UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y AMBIENTALES

CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

"OBTENCIÓN DE INOCULANTES PUROS DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES MONOSPÓRICO Y CONSORCIO EN CULTIVO DE *Brachiaria decumbens* COMO OPCIÓN PARA LA REDUCCIÓN DE FERTILIZANTES SINTÉTICOS EN EL DEPARTAMENTO DE UCAYALI"

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

INGENIERO AMBIENTAL

KATERYN IRACEMA SANDOVAL RUIZ

NARIYA DE LA ORQUIDEA GARCÍA ROCHA

PUCALLPA - PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y AMBIENTALES
CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

COMISIÓN DE GRADOS Y TÍTULOS
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 82

En la sala de reuniones del Auditorio General de la Universidad Nacional de Ucayali, siendo las 11:35 a.m. del día 24 de enero del 2019, se reunieron los miembros del Jurado con MEMO MÚLT. 011-2019-UNU-FCFyA-CGT, conformado por los siguientes docentes:

- Dr. Marco Antonio Chota Isuiza — Presidente
- Ing. Mg. Gabriel Mercado Jáuregui — Miembro
- Ing. M.Sc. César Mori Montero — Miembro

Para evaluar la sustentación de tesis: **"OBTENCIÓN DE INOCULANTES PUROS DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES MONOSPÓRICO Y CONSORCIO EN CULTIVO DE *Brachiaria decumbens* COMO OPCIÓN PARA LA REDUCCIÓN DE FERTILIZANTES SINTÉTICOS EN EL DEPARTAMENTO DE UCAYALI"**, presentado por las bachilleres: **KATERYN IRACEMA SANDOVAL RUIZ y NARIYA DE LA ORQUIDEA GARCÍA ROCHA**.

Terminada la sustentación, se procedió a formular las preguntas por parte del Jurado Evaluador, las cuales fueron absueltas a satisfacción; por lo que el Jurado Evaluador **APROBÓ** la tesis por **UNANIMIDAD**, con el calificativo de **MUY BUENO.** En consecuencia las sustentantes se encuentran aptas para otorgar el Título Profesional de **INGENIERO AMBIENTAL**, habiendo sido asesoradas por el **Dr. Grober Panduro Pisco.**

Siendo las 12:40 p.m. del mismo día, se dio por concluido el acto académico.

Dr. Marco Antonio Chota Isuiza
Presidente

Ing. Mg. Gabriel Mercado Jáuregui
Miembro

Ing. M.Sc. César Mori Montero
Miembro

ACTA DE APROBACIÓN

Esta tesis fue sometida a consideración para su aprobación ante el Jurado Evaluador de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad Nacional de Ucayali, como requisito para optar el Título Profesional de Ingeniero Ambiental.

Dr. Marco Antonio Chota Isuiza
Presidente

Ing. Mg. Gabriel Mercado Jáuregui
Miembro

Ing. M.Sc. César Mori Montero
Miembro

Dr. Grober Panduro Pisco
Asesor

Ing. Krystel Clarissa Rojas Mego
Co-Asesor

Bach. Kateryn Iracema Sandoval Ruiz
Tesista

Bach. Nariya de la Orquidea Garcia Rocha
Tesista

UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI
VICERRECTORADO DE INVESTIGACION
DIRECCION GENERAL DE PRODUCCION INTELECTUAL

Constancia

N° 185

ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACION SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND

La Dirección General de Producción Intelectual, hace constar por la presente, que el Informe Final de Tesis titulado:

"OBTENCIÓN DE INOCULANTES PUROS DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES MONOSPÓRICO Y CONSORCIO EN CULTIVO DE *Brachiaria decumbens* COMO OPCIÓN PARA LA REDUCCIÓN DE FERTILIZANTES SINTÉTICOS EN EL DEPARTAMENTO DE UCAYALI"

Cuyos autores son:

- **KATERYN IRACEMA, SANDOVAL RUIZ**
- **NARIYA DE LA ORQUIDEA, GARCÍA ROCHA**

Asesor: **Dr. Grober, Panduro Pisco**

Escuela Profesional: **Ingeniería Ambiental**

Facultad: **Ciencias Forestales y Ambientales**

Después de realizado el análisis correspondiente en el Sistema Antiplagio, dicho documento presenta un porcentaje de similitud de **02%.**

El tal que de acuerdo a los criterios de porcentaje establecidos en la DIRECTIVA DE USO

DEL SISTEMA ANTIPLAGIO (10%), en el artículo 9: "Criterios de porcentaje de similitud". Se declara, que dicho trabajo de investigación: SI Contiene un porcentaje aceptable de plagio, por lo que SI se aprueba su originalidad.

En señal de verificación se FIRMA Y SELLA la presente constancia.

Fecha: 29/05/2019

Firma: _____

UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI
DIRECCION GENERAL DE PRODUCCION INTELECTUAL
DRA. DINA PARI QUISPE
Direc. Gral Prod Intel

REPOSITORIO DE TESIS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TESIS

Yo, Kateryn Iracema Sandoval Ruiz

Autor de la TESIS titulada:

"Obtención de inoculantes puros de hongos micorrícicas arbusculares, monospórico y Consorcio en Cultivo de Brachiaria decumbens como opción para la reducción de fertilizantes Sintéticos en el Departamento de Ucayali"

Sustentada el año: 2019

Con la asesoría de: Dr. Grober Panduro Pisco

En la Facultad de: Ciencias Forestales y Ambientales

Carrera Profesional de: Ingeniería Ambiental

Autorizo la publicación de mi trabajo de investigación en el Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Ucayali, bajo los siguiente términos: Primero: otorgo a la Universidad Nacional de Ucayali licencia no exclusiva para reproducir, distribuir, comunicar, transformar (únicamente mediante su traducción a otros idiomas) y poner a disposición del público en general mi tesis (incluido el resumen) a través del Repositorio Institucional de la UNU, en forma digital sin modificar su contenido, en el Perú y en el extranjero; por el tiempo y las veces que considere necesario y libre de remuneraciones. Segundo: declaro que la tesis es una creación de mi autoría y exclusiva titularidad, por tanto me encuentro facultado a conceder la presente autorización, garantizando que la tesis no infringe derechos de autor de terceras personas. Tercero: autorizo la publicación,

- [x] Total (significa que todo el contenido de la tesis en PDF será compartido en el repositorio).
- [ ] Parcial (significa que solo la carátula, la dedicatoria y el resumen en PDF serán compartidos en el repositorio).

De mi TESIS de investigación en la página web del Repositorio Institucional de la UNU.

En señal de conformidad firma la presente autorización.

Fecha: 13 / 06 / 2019

Email: sandovalKateryn@gmail.com

Firma:

Teléfono: 990451310

DNI: 47866014

REPOSITORIO DE TESIS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TESIS

Yo, Nariya de la Orquidea García Rocha
Autor de la TESIS titulada:
"Obtención de inoculantes puros de hongos micorrícicos arbusculares monospórico y consorcio en cultivo de Brachiaria decumbens como opción para la reducción de fertigantes sintéticos en el departamento de Ucayali".

Sustentada el año: 2019
Con la asesoría de: Dr. Grober Pandura Pisco
En la Facultad de: Ciencias Forestales y Ambientales
Carrera Profesional de: Ingeniería Ambiental

Autorizo la publicación de mi trabajo de investigación en el Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Ucayali, bajo los siguiente términos: Primero: otorgo a la Universidad Nacional de Ucayali licencia no exclusiva para reproducir, distribuir, comunicar, transformar (únicamente mediante su traducción a otros idiomas) y poner a disposición del público en general mi tesis (incluido el resumen) a través del Repositorio Institucional de la UNU, en forma digital sin modificar su contenido, en el Perú y en el extranjero; por el tiempo y las veces que considere necesario y libre de remuneraciones. Segundo: declaro que la tesis es una creación de mi autoría y exclusiva titularidad, por tanto me encuentro facultado a conceder la presente autorización, garantizando que la tesis no infringe derechos de autor de terceras personas. Tercero: autorizo la publicación,

- [x] Total (significa que todo el contenido de la tesis en PDF será compartido en el repositorio).
- [ ] Parcial (significa que solo la carátula, la dedicatoria y el resumen en PDF serán compartidos en el repositorio).

De mi TESIS de investigación en la página web del Repositorio Institucional de la UNU.
En señal de conformidad firma la presente autorización.

Fecha: 13 / 06 /2019

Email: nariyagarcar@gmail.com Firma:

Teléfono: 939322965 DNI: 71234028

DEDICATORIA

A Dios, por darme la vida y la oportunidad de alcanzar mis metas. A mis queridos padres, Ruth y Armando quienes con mucho esfuerzo, amor y sacrificio me brindaron en cada momento su apoyo y la motivación constante de salir adelante siempre con humildad para lograr mis metas y formarme con valores.

Kateryn Iracema.

A Dios, por haberme guiado, protegido y bendecido con mi familia al rodearme de buenas personas que me han ayudado en mi camino de formación personal y profesional a mis queridos padres Ros Mari, Walter, a mi hermano y mis abuelitas quienes con amor me apoyan incondicionalmente para alcanzar mis metas.

Nariya de la Orquidea.

AGRADECIMIENTO

A los docentes de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, por las enseñanzas impartidas para nuestra formación académica y profesional.

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana - IIAP, por haber permitido el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A nuestro asesor de tesis Dr. Grober Panduro Pisco, por el apoyo y consejos durante la redacción del presente trabajo de investigación. A nuestra Co-asesor Ing. Krystel Clarissa Rojas Mego, por el apoyo en la ejecución y redacción del presente trabajo de investigación.

A nuestro Jurado Evaluador de tesis conformado por: Dr. Marco Antonio Chota Isuiza; Ing. Mg. Gabriel Mercado Jáuregui e Ing. M.Sc. César Mori Montero, por los consejos, sugerencias y correcciones realizadas en la elaboración del presente trabajo de investigación.

A todos los que han intervenido en nuestra formación académica y a los que nos apoyaron en la redacción y evaluación del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE DEL CONTENIDO

DEDICATORIA.....vii
AGRADECIMIENTO viii
ÍNDICE DEL CONTENIDO..... ix
ÍNDICE DE TABLAS xii
ÍNDICE DE FIGURAS xiv
ABSTRACT xviii
INTRODUCCIÓN 1
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 3
1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA 3
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA. 4
1.2.1.Problema General. 4
1.2.2.Problemas Específicos. 4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....6
2.1. ANTECEDENTES.....6
2.2. BÁSES TEÓRICAS.....14
2.2.1. El suelo, hábitat para la vida. 14
2.2.2. Los microorganismos del suelo. 15
2.2.3. Micorrizas.....15
2.2.4. Biofertilizantes.....20
2.2.5. Características y beneficios de las micorrizas en el sistema suelo-planta 20
2.2.6. Ventajas de los hongos micorrícicos arbusculares 22
2.2.7. Infección.....23
2.2.8. Métodos de obtención del inóculo MVA 23
2.2.9. Metodologías de tinción para observar la presencia de HMA 26
2.2.10. Conteo de esporas de hongos micorrícicos arbusculares.....26
2.2.11. Esterilización superficial de esporas. 26
2.2.12. Métodos de identificación de especies de HMA. 27

2.2.13. Métodos de propagación de cultivos puros de HMA. 29
2.2.14. Inoculación de hongos micorrícicos arbusculares en vivero. ... 30
2.2.15. Potencial de la inoculación. 30
2.2.16. Suelos contaminados por fertilizantes. 31
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA 32
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN 32
3.1.1. Características climáticas. 32
3.1.2. Descripción del agroecosistema. 33
3.2. TIPO DE LA INVESTIGACIÓN 33
3.3. NIVEL DE INVESTIGACIÓN 33
3.3.1. Método descriptivo: 33
3.3.2. Método experimental: 34
3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA 34
3.4.1. Población: 34
3.4.2. Muestra: 34
3.5. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS 34
3.6. PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS 35
3.6.1. Caracterización de especies de HMA. 35
3.6.2. Aislamiento de esporas de HMA. 36
3.6.3. Multiplicación esporas de HMA aisladas. 36
3.7. DISEÑO ESTADÍSTICO 37
3.8. TRATAMIENTO DE DATOS 38
CAPÍTULO IV.RESULTADOS Y DISCUCIÓN 39
4.1. Características morfológicas de esporas de hongos micorrícicos arbusculares 39
4.1.1. Género *Glomus sp.* 39
4.1.2. Género *Acaulospora sp.* 40

4.2. Concentración de esporas en el proceso de obtención de inoculantes puros de HMA. 41
4.3. Porcentaje de colonización micorrícica en el proceso de obtención de inoculantes puros de HMA. 43
4.4. Resultados complementarios 46
4.4.1. Análisis del sustrato empleado (suelo estéril). 46
4.4.2. Promedio del peso fresco foliar. 46
4.4.3. Promedio del peso fresco radicular 47
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 49
5.1. CONCLUSIONES 49
5.2. RECOMENDACIONES 50
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA 51
ANEXOS 63

ÍNDICE DE TABLAS

En el Texto: **Pág.**

Tabla 1. Clasificación de los Glomeromycota……..……. 18

Tabla 2. Método no sistemático de estimación de colonización HMA en raíces……. 37

Tabla 3. Medias del número de esporas por evaluación y tratamiento…… 41

Tabla 4. Medias del porcentaje de colonización por evaluación y tratamiento……..... 43

Tabla 5. Caracterización de sustratos empleados……..... 46

Tabla 6. Medias del peso fresco foliar por evaluación y tratamiento…. 46

Tabla 7. Medias del peso fresco radicular por evaluación y tratamiento……. 47

En el Anexo:

Tabla 1A. Prueba de normalidad y homogeneidad de varianza para resultados de variables evaluadas…….. 64

Tabla 2A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para número d esporas 1……..... 64

Tabla 3A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis para número de esporas 1……..... 64

Tabla 4A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para número de esporas 2…… 65

Tabla 5A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis para número de esporas 2…..……. 65

Tabla 6A. Cuadrados medios del análisis de varianza para número de esporas 3…… 65

Tabla 7A. Comparación de medias por Tukey para número de esporas 3……. 65

Tabla 8A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para porcentaje de colonización 2……..... 66

Tabla 9A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis porcentaje de colonización 2……. 66
Tabla 10A. Cuadrados medios del análisis de varianza para porcentaje de colonización 3 ……. 66
Tabla 11A. Comparación de medias por Tukey para porcentaje de colonización 3……. 66
Tabla 12A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para peso foliar 1……..……... 67
Tabla 13A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis peso foliar 1…….…. 67
Tabla 14A. Cuadrados medios del análisis de varianza para peso foliar 2…….. 67
Tabla 15A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para peso foliar 3…… 67
Tabla 16A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis peso foliar 3……..… 68
Tabla 17A. Cuadrados medios del análisis de varianza para peso radicular 1..... 68
Tabla 18A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para peso radicular 2……. 68
Tabla 19A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis peso radicular 2……... 68
Tabla 20A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica kruskal Wallis para peso radicular 3……. 69
Tabla 21A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis peso radicular 3…….. 69

ÍNDICE DE FIGURAS

En el Texto: **Pág.**

Figura 1. Plano de ubicación del laboratorio de entomología del IIAP, Región Ucayali…… 32

Figura 2. Espora de HMA perteneciente al género *Glomus sp*……..... 39

Figura 3. Espora de HMA perteneciente al género *Acaulospora sp*….. 40

Figura 4. Evaluación del número de esporas en suelo seco……... 41

Figura 5. Evaluación de porcentaje de colonización en raíces de *Brachiaria decumbens*……. 44

Figura 6. Evaluación del peso fresco foliar……. 47

Figura 7. Evaluación de peso fresco radicular…… 48

En el Anexo:

Figura 8A. Camas de multiplicación de hongos micorrícicos arbusculares..…… 70

Figura 9A. Extracción de muestras de camas de multiplicación del IIAP……. 70

Figura 10A. Muestra (Inóculo nativo de hongos micorrícicos arbusculares de cacao)……... 71

Figura 11A. Corte de las hojas de *Brachiaria decumbens* del inóculo primario…… 71

Figura 12A. Muestras de Inóculos primarios……..... 72

Figura 13A. Recolección de esporas de hongos micorrícicos arbusculares……. 72

Figura 14A. Esporas de hongos micorrícicos arbusculares colectadas……. 73

Figura 15A. Aislamiento de géneros de espora de hongos micorrícicos arbusculares bajo microscopio…….. 73

Figura 16A. Inoculación de esporas en las raíces de *Brachiaria decumbens*…….. 74

Figura 17A. Semilla de *Brachiaria decumbens* germinadas……..... 74

Figura 18A. *Brachiaria decumbens* inoculados con esporas puras de hongos micorrícicos arbusculares……. 75
Figura 19A. Tratamientos en su fase inicial en invernadero…….. 75
Figura 20A. Inoculantes puros de hongos de micorrícicos arbusculares…….. 76
Figura 21A. Inoculantes puros de hongos de micorrícicos arbusculares en invernadero…… 76
Figura 22A. Baño maría…… 77
Figura 23A. Centrifuga……. 77
Figura 24A. Autoclave……... 78
Figura 25A. Estereoscopio…….. 78
Figura 26A. Esporas aisladas de hongos micorrícicos arbusculares……. 79
Figura 27A. Esporas sin aislamiento de hongos micorrícicos arbusculares…….. 79
Figura 28A. Montaje de raíces en portaobjeto…….…….. 80
Figura 29A. Raíces de *Brachiaria decumbens* por tratamiento para evaluación de porcentaje de colonización……. 80
Figura 30A. Montajes de raíces, teñidas mediante el método de Ruiz y Rojas……. 81
Figura 31A. Hifas de hongos micorrícicos arbusculares……..... 81
Figura 32A. Estructura de hongo de micorriza arbuscular……... 82
Figura 33A. Vesículas de hongo de micorriza arbuscular…….. 82

RESUMEN

Se obtuvo inoculantes puros de hongos micorrícicos arbusculares como opción para la reducción de fertilizantes sintéticos y se evaluó el comportamiento de los inóculos en cultivo de *Brachiaria decumbens*, en el laboratorio del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, departamento de Ucayali, período julio del 2017 hasta enero del 2018; Según (Cuenca *et al.,* 2007) los fertilizantes inorgánicos en agroecosistemas amazónicos ha generado problemas ambientales; frente a eso no se cuenta con una tecnología local que permita reducir el uso de estos fertilizantes sintéticos que estén basadas en microorganismo del suelo, como los hongos de micorriza arbusculares que han demostrado potencialidades para reducir hasta un 50 % de fertilizantes químicos (Calderón, 2011) las experiencias desarrolladas han sido limitadas. Se extrajo muestras del inóculo primario de la cama de multiplicación y se caracterizó las esporas de hongos de micorrizas arbusculares, se utilizó como planta trampa la semilla *Brachiaria decumbens* desinfectada y se germinó para inocular junto con las esporas puras y con suelo estéril. Se evaluaron los parámetros: porcentaje de colonización en raíces, número de esporas, peso foliar y radicular, utilizando un Diseño Completo al Azar (DCA) con 12 unidades experimentales, 06 vasitos por unidad experimental, 03 tratamientos (T) 04 repeticiones cada uno, donde T1: *Glomus sp*., T2*: Acaulospora sp*., T3: (*Glomus sp. + Acaulospora sp.).* Aplicados los tratamientos y analizados mediante el ANOVA y la prueba de comparaciones múltiples de promedios POST HOC Tukey al 5% de significancia. Se encontró que la primera evaluación realizado a los 40 días de inoculación (ddi) y la segunda evaluación a 80 días de inoculación (ddi) no hubo diferencia significativa (P>0.05) entre los tratamientos para cada parámetros. En la tercera

evaluación realizada en 140 días de inoculación (ddi), se obtuvo diferencia significativa (P: 0.15<0.05) en el porcentaje de colonización, donde el promedio T_1 (1.75%), T_2 (5.25%), T_3 (1.63%). Según tukey la diferencia de medias es significativa en el porcentaje de colonización entre los tratamientos (P: 0,015<0,05). Mientras que en la concentración de esporas se obtuvo diferencia significativa de (P: 0,026<0,05) donde el promedio T_1 (0), T_2 (4), T_3 (7,25).

Palabra claves: Colonización, inoculantes, micorriza.

ABSTRACT

Pure inoculants of arbuscular mycorrhizal fungi were obtained as an option for the reduction of synthetic fertilizers and the behavior of inocula in *Brachiaria decumbens* culture was evaluated in the laboratory of the Peruvian Amazon Research Institute, department of Ucayali, July 2017 until January 2018; According to (Cuenca et al., 2007) inorganic fertilizers in Amazonian agroecosystems has generated environmental problems; In contrast, there is no local technology to reduce the use of these synthetic fertilizers that are based on soil microorganisms, such as arbuscular mycorrhizal fungi that have shown potential to reduce chemical fertilizers by up to 50% (Calderón, 2011) the experiences developed have been limited. Samples were taken from the primary inoculum of the multiplication bed and the fungal spores of arbuscular mycorrhizae were characterized, the disinfected *Brachiaria decumbens* seed was used as a trap plant and germinated to inoculate with the pure spores and with sterile soil. The parameters were evaluated: percentage of colonization in roots, number of spores, leaf and root weight, using a Complete Random Design (DCA) with 12 experimental units, 06 cups per experimental unit, 03 treatments (T) 04 repetitions each, where T1: Glomus sp., T2: Acaulospora sp., T3: (Glomus sp. + Acaulospora sp.). Applied the treatments and analyzed by means of the ANOVA and the test of multiple comparisons of POST HOC Tukey averages at 5% of significance. It was found that the first evaluation performed at 40 days of inoculation (ddi) and the second evaluation at 80 days of inoculation (ddi) there was no significant difference (P> 0.05) between treatments for each parameter. In the third evaluation performed in 140 days of inoculation (ddi), significant difference was obtained (P: 0.15 <0.05) in the percentage of colonization, where

the average T1 (1.75%), T2 (5.25%), T3 (1.63%). According to Tukey, the difference in means is significant in the percentage of colonization between treatments (P: 0.015 <0.05). While in the concentration of spores a significant difference of (P: 0.026 <0.05) was obtained where the average T1 (0), T2 (4), T3 (7.25).

Keywords: Colonization, inoculants, mycorrhiza.

INTRODUCCIÓN

En la medida en que la agricultura evolucionó hacia una producción industrial se conformaron paquetes tecnológicos, dentro de los cuales estuvieron los fertilizantes sintéticos solubles que básicamente incluyeron al nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) (Decara *et al*., 2004). Sin embargo, a través del tiempo, se ha vuelto evidente que el empleo de fertilizantes sintéticos no ha resultado ser la panacea esperada, ya que del total de los fertilizantes aplicados solo del 10 al 40% es asimilado por las plantas (Bhardwaj *et al.,* 2014).

La producción de alimentos en la agricultura convencional a nivel mundial presentan una serie de problemas ambientales por el uso excesivo de los fertilizantes sintéticos (De las Heras *et al.,* 2003). Por otra parte cerca del 65% de suelos de la Amazonía Peruana se caracterizan por ser extremadamente ácidos, deficientes en fósforo disponible (Ruiz *et al.,* 2011). El fósforo es el elemento mineral más importante después del nitrógeno, su deficiencia limita de manera crucial el crecimiento de las plantas (Beltrán, 2014).

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares, juegan un papel importante en el crecimiento y la nutrición de las plantas (Rengifo, 2011). La efectividad de movilización de nutrientes hacia la planta se puede aumentar hasta 40 veces más con la micorriza, ya que un pelo radical puede absorber los nutrientes a 2 mm a la redonda y con las hifas del micelio extra radical se logra explorar hasta 80 mm (Peña & Cardona, 2010).

El uso de hongos micorrícicos en los viveros forestales de la Amazonía es generalmente ignorada, de tal manera que los plantones llegan a campo desprovistos de su simbionte natural, afectando su establecimiento, supervivencia y crecimiento en suelos degradados, los beneficios de la

inoculación con hongos micorrícicos arbusculares se expresan en una mayor supervivencia de las plántulas, mayor crecimiento en menor tiempo, reducción del tiempo de estadía en vivero, mayor producción y mejor calidad (Rengifo, 2011).

La presente investigación contribuirá con un estudio relacionado con la obtención de inoculantes puros de hongos micorrícicos arbusculares nativos, una biotecnología que permitirá el aprovechamiento de microorganismo benéficos, al respecto existen estudios que demuestran que su aplicación permite la reducción del uso de fertilizantes químicos hasta un 50% (Calderón, 2011). En tal sentido se realizó en el departamento de Ucayali el primer estudio cuyos resultados permitirán mejorar la obtención del inoculante de HMA con especies nativas, así mismo es beneficioso, tal es así que permitirá ahorrar hasta un 50% del volumen de los productos químicos necesarios en cada cultivo. Esto favorece la reducción de los insumos y los costos, e influye en el ejercicio de una agricultura sostenible y ecológicamente.

En lo ambiental permitirá reducir el uso excesivo de fertilizantes, mediante la utilización de los recursos locales y desarrollar innovaciones tecnologías que permitan lograr mitigar actividades que empobrezcan el recurso suelo.

Esta investigación es del tipo básica y su propósito es aportar con un conocimiento en biotecnología local basados en hongos micorrícicos arbusculares como opción para reducir el uso de fertilizantes sintético.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA .

Actualmente los procesos de producción agrícola, usan altos insumos nitrogenados y (Schepers & WR Raun, 2008); indica que los fertilizantes químicos son adictivos, debido a que destruyen el nitrógeno natural del suelo que está disponible para las plantas; los agricultores tienen que usar más fertilizantes cada año para mantener los rendimientos y en los últimos 40 años, la eficiencia de los fertilizantes nitrogenados ha disminuido en alrededor de dos tercios y su consumo por hectárea ha aumentado en aproximadamente siete veces.

Los suelo de la Amazonía Peruana de terrazas altas y colinas son ácidos de baja fertilidad (Rodriguez, 1995), por lo cual se necesita la incorporación de fertilizantes para suplir las necesidades de las plantas. (Cuenca *et al.,* 2007) menciona que el uso de fertilizantes inorgánicos en agro ecosistemas amazónicos ha generado problemas ambientales por la contaminación de cuerpos de agua y su posterior eutrofización. Frente a esta problemática existen microorganismos del suelo como los hongos micorrícicos arbusculares que han demostrado potencialidades para reducir hasta un 50% de fertilizantes químicos que debe aplicarse al suelo para obtener buenos rendimientos (Calderón, 2011).

En la región de Ucayali no se cuenta con inoculantes puros que contengan especies nativas, las experiencias desarrolladas en la región han sido limitadas; (Ruiz *et al.,* 2011), desarrolló una tecnología de inoculantes basados en micorrizas nativas que optimizara el desarrollo

inicial de especies agroforestales en áreas degradadas en la cuenca del rio Aguaytía; demostrando la eficiencia del uso de estos microorganismos en la región, donde usaron siete inoculantes nativos de bosques, suelo degradado e inóculo introducido con una dosis de 25 gr de inoculante primario en vivero, mostrando diferencias significativas en la altura de las especies de *B. gasipaes* y *S. macrophylla* a los seis meses de inoculadas, sin embargo la misma respuesta no se encontró en las demás especies entre ellas *Theobroma cacao*, siendo necesario mejorar el proceso de obtención de inóculos nativos garantizando, que estén libres de microorganismos patógenos.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

1.2.1. Problema General.

- ¿Se puede obtener inoculantes puros de hongos micorrícicos arbusculares monospórico y consorcio en *Brachiaria decumbens,* como opción para la reducción de fertilizantes sintéticos en el departamento de Ucayali?

1.2.2. Problemas Específicos.

- ¿Cuáles son las características morfológicas de las esporas de hongos micorrícicos arbusculares que conformarán los inoculantes puros?
- ¿Cuál es la concentración de esporas en el proceso de obtención de inoculantes puros de hongos micorrícicos arbusculares monospórico y consorcio?

- ¿Cuál es el porcentaje de colonización micorrícica en el proceso de obtención de inoculantes puros de hongos micorrícicos arbusculares monospórico y consorcio?

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

(Medina *et al*., 2010), en la zona de las Caobas en la provincia de Holguín, caracterizaron el potencial micorrícico para ello aislaron, identificaron y multiplicaron hongos nativos y conglomerados de estos, provenientes de suelos afectados por la salinidad; por sus características morfológicas, identificaron 28 morfotipos de hongos micorrícicos encontrando cuatro géneros conocidos

(*Glomus, Acaulospora,Gigaspora y Scutellospora),*siendo *Glomus* el más común.

(Aguilar *et al.,* 2015), determinaron el efecto del método de inoculación en la producción de cultivos trampa para lo cual se empleó un testigo y tres tratamientos (1: inoculación con esporas, 2: inoculación con suelo y 3: inoculación con raíces) usando como planta trampa *Phaseolus vulgaris L*., luego de un mes, el mayor número de esporas totales se obtuvo en el tratamiento 1 (233.60 esporas) y el mayor número de esporas germinadas se obtuvieron en los tratamientos 1 (3.80) y 3 (4.60).

(Carreón *et al*., 2013), obtuvieron cepas puras de HMA provenientes de suelos de huertas de aguacate con diferentes manejo agrícola para ello aislaron HMA y propagaron las especies más abundantes las cuales fueron: *Rhizophagus aff.intradices, Sclerocystis. Rubiformis y Glomus sp.* Con la técnica de minirizotrón en diferentes macetas trampas. La técnica empleada resultó ser más efectivo para la propagación y micorrización de *Sclerocystis rubiformis* (18.5%) *Glomus sp1*. y *Rhizophagus*.

aff. *intraradices* (7.7%). Los cultivos minirizotrón con un consorcio de *Glomus* spp., *Rhizophagus*. aff. *intraradices* y en cultivo monoespecífico de *Sclerocystis rubiformis*, se trasplantaron a macetas trampa durante cuatro meses, el consorcio fue altamente infectivo desde las primeras etapas, alcanzando el 95% de colonización micorrízica, en comparación con el cultivo puro de *Sclerocystis rubiformis* que mostró porcentajes hasta de 58% al final del experimento.

(Suárez *et al*., 2001), determinaron una combinación apropiada de medio de crecimiento y sistema para la producción comercial de inoculante de micorriza vesículo-arbuscular (MVA) de alta calidad, los tratamientos consistió en dos medios, uno compuesto por suelo rojo y suelo agrícola (SR:SA), y suelo rojo y arena (SR:A), ambos en proporción 3:1; tres niveles de fósforo (10, 30 o 60 ppm), el testigo consistió en la mezcla utilizada por Zamorano para la producción de Mycoral® compuesto por suelo agrícola más arena (SA:A) en proporción de 2:1. Los sustratos empleando suelo rojo tuvieron efectos similares entre ellos en el desarrollo del hongo y la infección de raíces, la calidad del inóculo evaluado fue inferior al producto comercial Mycoral®.

(Saenz *et al*., 2002), evaluaron la efectividad de los productos comerciales de micorrizas disponibles en el mercado, para aumentar los rendimientos de frijol, pasto Tanzania y pasto Transvala, los productos evaluados fueron: Burize, Mycoral®, Biorganics y Biovam, más el testigo sin inocular. Utilizaron un diseño completamente al azar. En frijol ningún producto comercial fue una alternativa, a pesar de que Mycoral® produjo casi el doble de rendimientos con respecto al testigo sin inocular. En los

pastos las diferencias encontradas se fue principalmente a las diferencias botánicas entre ambos pastos y no a los tratamientos. Por lo tanto los rendimientos apenas superó al testigo.

(Prieto *et al*., 2011)**,** determinaron el efecto de Hongos Formadores de Micorriza Arbuscular (HFMA) nativo de *Teobroma Cacao L. cacao* en el trópico húmedo ecuatoriano. Emplearon un Diseño Completo al Azar con cinco tratamientos, usaron como planta trampa *Brachiaria decumbens.* Luego de 78 días, el valor más alto de colonización micorrícica obtuvieron en el tratamiento 1 con una densidad visual (2.6%), y tratamiento 3(1.6%) sin embargo a los 103 días encontraron una ligera disminución de colonización micorrícica en el tratamiento 1(2.1%), así mismo un leve aumento en el tratamiento 3(1.7%).Respectivamente obtuvieron los resultado de concentración de esporas luego de 78 días, la mayor concentración de esporas lo obtuvo el tratamiento 1(306), con similitud estadística frente al tratamiento 3(275) y muy por debajo de los tratamientos expuestos anteriormente el tratamiento 2(58) y tratamiento 4(17), a los 103 días obtuvo un incremento en el número de esporas para todos los tratamientos, en el tratamiento 1(343) y tratamiento 3(292), y bajos en el tratamiento 2(71) y tratamiento4 (29).

(Prieto *et al*., 2012), aislaron e identificaron hongos formadores de micorriza arbuscular asociados a sistemas agroforestales con cacao *Theobroma cacao L.* en fincas: La Represa, La Propiedad, La Unión, Fátima y Mi Recuerdo. Recolectaron muestras de suelo y raíces, para el aislamiento y conteo de esporas de HMA, utilizaron el método de tamizado y decantación en húmedo con centrifugación, similar a la metodología

propuesta por (Gerderman y Nicholson, 1963), la identificación de los HMA a nivel de género fue con la ayuda de claves taxonómicas (Brundrett *et al*., 1996; Peterson *et al.,* 2004; Powell y Bagyaraj 2000; INVAM sf). El porcentaje de colonización micorrízica, evaluaron mediante el método de despigmentación y tinción de raíz propuesta por (Phillips y Hayman ,1970). Para evaluar el número de esporas realizaron un análisis descriptivo. Los géneros de hongos micorrízicos arbusculares encontrados fueron los siguientes: *Gigaspora, Acaulospora, Glomus y Scutellospora*. En todos los sitios muestreados el género con mayor representatividad en cantidad de esporas encontradas por gramo de suelo fue *Glomus.*

(Pérez *et al*., 2010), evaluaron la colonización in situ de micorrizas arbusculares en raíces del pasto colosuana en función de factores físico-químicos de suelo, en fincas ganaderas de cuatro zonas agroecológicas de Sabana (Colombia); Determinaron el porcentaje de colonización en raíces coloreadas. Para establecer diferencias entre porcentajes promedios de colonización entre zonas, realizaron un diseño completamente al azar. Para determinar diferencias entre zonas utilizaron la prueba de Tukey al 5% de significancia. Las variables físico-químicas y los porcentajes de colonización fueron caracterizados por la técnica de análisis en componentes principales y clasificadas las fincas por análisis de *Cluster* aglomerativo el ANOVA mostró diferencias significativas (p-value=0.02359) entre los porcentajes de colonización promedio entre zonas. La prueba de Tukey señaló que las zonas 2 y 4 presentaron los menores porcentajes de colonización y fueron estadísticamente iguales, mientras que las zonas 1 y 3 tuvieron los máximos valores de colonización. El análisis en componentes

principales demostró altos porcentajes de colonización de HMA en las fincas que presentaron suelos con contenidos moderados de Fósforo y Nitrógeno; bajos contenidos de Sodio y pH moderadamente alcalinos. El *Clúster* aglomerativo mostró 5 grupos de fincas relacionadas con porcentajes de colonización en forma descendente cuando estuvo presente textura arcillosa a franco arenosa.

(Tommerup, 1983), las esporas envejecidas de algunas especies tienen tasas de germinación más rápidas que los recién formados en periodos de tiempo que van desde una pocas semanas hasta varios meses.

(Silva *et al*., 1994), observaron alta germinación a pH 4.2 a 5.1 (> 80%) y baja germinación en el pH del suelo > 7.0 (<10%).

(Siquiera, 1984), la germinación de las esporas de los hongos VAM se ve afectada por el pH del suelo.

(Mosse & Hepper, 1975), manifiestan que las especies de *Gigaspora* y *Acaulospora* tienen un pH ácido óptimo, mientras que las especies de *Glomus* tienen un pH neutro a alcalino.

(Hepper, 1984), observó que la germinación de esporas de la especie A*. laevis* fue más alta en suelos con pH más bajo (4.2 y 4.9) y más baja en suelos con pH más alto (7.1 y 8.1).

(Tavares & Hayman ,1983), demostraron que *A. laevis* puede ser muy ineficiente para promover el crecimiento de las plantas en suelos neutros.

(Clark, 1977), indica que los hongos micorrízicos arbusculares (AM) colonizan las raíces de las plantas y con frecuencia mejoran el crecimiento de la planta huésped y la adquisición de minerales, particularmente para

plantas cultivadas en condiciones de bajo estrés de nutrientes y minerales; la información sobre los hongos AM y las respuestas de las plantas hospedantes de micorrizas (+ AM) a pH bajo (<5) son limitadas. *Acaulospora* son ampliamente reportados en ácido suelo, y *Gigaspora sp.* Parece ser más común en suelos ácidos que *Glomus sp*, las esporas de algunos *amfungi aremore* tolerante a las condiciones ácidas y Al alta que otras; *Acaulospora sp*., *Gigaspora sp.* y *Glomus manihotis* son particularmente tolerante, la colonización de la raíz es generalmente menor en suelos de pH alto, el porcentaje de colonización radicular es generalmente no se relaciona con la materia seca producida. Algunos aislamientos de hongos en la mañana son efectivos en superar los factores de acidez del suelo, especialmente la toxicidad por Al, colonizan las raíces de las plantas y con frecuencia mejoran el crecimiento de las plantas hospedantes y la adquisición de minerales, particularmente para plantas cultivadas en condiciones de bajo estrés de nutrientes y minerales, el aumento de la velocidad del crecimiento de las plantas en suelos ácidos varía con aislamiento fúngico de AM y pH del suelo, lo que indica la adaptación de los aislamientos de AM a las condiciones edáficas, la adquisición de muchos nutrientes minerales que no sean P y Zn son mejorados por las plantas + AM en el suelo ácido, y los minerales cuya concentración se potencian aquellos que comúnmente son deficientes en suelos ácidos (Ca, Mg y K). Algunos aislamientos de hongos en la mañana son efectivos en superar los factores de acidez del suelo, especialmente la toxicidad por Al, que restringen el crecimiento de las plantas a un pH bajo.

(Davila *et al*., 2009), evaluaron la producción de esporas de hongos Micorrizicos Arbusculares (MA) nativos obtenidos de cultivo de Cacao *Theobroma cacao* en plantas trampas de maíz *Zea mays* fertilizadas y no fertilizadas, utilizaron el método de tamizaje flotación-filtración (Sieverding, 1983) utilizaron como hospedero de reproducción maíz, tuvieron 3 tratamiento T1: Inoculadas fertilizadas T 2: Inoculadas no fertilizadas T 3: Testigo obtuvieron como resultado seis géneros : *Glomus, Acaulospora, Entrophospora, Gigaspora, Archaeospora y Scutellospora*, la que dio mayor respuesta significativamente a la infección, a la esporulación por los hongos MA nativos, a la infección micorrizal también a la producción de esporas MA y al mayor porcentaje de infección por arbúsculos y en el mayor rendimiento en la tasa de crecimiento, y tuvo mayores rendimientos de porcentaje de materia seca, las plantas trampas inoculadas no fertilizada también fue la de mayor cantidad de espora, el género de espora predominante fue *Glomus*.

(Rojas, 2010), evaluó dos sistemas de producción (Sistema bajo bosque y sistema tradicional) y genotipos de cacao en la región San Martí; determinó la colonización radicular, cuantificó la población e identificó los hongos micorrizicos arbusculares a nivel de género, en dos épocas del año y utilizó un diseño de Bloques Completo Randomizado (DBCR) con tres repeticiones, ajustados al arreglo factorial 2 x11, como resultados tuvo en la época húmeda el sistema bajo bosque tiene valor más alto en porcentaje de colonización con 82.04% de los genotipos evaluados y en el sistema tradicional presento un menor porcentaje de colonización con 65.25%. Sin embargo, en la época seca, el sistema tradicional presento el mayor

porcentaje de colonización con 65.76% y un menor porcentaje en el sistema bajo bosque con un 56.46%. En el número de esporas el sistema bajo bosque en la época húmeda encontró mayor población de HMA con 7164.24 esporas/100 g de suelo; y en el sistema tradicional presento una menor población de HMA con 5646.49 esporas /100 g de suelo, y en la época seca, el sistema bajo bosque también presento mayor número de esporas con 683.04/100 g de suelo y un menor número en el sistema tradicional con 370.59 esporas /100 g de suelo. Identificó 21 morfotipos correspondiente a especies del género, *Glomus* y *Acaulospora*, siendo el más predominante el género *Glomus* en los dos sistemas de producción.

(Bartra, 2018)**,** determinó el efecto de la procedencia (HMA), niveles de inoculación y fertilización, en el desarrollo de plantas de cacao en etapa de vivero. Empleó un Diseño de Bloques Completos al Azar con arreglo factorial 4A (procedencia) x 3B (dosis de inóculo) x 2C (nivel de fertilización) y tres repeticiones, con 24 tratamientos en tres etapas: campo: obtención y colecta del fruto, vivero: obtención de los plantones (evaluándose altura, diámetro y hojas), laboratorio: evaluación de colonización y número de esporas del HMA en cacao. Resultados a los 30 días de la siembra (dds) evidenció diferencias altamente significativas ($p \leq 0,01$) en el factor procedencia para la variable diámetro, siendo superior el AGR 1 (Caserío El Milagro). El factor dosis del inóculo encontró diferencias significativas en la altura de planta a los 60, 75 y 90 dds y diámetro a los 30 y 60 dds con las dosis de 25 y 70 g. planta -1.El factor fertilización tuvo diferencias altamente significativas para el diámetro a los 75 y 90 dds siendo superior el fertilizante orgánico. Asimismo, encontró significancia entre la interacción

de los factores procedencia fertilización para la variable altura a los 75 dds, resultando mejor el AGR 1 con fertilización orgánica. La presencia de HMA fue mayor en el tratamiento 6.

(Ruiz *et al*., 2011), desarrollaron una tecnología de inoculantes basados en micorrizas nativas para optimizar el crecimiento y desarrollo inicial de especies agroforestales en áreas degradadas en la cuenca del río Aguaytía. Inocularon con HMA 6 especies: *Bactris gasipaes* (pijuayo), *Theobroma cacao* (cacao), *Guazuma crinita* (bolaina), *Calicophyllum spruceanum* (capirona), *Swietenia macrophylla* (Caoba), y *Amburana cearensis* (ishpingo). El inoculante consistió en una mezcla de suelo y raíces colonizadas con HMA tiene un Diseño de Bloques Completo al azar con 9 tratamientos y 3 repeticiones. El género *Glomus* fue reportado para los siete lugares de colecta, la colonización en bolaina varió entre 22.78 a 29.44%, en cacao 5.30 - 10.22% y en pijuayo entre 3.41-9.17%.

2.2. BÁSES TEÓRICAS.

2.2.1. El suelo, hábitat para la vida.

El suelo es el sustrato natural para el desarrollo de las plantas y de una gran diversidad de comunidades de microorganismos y microfauna (artrópodos, anélidos, nemátodos, arácnidos, crustáceos, miriápodos, gasterópodos) que forman las biocenosis del suelo. Estas poblaciones crecen en la superficie de las partículas, en el interior de los agregados o asociadas a las raíces de las plantas, la población microbiana del suelo es muy abundante, y varía según las condiciones del medio y la cantidad de alimento disponible (Rodas, 2006).

2.2.2. Los microorganismos del suelo.

El suelo varía mucho y la naturaleza de los microorganismos depende de la estructura y la composición química del suelo, que a su vez están influidas por las actividades de estos habitantes. Los componentes abióticos y bióticos tienen importancia agrícola. Las capas superficiales del suelo son las más ricas en microorganismos disminuyendo a medida que se alejan de la superficie, los microorganismos del suelo son muy diversos entre ellos: protozoos, bacterias, hongos y algas (Collins, 1999).

2.2.3. Micorrizas

El término proviene de los vocablos griego mike=hongo y rrhiza=raíz (significa literalmente “raíz fúngica”) fue empleado por primera vez por Frank en 1885 (Ruíz *et al*. 2011). Es la unión entre el hongo y la raíz de la planta; realiza una simbiosis en las plantas, es el puente entre la raíz y el suelo, tiene la capacidad de ayudar a la planta a absorber y trasladar los nutrientes y el agua para su beneficio (Guevara, 2008). Las micorrizas son tan antiguas como las propias plantas y se conoce su existencia desde hace más de 400 millones de años (Remy et al., 1994).

2.2.3.1. Clasificación de la micorriza.

Ectomicorrizas o formadoras de manto:

Están caracterizadas por la formación de un manto y red de Hartig de hifas intercelulares, principalmente en raíces de árboles. (Peterson *et al*., 2004).

Endomicorrizas, por la colonización intracelular del hongo, y que a su vez se subdividen en Ericoides, Orquidoides y Arbusculares (Ruíz *et al*., 2011) son más variables en cuanto a sus hospedantes, colonizando desde pastos hasta arboles (Peterson *et al.,* 2004).

Ectoendomicorriza: Arbutoides y Monotropoides (Ruíz *et al*., 2011).

2.2.3.2. Hongos micorrícicos arbusculares

Son asociaciones ecológicamente mutualistas entre hongos del phyllum Glomeromycota y la inmensa mayoría de las plantas (cultivadas y silvestres) porque casi todas las especies vegetales son susceptibles de ser micorrizadas sino también porque puede estar presente en la mayoría de los hábitats naturales. Estimándose que aproximadamente el 95% de las especies vegetales conocidas establecen de forma natural y constante este tipo de simbiosis con hongos del suelo (Corwell *et al*., 2001).

Los hongos micorrícicos arbuscular juegan un papel fundamental en la absorción de fósforo en la planta dada la poca movilidad del elemento, entre 95-99% del fósforo del suelo no está disponible (Osonubi *et al*., 1991). La aplicación de fósforo interfiere en el establecimiento de la simbiosis planta-hongo micorrizico arbuscular (Hayman, 1987).

2.2.3.3. Principales géneros de hongos micorrícicos arbusculares

Glomus: Las hifas fúngicas se diferencian dando lugar a los arbúsculos, formaciones dicotómicas con apariencia de un pequeño árbol, con troncos cilíndricos, los cuales se afilan hacia las extremidades, las vesículas, son generalmente de paredes delgadas y elipsoides. Las hifas que son constituidas superficialmente en la raíz son las hifas supra radicales, las hifas que se extienden de manera radial alrededor de la raíz hospedera son hifas extraradicales pues dan al suelo estabilidad física, química y biológica (Tulasne & Tulasne, 1845).

Paraglomus: El desarrollo de las esporas procede exactamente igual que en *Glomus*, por la expansión blástica de una punta de las hifas, por lo general la materia orgánica se acumula en la superficie de la espora (Redecker & Morton, 2000).

Acaulospora: Estos géneros se caracterizan por presentar arbúsculos generalmente similares al *Glomus,* vesículas intraradicales altamente polimórficas, globosas con finas capas y presentan lípidos no continúan a lo largo de la raíz, hifas intraradical rectas y en espiral (Gerdemann & Trappe, 1973).

Gigaspora: Género que presenta una característica muy específica, células auxiliares espinosas, las cuales se transforman en hifas gruesas, se encuentran, alrededor de las raíces, son abundantes durante la colonización temprana y luego esta disminuye cuando la esporulación aumenta, los arbúsculos presentan un eje principal ancho y con ramificaciones que se afilan en sus extremidades (Gerdemann & Trappe,1973).

Scutellospora: Se caracteriza por incluir en su arquitectura, arbúsculos más gruesos y más largos con ramificaciones, puntos de entrada, hifa extra e intrarradical circular presentes cerca de los puntos de entrada, presentan una morfología similar a la *Gigaspora*, (Walker & Sanders, 1986).

Archaeospora: Todas las especies forman esporas que nacen del cuello lateral de un pre-diferenciado “sáculo esporífero” pero el modo de formación o bien es como la de las especies en *Acaulospora* o de una hifa

rama o “pedicelo” para formar una espora como las del género *Glomus* (Redecker & Morton, 2000).

2.2.3.4 Clasificación de los hongos micorrícicos arbusculares.

Tabla 1. Clasificación de los Glomeromycota.

CLASS	ORDEN	FAMILY	GENUS
Glomeromycetes	Glomerales	Glomeraceae	Glomus
			Funneliformis
			Simiglomus
			Septoglomus
		Claroideoglomeraceae	Claroideoglomus
			Viscospora
	Diversisporales		Diversispora
		Diversisporaceae	Redeckera
			Otospora
			Entrophospora
		Entrophosporaceae	Acaulospora
		Acaulosporaceae	Kuklospora
			Pacispora
	Gigasporales	Pacisporaceae	Gigaspora
		Gigasporaceae	Scutellospora
		Scutellosporaceae	Orbispora
			Racocetra
		Racocetraceae	Cetraspora
			Dentiscutata
		Dentiscutataceae	Fuseutata
			Quatunuca
			Archaeospora
Archaeosporomycetes	Archaeosporales	Archaeosporaceae	Intraspora
			Ambispora
Paraglomeromycetes	Paraglomerales	Ambisporaceae	Geosiphon
		Geosiphonaceae	Paraglomus
		Paraglomeraceae	

Fuente: The taxa Archaeosporomycetes, Paraglomeromycetes, Gigasporales and Orbispora are presented in this volumen (Oehl *et al*., 2011).

2.2.3.5. Beneficios de los HMA.

Los hongos micorrícicos son una alternativa efectiva para sistemas de producción donde se requiere evitar una mayor contaminación de los sistemas. Gran número de las plantas cultivadas son susceptibles a ser micorrizadas. Algunos reportes han demostrado la capacidad de los hongos para mejorar la obtención de nutrientes de suelo, así como aliviar

condiciones de estrés y el ataque de organismos patógenos (Siddiqui & Futai 2008). El uso de hongos micorrícicos en algunos cultivos agrícolas pueden reducir substancialmente la adición de fertilizantes y agentes de control químico, evitando la contaminación ambiental, sin afectar la productividad (Gosling *et al*., 2006).

También se han demostrado mejoras en diversos cultivos. Por ejemplo, en cítricos se ha reportado una mayor tolerancia a sequía y un aumento en la extensión de las raíces (Fidelibus *et al*., 2001) en cereales, mayor rendimiento del maíz en suelos compactados y pobres en fósforo (Bagayoko *et al*., 2000); en legumbres, se ha reportado un aumento en el crecimiento y cosecha del cacahuate y una disminución en enfermedades causantes de pudrición en plantas de la familia Cucurbitaceae (Thygesen *et al*., 2004).

Al aumentar la extensión de las hifas, aumenta la cantidad de microorganismos en la rizósfera así como los exudados de las raíces. Esto permite mayor estabilidad del agua en el suelo debido a un mayor porcentaje de agregados húmedos. La disponibilidad de agua permite soportar condiciones de estrés en algunos cereales, como arroz, papa, trigo y maíz (Beauregard *et al*., 2008). Esto es de gran importancia para regiones agrícolas de clima seco como California y el norte de México, que enfrentan una escasez de agua, y en ocasiones problemas con suelos salinos (Porcel *et al*., 2012).

Aunque la importancia de la simbiosis planta-hongos formadores de micorrizas arbusculares es reconocida a nivel mundial, existen algunos aspectos sobre la estructura y función de las comunidades en

agroecosistemas tropicales que no han sido estudiados. En Colombia, la mayor parte de los estudios han estado relacionadas con los beneficios de la simbiosis en diferentes hospederos, especialmente en aspectos de productividad, nutrición vegetal y sustitución de fertilizantes, lo cual ha permitido determinar el potencial de uso de estos microorganismos en sistemas de producción convencional o en sistemas de producción limpia (Rey *et al*., 2005).

Las micorrizas estimulan el crecimiento vegetal, debido a su efecto beneficioso sobre la nutrición mineral de la planta, la respuesta de la planta como principal responsable del "efecto micorriza" es el incremento de la concentración y/o contenido en fósforo de los tejidos vegetales, también se han encontrado incrementos en el contenido y concentración de otros nutrientes en la planta (Canchachí, 2000).

2.2.4. Biofertilizantes

Todos aquellos productos que contienen microorganismos vivos, con capacidad para colonizar la rizósfera o el interior de las plantas, que aplicados al suelo y/o a éstas, a través de la inoculación, pueden vivir asociados o en simbiosis con las especies vegetales y les ayudan a su nutrición y protección, con ellos se pretende sustituir parcial o totalmente la aplicación de fertilizantes sintéticos, y reducir su efecto contaminante (Mishra & Dash, 2014).

2.2.5. Características y beneficios de las micorrizas en el sistema suelo-planta

Los hongos formadores de micorrizas son uno de los componentes principales de las comunidades microbianas rizosféricas que permiten establecer relaciones de simbiosis con alrededor del 90% de las plantas

vasculares. Son importantes principalmente para lograr una mayor absorción de nutrientes, niveles mayores en la producción de hormonas y clorofila, incremento en la vida útil de las raíces, tolerancia al estrés (abiótico y biótico), mejora de las condiciones del suelo y en el establecimiento de relaciones sinérgicas con otros microorganismos (Paillacho, 2010).

Por lo tanto, ha cobrado gran importancia el estudio de técnicas para aislar y evaluar el rendimiento de estos organismos con el fin de aplicarlos al suelo como biofertilizantes, ya que constituyen una alternativa para la solución de problemas de propagación, aclimatación y nutrición, al reducir los costos de producción y permitir sistemas más eficientes y sostenibles (Cruz *et al*., 2014).

Los hongos micorrícicos han sido reportados como buenos candidatos para esquemas de agricultura, donde se intenta evitar o disminuir el uso de fertilizantes ya que su uso reporta mejores rendimientos en algunos cultivos (Lekberg & Koide, 2005). Además, los hongos micorrícicos presentan efectos protectores contra algunos agentes patógenos de plantas y ante condiciones de estrés, como sequía, suelos compactados o suelos salinos (Harrier & Watson, 2004). En ocasiones las plantas se localizan en suelos ricos en nutrientes, pero éstos se encuentran en formas no asimilables. Se conoce que los HM tienen la capacidad de secretar ácidos orgánicos y de esta manera solubilizar minerales de la roca madre; así los nutrientes se vuelven disponibles para las plantas, favoreciendo su nutrición (Li *et al*., 2016).

La movilización de nutrientes es un aspecto mejor estudiado (Pérez Moreno *et al*., 2001) demostraron la capacidad de los hongos para movilizar nutrientes como N y P a partir de distintos sustratos biológicos como polen, nematodos muertos, colémbolos y micelio de otros hongos. Estos procesos son realizados por grupos de hongos, resultando en ciclos de movilización-inmovilización de N y P a partir de micro y meso fauna y de material vegetal, favoreciendo el reciclaje de nutrientes y su disponibilidad para las plantas. La absorción de fosfato a través de HM da lugar a un incremento en la absorción total de fósforo y en el crecimiento de plantas (Pérez Moreno & Read, 2001).

2.2.6. Ventajas de los hongos micorrícicos arbusculares

Los hongos micorrícicos son ubicuos en la mayoría de los suelos, incluyendo los cultivados. Su aplicación en la agricultura puede mejorar el uso del agua y disminuir el uso de fertilizantes y agentes químicos que contaminan suelos, agua y aire; además de presentar servicios ecológicos, como formación de islas de recursos, promoción de diversidad vegetal y agregación del suelo, evitando la erosión en zonas áridas (Torres, 2018).

Estos hongos, han sido utilizados en la agricultura, como bioinoculantes ya que favorecen la absorción de nutrimentos esenciales como el fósforo, el nitrógeno y agua, además brindan protección a la planta contra organismos patógenos. Para obtener éxito en la simbiosis entre el hongo y la planta es indispensable hacer una selección de la especie micorrízica a inocular, ya que diversas especies presentan diferente infectividad dependiendo del hospedero con el que se asocie, por lo que es importante conocer los HMA de agroecosistemas específicos para

reintroducirlos en dichos hábitats y promover el crecimiento vegetal (Cameron, 2010).

2.2.7. Infección

La espora del tipo asexual germina ante la presencia de células epidermales de raíces jóvenes (Smith & Read, 1997), una el micelio intrarradical entre las células internas de la planta y la capa epidérmica de la raíz una vez germinada la hifa en contacto con los pelos radiculares de la planta genera un apresorio, este ayuda a desarrollar.

La hifa produce los arbúsculos mediante la penetración generando en la planta invaginaciones en el plasmalema, los arbúsculos liberan carbono de la planta generando en el suelo una extensa red de hifas (Friberg, 2001).

Las vesículas funcionan como órganos de alimentación y almacenamiento; además pueden formar clamidosporas asumiendo una función reproductiva (Gerdemann, 1968).

2.2.8. Métodos de obtención del inóculo MVA

Según (Ulla, sf.), menciona de manera general que todos los métodos de propagación de los hongos micorrícicos comienzan con el aislamiento de esporas del suelo de una localidad específica o de alguna colección que ya se tenga. Los inóculos pueden ser de una sola especie o un consorcio y las soluciones nutritivas a utilizar para el mantenimiento de las plantas deben contener bajas concentraciones de P para propiciar una rápida y abundante colonización y esporulación.

Propagación *in vitro*: como estos microorganismos requieren la presencia de la raíz, se utilizan raíces transformadas resultantes de la

incorporación, en el genoma de la planta, del plámido Ri T-DNA de *Agrobacterium rhizogenes.* El plásmido induce la producción de hormonas de crecimiento y las raíces transformadas muestran tasas de crecimiento y ramificaciones aumentadas. Se utiliza un medio de cultivo específico (M) para que la raíz y los hongos puedan desarrollarse. Se incuban en oscuridad durante dos a cuatro meses y se pueden obtener una gran cantidad de raíces colonizadas, espora e hifas. Este método presenta alto riesgo de contaminación por bacterias y otros hongos (Ulla, sf.).

En arcilla expandida: el primer paso en la producción de inóculo de MVA es la colonización de plantas huésped con el hongo seleccionado. En recipientes de 7x10x10 cm se coloca arena, luego una capa de material fúngico definido (esporas o material recibido de otros laboratorios), una capa de arena, las semillas lavadas y desinfectadas y se cubren con arena. Se colocan en cámaras en condiciones controladas y a las tres semanas las raíces ya están fuertemente colonizadas. Las plantas se separan, se lavan, se desinfectan superficialmente si fuera necesario con etanol 70% durante dos minutos (Ulla, sf.).

El segundo paso consiste en lavar la arcilla, esterilizar con vapor dos períodos de cuatro h, enfriando a 20 °C entre cada uno. La arcilla se coloca en macetas de cinco litros de capacidad y se plantan dos plantas de las colonizadas en el paso anterior. Al cabo de tres o cuatro meses se corrobora la colonización microscópicamente con la técnica del clareado y tinción, se corta el riego para favorecer la esporulación y a la semana siguiente las plantas pueden cortarse y se deja secar en las macetas por tres semanas más. La arcilla se coloca en finas capas para su secado

rápido y puede ser almacenado en un lugar seco y fresco durante mucho tiempo (hasta tres años). Si el inóculo no presenta contaminantes, las raíces actúan como fuente adicional de infección, de otra manera habría que quitar cuidadosamente las raíces y secar rápidamente para reducir el crecimiento de saprófitos (Ulla, sf.).

A partir de rizósfera de plantas que han sido previamente micorrizadas en condiciones controladas con propágulos de una sola especie de hongo (stock de inóculo). El inóculo consiste en una mezcla de raíces micorrizadas y suelo adherido en el que existe micelio, esporas maduras, etc. Este método es sencillo y de bajo costo pero de alto riesgo de contaminación por patógenos si no se tiene el suficiente cuidado con la manipulación (Ulla, sf.).

Cultivo aeropónico: es un sistema en el cual las plantas colonizadas con MVA son suspendidas en una niebla de nutrientes generada por un disco de atomización o aerosol presurizado a través de boquillas. La solución nutritiva se mezcla en forma continua, con las raíces de las plantas, sin suelo. El ambiente muy aeróbico y pobre de nutrientes promueven una rápida y profusa colonización por las MVA. Este sistema permite una formación eficiente de MVA libres del sustrato y se usó para el desarrollo de *Glomus*, el proceso de producción del inóculo es de 12-15 semanas. Luego, se colectan las raíces y se cortan en trozos de 1 cm de longitud separando las esporas por lavado sobre un tamiz de malla gruesa. Las raíces se cortan en una procesadora de alimentos hasta obtener un producto de tamaño pequeño y uniforme, limpio y de alta densidad (Ulla, sf.).

2.2.9. Metodologías de tinción para observar la presencia de HMA

Las diferentes metodologías para observar la presencia de la simbiosis y de las estructuras de los HMA, contemplan que las muestras se sometan a: a) clareamiento, b) blanqueo, c) acidificación, d) tinción y e) eliminación de excesos de colorante (Bevege, 1968).

2.2.10. Conteo de esporas de hongos micorrícicos arbusculares

Para conteo se utiliza una caja de petri donde se ha trazado una cuadrícula de 5 mm x 5 mm, en la cual se depositan las esporas de HMA, una vez separadas. Se recogen en poca agua de tal forma que se reduzca el movimiento y se procede a recorrer toda la caja con el objetivo cuyo aumento permita distinguirlas claramente. Cuando la concentración de esporas es grande, se procede a tomar alícuotas de la muestra. Normalmente el conteo se expresa en número de esporas de HMA/100 gramos de suelo seco. (Sieverding, 1984; González, 1993; Gómez, 1997).

2.2.11. Esterilización superficial de esporas.

Cuando se requiere esporas para obtención en cultivos monospóricos o mixtos, las esporas se separan, evitando usar hexametafosfato de sodio (Calgon) que puede matarlas. Se recogen en embudos de vidrio, sobre papel filtro (50 µm), dependiendo de lo que se pretenda. Una vez las esporas se recogen en el filtro, se exponen a Cloramina T al 2% durante cinco minutos, luego se enjuagan cuatro o cinco veces con agua destilada estéril. Se cubren con solución de estreptomicina (200 ppm) por tres minutos. También pueden desinfectarse con hipoclorito de sodio al 0.5% por dos minutos. Una vez listas para inocular, se recogen con pinzas muy finas, como las usadas para el trabajo con nematodos o

las usadas en relojería. Se puede utilizar un poco de medio como PDA esterilizado, en el cual se sumerge primero la aguja, con el fin de facilitar que las esporas de HMA se adhieran (Sieverding, 1984, 1991; Sánchez de P., 1990; González, 1993). En caso de usarlas como inoculantes se depositan en el sustrato con el papel filtro o se colectan en agua destilada estéril en pequeños volúmenes.

2.2.12. Métodos de identificación de especies de HMA.

La utilización de hongos formadores de micorrizas arbusculares debe ser considerada en el diseño de cualquier sistema de producción agrícola, además de ser microsimbiontes, componentes inseparables de los agroecosistemas, realizan diversas funciones en su asociación con las plantas, pueden constituir sustitutos biológicos de los fertilizantes minerales (Thompson, 1991).

Entonces 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. Aparentemente, las especies de HMA no tienen especificidad en la elección de sus hospederos (Smith & Read, 1997). Sin embargo, diferencias en los efectos que las especies de HMA causan sobre el crecimiento de los individuos de especies vegetales, indican que éstas responden a especies específicas de HMA (Azcón & Barea, 1997) y consecuentemente, hay un aumento en la diversidad y productividad de las plantas en un ecosistema determinado (Van der Heijden, 1998). En Ecuador, la degradación y contaminación de los suelos, la aclimatación,

adaptación y multiplicación de los cultivos en diversas condiciones agroecológicas, son las mayores limitantes para la producción sostenible y eficiente.

Es aquí, donde los microorganismos tienen un gran potencial para contribuir a la solución de múltiples problemas de la agricultura, dentro de los cuales, los biofertilizantes con base en micorrizas son una alternativa para reducir pérdidas en los procesos de multiplicación, mejorar la aclimatación y nutrición de especies vegetales de importancia ecológica, ambiental y económica (Azcón & Barea, 1997).

Considerando que los hongos micorrízicos arbusculares colonizan aproximadamente el 90% de las plantas vasculares (Coyne, 2000) y que en los sistemas agroforestales (SAF) existe una organización heterogénea, traducido en un gran número de especies vegetales conviviendo en un mismo espacio de suelo, la posibilidad de encontrar asociaciones exitosas con diversas especies de HMA es alta. Es importante conocer que estos HMA están conservados en los SAF tradicionales, que por décadas han sido mantenidos por los agricultores, con bajos niveles de disturbio.

No obstante, es importante conocer el potencial que poseen para ser utilizados en la agricultura, forestación, reforestación, conservarlos en bancos de germoplasma ex situ o emplearlos en futuros trabajos de investigación, antes que sigan desapareciendo. Con los antecedentes antes expuestos en esta investigación, se planteó como objetivo aislar e identificar hongos formadores de micorriza arbusculares asociados a sistemas agroforestales con cacao *(Theobroma cacao L.).*

2.2.13. Métodos de propagación de cultivos puros de HMA.

La propagación de cultivos puros de HMA, presenta muchas dificultades debido a la imposibilidad de cultivar hongos que forman esta simbiosis (Glomeromycota) en condiciones axénicas, pues hay que tomar en cuenta aspectos como la capacidad del hongo para completar su ciclo de vida con suficiente producción de esporas y de estructuras intrarradicales, características del género o especies considerados (Declerck *et al*., 2005).

Por esta razón, la selección de inóculos de HMA se hace indispensable para el aislamiento de nuevas cepas que permitan generar el inóculo adecuado, de acuerdo a la región y al tipo de planta que se desea producir para obtener mayores beneficios sin perturbar el medio ambiente (Hernández & Salas, 2009).

Es por eso que se hace necesario extraer del suelo de interés dichos hongos, para propagarlos y después utilizarlos como bioinoculantes en los agroecosistemas con plantas micotróficas afines y compatibles con la micoflora del suelo. Las técnicas de propagación de HMAs in vivo que se utilizan comúnmente, como son el cultivo trampa en maceta, el cultivo con diferentes sustratos, o el cultivo hidropónico, reducen significativamente la eficiencia del cultivo de hongos de una sola especie o de un conjunto reducido de especies (Ortega Larrocea *et al*., 2008), además de que presentan el riesgo de contaminarse con otras especies (Declerck *et al*., 2005).

La técnica de cultivo por minirizotrón, ha recibido especial interés para caracterizar varios procesos biológicos tales como la producción de

raíces finas, longevidad de raíces, incrementos en la colonización, reducir el parasitismo e incrementar las probabilidades de obtención de cultivos puros. El sistema reduce el área de crecimiento de raíces, incrementa la concentración de CO_2 de la atmósfera del sustrato y con ello promueve la ramificación de hifas germinativas incrementando la posibilidad de colonización. Posteriormente el sistema se trasplanta a macetas con el mismo sustrato en donde se incrementa el nivel del mismo y se promueve un mayor desarrollo vegetal, estimulando la esporulación (Ortega *et al*., 2008).

2.2.14. Inoculación de hongos micorrícicos arbusculares en vivero.

(Sieverding, 1991) manifiestan que el uso de hongos micorrízicos, para la producción de las plantas en la etapa de vivero, se puede considerar como una práctica obligatoria del viverista con posibilidades económicas y ecológicamente justificables al aumentar la nutrición y calidad del cultivo y así la producción para contribuir a una agricultura más sustentable y menos dependiente de los insumas.

2.2.15. Potencial de la inoculación.

Según (Blanco & Salas, 1997), la inoculación puede ser benéfica cuando el suelo es de pobre calidad, la cantidad de micorrizas nativas es baja, las plantas responden en forma significativa a la micorrización y/o cuando se esteriliza total o parcialmente el medio. La mayor viabilidad económica de inocular se presenta en cultivos que requieren una fase de semillero o vivero (árboles y hortalizas), en la cual los costos de inoculación son menores y la colonización de las raíces por los hongos introducidos puede mantenerse y desarrollarse en las fases posteriores.

2.2.16. Suelos contaminados por fertilizantes.

Se ha calculado que en los últimos 50 años el uso de fertilizantes aumentó globalmente en un 50% el uso de fertilizantes (Davis *et al*., 2014). La utilización de fertilizantes es uno de los factores que contaminan y degradan el suelo, muchos de estos fertilizantes aumentan las concentraciones de los metales pesados perjudicando así a las plantas y al suelo. (Carrasco *et al*., 2008).

Así mismo se convierten en una amenaza importante para los sistemas acuáticos superficiales y subterráneos. La eutrofización de sistemas acuáticos como lagos es ejemplo de ello (Beauregard *et al.,* 2008); además de modificar los ciclos globales del fósforo y nitrógeno afectando la calidad del agua, ecosistemas acuáticos y las pesquerías (Foley *et al*., 2011).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

Se realizó en el “Laboratorio de entomología del Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana, departamento de Ucayali, ubicado en el Km. 12.400 de la Carretera Federico Basadre margen derecho, provincia de Coronel Portillo, período julio del 2017 hasta enero del 2018.



Figura 1. Plano de ubicación del laboratorio de entomología del IIAP, Región Ucayali.

Se realizó con muestras de inóculos primarios obtenido de una cama de multiplicación de HMA del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), inóculos proveniente de un agroecosistema de cacao del caserío El Milagro, distrito de Von Humboldt, coordenadas UTM: 494352 E, 9028651 N.

3.1.1. Características climáticas.

Zona cálido, húmedo y con bastantes lluvias concentradas casi todo el año, elevada precipitación pluvial alcanza una media anual de 2,000 mm la cual varía durante todo el año, con una temperatura que fluctúa entre los

19,7 ºC y 30,6 ºC, registrándose la más alta entre mayo y agosto, y las mínimas entre diciembre y marzo (OIGE, 2016).

3.1.2. Descripción del agroecosistema.

Plantación de siete años de edad en distanciamiento de 3 x 3 m, con cobertura kudzu *Pueraria phaseloides,* topografía ligeramente ondulada; poda de mantenimiento cada dos meses, abonamientos esporádicos de guano de isla y roca fosfórica, no se aplicaron productos químicos para el control de plagas y enfermedades (Rojas *et al*., 2014).

3.2. TIPO DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación es del tipo básico, tiene como finalidad la obtención y recopilación de información para ir construyendo una base de conocimiento la información previa existente, ya que con estos inoculantes puros se podrán seguir estudiando en plantaciones de Cacao.

3.3. NIVEL DE INVESTIGACIÓN

En el presente trabajo de investigación se aplicó los siguientes métodos:

3.3.1. Método descriptivo:

Por qué se midió y se evaluó y recolectó datos descriptivo cuantitativo (Hernández *et al*., 2006), recomiendan que deben medirse evalúan o recolectarse datos sobre diversos conceptos (variables), aspectos, dimensiones o componentes del fenómeno a investigar. En cuanto a nuestra investigación el método aplicado permitió recolectar datos sobre las características morfológicas de las esporas extraídas a fin de conocer la especie del hongo de micorrícicos arbusculares.

3.3.2. Método experimental:

Se manipularon las variables (los géneros de hongos micorrícicos arbusculares).

3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.4.1. Población:

La población estuvo conformada por las especies de Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) nativos que se encuentran en una cama de multiplicación del IIAP.

3.4.2. Muestra:

La muestra se estimó en base a las especies más abundantes, las cuales estuvieron conformadas por dos especies de Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) nativos.

3.5. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- Extracción de muestras del inóculo primario de las camas de multiplicación.
- Manipulación (separación) de esporas de hongos micorrícicos arbusculares en laboratorio.
- Observación de las esporas bajo microscopio.
- Elección de géneros de hongos micorrícicos arbusculares que conformaran los tratamientos.
- Desinfección de esporas y semillas de *Brachiaria decumbens.*
- Esterilización del suelo empleado para los tratamientos.
- Caracterización de los géneros de HMA.
- Multiplicación de las esporas aisladas.
- Evaluación de número de esporas multiplicadas en los tratamientos.

- Evaluación del porcentaje de infección en raíces de *Brachiaria decumbens.*

3.6. PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

3.6.1. Caracterización de especies de HMA.

Se utilizó una cama de multiplicación de hongos micorrícicos arbusculares del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana sede Ucayali, que fue instalada hace 4 años, procedentes del caserío El Milagro – Von Humboldt.

Siete días previos a la extracción de las muestras del inóculo primario se podó la planta trampa de las camas de multiplicación, cumplido los días se extrajo en zigzag las muestras de tres puntos, cada uno con un área de 10x10x5 cm y se guardaron en bolsas plásticas.

Para la caracterización de las especies de hongos de micorrícicos arbusculares se procedió a separar las esporas del suelo por el método de tamizado húmedo y decantación (Sánchez de Prager *et al.,* 2010), para lo cual se pesó 20 gr de suelo se homogenizo en un vaso precipitado con agua, este contenido se agregó en una probeta de 500 ml, y se realizó 5 movimientos de vaivén seguido del proceso de decantación por 15 segundos. Concluido el tiempo se vertió el sobrenadante en tamices de 250 y 45 µm.

El contenido del tamiz de 45 µm se colectó en tubos de centrífuga se agregó agua hasta los 25 ml y se completó hasta los 50 ml con solución azucarada al 70%. Los tubos debidamente rotulados se centrifugaron a 4000 rpm por 4 minutos. El sobrenadante se colectó en el tamiz de 45 µm con la ayuda de una piseta se enjuagó a las esporas y se colectaron en una

placa petri, las esporas colectadas se observaron en el microscopio Carl Zeiss Primo Star (aumento de 10 y 40x) y se describieron las siguientes características morfológicas: tamaño, color, forma, tipo de hifa de soporte, reacción de melzer.

3.6.2. Aislamiento de esporas de HMA.

Las esporas de hongos micorrícicos arbusculares fueron aisladas en grupos de acuerdo a sus características morfológicas, se seleccionó los morfotipos más abundantes, los cuales lo conformaron dos especies de hongos micorrícicos arbusculares y se las agruparon en monospórico (una especie) y consorcio (dos especies).

Las esporas aisladas fueron esterilizadas superficialmente usando hipoclorito de sodio al 0.5% por 2 minutos (Sieverding, 1984).

3.6.3. Multiplicación esporas de HMA aisladas.

Se desinfectó superficialmente las semillas de *Brachiaria decumbens* con solución de hipoclorito de sodio al 5% por 5 minutos, se procedió a lavar tres veces, cinco minutos por vez, con agua destilada estéril (García & González , 2009). Así mismo se esterilizó el sustrato solido el cual estaba compuesto por suelo estéril (arena más suelo en proporción 1:1). La esterilización del sustrato se realizó en autoclave por 3 días durante 1 hora/día, a 120 °C y 15 libras de presión (Sánchez de Prager *et al.,* 2010*).*

Se alistaron 72 vasitos de icopor previamente desinfectadas en el cual se colocó sustrato sólido, la planta trampa pre germinada y las esporas aisladas en la raíz de la planta trampa.

El sistema se mantuvo por un periodo de cuatro semanas en invernadero, se instaló un hidrómetro para la medición la humedad relativa

y temperatura, después de este tiempo fueron trasplantadas en una maceta de 1 litro utilizando el mismo sustrato. Después de tres meses, se dejó de regar y una vez seca la parte aérea la planta se cortó para dejar secar el suelo y promover la esporulación.

Para la evaluación del porcentaje de colonización de la planta trampa se utilizó el método no sistemático de estimación de colonización HMA en raíces, previo a ello para el proceso y preparación se utilizó el método de tinción y vinagre una técnica simple de tinción de HMA (Vierheilig *et al.,* 1998). Seleccionando y limpiando las raíces, se procedió el aclarado de raíces con KOH al 10% se puso en baño maría por 1 hora, a 90 °C y para la tinción de raíces se utilizó vinagre venturo con 5% de ácido láctico más tinta pelikan rojo y se puso nuevamente en baño maría.

Tabla 2. Método no sistemático de estimación de colonización HMA en raíces.

Clases	Intensidad	Porcentaje (%)	Descripción
1	1	0-5	Escazas zonas colonizadas
2	2	6-25	Zonas pequeñas
3	3	26-50	Zonas más extensas
4	4	51-75	Sólidamente colonizada
5	5	76-100	Sin zonas no colonizadas

Fuente: Ruiz *et al*., 2011.

Para la evaluación de número de esporas se utilizó la misma metodología del procedimiento de caracterización y el conteo de espora se realizó en microscopio.

3.7. DISEÑO ESTADÍSTICO

Se empleó un diseño completo al azar (DCA), con 12 unidades experimentales, las que fueron distribuidas en 3 tratamientos cada uno constituido por un género de hongo micorrícico arbuscular: T1: *Glomus sp*., T2: *Acaulospora sp*., T3: *Glomus sp*. + *Acaulospora sp*. Cada tratamiento

conto con 4 repeticiones, cada unidad experimental comprendieron 6 macetas, haciendo un total de 72 macetas en el ensayo, se tomaron tres macetas por cada tratamiento, Las evaluaciones se realizaron en tres periodos, a 40, 80 y 140 días después de inoculadas las plantas (cuatro repeticiones por tratamiento en cada evaluación). Se realizó un análisis de varianza para ver si hay diferencia significativas entre tratamientos y comparación de medias para lo cual se utilizó la prueba Tukey utilizando el software SPSS 21.

3.8. TRATAMIENTO DE DATOS

Los datos registrados del porcentaje de colonización, peso fresco radicular, peso fresco foliar y número de esporas obtenidos por inoculante fueron procesados en Excel y programa estadísticos SPSS 21. Para evaluar las diferencias significativas entre tratamientos se realizó previamente las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza (Tabla 1A) los datos de cada evaluación por variable que cumplieron ambos supuestos se realizó la prueba paramétrica del ANVA y los que no cumplieron se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis. En los datos que cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza con diferencias significativas entre tratamientos se realizó la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Características morfológicas de esporas de hongos micorrícicos arbusculares

Se caracterizó dos géneros de hongos micorrícicos arbusculares provenientes de un inoculante primario del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) – Ucayali. Los géneros fueron *Glomus sp.* y *Acaulospora sp.*

4.1.1. Género *Glomus sp.*

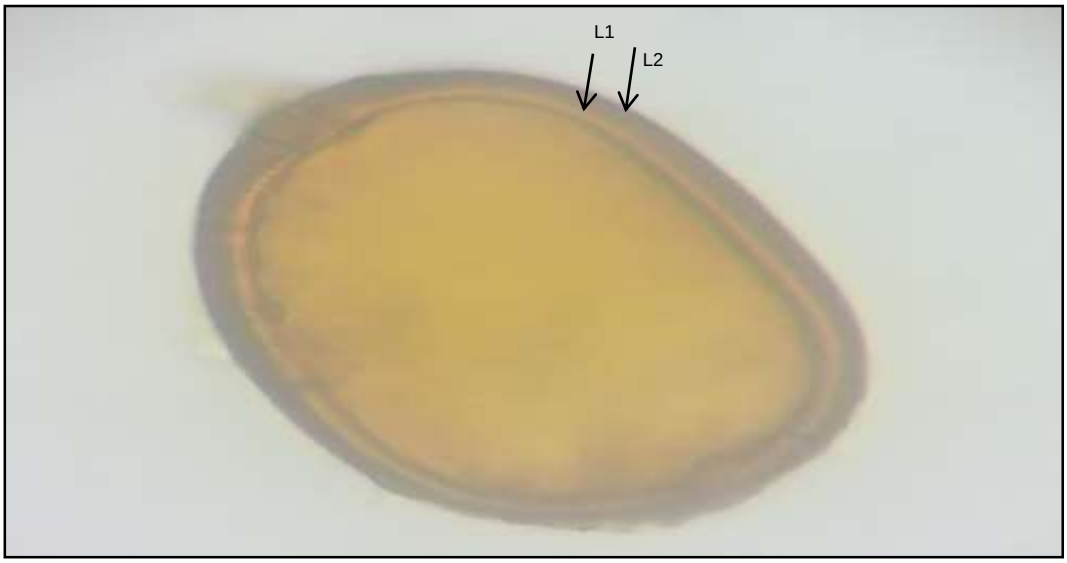


Figura 2. Espora de HMA perteneciente al género *Glomus* sp.

- Tamaño: 120 μm.
- Color: Amarillo-naranja.
- Forma: Sub globosa
- Estructura superficial: Liso hasta áspero, posee dos paredes.
- Tipo de hifa de soporte: Vertical.

Coincidimos con (*Rojas, 2010*) en la predominancia del género *Glomus sp.* y *Acaulospora sp.*, fue las más abundantes encontradas, así mismos las características de las esporas pertenecientes al género *Glomus sp* fueron diferentes respecto al tamaño de la espora siendo más grandes

con 190 micras de largo y 110 micras de ancho, no se encontró paredes de la espora, coincidiendo con el color amarillo – naranja, la forma sub globosa y el tipo de hifa de soporte fue vertical.

4.1.2. Género *Acaulospora sp.*

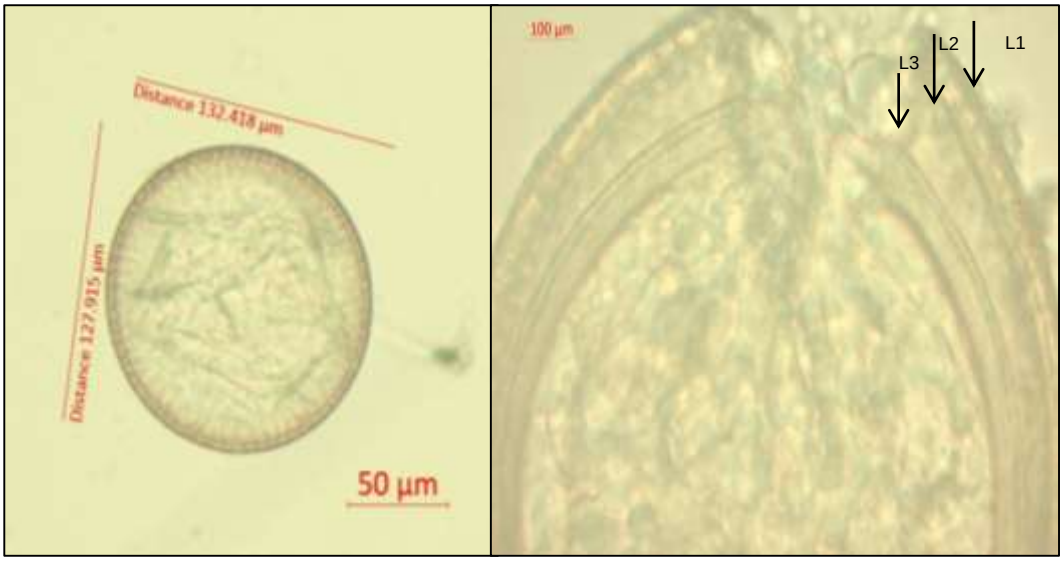


Figura 3. Espora de HMA perteneciente al género *Acaulospora sp*.

- Tamaño: 128 a 132 µm.
- Color: Hialina.
- Forma: Globosa.
- Estructura superficial: Ornamentada posee tres paredes, mediana delgada y hialina de la que germina la espora.
- Tipo de hifa de soporte: Vertical.

Las características de la espora del género *Acaulospora sp* coincidimos con (*Rojas, 2010*), tuvieron 3 paredes, su estructura superficial también son ornamentadas y la misma forma globosa, fueron diferentes respecto al tamaño de la espora 160 micras siendo más grandes, No posee tipo de hifa de soporte a diferencia de las encontradas en nuestros resultados posee hifa vertical.

4.2. Concentración de esporas en el proceso de obtención de inoculantes puros de HMA.

Tabla 3. Medias del número de esporas por evaluación y tratamiento.

Tratamiento	N° de esporas*		
	40ddi	80ddi	140ddi
Monospórico 1	0.00 a	0.00 a	0.00 c
Monospórico 2	0.00 a	1.00 a	4.00 b
Consorcio	0.25 a	0.25 a	7.25 a

*Valores promedio seguida por diferente letra indican diferencias significativas (p<0,05) entre ellas.

La prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para el número de esporas a los 40 ddi (días de inoculadas) (Tabla 3A) y 80 ddi (Tabla 5A) no muestran diferencias significativas entre tratamientos. El análisis de varianza a los 140 ddi muestran diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 6A).

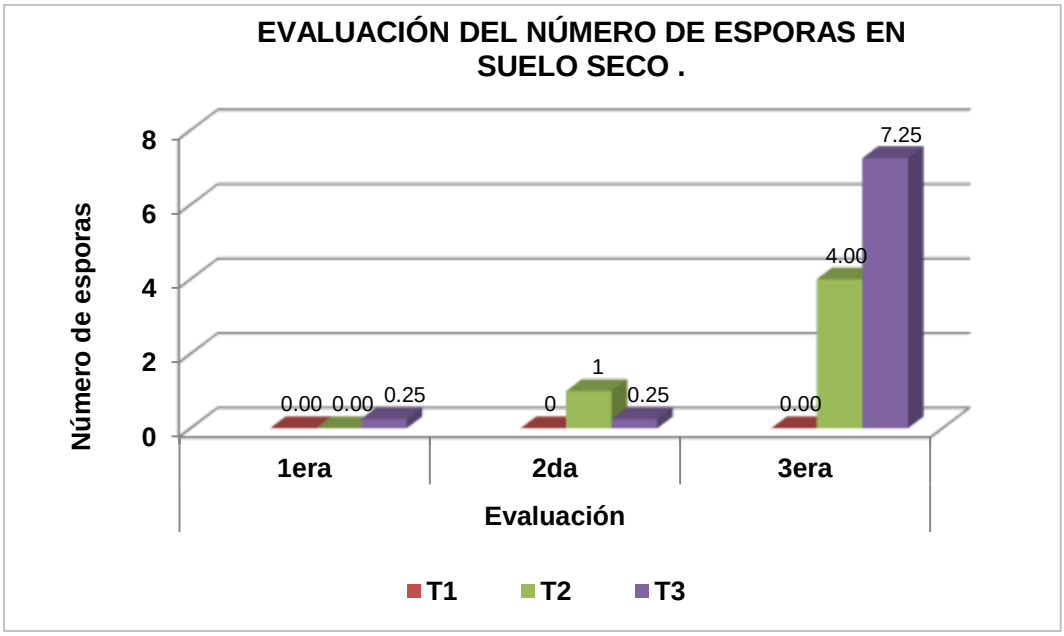


Figura 4. Evaluación del número de esporas en suelo seco.

En la tabla 3 y figura 4, se muestra la comparación de medias por tratamiento y a los 140 ddi la prueba de tukey muestra la formación de tres grupos siendo superior el tratamiento consorcio con una media de 7.25 seguido del tratamiento monospórico 2 con una media de 4.00. Además se observa que en la primera evaluación realizada a los 40 ddi las plantas solo se registró valor para el tratamiento consorcio, la misma que se mantuvo en la segunda evaluación realizada a los 80 ddi y se incrementó en la tercera evaluación a los 140 ddi, mientras que para el tratamiento monospórico 2 se registró valor a partir de los 80 ddi incrementándose a los 140 ddi.

Para todos las medias reportadas las esporas encontradas fueron del género *Acaulospora sp.*, no se encontraron esporas del género *Glomus sp.*, al respecto (Morton y Benny, 1990), observaron que algunas especies presentes en los suelos pueden disminuir su número o incluso desaparecer, cuando se intenta multiplicar en macetas de propagación, debido a factores ambientales desconocidos o a las condiciones del invernadero; sin embargo (Pérez, 2010) menciona que esto se debe a factores como la humedad del suelo, disponibilidad de nutrientes y pH, que influyen en la colonización y en el número de esporas producidas por los hongos formadores de micorrizas arbusculares coincidiendo con nuestro resultados.

(Clark, 1997), menciona que muchos aislamientos fúngicos de AM actúan en conjunto en rangos bastante amplios de pH del suelo. El pH del sustrato empleado fue de 7.91 y 7.64 los cuales se encontraron dentro del rango de desarrollo para *Acaulospora sp* , como menciona (Sieverding,

1991) que en *Acaulospora longula, A. morrowae, A. myriocarpa y A. scrobiculata* encontró rangos de pH 3.8 a 8.0, así mismo para el género *Glomus* menciona a *G. mosseae* en rangos menores a 5.5 mientras que las especies de *G. aggregatum*, *G. versiforme* en rangos de 3.8 – 8.0, demuestra que en rangos de pH también varían la presencia y número de especies de un mismo género, demostrando el pH que se obtuvo en los tipos de sustratos utilizados no favoreció el crecimiento de la especie de *Glomus* aislada.

4.3. Porcentaje de colonización micorrícica en el proceso de obtención de inoculantes puros de HMA.

Tabla 4. Medias del porcentaje de colonización por evaluación y tratamiento.

Tratamiento	% de Colonización*		
	40ddi	80ddi	140ddi
Monospórico 1	0.00	0.50	1.75 b
Monospórico 2	0.00	0.00	5.25 a
Consorcio	0.00	0.00	1.63 b

*Valores promedio en una misma columna seguida por diferente letra indican diferencias significativas ($p<0,05$) entre ellas.

La prueba nó paramétrica de Kruskal Wallis para el porcentaje de colonización a los 80 ddi (Tabla 9A) no muestra diferencias significativas; el análisis de varianza para el porcentaje de colonización a los 140 ddi, si mostró diferencias significativas (Tabla 10A). En la tabla 4 y figura 5, se muestra la comparación de medias para cada evaluación y a los 140 ddi el análisis de comparación de medias de tukey (Tabla 11A) muestra la conformación de dos grupos entre los valores de los tratamientos siendo superior el tratamiento consorcio. En la tabla 4 se evidencia que a los 40 dias de inoculadas las plantas (ddi) no hubo colonización; a los 80 ddi se

observó colonización solo para el tratamiento monospórico 1 y a los 140 ddi se observó colonización en todos los tratamientos siendo esta mayor en el tratamiento monospórico 2 con una media de 5.25.

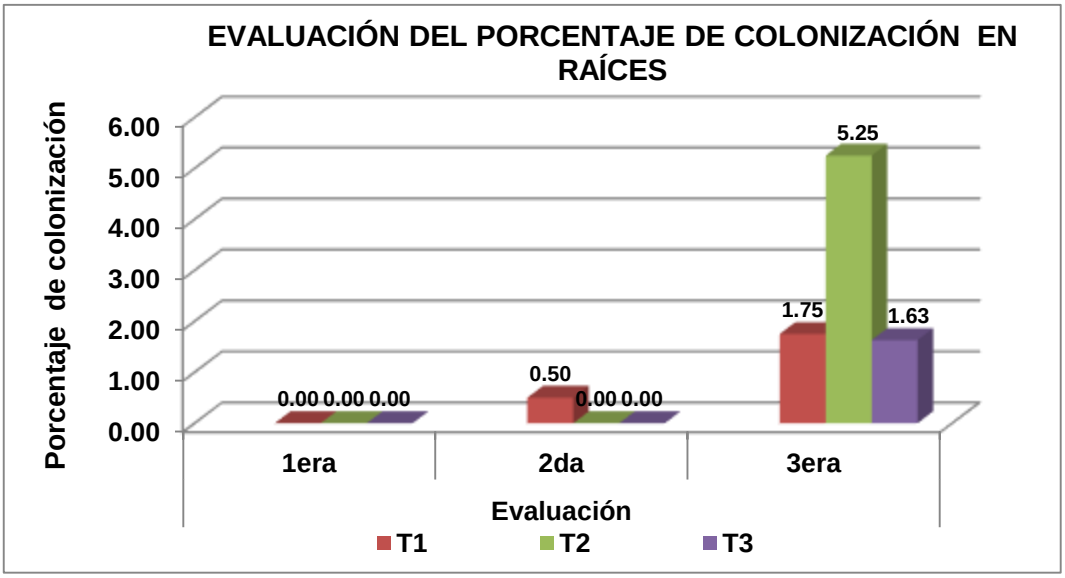


Figura 5. Evaluación de porcentaje de colonización en raíces de *Brachiaria decumbens.*

(Tommerup, 1983) menciona que las esporas envejecidas de algunas especies tienen tasas de germinación más rápidas que los recién formados, en periodos de tiempo que van desde unas pocas semanas hasta varios meses, así mismo (Siqueira *et al.,* 1984) mencionan que la germinación de las esporas de los hongos VAM se ve afectada por el pH del suelo. Al respecto (Silva *et al*., 1994) observaron alta germinación a pH 4.2 a 5.1 (> 80%) y baja germinación en el pH del suelo > 7.0 (<10%). Así mismo (Mosse & Hepper ,1975) mencionan que los géneros de *Gigaspora* y *Acaulospora* tienen un pH ácido óptimo, mientras que los géneros de *Glomus* tienen un pH neutro a alcalino óptimo. El pH del sustrato favoreció para que la espora del género *Glomus sp.* inicie su proceso de germinación a los 80 ddi mientras que el género *Acaulospora sp.* lo realizo a los 120 ddi con valores bajos, esto se debió probablemente a una ligera reducción del

pH del sustrato, por el contrario (Hepper, 1984) observó que la germinación de esporas de la especie *A. laevis* fue más alta en suelos con pH más bajo (4.2 y 4.9) y más baja en suelos con pH más alto (7.1 y 8.1) coincide en ellos los experimentos realizados en macetas por (Tavares & Hayman, 1983) quienes han demostrado que *A. laevis* puede ser muy ineficiente para promover el crecimiento de las plantas en suelos neutros, en comparación con los suelos ácidos y que esto puede atribuirse en parte a los bajos niveles de infección en las raíces del huésped en estas condiciones, Parece que el predominio de *A. Laevis* en suelos ácidos y su capacidad limitada para colonizar raíces en suelos neutros o alcalinos pueden atribuirse, al menos parcialmente, a su germinación preferencial en suelos con un pH inferior a 6.

Por otro lado (Clark, 1978) manifiesta que las esporas de hongos VAM exhiben adaptación fisiológica a temperatura, esto está sustentado por Gavito et al. (2005) quienes sugirieron que la temperatura óptima para el desarrollo de hongos AM estaba entre 18 ºC y 30 °C, pero que también depende de la especie del hongo AM y trabajando con la especie *Glomus mosseae* aislados en la ciudad de Washington tuvo máxima germinación a 20 °C, mientras que lo óptimo para las *Gigaspora coralloidea* de la ciudad de Florida, tenían 34°C *Gigaspora margarita* aislados en la Florida no germinó por debajo de 15 °C y tuvo una germinación óptima a 31 °C; (Schenck *et al.,* 1975) encontraron germinación de esporas de *Glomus coralloidea* por encima de 34 °C, encontrando diferencias en los porcentajes de la colonización de la raíz lo que también fue demostrado por (Haugen & Smith, 1992) quienes mostraron menor colonización de raíces

de anacardos (*Anacardium occidentale*) por *Glomus intraradices* a los 38 °C en comparación con 22 °C; mientras que (Martin & Stutz, 2004), reportan que la colonización de las raíces de pimiento (*Capsicum annuum*) de *Glomus* aumentaron a 32.1 – 38 °C en comparación con 20.7 – 25.4 °C. (Zhu *et al.,* 2011) encontraron que no hubo significante cambio en la colonización de raíces de maíz (*Zea mays*) por *Glomus etunicatum* a los 35 y 40 °C.

4.4. Resultados complementarios

4.4.1. Análisis del sustrato empleado (suelo estéril).

Tabla 5. Caracterización de sustratos empleados.

Sustrato	Ph (1:1)	M.O. (%)	P (ppm)	K (ppm)	%Sat. de bases	Clase Textural	CIC	Ca^{+2}	Mg^{+2}	K^{+}	Na^{+}
							meq/100g				
1	7.91	0.88	1.2	50	100	Franco arenoso	6.40	5.57	0.57	0.19	0.07
2	7.64	0.17	11.6	45	100	Franco arenoso	6.88	6.19	0.50	0.10	0.10

Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Agua y Fertilizantes. Universidad Nacional Agraria La Molina.

En la tabla 5 se muestran los resultados de la caracterización de los sustratos esterilizados empleados sustrato 1 con pH 7.91 suelo básico, sustrato 2 con pH de 7.64 suelo básico.

4.4.2. Promedio del peso fresco foliar.

Tabla 6. Medias del peso fresco foliar por evaluación y tratamiento.

Tratamiento	Peso fresco foliar (gr)		
	40ddi	80ddi	140ddi
Monospórico 1	0.035ª	0.430a	1.035ª
Monospórico 2	0.050ª	0.688a	1.570ª
Consorcio	0.180ª	0.598a	2.280ª

La prueba no paramétrica de KrusKal Wallis para el peso fresco foliar a los 40 ddi no mostró estadísticamente diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 13A).A los80 ddi el análisis de varianza no muestra estadísticamente diferencias significativas (Tabla 14A), así mismo a los 140 ddi las plantas la prueba no paramétrica de KrusKal Wallis no muestra diferencias significativas (Tabla 16A). En la tabla 4 se muestra las medias obtenidas por cada tratamiento a los 40, 80 y 140 ddi.

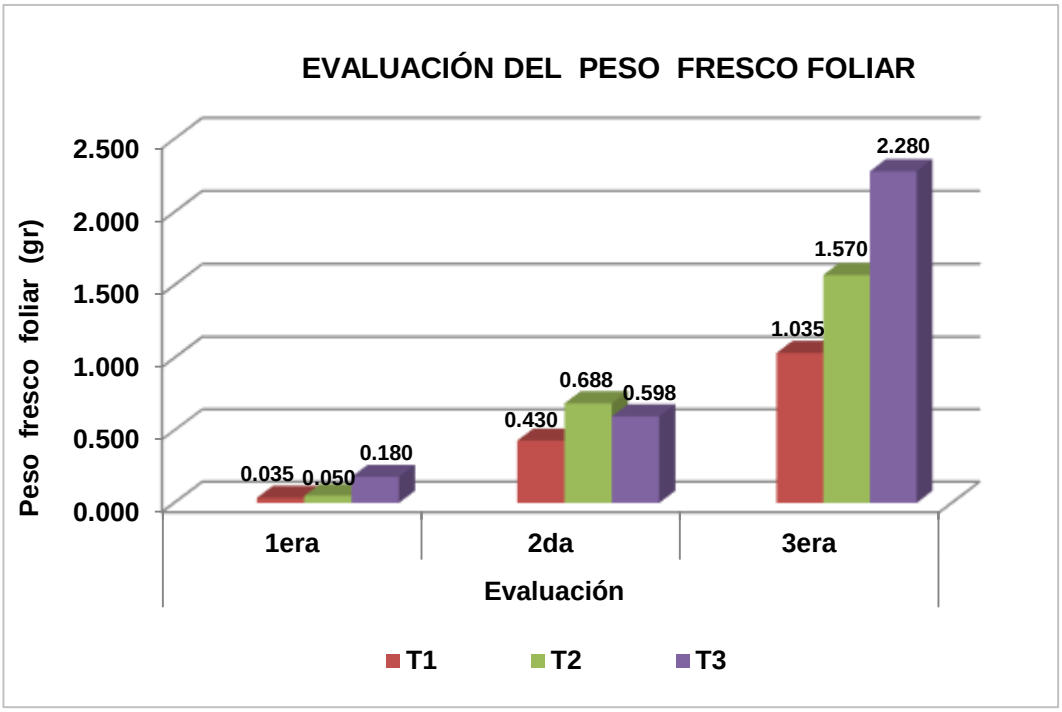


Figura 6. Evaluación del peso fresco foliar.

4.4.3. Promedio del peso fresco radicular

Tabla 7. Medias del peso fresco radicular por evaluación y tratamiento.

Tratamiento	Peso fresco radicular (gr)		
	40ddi	80ddi	140ddi
Monospórico 1	0.393ª	0.975a	0.140ª
Monospórico 2	0.490ª	0.700a	0.138ª
Consorcio	0.340ª	0.103a	0.220ª

El análisis de varianza para el peso fresco radicular a los 40 ddi no mostró estadísticamente diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 17A). A los 80 ddi la prueba no paramétrica de KrusKal Wallis no muestra estadísticamente diferencias significativas (Tabla 19A), así mismo a los 140 ddi la prueba no paramétrica de KrusKal Wallis no muestra diferencias significativas (Tabla 21A). En la tabla 6 se muestra las medias obtenidas por cada tratamiento a los 40, 80 y 140 ddi.

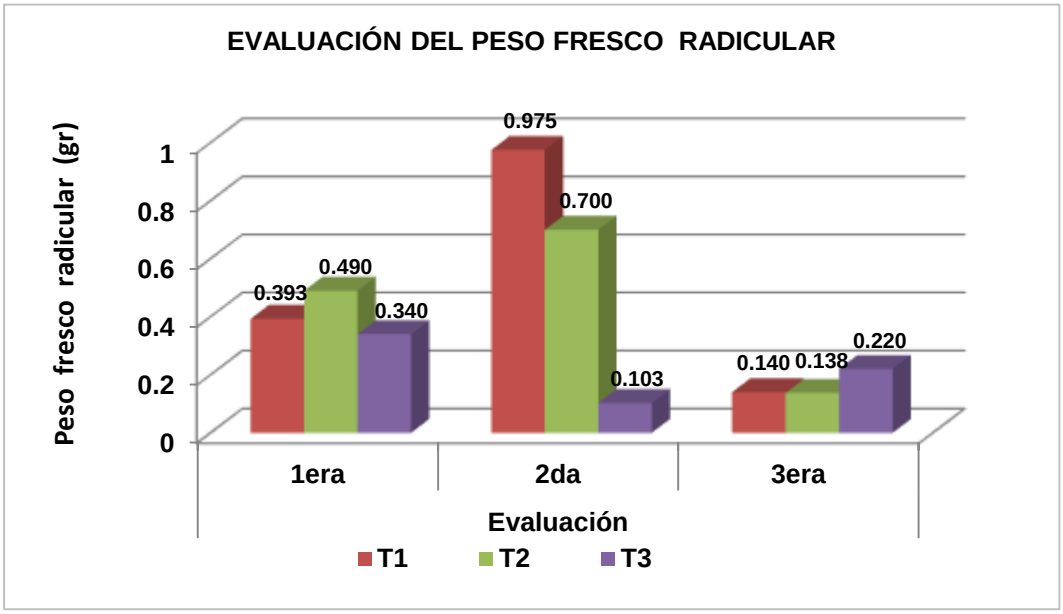


Figura 7. Evaluación de peso fresco radicular.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

1. Se obtuvo 36 inoculantes puros de hongos micorrícicos arbusculares.
2. Las características morfológicas de las esporas de hongos micorrícicos arbusculares de género *Glomus sp* fueron: tamaño de 120 μm, color amarillo- naranja, forma sub globosa, estructura superficial liso a áspero con dos paredes y tipo de hifa de soporte vertical; género *Acaulospora sp: tamaño* de 128 a 132 μm, color hialina, forma globosa, estructura superficial ornamentada posee tres paredes, mediana delgada y hialina de la que germina la espora, tipo de hifa de soporte vertical.
3. La concentración de esporas en el proceso de obtención de inoculantes puros de hongos fueron los siguientes: T1 Monospórico (*Glomus sp)* se obtuvo (0) (0) y (0) número de esporas y con T2 Monospórico *(Acaulospora sp*) se obtuvo (0) (1) y (4) número de espora, en el proceso de obtención del inoculante puro de HMA del consorcio: se desarrolló solo el género *Acaulospora sp.* se obtuvo (0.25) (0.25) y (7.25) número de esporas.
4. El porcentaje de colonización micorrícica fue: T1 Monospórico (*Glomus sp*) se obtuvo (0 %) (0,50 %) y (1,75 %) y T2 Monospórico *(Acaulospora sp*) se obtuvo (0 %) (0 %) y (5,25 %), consorcio se obtuvo (0%) (0%) y (1,63%).

5.2. RECOMENDACIONES

Luego de haber analizado los resultados obtenidos, se recomienda lo siguiente:

1. Para obtener inóculos puros de hongos micorrícicos arbusculares monospórico del género *Glomus sp* y en consorcio es necesario mayor tiempo de evaluación para saber exactamente en cuantos meses empieza la esporulación.
2. Obtener inóculos puros de hongo micorrícicos arbusculares de otros cultivos agroforestales con el fin de comparar su efectividad.
3. Hacer estudios sobre la presencia de los hongos micorrícicos arbusulares a nivel de especies asociados a diferentes cultivos.
4. Realizar un inventario de los hongos micorrícicos arbusulares presentes en las diferentes zonas de la región.
5. Continuar con la investigación para que se compruebe la efectividad de los inóculos en cuanto a la reducción de fertilizantes sintéticos aplicando en plantaciones de cacao.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Aguilar-Ulloa, W.; Arce-Acuña, P.; Galiano-Murillo, F.; Torres, T. (2015). Aislamiento de esporas y evaluación de métodos de inoculación en la producción de micorrizas en cultivos trampa. Tecnología en Marcha. Edición Especial Biocontrol. Pág. 5-14.

Azcón, C.; Barea, J. (1997). Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture significance and potentials. scientia horticulture 68:1-24.

Bagayoko, M.; George, E.; Römheld, V.; Buerkert, A. (2000). Effects of mycorrhizae and phosphorus on growth and nutrient uptake of millet, cowpea and sorghum on a West African soil. The Journal of Agricultural Science, 135(4), 399-407.

Beauregard, M.; Hamel, C.; St.-Arnaud, M. (2008). Arbuscular Mycorrhizal Fungi Communities in Major intensive North America grain productions. En: Siddiqui, Akhtar, Futai (eds.), Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry. 1st Ed. Springer. (pp 135-150).

Bartra, R. (2018). Efecto de la procedencia HMA, dosis de inoculación y fertilización en el desarrollo de plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en etapa de vivero. Universidad Nacional Intercultural de la Amazonia. Facultad de Ingeniería y Ciencias Ambientales. 2018.

Beltrán, P. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 15(1), 101-113.

Bevege, D. (1968). A rapid technique for clearing tannins and staining intact roots for detection of mycorrhizas caused by Endogone spp. & some records of infection in Australasian plants. Trans Br Mycol Soc 51: 808–810.

Bhardwaj, D.; Ansari W.; Sahoo, K.; Tuteja, N. (2014). Biofertilizers function as key player in 81 Rev. Colomb. Biotecnol. Vol. XX No. 1 Enero - Junio 2018, 68 - 83 sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. Microbial Cell Factories, 13(66), 1-10.

Blanco, A.; Salas, A. (1997). Micorrizas en la agricultura: contexto mundial en la investigación realizada en Costa Rica. Agronomía Costarricense (Costa Rica) 21(1): 5567.

Brundrett, C.; Piché, Y.; Peterson, R. (1984). A new method for observing the morphology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. Canadian Journal of Botany, 62:2128-2134.

Brundrett, M.; Bouguer, N.; Dell, B.; Malajczuck N. (1996). Working with mycorrhizae in forestry and agriculture.Canberra, AU. ACIAR Monograph 32.374. Pirie Printers 369.

Calderon, M. (2011). Evaluación de tres aislamientos de hongos formadores de micorriza arbuscular en arveja china (pisum sativum L. var. Macrocarpon) y arverja dulce (pisum sativum L. var. Saccharatum) *bajo invernadero*. Bogota.

Cameron, D. (2010). Arbuscular mycorrhizal fungi as (agro) ecosystem engineers. Plant and Soil 333:1-5.

Canchachí, V. (2000). Efecto de la inoculación bruta de micorriza V.A. y fertilización fosfatada en el cultivo de coca (*Erythroxylum coca Lam.*). Universidad Nacional Agraria de la Selva Tingo María. Facultad de Agronomía. Tingo María.

Carrasco, E. (2008). Metales pesados y biodisponibilidad. Chile: Facultad de ciencias Agronómicas.

Clark, C. (1978). Requirements for germination and growth of VA mycorrhizal spores. Rothamsted Experiment Station Annual Re- port, 1978. Part 1. p. 234.

Clark, R. (1997). Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plant growth and mineral acquisition at low pH. *Plant and soil*, *192*(1), 15-22.

Carreón, Y.; Jerónimo-Treviño, E.; Beltrán-Nambo, M.; Martínez-Trujillo, M.; Trejo Aguilar, D.; Gavito, E. (2013). Aislamiento y propagación de cultivos puros de hongos micorrízicos arbusculares provenientes de huertas de aguacate con diferente manejo agrícola por la técnica de minirizotrón. *Revista mexicana de micología*, *37*, 29-39.

Collins, Q. (1999). Biodiversity in agroecosystems. CRC Press LLC.: Boca Raton.

Corwell, W.; Bedford, B.; Chapin, C. (2001). Ocurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in a phosphorus poor wetland and mycorrhizal response to phosphorus fertilization. American Journal of Botany, 88 (10), p. 18-24.

Coyne, M. (2000). Microbiología del suelo. Un enfoque exploratorio. Micorrizas. Paraninfo. Madrid, España. 416 p.

Cruz, Y.; García, M.; León, Y.; Acosta, Y. (2014). Influencia de la aplicación de micorrizas arbusculares y la reducción del fertilizante mineral en plántulas de tabaco. Cultivos Tropicales, 35(01), 21-24.

Cuenca, G.; Cáceres, A.; Oirdobro, G.; Hasmy, Z.; Urdaneta, C. (2007). *Las micorrizas arbusculares como una alternativa de agricultura sustentable en áreas tropicales*. Interciencia, 32(1), 23-29.

Dávila L.; Ramos, F.; Rosales, C. (2009). Multiplicación de hongos micorrizicos arbusculares ma nativos de cultivo de cacao (Theobroma cacao) en maíz

(Zea mays) bajo distintos tratamientos agronómicos .Universidad Popular del Cesar. Facultad de Ciencias Básicas y Educación Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental Valledupar 2009.

De las Heras.; Fabeiro, C.; Meco, R. (2003). Fundamentos de la agricultura ecológica: realidad actual y perspectivas. Universidad de Castilla, La Mancha, España. pp 16-19.

Decara, L.; Sandoval G.; Claudio, F. (2004). «El uso de biodigestores en sistemas caprinos de la provincia de Córdoba». «Tecnologías que mejoren la actividad ganadera, favoreciendo el cuidado ambiental», en 27 Congreso Argentino de Producción Animal, 2004.

Declerck, S.; Segui, S.; Dalpé (2005). The monoxenic culture of arbuscular mycorrhizal fungi as toll for germplasm collections. In: Declerck, S., Strullu, G, Fortin, A. (eds). In vitro culture of mycorrhizas. Spinger-Verlag. Berlin, Heidelberg. pp. 17-30.

Fidelibus, M.; Martin, A.; Stutz, C. (2001). Geographic isolates of Glomus increase root growth and whole-plant transpiration of citrus seedlings grown with high phosphorus. Mycorrhiza, 10(5), 231-236.

Foley, J.; Ramankutty, N.; Brauman, K.; Cassidy, E.; Gerber, S.; Johnston, M.; Balzer, C. (2011). Solutions for a cultivated planet. Nature 478, 337-342.

Friberg, S. (2001). Distribution and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in traditional agriculture on the Niger island delta, Mali west Afríca. CBM:s Skriftserie 3: 53-80.

Gavito, E.; Olsson, A.; Rouhier, H.; Medina-Peñafiel, A.; Jakobsen, I.; Bago, A.; Azcón-Aguilar, C.; (2005). Temperature constraints on the growth and

functioning of root organ cultures with arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, *168*(1), 179-188.

Gerdemann, W.; Trappe, M. (1973). The Endogonales in the Pacific Northwest, Mycol. Mem. 5, pp. 29-30.

Gerdeman, W. (1968). Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. annu. rev. phytopathology 6: 397-418.

Gómez, E. (1997). Estimación de algunos agentes biológicos del suelo asociados con el manejo del cultivo de la yuca Manihot esculenta Crantz, en la costa norte de Colombia. Tesis de Maestria. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. 98 p.

González, M. (1993). La endomicorriza vesículo-arbuscular. Manual de Agromicrobiología. Editorial Trillas, México. 144.

Gosling, P.; Hodge, A.; Goodlass, G.; Bending, G. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. Agriculture, Ecosystems & Environment, 113(1-4), 17-35.

Guevara, B. (2008). Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. Revista tecnología en marcha. Costa Rica.

Harrier, L.; Watson, C. (2004). The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. Pest Management Science, 60(2), 149-157.

Haugen, L.; Smith, S. (1992). The effect of high temperature and fallow period on infection of mung bean and cashew roots by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus Glomus intraradices. *Plant and Soil*, *145*(1), 71-80.

Hepper, C. (1984). Regulation of spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus Acaulospora laevis by soil pH. *Transactions of the British Mycological Society*, *83*(1), 154-156.

Hernández, W.; Salas, E. (2009). La inoculación con Glomus fasciculatum en el crecimiento de cuatro especies forestales en vivero y campo. Agronomía Costarricense 33:17-30.

Huayman, D. (1987). VA mycorrhizas in field crop systems. Ecoph ysiology of VA micorrhizal Plants. Florida. 171-192.

INVAM (International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi). sf. Arbuscular mycorrhizal fungi. Key to fungi in glomales. Disponible en http:// invam.caf.wvu.edu/index.html.

Lekberg, Y.; Koide, R. (2005). Is plant performance limited by abundance of arbuscular mycorrhizal fungi? A meta-analysis of studies published between 1988 and 2003. New Phytologist, 168(1), 189-204.

Li, Z.; Liu, L.; Chen, J.; Y Teng, H. (2016). Cellular dissolution at hypha-and spore-mineral interfaces revealing unrecognized mechanisms and scales of fungal weathering. Geology, 44(4), 319-322.

Martin, C.; Stutz, J. (2004). Efectos interactivos de la temperatura y los hongos micorrízicos arbusculares sobre el crecimiento, la captación de P y la respiración de la raíz de Capsicum annuum L. *Mycorrhiza*, *14* (4), 241-244.

Medina-García, L.; Rodriguez-Yong, Y. (2010). Respuesta del tomate (Solanum lycopersicum L.) bajo estres salino a; la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares adaptados a esta condición.

Mishra, P.; Dash, D. (2014). Rejuvenation of Biofertiliser for Sustainable Agriculture Economic Development Consilience. Journal of Sustainable Development, 11(1), 41-61.

Morton, J.; Redecker D. (2000). Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera Archaeospora and Paraglomus, based on concordant molecular and morphological characters. Mycologia. 93(1): 181-195.

Mosse, B.; Hepper, C. (1975). Vesicular-arbuscular my- corrhizal infections in root organ cultures. Physiol. Plant Pathol. 5: 215-223.

Noda, Y. (2009). Las Micorrizas: Una alternativa de fertilización ecológica en los pastos. Revista scielo.Cuba.v.32 n.2

Oehl, F.; Alves da Silva G.; Goto, B.; Sieverding, E. (2011). Glomeromycota: three new genera and glomoid species reorganized. Mycotaxon, 116, 75-120.

Oficina de Gestión de la Información y Estadística (OGIE). (2016). Carpeta georeferencial Región Ucayali Perú.

Ortega, M.; Morales, V.; García, S. (2008). Cultivos monospóricos de hongos micorrízicos arbusculares. En: ÁlvarezSánchez. J., A.A. Monroy (Comps.), Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y su implicación de la restauración., Facultad de Ciencias, UNAM. México. pp. 69-83.

Osonubi, O.; Mulongoy, O.; Awotoye, M.; Atayese, D. (1991). Effects of ectomycorrhizal and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on drought tolerance of four leguminous woody seedlings. Plant and Soil. 136:131-143.

Paillacho, F. (2010). Evaluación de la efectividad de las micorrizas arbusculares nativas sobre el desarrollo y estado nutritivo del palmito en etapa de vivero, en Santo Domingo de los Tsáchilas.

Peña, C.; Cardona, G. (2010). *Dinámica de los suelos amazónicos: Procesos de degradación y alternativas para su recuperación. Leticia*: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas - Sinchi.

Pérez, J.; Read, J. (2001). Nutrient transfer from soil nematodes to plants: a direct pathway provided by the mycorrhizal mycelial network. Plant, Cell, Environment, 24(11), 1219-1226.

Pérez, A.; Vertel, M. (2010). Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto Bothriochloa pertusa (L) A. Camus. Rev.MVZ Cordoba. vol.15 p.2165-2174.

Peterson, L.; Massicote, H.; Melville, L. (2004). Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology. USA: NRC Research Press.

Phillips, J.; Hayman, D. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 55: 158-160.

Porcel, R.; Aroca, R.; Ruiz-Lozano, J. (2012). Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi, a review. Agronomy for Sustainable Development, 32(1), 181-200

Powell, C.; Bagyaraj, D. (2000). MA Mycorrhiza. Florida. Printed in the United States. 232 p.

Prieto, O.; Belezaca, C.; Mora, W.; Garcés, F.; Sabando, F.; Rodriguez, A.; Cedeño, P. (2012). Identificación de hongos micorrízicos arbusculares en sistemas agroforestales con cacao en el trópico húmedo ecuatoriano.

Prieto, O.; Belezaca, C.; Mora, W.; Vallejo, E.; Gutierrez, V.; Pinargote, E. (2011). Inoculación de *Brachiaria decumbens* con hongos formadores de micorriza arbuscular nativo del trópico húmedo ecuatoriano.9-18.

Redecker D.; Morton J.; Bruns T.; (2000). Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). Molec. Phylogenet. Evol. 14: 276– 284.

Remy, W.; Taylor, T.; Hass, H.; Kerp, H. (1994). Four hundred million year old vesicular arbuscular mycorrhizae. proc natl acad sci 91: 11841-11843.

Rengifo, G. (2011). Efecto de sustratos con micorrizas vesículo arbusculares en el crecimiento inicial de cuatro especies forestales en fase de vivero, Tarapoto.

Rey, A.; Chamorro D.; Ramírez, M. (2005). Efecto de la doble inoculación de rizobios y micorrizas sobre la producción y calidad del forraje de leucaena leucocephala. revista corpoica 6(2): 52-59.

Rodas, A. (2006). Una visión sustentable para el manejo de los suelos. La Agricultura y Microorganismos.

Rodríguez, F. (1995). El recurso del suelo en la amazonia peruana, diagnóstico para su investigación (Segunda Aproximación). Documento Técnico Nº 14. Perú.

Rodríguez, J.; Arias, L.; Medina, A.; Mujica, Y.; Medina, L.; Fernández, K.; Mena, A. (2015). Alternativa de la técnica de tinción para determinar la colonización micorrízica. *Cultivos Tropicales*, *36*(2), 18-21.

Rojas, J. (2010). Hongos micorrizicos arbusculares en la rizósfera de genotipos promisorios de cacao (Theobroma cacao l.) bajo los sistemas tradicional y bajo bosque en la región San Martín.pp 45- 74.

Ruiz, P.; Rojas, K. (2011). Manual técnico protocolos y procedimientos de evaluación de hongos micorriza arbuscular. Publicado por ASPERU. SRL. 20-23 pp.

Ruiz P.; Rojas K.; Sieverding, E. (2011). La distribución geográfica de los hongos de micorriza arbuscular: una prioridad de investigación en la Amazonía peruana. pp. 47-63.

Sáenz, C.; Virna, L. (2002). Evaluación y caracterización de cuatro inoculantes comerciales de micorrizas en frijol (Phaseolus vulgaris L.), pasto Tanzania (Panicum maximum Jacq) y pasto Transvala (Digitaria decumbens Stent) (Bachelor's thesis, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2014.).

Sánchez de Práguer, M. (2003). Actividad biológica en la rizosfera del maracuyá – Pasiflora edulis var Flavicarpa – en diferentes sistemas de manejo, estados de desarrollo y condiciones fitosanitarias. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Madrid. 261 p.

Sánchez de Práguer, M.; Posada, R.; Velázquez, D.; Narváez, M. (2010). Metodologías básicas para el trabajo con micorriza arbuscular y hongos formadores de micorriza arbuscular. Universidad Nacional de Colombia sed Palmira.

Schepers, WR Raun. (2008). "Nitrogen in agricultural systems," (Nitrógeno en sistemas agrícolas) Agron. Monogr. 2008; GRAIN, “Cuidar el suelo”, 20 de ocutbre de 2009.

Siddiqui, Z.; Futai, K. (2008). micorrhzae: and overview. en: siddiqui, akhtar y futai, (eds.) mycorrhizae: sustainable agriculture and forestry. 1st ed. springer. dordrecht. (pp1-35).

Sieverding, E. (1984). Manual de Métodos para la investigación de la micorriza vesiculo - arbuscular. Palmira, CIAT. s.p.

Sieverding, E. (1991). Vesicular - arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Technical Coopertion-F ederal Republic of Germany GTZ. 367 p.

Siqueira, J.; Hubbell, D.; Mahmud, A. (1984). Effect of liming on spore germination, germ tube growth and root colo- nization by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Plant Soil, 76: 115- 124.

Silva, L.; Miranda, J.; Miranda, L. (1994). Efeito da micorriza vesículo- arbuscular no crescimento de variedades de trigo sensível e tolerante ao alumínio, em solo de cerrado. R. Bras. Ci. Solo, 18.

Smith, S.; Read, D. (1997). Mycorrhizal symbiosis. Academic press limited. Londres, 2da Ed. England. 605 p.

Suárez, Q.; Daniel, F. (2001). Evaluación de sustratos para la producción de inoculantes de micorriza vesículo-arbuscular (Bachelor's thesis, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2013.)

Tavares, M.; Hayman, D. (1983*)*. Soil pH preference ofdifferentVAmycorrhizal endophytes, Rothamsted Experimental Station, Annual Report for 1982, p. 218.

Thompson, J. (1991).Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. In Stewart, BA. Advances in soil sciences. Springer-Verlag, New York. p. 1-40.

Tommerup, I. (1983). Spore dormancy in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Trans. Br. Mycol. Soc. 81: 37-45.

Torres, R. (2018). *Hongos micorrízicos asociados a Solanum hindsianum*. Maestría en Ciencias en Ciencias de la Vida con orientación en Biología Ambiental. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. Mexico.

Thygesen, K.; Larsen, J.; Bodker, L. (2004). Arbuscular mycorrhizal fungi reduce development of pea rootrot caused by Aphanomyces euteiches using oospores as pathogen inoculum. European Journal of Plant Pathology, 110(4), 411-419.

Tulasne, L.; Tulasne, C. (1845). Fungi nonnulli hipogaei, novi v. minus cognito act. Giorn. Bot. Ital. 2: 55-63.

Van der Heijden, M. (1998). Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. Ecology 79(6):2082-2091.

Vierheilig, H.; Coughlan, A.; Wyss, U.; Piche, Y. (1998) Ink and Vinegar, a Simple Staining Technique for Arbuscular-Mycorrhizal Fungi. Applied And Environ. Microbiol. Volumen 64(12):5004-5007 p.

Walker, C.; Sanders, F. (1986). Taxonomic concepts in the Endogonaceae: III. The separation of *Scutellospora* gen. nov. from *Gigaspora* Gerd. & Trappe. Mycotaxon 27: 169-182.

Zhu, X.; Song, F.; Liu, S.; Liu, T. (2011). Effects of arbuscular mycorrhizal fungus on photosynthesis and water status of maize under high temperature stress. *Plant and soil*, *346*(1-2), 189-199.

ANEXOS

ANEXO 1

ANALISIS ESTADÍSTICOS

Tabla 1A. Prueba de normalidad y homogeneidad de varianza para resultados de variables evaluadas.

Variable	Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk)	Prueba de homogeneidad de varianza (Levene)
Número de esporas1	*0.000*	*0.007*
Número de esporas2	*0.000*	0.184
Número de esporas3	0.110	0.075
Porcentaje de colonización 1	-	-
Porcentaje de colonización 2	*0.013*	*0.035*
Porcentaje de colonización 3	0.183	0.325
Peso fresco foliar 1	*0.000*	*0.011*
Peso fresco foliar 2	0.178	0.209
Peso fresco foliar 3	*0.027*	*0.035*
Peso fresco radicular 1	0.921	0.427
Peso fresco radicular 2	*0.013*	0.057
Peso fresco radicular 3	0.007	*0.035*

Tabla 2A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para número de esporas 1.

Variable	Tratamiento	N	Rango promedio
N° de espora	Monospórico 1	4	6.00
	Monospórico 2	4	6.00
	Consorcio	4	7.50
	Total	12	

Tabla 3A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis para número de esporas 1.

Estadísticos de prueba[a,b]	N_Esp_1
Chi-cuadrado	2.000
Gl	2
Sig. Asintótica	.368

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

Tabla 4A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para número de esporas 2.

Variable	Tratamiento	N	Rango promedio
N° de espora	Monospórico 1	4	4.50
	Monospórico 2	4	9.13
	Consorcio	4	5.88
	Total	12	

Tabla 5A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis para número de esporas 2.

Estadísticos de prueba[a,b]	N_Esp_2
Chi-cuadrado	5.014
Gl	2
Sig. Asintótica	.082

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

Tabla 6A. Cuadrados medios del análisis de varianza para número de esporas 3.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
N_Esp_3	Entre grupos	21.125	1	21.125	8.593	**.026**
	Dentro de grupos	14.750	6	2.458		
	Total	35.875	7			

Tabla 7A. Comparación de medias por Tukey para número de esporas 3.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Monospórico_1	4	.00		
Monospórico_2	4		4.00	
Consorcio	4			7.25
Sig.		1.000	1.000	1.000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Tabla 8A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para porcentaje de colonización2

Variable	Tratamiento	N	Rango promedio
N° de espora	Monospórico 1	4	4.63
	Monospórico 2	4	8.13
	Consorcio	4	6.75
	Total	12	

Tabla 9A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis porcentaje de colonización 2.

Estadísticos de prueba[a,b]	% de colonización
Chi-cuadrado	2.073
Gl	2
Sig. Asintótica	.355

a. Prueba de Kruskal Wallis.

b. Variable de agrupación: Tratamiento.

Tabla 10A. Cuadrados medios del análisis de varianza para porcentaje de colonización 3.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Porc_3	Entre grupos	33.875	2	16.938	6.870	.015
	Dentro de grupos	22.188	9	2.465		
	Total	56.063	11			

Tabla 11A. Comparación de medias por Tukey para porcentaje de colonización 3.

Tratamiento	N	1	2
Consorcio	4	1.625	
Monospórico_1	4	1.750	
Monospórico_2	4		5.250
Sig.		.993	1.000

Tabla 12A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para peso foliar 1

Variable	Tratamiento	N	Rango promedio
Peso foliar	Monospórico 1	4	4.63
	Monospórico 2	4	7.25
	Consorcio	4	7.63
	Total	12	

Tabla 13A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis peso foliar 1.

Estadísticos de prueba[a,b]	Peso foliar1
Chi-cuadrado	1.685
Gl	2
Sig. Asintótica	.431

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

Tabla 14A. Cuadrados medios del análisis de varianza para peso foliar 2.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Peso foliar 2	Entre grupos	.137	2	.068	1.279	.324
	Dentro de grupos	.481	9	.053		
	Total	.617	11			

Tabla 15A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para peso foliar 3.

Variable	Tratamiento	N	Rango promedio
Peso foliar	Monospórico 1	4	4.50
	Monospórico 2	4	6.75
	Consorcio	4	8.25
	Total	12	

Tabla 16A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis peso foliar 3.

Estadísticos de prueba[a,b]	Peso foliar3
Chi-cuadrado	2.192
Gl	2
Sig. Asintótica	.334

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

Tabla 17A. Cuadrados medios del análisis de varianza para peso radicular 1.

		Suma de cuadrados	**gl**	**Media cuadrática**	**F**	**Sig.**
Peso radicular1	Entre grupos	.046	2	.023	.527	.608
	Dentro de grupos	.396	9	.044		
	Total	.442	11			

Tabla 18A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis para peso radicular 2

Variable	**Tratamiento**	**N**	**Rango promedio**
Peso radicular	Monospórico 1	4	6.75
	Monospórico 2	4	4.00
	Consorcio	4	8.75
	Total	12	

Tabla 19A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis peso radicular 2.

Estadísticos de prueba[a,b]	Peso radicular2
Chi-cuadrado	3.601
Gl	2
Sig. Asintótica	.165

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

Tabla 20A. Rangos promedio de la prueba no paramétrica kruskal Wallis para peso radicular 3

Variable	Tratamiento	N	Rango promedio
Peso foliar	Monospórico 1	4	5.75
	Monospórico 2	4	6.38
	Consorcio	4	7.38
	Total	12	

Tabla 21A. Prueba no paramétrica Kruskal Wallis peso radicular 3.

Estadísticos de prueba[a,b]	Peso radicular3
Chi-cuadrado	.416
Gl	2
Sig. Asintótica	.812

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

ANEXO 2

PANEL FOTOGRÁFICO



Figura 8A. Camas de multiplicación de hongos micorrícicos arbusculares.



Figura 9A. Extracción de muestras de camas de multiplicación del IIAP.



Figura 10A. Muestra (Inóculo nativos de hongos micorrícicos arbusculares de cacao).



Figura 11A. Corte de las hojas de *Brachiaria decumbens* del inóculo primario.



Figura 12A. Muestras de Inóculos primarios.



Figura 13A. Recolección de esporas de hongos micorrícicos arbusculares.



Figura 14A. Esporas de hongos micorrícicos arbuscular colectadas.



Figura 15A. Aislamiento de géneros de espora de hongos micorrícicos arbuscular bajo microscopio.



Figura 16A. Inoculación de esporas en las raíces de *Brachiaria decumbens.*



Figura 17A. Semilla de *Brachiaria decumbens* germinadas.



Figura 18A. *Brachiaria decumbens* inoculados con esporas puras de hongos micorrícicos arbusculares.



Figura 19A. Tratamientos en su fase inicial en invernadero.



Figura 20A. Inoculantes puros de hongos de micorrícicos arbusculares.



Figura 21A. Inoculantes puros de hongos de micorrícicos arbusculares en invernadero.



Figura 22A. Baño maría.



Figura 23A. Centrifuga.



Figura 24A. Autoclave.



Figura 25A. Estereoscopio.

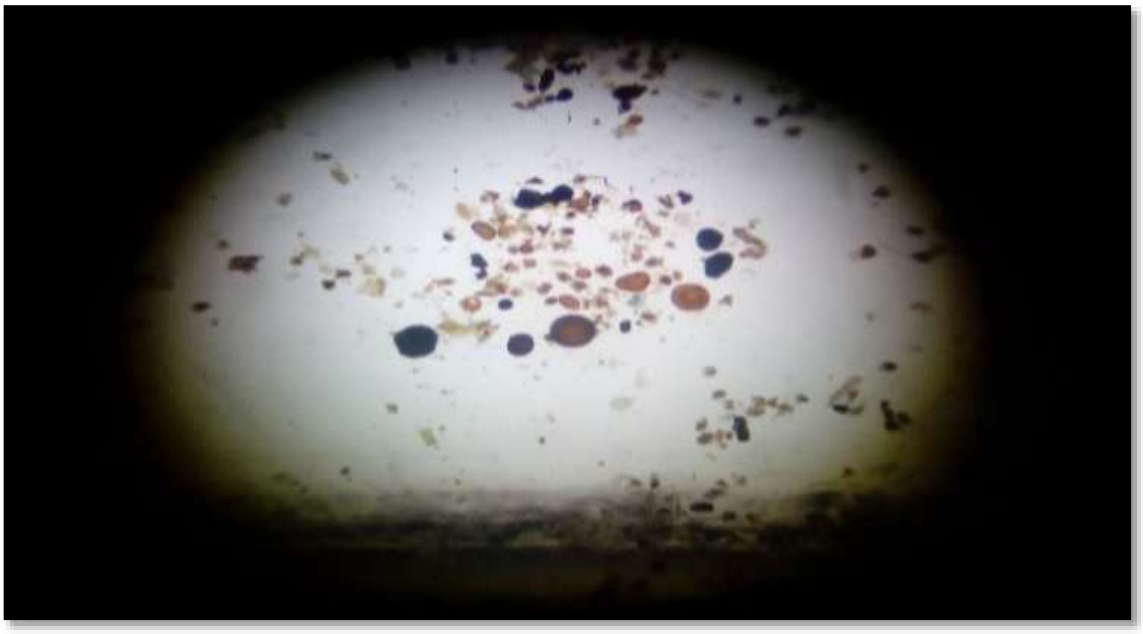


Figura 26A. Esporas aisladas de hongos micorrícicos arbusculares.



Figura 27A. Esporas sin aislamiento de hongos micorrícicos arbusculares.



Figura 28A. Montaje de raíces en portaobjeto**.**



Figura 29A. Raíces de *Brachiaria decumbens* por tratamiento para evaluación de porcentaje de colonización.



Figura 30A. Montajes de raíces, teñidas mediante el método de Ruiz y Rojas.



Figura 31A. Hifas de hongos micorrícicos arbusculares.



Figura 32A. Estructura de hongo de micorriza arbuscular.



Figura 33A. Vesículas de hongo de micorriza arbuscular.