café en la provincia de Moyobamba /altura 2/ caturra



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
 FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : IIAP
 Departamento : SAN MARTIN
 Distrito : JEPELACIO
 Referencia : H.R. 57762-026C-17

Provincia : MOYOBAMBA
 Predio :
 Fecha : 03/03/17

Número de Muestra	pH	C.E (1:1)	CaCO ₃	M.O.	P	K	Análisis Mecánico			Clase	CIC	Cationes Cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat De Bases	
							Arena	Limo	Arcilla			Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺³ + H ⁺				
Lab	Claves	(1.1)	%	%	ppm	ppm	%	%	%	Textural		meq/100g								
1771	M-A2-C	5.14	0.15	0.00	1.84	7.5	129	64	20	16	Fr. A	16.80	8.48	2.25	0.28	0.07	0.10	11.18	11.08	66

A = Arena ; A.Fr. = Arena Franca ; Fr.A. = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L. = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A. = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso ; Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A. = Arcillo Arenoso ; Ar.L. = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso



Sady García Bendezi
 Sady García Bendezi
 Jefe del Laboratorio

Anexo 16: Análisis de caracterización de suelos en la parcela de café en la provincia de Lamas



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
 FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : IIAP
 Departamento : SAN MARTIN
 Distrito : LAMAS
 Referencia : H.R. 57762-026C-17

Provincia : LAMAS
 Predio :
 Fecha : 03/03/17

Número de Muestra		pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase Textural	CIC	Cationes Cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat. De Bases
Lab	Claves							Arena %	Limo %	Arcilla %			Ca ⁺² meq/100g	Mg ⁺² meq/100g	K ⁺ meq/100g	Na ⁺ meq/100g	Al ⁺³ + H ⁺ meq/100g			
1776	L-A1-C	4.35	0.33	0.00	5.32	3.3	120	56	20	24	Fr. Ar. A	16.32	4.14	0.90	0.31	0.08	0.90	6.33	5.43	33
1777	L-A2-C	4.61	1.17	0.00	9.06	2.8	544	72	14	14	Fr. A	24.48	2.14	1.10	0.84	0.07	5.50	9.65	4.15	17
1778	L-A1-P	4.99	0.35	0.00	5.98	14.2	125	72	22	6	Fr. A	16.16	8.20	1.45	0.25	0.06	0.20	10.16	9.96	62
1779	L-A2-P	3.95	0.52	0.00	9.26	2.8	530	66	18	16	Fr. A	24.64	1.89	1.03	0.98	0.07	5.50	9.48	3.98	16
1780	L-A1-N	5.12	0.26	0.00	4.73	11.1	87	70	18	12	Fr. A	14.72	8.72	1.50	0.25	0.05	0.10	10.62	10.52	71
1781	L-A2-N	4.02	0.34	0.00	7.49	2.5	442	70	14	16	Fr. A	20.48	1.48	0.88	0.83	0.06	5.60	8.85	3.25	16

A = Arena, A Fr = Arena Franca, Fr.A = Franco Arenoso, Fr = Franco, Fr.L = Franco Limoso, L = Limoso, Fr.Ar.A = Franco Arcillo Arenoso, Fr.Ar = Franco Arcilloso, Fr.Ar.L = Franco Arcillo Limoso, Ar.A = Arcillo Arenoso, Ar.L = Arcillo Limoso, Ar = Arcilloso



Sady García Bendezu
 Sady García Bendezu
 Jefe del Laboratorio

Anexo 17: Análisis de caracterización de suelos en la parcela de café en la provincia de Huallaga



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
 FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : IIAP

Departamento : SAN MARTIN

Distrito : SAPOSOA

Referencia : H.R. 57762-026C-17

Provincia : HUALLAGA

Predio :

Fecha : 03/03/17

Lab	Número de Muestra Claves	pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase Textural	CIC	Cationes Cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat. De Bases
								Arena %	Limo %	Arcilla %			Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺³ + H ⁺			
1788	H-A1-C	4.73	0.20	0.00	4.14	5.7	93	34	36	30	Fr. Ar	26.40	16.10	2.95	0.29	0.04	0.30	19.69	19.39	73
1789	H-A2-C	4.38	0.12	0.00	3.35	2.2	309	38	24	38	Fr. Ar	22.40	5.45	1.48	0.74	0.05	4.90	12.63	7.73	35
1790	H-A1-P	5.71	0.25	0.00	6.74	3.2	105	46	30	24	Fr	22.88	16.30	2.70	0.30	0.04	0.10	19.45	19.35	85
1791	H-A2-P	4.45	0.17	0.00	4.14	2.5	186	44	32	24	Fr	19.52	5.71	1.43	0.45	0.04	2.20	9.83	7.63	39
1792	H-A1-N	5.08	0.32	0.00	6.90	2.9	117	50	26	24	Fr. Ar. A	27.20	17.20	2.05	0.34	0.05	0.10	19.75	19.65	72
1793	H-A2-N	4.41	0.17	0.00	4.57	1.4	306	42	28	30	Fr. Ar	22.56	5.39	1.65	0.69	0.03	3.70	11.46	7.76	34

A = Arena ; A Fr = Arena Franca ; Fr.A = Franco Arenoso ; Fr = Franco ; Fr.L = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar = Franco Arcilloso ; Fr.Ar.L = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A = Arcillo Arenoso ; Ar.L = Arcillo Limoso ; Ar = Arcilloso.



Sady García Bendezu
 Sady García Bendezu
 Jefe del Laboratorio

Anexo 18: Análisis de suelo que fueron usados para el repique de los plantones de café



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : IIAP

Departamento : SAN MARTIN
 Distrito : SAN ANTONIO
 Referencia : H.R. 57762-026C-17

Provincia : SAN MARTIN
 Predio :
 Fecha : 03/03/17

Número de Muestra		pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase Textural	CIC	Cationes Cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat. De Bases
Lab	Claves							Arena	Limo	Arcilla			Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺³ + H ⁺			
								%					meq/100g							
1794	MS-T	5.73	0.61	0.00	1.88	8.2	53	86	6	8	A. Fr	6.40	4.63	0.72	0.15	0.05	0.10	5.65	5.55	87

A = Arena ; A.Fr. = Arena Franca ; Fr.A. = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L. = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A. = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso ;
 Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A. = Arcillo Arenoso ; Ar.L. = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso



Sady García Bendezu
Dr. Sady García Bendezu
 Jefe del Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM - Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Anexo 19: Evaluaciones de variables estudiadas



Clones de plantas de café enraizados



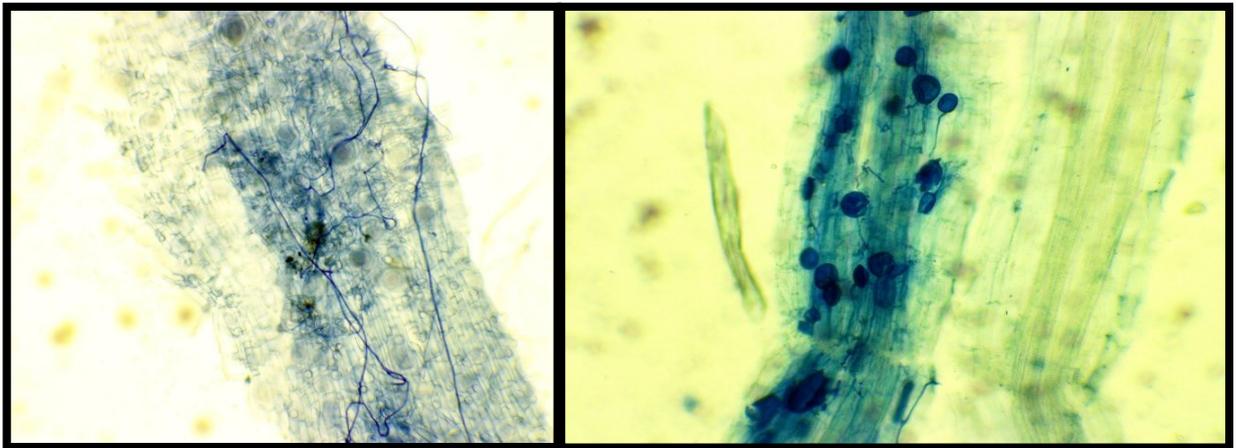
Plantas clonales de café micorrizadas



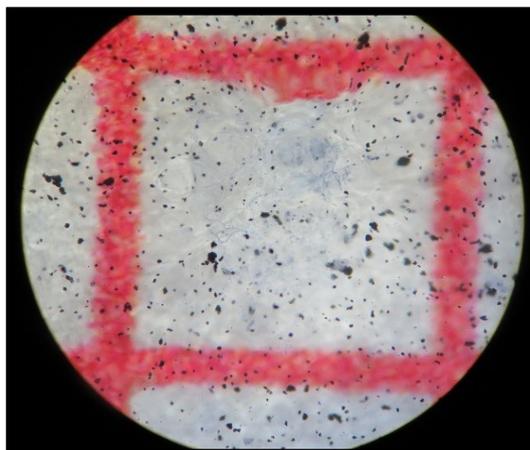
Sistema radicular de plantas de café



Biomasa aérea de café



Raíz colonizada por los HMA-N



Micelio extraradical