

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS
FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA**



**EFECTO DE INÓCULOS DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES EN PLANTAS CLONALES DE CAFÉ
(*Coffea arabica* L.) VARIEDAD CATURRA EN
CONDICIONES DE INVERNADERO, RODRÍGUEZ DE
MENDOZA, REGIÓN AMAZONAS**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
AGRÓNOMO**

PRESENTADO POR:

AUTOR : Bach. TITO SÁNCHEZ SANTILLÁN

ASESOR : Ing. GUILLERMO IDROGO VÁSQUEZ

CO-ASESOR: Ing. LUIS ALBERTO ARÉVALO LÓPEZ

CHACHAPOYAS - PERÚ

2017

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA



**EFECTO DE INÓCULOS DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES EN PLANTAS CLONALES DE CAFÉ
(*Coffea arabica* L.) VARIEDAD CATURRA EN
CONDICIONES DE INVERNADERO, RODRÍGUEZ DE
MENDOZA, REGIÓN AMAZONAS**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
AGRÓNOMO**

PRESENTADO POR:

AUTOR : Bach. TITO SÁNCHEZ SANTILLÁN

ASESOR : Ing. GUILLERMO IDROGO VÁSQUEZ

CO-ASESOR: Ing. LUIS ALBERTO ARÉVALO LÓPEZ

CHACHAPOYAS - PERÚ

2017

DEDICATORIA

A Dios porque ha estado conmigo en cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar.

A mis padres Francisco y Magdalena, por el apoyo moral y la confianza depositada en mí, para que de esta manera pueda auto realizarme como profesional, a mis queridos hermanos Samuel, Cristina y José Cruz, a mi cuñada Mary Bertita y a mis sobrinos Frank Jhunion. A. y Shirley Jheraldinne, por ser mi apoyo incondicional. A todos ustedes, con amor.

Tito Sánchez Santillán

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de investigación, si bien ha requerido el esfuerzo y dedicación por parte del autor, no hubiera sido posible su realización sin el apoyo de las siguientes personas e instituciones:

Al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad – PNICP por financiar el presente trabajo de investigación enmarcado en el proyecto: Aplicación de Técnicas Innovadoras en la Propagación Clonal e Inoculación Micorrízica de Plantas Matrices de Café (*Coffea arabica* L.) con Alta Productividad en la Región Amazonas – Convenio N° 141 – PNICP – PIAP-2015.

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, al gerente regional del IIAP SAN MARTIN Ing. MSc. Luis Alberto Arévalo López por permitirme formar parte de la institución y darme todas las facilidades.

Al Ing. MsC. Geomar Vallejos Torres, por la oportunidad, confianza y facilidades brindadas para realizar este trabajo investigación.

Al Ing. Guillermo Idrogo Vásquez e Ing. MSc. Luis Alberto Arévalo López por su asesoramiento científico, por sus sabios consejos y palabras de motivación para desarrollarme en el ámbito personal como profesional, siendo un modelo a seguir.

A las personas del equipo técnico del proyecto: Ing. Marco Antonio García Sánchez, Ing. Decny Omar Chinchay Rubio, Ing. Cristian Koch Duarte, Bach. Neyser Goñas Golac, y Bach. Rogelio Segundo Santiak Pacún por sus consejos, ayuda y enseñanzas brindadas durante el desarrollo de mi trabajo de investigación.

A mis amigos Gelper Silva, Limber Vargas, Alexander Zumaeta, Sonia del Pilar, Heydi Lizeth, Victoria, Fátima, Maribel, Marco Antonio, Conan, Welton, Jiuner Stalin, Anabel, Carlos, Gabriel, Ani y Osmar.

Tito Sánchez Santillán

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO
RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

PhD. JORGE LUIS MAICELO QUINTANA

Rector

Dr. OSCAR ANDRÉS GAMARRA TORRES

Vicerrector Académico

Dra. MARÍA NELLY LUJÁN ESPINOZA

Vicerrectora De Investigación

Mg. Sc. ARMSTRONG BARNARD FERNÁNDEZ JERÍ

Decano (E) De La Facultad De Ingeniería Y Ciencias Agrarias

Ing. LIZETTE DANIANA MÉNDEZ FASABI

Directora de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias

VISTO BUENO DEL ASESOR

El **Ing. Guillermo Idrogo Vásquez**, Docente de la escuela profesional de agronomía de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), deja constancia que ha asesorado el proyecto de investigación y la realización de la tesis titulada: **“Efecto de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas clonales de café (*Coffea arabica* L.) variedad caturra en condiciones de invernadero, Rodríguez de Mendoza, Región Amazonas”**

Asimismo, avala al **Bach. Tito Sánchez Santillán**, Egresado de la escuela profesional de agronomía de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM) para la presentación del informe de tesis y me comprometo a orientarlo en el levantamiento de las observaciones y la sustentación de la tesis.

Se le expide la presente, a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Chachapoyas 03 de agosto del 2017

Ing. Guillermo Idrogo Vásquez

Docente asociado a tiempo completo de la UNTRM

VISTO BUENO DEL Co -ASESOR

El **MSc., Ing. Luis Alberto Arévalo López**, Gerente del IIAP SAN MARTIN, deja constancia que ha asesorado el proyecto de investigación y la realización de la tesis titulada: **“Efecto de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas clonales de café (*Coffea arabica* L.) variedad caturra en condiciones de invernadero, Rodríguez de Mendoza, Región Amazonas”**.

Asimismo, avala al **Bach. Tito Sánchez Santillán**, egresado de la escuela profesional de Ingeniería Agrónoma de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM) para la presentación del informe de tesis y me comprometo a orientarlo en el levantamiento de las observaciones y la sustentación de la tesis.

Se le expide la presente, a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Chachapoyas 03 de agosto de 2017.

MSc. Ing. Luis Alberto Arévalo López

Gerente del IIAP-SAN MARTIN

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Ing. LIZETTE DANIANA MENDEZ FAZABI
PRESIDENTE

Ing. MSc. SANTOS TRIUNFO LEIVA ESPINOZA
SECRETARIO

Ing. JHEINER VÁSQUEZ GARCÍA
VOCAL

ACTA DE EVALUACIÓN DE TESIS



UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS

ANEXO 2-N

ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS

En la ciudad de Chachapoyas, el día 03 de Agosto del año 2017 siendo las 4:00 horas, el aspirante: Tito Sanchez Santillan defiende públicamente la tesis titulada: Efecto de inóculos de hongos micomicos orbiculares en plantas clonales de Café (Coffea arabica L) variedad Catuma en condiciones de Inundación, Rodríguez de Mendoza, Región Amazonas para optar el Título Profesional Ing. Agrónomo

otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, ante el Jurado, constituido por: Presidente: Ing. Lizette Deniana Méndez Fasabi

Secretario: Ing. Santos Triunfo Reina Espinoza

Vocal: Ing. Jhainer Vasquez Garcia



Procedió el (los) aspirante (s) a hacer la exposición de los antecedentes, contenido de la tesis y conclusiones obtenidas de la misma, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la tesis presentada, los miembros del jurado pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones u objeciones consideraran oportunas, las cuales fueron contestadas por el los aspirante (s).

Tras la intervención de los miembros del jurado y las oportunas contestaciones del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los miembros del jurado presentes en el acto, a fin de que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el jurado determinará la calificación global concedida a la tesis, en términos de:

Notable o sobresaliente () Aprobado () No apto ()

Otorgada la calificación el presidente del Jurado comunica, en sesión pública, la calificación concedida. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 5:30 horas del mismo día, el jurado concluye el acto de sustentación de la tesis.

[Signature]
SECRETARIO

[Signature]
PRESIDENTE

[Signature]
VOCAL

OBSERVACIONES:

DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO

Yo, Tito Sánchez Santillán, identificado con DNI N° 73103700, estudiante de la Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

Declaro bajo juramento que:

1. Soy autor de la tesis titulada **“Efecto de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas clonales de café (*Coffea arabica* L.) variedad caturra en condiciones de invernadero, Rodríguez de Mendoza, Amazonas”**.

La misma que presento para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo.

2. La tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, para lo cual se ha respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. La tesis presentada no atenta contra derechos de terceros.
4. La tesis no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
5. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falsificados, duplicados ni copiados.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo toda la responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la tesis, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada. Asimismo por la presente me comprometo a asumir todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para la UNTRM en favor de terceros por motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido de la tesis.

De identificarse el fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo de investigación haya sido duplicado anteriormente: asumo las consecuencias y sanciones civiles y penales que de nuestra acción se deriven.

Chachapoyas, 03 de agosto de 2017.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iv
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS	v
VISTO BUENO DEL ASESOR	vi
VISTO BUENO DEL Co -ASESOR	vii
JURADO EVALUADOR DE TESIS	viii
ACTA DE EVALUACIÓN DE TESIS.....	ix
DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO.....	x
ÍNDICE GENERAL.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT	xvi
I. INTRODUCCIÓN.....	26
II. OBJETIVOS.....	28
2.1. Objetivo general.....	28
2.2. Objetivos específicos	28
III. MARCO TEÓRICO	29
3.1. Generalidades de café	29
3.1.1. Origen y distribución	29
3.1.2. Clasificación taxonómica	29
3.1.3. Descripción botánica y características de la variedad caturra.....	29
3.1.4. Propagación de café.....	30
3.1.5. Clonación de café	30
3.1.5.1. Selección de plantas matrices	30
3.1.5.2. Colecta de brotes o “clones”	31
3.1.5.3. Las hormonas	31
3.1.6. Proceso de enraizamiento de café.....	32
3.1.7. Condiciones meteorológicas y manejo de invernadero para el enraizamiento de clones.....	33
3.1.8. Aclimatación de clones post-enraizamiento.....	34
3.2. Las micorrizas.....	35
3.2.1. Generalidades	35
3.2.2. Tipos de asociaciones micorrízicas.....	36
3.2.3. Estructuras de los Hongos Micorrízicos arbusculares	37
3.2.4. Proceso de infección micorrízica	38
3.2.5. Simbiosis de los Hongos Micorrízicos Arbusculares con el cultivo de café.....	39
3.2.6. Factores que ayudan al proceso de micorrización	40
IV. MATERIAL Y MÉTODOS	42

4.1. Materiales.....	42
4.1.1. Ubicación	42
4.1.1.1. Ubicación geográfica del área de estudio	42
4.2. Métodos y procedimientos.....	43
4.2.1. Características del campo experimental.....	43
4.2.2. Población y muestra.....	43
4.2.3. Área del invernadero y distribución de unidades experimentales	43
4.2.4. Diseño estadístico del campo experimental.....	44
4.2.5. Conducción del experimento	46
4.2.5.1. Instalación del experimento.....	46
4.2.5.2. Obtención de fuentes de inóculos	46
4.2.5.3. Instalación e implementación de cajones de multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares	48
4.2.5.4. Multiplicación de los Hongos Micorrízicos Arbusculares	49
4.2.5.5. Cuantificación de esporas de hongos micorrízicos arbusculares multiplicados con plantas trampas de maíz.....	49
4.2.5.6. Selección de plantas matrices de café e inducción de brotes.....	50
4.2.5.7. Colecta de brotes de plantas matrices de café variedad caturra.....	51
4.2.5.8. Enraizamiento de brotes	51
4.2.5.9. Esterilización de sustrato	52
4.2.5.10. Mezcla de sustrato y llenado de bolsas de vivero	52
4.2.5.11. Pesado de sustratos con Hongos Micorrízicos Arbusculares para la inoculación en plantas clonales de café.....	52
4.2.5.12. Repique de plantas clonales de café e inoculación con HMA.....	52
4.3. Evaluación.....	53
4.3.1. Evaluación de variables independientes	53
4.3.1.1. Determinación del porcentaje de colonización micorrízica.....	53
A. Tinción de raíces	53
B. Estimación del grado de colonización micorrízica	54
4.3.1.2. Determinación de la longitud de micelio extraradical (MER).....	55
A. Tinción de micelio extraradical.....	55
B. Estimación de la longitud de micelio extraradical.....	56
4.3.2. Evaluaciones de las variables dependientes.....	56
A. Altura de planta.....	56
B. Materia seca de la parte aérea y radicular.....	57
C. Área Foliar	57
V. RESULTADOS	58
VI. DISCUSIÓN.....	65
VII. CONCLUSIONES	68
VIII. RECOMENDACIONES.....	69
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXOS.....	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de tratamientos de estudio/Rodríguez de Mendoza/Amazonas	45
Tabla 2. Fuente de variación y grados de libertad	46
Tabla 3. Conteo de esporas de inóculos de HMA colectados de parcelas de café de la provincia de Rodríguez de Mendoza	48
Tabla 4. Conteo de esporas de HMA multiplicados en cajones con plantas trampas de maíz.	50
Tabla 5. Análisis de varianza para la altura de las plantas clonales de caféto.....	58
Tabla 6. Análisis de varianza para la biomasa seca aérea de las plantas de caféto	59
Tabla 7. Análisis de varianza para la biomasa seca radicular de las plantas de caféto	60
Tabla 8. Análisis de varianza para el área foliar de las plantas del caféto	61
Tabla 9. Análisis de varianza de la intensidad micorrízica (%) de los HMA presentes en plantones clonales de caféto	62
Tabla 10. Análisis de varianza de la frecuencia micorrízica (%) de los HMA presentes en plantones clonales de caféto	62
Tabla 11. Análisis de varianza de la longitud de micelio extraradical (cm) de los HMA presentes en plantones clonales de caféto.....	63
Tabla 14. Análisis fisicoquímico de fuentes de inóculos colectados de las parcelas de café de la provincia Rodríguez de Mendoza-Amazonas/Laboratorio de la UNAM-L	76
Tabla 13. Resultado de análisis de sustrato utilizado en la inoculación con HMA a plantas clones de café/Labisag/UNTRM-A	77
Tabla 14. Peso de inóculos de HMA con 1500 esporas/Laboratorio del INDES-CES-UNTRM/HUAMBO.....	78
Tabla 15. Resultados de evaluación de variables morfológicas y variables fúngicas de HMA en café.....	79
Tabla 16. Análisis químico y bacteriológico de agua utilizado para riego de plantas clonales de café - INDES-CES/UNTRM/HUAMBO.....	80
Tabla 17. Datos meteorológicos de invernadero del IIAP/INDES-CES/HUAMBO	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geopolítica del distrito de Huambo/provincia de Rodríguez de Mendoza/Amazonas	42
Figura 2. Croquis de la distribución de plantas clonales micorrizadas/Estación Experimental INDES-CES-UNTRM-A/HUAMBO	44
Figura 3. Mapa ubicación de los distritos de la provincia de Rodríguez de Mendoza y de recolección de fuentes de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares.....	47
Figura 4. Niveles de colonización (0-5) de HMA según el grado, método de Trouvelot, et al., 1986	54
Figura 5. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la altura de planta clonal de cafeto.....	58
Figura 6. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la materia seca aérea de la planta clonal de cafeto.	59
Figura 7. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la materia seca radicular de la planta clonal de cafeto.	60
Figura 8. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para el área foliar de la planta clonal de cafeto.....	61
Figura 9. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la intensidad y frecuencia micorrízica (%) de los HMA presentes en plantones clonales de cafeto.	63
Figura 10. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la longitud de micelio extraradicular de la planta clonal de cafeto.	64
Figura 11. Esterilización de tierra agrícola en horno de panadería	81
Figura 12. Esterilización de arena de río con agua hervida.....	81
Figura 13. Multiplicación de fuentes de inóculos de HMA	82
Figura 14. Enraizamiento de brotes de café variedad caturra.....	82
Figura 15. Repique de plantas clonales de café e inoculación con HMA	83
Figura 16. Evaluación de altura de plantas clonales de café	83
Figura 17. Determinación de materia de seca de la parte aérea de las plantas de café	84
Figura 18. Sacado de suelo y raíces de plantas clonales de café.....	84
Figura 19. Determinación de la materia seca de la parte radicular de las plantas clonales de café.....	85
Figura 20. Observación de colonización de hifas de HMA en raíces de café, aumento 40X.	85
Figura 21. Observación de micelio extra-radicular de HMA en estereoscopio compuesto aumento 4X.	86
Figura 22. Observación de porcentaje de colonización de HMA en raíces de café	86
Figura 23. Micelio extra-radicular de HMA.....	87

RESUMEN

El objetivo del experimento fue evaluar el efecto de 12 inóculos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en las características morfológicas de plantas clonales de café (*Coffea arabica* L.) variedad caturra en invernadero en la provincia de Rodríguez de Mendoza, región Amazonas. La instalación fue bajo un diseño completamente al azar DCA con 13 tratamientos, 3 repeticiones y 12 plantas por tratamiento, evaluándose variables morfológicas y fúngicas. Los inóculos de HMA fueron colectados en las fincas cafetaleras de la provincia, tomándose muestras de suelos a 30 cm de distancia del tallo y 20 cm de profundidad. Los clones de los cafetos fueron colectados de plantas elites previamente seleccionados en campo y sometidos al agobio y aplicación de hormonas para inducir la emisión de los brotes. Los brotes con alturas mayores de 10 cm y en proceso de lignificación fueron colectados 90 días después del agobio y conducidos al laboratorio. En el Laboratorio, los brotes fueron sumergidos 10 segundos en una solución de 2000 ppm de AIB, para favorecer el enraizamiento, siendo luego repicados e inoculados con 1500 esporas de HMA, en sustrato esterilizado, considerando un testigo sin inoculación. Todos los consorcios de HMA presentaron efectos positivos en el cafeto, siendo los tratamientos T10, T1 y T11 los más eficientes en incrementos de altura, materia seca aérea, materia seca radicular y área foliar, todos mejores que el testigo. En las variables fúngicas se encontró que el porcentaje de colonización micorrízica fue bajo, los mejores tratamientos en intensidad micorrízica y frecuencia micorrízica fueron el T10, T1, T11 y T9, estos tratamientos también presentaron buena longitud de micelio extra-radical respectivamente. Los consorcios de HMA estudiados, presentaron efectos positivos en los parámetros morfológicos de plantas clonales de café, mostrando su efectividad cada uno según su procedencia, siendo dentro de ellos los más eficientes el T10, T1 y T11.

Palabras clave: café, inóculos, hongos micorrízicos arbusculares, clones.

ABSTRACT

The objective of the experiment was to evaluate the effect of 12 inocula of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the morphological characteristics of clonal coffee plants (*Coffea arabica* L.), caturra variety in the greenhouse in the province of Rodríguez de Mendoza, Amazonas region. The installation was under a completely randomized design DCA with 13 treatments, 3 repetitions and 12 plants per treatment, evaluating morphological and fungal variables. The AMF inocula were collected in the coffee plantations of the province, taking soil samples 30 cm away from the stem and 20 cm deep. The clones of the coffee plants were collected from elite plants previously selected in the field and subjected to the burden and application of hormones to induce the emission of the outbreaks. The shoots with heights greater than 10 cm and in process of lignification were collected 90 days after the overwhelm and taken to the laboratory. In the Laboratory, the shoots were immersed 10 seconds in a 2000 ppm solution of AIB, to favor rooting, being then replicated and inoculated with 1500 spores of AMF, in sterilized substrate, considering a control without inoculation. All the HMA consortiums presented positive effects in the coffee tree, being the treatments T10, T1 and T11 the most efficient in increments of height, aerial dry matter, dry matter radicular and foliar area, all better than the control. In the fungal variables it was found that the percentage of mycorrhizal colonization was low, the best treatments in mycorrhizal intensity and mycorrhizal frequency were T10, T1, T11 and T9, these treatments also showed good length of extra-radical mycelium respectively. The AMF consortia studied had positive effects on the morphological parameters of coffee clonal plants, showing their effectiveness according to their origin, being the most efficient T10, T1 and T11 among them.

Key words: coffee, inocula, arbuscular mycorrhizal fungal, clones.

I. INTRODUCCIÓN

El café es uno de los productos más populares alrededor del mundo. Esta preferencia le ha otorgado el segundo lugar en la lista de los productos de mayor importancia a nivel mundial (Temis, López, & Sosa, 2011).

En el Perú el café es el principal producto agrícola de exportación, logrando en el 2015 una exportación de US\$ 572 millones (Agradataperú, 2016), cifras mejoradas comparado al 2011 año que se exportó alrededor de US\$1.500 millones, siendo para ese año una cifra histórica, ya que en el 2012 se registraron los primeros casos de roya, que generó un impacto devastador en el sector agrícola durante el año 2013 (El Comercio, 2015).

La poca capacidad de reacción económica y escasa técnica de los productores, que al ser limitada e insuficiente, fue aún más vulnerables y sensibles, con pocas posibilidades de enfrentar al problema de la roya del cafeto (Chinchay Rubio, 2016). Para ello la búsqueda de vías, que mejoren la eficiencia del uso de los recursos y la implantación de tecnologías respetando los ecosistema y recursos naturales, han dado nueva vida e impulso notable a la idea del uso de las asociaciones simbióticas (Montilla *et al.*, 2005).

En los últimos años, se ha revitalizado la importancia de la actividad biológica del suelo y el papel de los microorganismos en la nutrición de las plantas, potenciando la fertilidad del suelo, incrementando la eficiencia de los procesos de absorción de nutrientes y/o suministro de nitrógeno al sistema y formando parte del enfoque de los sistemas integrales de nutrición vegetal (Read & Pérez-Moreno, 2003).

Uno de los microorganismos más importantes dentro del sistema suelo-planta lo constituyen los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), que forman simbiosis con las raíces de las plantas y están consideradas simbiosis universales, debido a que están presentes de manera natural en el 85 % de las especies vegetales con interés agronómico (Frías , Olalde, & Ferrera-Cerrato, 2004), siendo de interés el cultivo de café, donde la simbiosis se desarrolla de forma natural, siendo considerado un cultivo micótrofo obligatorio con una alta dependencia micorrízica, acorde a la especie que forme la asociación (Fernández *et al.*, , 2005); constituyendo en la etapa de vivero, la fase inicial de su desarrollo y la más adecuada para la inoculación con hongos micorrízicos (Trejo *et al.*, 1998).

Existen resultados que demuestran la eficiencia del uso de las asociaciones micorrízicas en el cafeto; en países como Brasil y Cuba han desarrollado diferentes líneas de investigación en este sentido, estableciéndose en esta última, tecnologías de manejo de las asociaciones micorrízicas para la producción de posturas de café (Sánchez, 2001; Saggin-Junior, 1992), encontrándose efectos positivos del uso de los HMA como: mejor crecimiento de las plantas gracias al sistema de hifas que se desarrollan fuera de la raíz y que permiten una mayor exploración y explotación de los suelos incrementando la captación de nutrientes poco móviles como el fosforo, cobre y zinc (Morton & Benny, 1990).

Sobre la base de lo descrito, se propuso indagar sobre la efectividad de 12 fuentes de inóculos de HMA, en altura, peso seco aéreo, peso seco radicular y área foliar en plantas clonadas de café variedad caturra, en condiciones de invernadero en la provincia Rodríguez de Mendoza, Región Amazonas.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de 12 inóculos de hongos micorrízicos arbusculares en las características morfológicas de plantas clonales de café (*Coffea arabica* L.) variedad caturra en invernadero, en Rodríguez de Mendoza, región Amazonas.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto de 12 inóculos de hongos micorrízicos arbusculares en altura, materia seca aérea, materia seca radicular y área foliar de plantas clonales de café caturra en invernadero.
- Determinar el porcentaje de colonización de hongos micorrízicos arbusculares en plantas clonales de café.
- Determinar la longitud de micelio extraradical de hongos micorrízicos arbusculares en plantas clonales de café.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. Generalidades de café

3.1.1. Origen y distribución

El lugar de origen del café Arábico es Etiopía, país donde se inició su cultivo (Cinza-Borrelli *et al.*, 2002), una evidencia que corrobora esta hipótesis es que en las áreas montañosas de este país y áreas vecinas de Sudán actualmente el café Arábico crece en forma silvestre sobre los 1 500 msnm (Cárdenas, 2007).

El cultivo de café se expandió a la India a principios del siglo XVII, y a finales del mismo siglo se llevó a la isla de Java. A mediados del siglo XVIII, el consumo de café se extendió por Europa y finalmente en América, el café fue introducido durante el siglo XVIII. En 1727, el café fue introducido en Brasil y en 1731 a Jamaica y Santo Domingo, de donde su cultivo se extendió al resto de los actuales países productores de América. Con la revolución industrial y el crecimiento de la población mundial durante el siglo XX, el café prácticamente se convirtió en una bebida universal (Renard, 1993).

3.1.2. Clasificación taxonómica

El café se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera (Ramirez, 1996).

División	: Magnoliophyta
Clase	: Dicotyledonea
Subclase	: Asteridae
Orden	: Rubiales
Género	: <i>Coffea</i>
Especie	: <i>Coffea arabica</i>

3.1.3. Descripción botánica y características de la variedad caturra

Es una variedad de porte pequeño de donde le viene el nombre; su altura media llega solo a 2 m; los entrenudos en el eje principal son cortos; presentando una forma general del árbol cilíndrica. Las ramas laterales son más pendientes que las del Borbón formando con el eje vertical un ángulo medio de 66°; las ramas secundarias son abundantes y los entrenudos muy cortos de donde resulta en gran parte su capacidad productiva.

Las hojas nuevas son de color verde claro y cuando maduran de un verde intenso, un poco más anchas y proporcionalmente más larga que la variedad Borbón con flores un poco menores que las de dicha variedad.

Los frutos son grandes pedunculados, oval – elípticos brillantes, con mesocarpio carnoso, presenta semillas con tamaños similares a la del Borbón (Duran, 2012).

3.1.4. Propagación de café

Monroig, (s.f.), expone que la especie *Coffea arabica* normalmente se propaga por semillas ya que la fecundación de la flor ocurre por autopolinización y se mantienen las características de la variedad sobre 90 %. En el caso de las especies *Coffea canephora* var. Robusta la polinización es cruzada lo que implica una alta variabilidad en el tipo y en la producción de las plantas obtenidas por semilla. No obstante, si se desea obtener plantas similares genéticamente a la variedad, se hace necesario propagarlas por métodos asexuales considerados “clonación”.

La clonación de café o la propagación asexual es importante en el establecimiento de huertos semilleros clonales, bancos clonales, propagación de plantas clonales a escala grande y en la elaboración de productos especiales de mejora (Quijada, 1980). Este tipo de reproducción en el campo forestal se usa para multiplicar plantas seleccionados con base a características deseables que se quieren perpetuar como: velocidad de crecimiento, rectitud del fuste, resistencia a plagas y enfermedades, es decir, permite conservar genotipos valiosos (Carrera, 1997).

3.1.5. Clonación de café

3.1.5.1. Selección de plantas matrices

La plantación de *Coffea arábica* debe haber recibido un apropiado manejo del cultivo. Una planta, para ser seleccionada, no debe superar los 10 años de edad y debe reunir buenas características agronómicas, sanitarias y productivas como:

- Flexibilidad: Los tallos y ramas de las plantas deben presentar flexibilidad para evitar la rotura y desgajes durante la cosecha.
- Buena arquitectura: Los cafetos deben ser preferentemente multicaules (varios tallos productivos) y tener una altura adecuada que permita realizar labores de manejo y cosecha eficientemente.

- Libre de enfermedades: Las plantas deben presentar un buen estado sanitario, especialmente libre de enfermedades como mal de hilachas (*Corticium koleroga*), mal de machete (*Ceratocystis fimbriata*) y mancha de hierro (*Cercospora coffeicola*).
- Alta productividad: La producción de café cereza por planta debe ser muy alta (más de 10 kilogramos de café cereza).
- Pocos frutos vanos: El índice de frutos vanos no debe ser, en circunstancia, mayor de 8 por ciento.
- Maduración uniforme: La maduración de las cerezas en el cafeto, debe ser estacionaria y uniforme.
- Relación café cereza – café oro: La relación de café cereza a café de oro debe ser igual de 4.5-1 esto significa que 450 libras de café cereza madura deberán dar por lo menos, 100 libras de café oro, al 12% de humedad (Sistema de Producción de Café CENICAFE, 2007).

3.1.5.2. Colecta de brotes o “clones”

Quijada (1980), menciona que las estacas muy lignificadas brotan con dificultad y enraízan muy difícilmente, por lo tanto, deberá tomarse una condición intermedia. Una guía para el tiempo de recolección en el estado de la actividad de la planta y es favorable cuando comienza la mayor actividad de desarrollo de las yemas del árbol.

El factor juvenil es uno de los aspectos más relevantes para el éxito del enraizamiento de estacas. En muchas especies forestales es la edad ontogénica o fisiológica y no la edad cronológica, de las estacas que es la más importante para el éxito del enraizamiento. Esto se efectúa en distintas fases tales como juvenil y adulta, separadas por una fase de transición. En casi todas las especies forestales se han enraizado con éxito estacas tomadas de plantas procedentes de semilla de 1-2 años de edad (Hartmann & Kester, 1995).

3.1.5.3. Las hormonas

El desarrollo vegetal está influenciado, entre otros factores, por diversas sustancias de síntesis natural, conocidas como hormonas, y otras sintéticas denominadas reguladores de crecimiento. Para distinguir entre las hormonas vegetales y reguladores del crecimiento, se puede decir, todas las hormonas

regulan el crecimiento, pero no todos los reguladores de crecimiento son hormonas; de las fitohormonas (etileno, giberelinas, citoquininas, auxinas e inhibidores del crecimiento, como el ácido abscísico), las auxinas son las que tienen el mayor efecto en cuanto a la división celular y la elongación, así como en un aumento en el transporte de carbohidratos y cofactores foliares a la base de la estaca, donde se llega a promover el desarrollo y formación del primordio inicial (Haissig, 1974).

Mesén, (1998), menciona que el ácido Indol – 3 - Butírico (AIB), es una auxina sintética químicamente similar al Ácido Indol - acético (AIA) que en la mayoría de las especies ha demostrado su efectividad frente a otras auxinas como el ácido naftalenacético (ANA); la hormona AIB, ofrece muchas ventajas, el cual no se degrada fácilmente por la luz o microorganismos, es insoluble en agua, no es tóxico y permanece por más tiempo en el sitio de aplicación.

Esta hormona presenta algunos efectos:

- **Crecimiento:** estimulan la elongación celular en tallos y coleoptilos (tallos jóvenes), incrementan la extensibilidad de la pared celular y estimulan la diferenciación del xilema y el floema.
- **Tropismos:** responsables del fototropismo y gravotropismo.
- **Dominancia apical:** la yema apical del tallo (produce la mayoría de auxinas) inhibe el crecimiento de yemas axilares cercanas.
- **Abscisión de órganos (hojas, flores y frutos):** posee un control genético, y las auxinas retrasan la caída, aunque el etileno la induce.
- **Rizogénesis:** estimulan la formación de raíces laterales o adventicias. Inhiben la elongación de la raíz principal (Mesén, 1998).

3.1.6. Proceso de enraizamiento de café

La preparación de las estaquillas debe hacerse en un lugar fresco y sombreado para que los rebrotes no estén expuestos al sol. En todo momento, los rebrotes se deben mantener dentro de recipientes con agua más fungicida. Para preparar la estaquilla se toma la parte apical del rebrote (Mesén & Jiménez, 2016).

Las estaquillas deben tener 5-7 cm de longitud, con dos entrenudos; el corte se ejecuta arriba de un nudo. Las cuatro hojas que lleva la estaquilla deben podarse

para dejar el equivalente a 2,5 - 3 cm² de cada hoja. La poda de las hojas tiene el propósito de buscar un balance entre los efectos negativos de la transpiración y los beneficios de la fotosíntesis, responsable de la producción de asimilados importantes en la formación de raíces (Mesén & Jiménez, 2016).

Las estaquillas preparadas se depositan en otro recipiente que contiene agua con fungicida y de aquí se van tomando para hacer la aplicación de auxina. En algunos casos, el mismo operario que prepara las estaquillas aplica la auxina y las introduce en el sustrato de enraizamiento; sin embargo, para lograr mayor fluidez en la operación, es preferible que el operario que prepara las estaquillas se dedique únicamente a eso, y otros operarios completen el proceso.

Para aplicar la auxina se unta la base húmeda de la estaquilla en el polvo y se sacude el exceso, ya que demasiada auxina puede causar pudrición en la base de la estaquilla. Una vez aplicada la auxina se introduce la estaquilla unos 2 cm en el sustrato en un hoyo hecho previamente, en lugar de forzar la penetración de la estaca, para no dañar los tejidos del corte. El sustrato se compacta levemente alrededor de la estaquilla para asegurar su posición vertical (Mesén & Jiménez, 2016).

El sustrato de enraizamiento debe ser capaz de mantener la humedad, pero drenar con facilidad, para evitar la acumulación de agua. Asimismo, debe ser lo más estéril posible para prevenir el desarrollo de enfermedades; por esta razón no se recomienda el uso de tierra como sustrato de enraizamiento.

Una vez que se completa una bandeja con las estaquillas o clones, se lleva de inmediato a los túneles de enraizamiento, donde cada bandeja debe ir debidamente identificada con el código de la planta matriz, fecha y operario responsable (Mesén & Jiménez, 2016).

3.1.7. Condiciones meteorológicas y manejo de invernadero para el enraizamiento de clones

El área para el proceso de enraizamiento debe estar cerrada con plástico para proteger las estaquillas de la lluvia y el viento, ayudar a mantener una humedad relativa lo más alta posible (>80%) y una temperatura alta (30-35°C). Para lograr

estas condiciones es necesario disminuir la luminosidad y la radiación e implementar un sistema de riego.

El mantenimiento de la turgencia de las estaquillas es una de las claves del éxito en el proceso de enraizamiento. Recordemos que una vez que se corta el rebrote las estaquillas siguen transpirando, y mientras no emitan nuevas raíces no pueden reponer el agua perdida, así que durante ese periodo es necesario evitar la pérdida de agua a toda costa.

El área para enraizamiento puede ser un invernadero forrado de plástico sin divisiones internas, o bien túneles individuales forrados de plástico, con las paredes sueltas a manera de cortina para permitir el acceso. En el programa del CATIE se han utilizado exitosamente túneles de 3 m de largo, 1 m de ancho y 60 cm de altura, con la base del túnel a 80 cm del suelo para facilitar el trabajo. El uso de túneles tiene la ventaja de que los problemas patológicos se pueden aislar y controlar más fácilmente que en un sistema abierto (Mesén & Jiménez, 2016). Independientemente del sistema, se debe proporcionar riego por aspersión para mantener una película de agua sobre las hojas en todo momento. De esta forma, el agua que se pierda por evaporación será el agua externa y no agua del interior de la hoja. El riego puede programarse para producir aspersiones de pocos segundos (10-15 seg), unas cuatro veces por hora; sin embargo, esto debe evaluarse y regularse de acuerdo con el clima de la zona.

Otro requisito indispensable del área de enraizamiento es la sombra, la cual debe proporcionarse mediante el uso de sarán (50-60%) u otro tipo de material que cumpla con las mismas funciones. Con esto se trata de reducir la luminosidad, la temperatura y la pérdida de agua en la estaca y, a la vez, permitir cierta actividad fotosintética. Dependiendo del clima, el tipo de estaquilla y otros factores, el tiempo de emisión de raíces varía entre 30 y 40 días (Mesén & Jiménez, 2016).

3.1.8. Aclimatación de clones post-enraizamiento

Debido a que los túneles proporcionan un ambiente sombreado y de alta humedad, no se deben sacar los plantines abruptamente al exterior, ya que muy posiblemente sufrirán quemaduras y desecación. Es necesario un periodo de aclimatación para preparar el plantín paulatinamente al ambiente externo.

En nuestro caso, este periodo es de aproximadamente una semana y se inicia cuando se observa la emergencia de raíces a través de los pellets (Mesén & Jiménez, 2016). Durante el periodo de aclimatación es necesario hacer evaluaciones periódicas de los plantines para eliminar aquellos que luzcan enfermos, débiles, sin hojas o con cualquier otro defecto. Este control de calidad es fundamental para trasladar al vivero únicamente los plantines sanos y vigorosos, con buenos sistemas radiculares, y evitar así problemas posteriores en la plantación (Mesén & Jiménez, 2016).

Finalizado el periodo de aclimatación de dos semanas, los plantines estarán listos para su traslado al vivero para su desarrollo final antes del trasplante en campo. Una vez en vivero, el manejo de las plantas clonadas es el mismo que se da a las plantas tradicionales producidas por semilla, y el tiempo de permanencia en vivero es similar. Este puede ser de 3-6 meses, dependiendo de los sistemas de manejo, así como de los gustos y preferencias del productor (Mesén & Jiménez, 2016).

3.2. Las micorrizas

3.2.1. Generalidades

El término micorriza se debe al botánico alemán Frank, que en 1885 lo utilizó para describir la existencia de raíces de plantas vasculares que estaban infectadas con hongos. Las micorrizas se definen como asociaciones simbióticas mutualistas entre hongos y raíces de las plantas superiores (Borreno, 1991).

En el pasado existía una contradicción acerca de los hongos, hoy en día hay muy pocas dudas entre los investigadores y científicos acerca de los beneficios de los hongos micorrízicos en el crecimiento, desarrollo y supervivencia de la mayoría de las plantas en los ecosistemas terrestres.

La evidencia fósil reciente y los patrones moleculares de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) basados en secuencia de genes ribosomales, los ubica entre 400 y 500 millones de años de antigüedad y evolucionando en la misma época en que las plantas se establecían en el medio ambiente terrestre. Las simbiosis formadas entre los hongos ecto y endomicorrízicos y sus hospederos vegetales son factores determinantes en la estabilidad de las comunidades de plantas en los ecosistemas glomales (Guerrero, 1996).

El beneficio mutualista de la simbiosis se da de la siguiente manera: la planta hospedera proporciona al hongo simbionte (heterótrofo) compuestos carbonados procedentes de la fotosíntesis y un hábitat ecológico protegido (Robles, 2009), mientras que éste cede a la planta nutrientes minerales, especialmente aquellos menos asequibles para la misma, en virtud de la mayor accesibilidad del micelio externo del hongo a recursos del suelo más distantes de la capacidad de acceso del sistema radical (Smith & Read, 2008).

Además según, Fasabi (2012), las asociaciones micorrízicas desarrollan múltiples funciones importantes para el hospedero, de las que se pueden destacar las siguientes: estimulan el crecimiento de la planta y aumenta considerablemente la producción y biomasa aérea y radical, esto debido a la mayor y más rápida disponibilidad de nutrientes en el sistema vascular de las plantas, que acelera su actividad fotosintética para mantener su equilibrio fisiológico, la producción de fitohormonas por parte de la micorriza. Ayuda a mejorar tolerancia frente al estrés hídrico, facilitan la adaptación a suelos salinos y contribuyen a disminuir el proceso de erosión (Rivera *et al.*, 2003).

Así mismo los HMA cumplen otras funciones vitales en los ecosistemas, como: aumentar la capacidad de absorción de fósforo y nutrientes de lenta difusión en el suelo reduciendo su dependencia a fertilizantes; aumentan la tolerancia de las raíces a patógenos del suelo (nematodos, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y otros); funcionan como un mecanismo de restauración ecológica de los suelos; aumentan la biodiversidad vegetal en el ecosistema como producto de la biodiversidad de especies de HMA; y aumentan la agregación del suelo mejorando su estructura mediante la producción de glomalina (glicoproteína que actúa como un pegante natural de las partículas del suelo, componente importante de la materia orgánica y clave para el almacenamiento de carbono) (Smith y Read, 2008).

3.2.2. Tipos de asociaciones micorrízicas

Tradicionalmente la clasificación de las micorrizas se basa en criterios morfológicos que han dividido a estas en grupos; las ectomicorrizas, las endomicorrizas, las ectoendomicorrizas. Sin embargo, muchos investigadores han llegado a establecer que para hablar de las micorrizas en una forma más universal

e igualitaria, lo ideal es dividir las micorrizas en los seis grupos más dominantes; las endomicorrizas, las ectomicorrizas, las micorrizas de orquídeas, las cricoides, las monotropoides y las arbutroides (Chiriboga, 2001) citado por (Rodríguez Morena, 2001).

Endomicorrizas: Es el tipo de micorriza con mayor potencial en el campo agrícola ya que trabaja o forma la simbiosis con un 05% de las plantas y una característica importante es que a diferencia de las ectoendomicorrizas no forma trufas. Las esporas al germinar forman hifas, en este tipo de micorriza el crecimiento de las mismas es intracelular e intercelular, formando vesículas arbusculares que crecen dentro de la célula. Actualmente se le llama micorriza arbuscular (AM) y no vesículo arbuscular (VAM) por la simple razón que se ha descubierto que hay algunas dentro de este tipo que no producen vesícula.

La micorriza arbuscular se forma a partir de hongos bastante localizados taxonómicamente, puesto que todos pertenecen al orden Glomales de la clase Zygomycetes. Los Glomales u hongos formadores de micorriza arbuscular conforman un grupo monofilético caracterizado por la capacidad de desarrollar una simbiosis mutualista y por la formación de arbusculos intra radicales en las plantas hospedadoras (Morton, 1990). Según Guerrero (1996), estos hongos están distribuidos en tres familias: Glomaceae, Acaulosporaceae y Gigasporaceae, seis géneros: glomales, Sclerocystis, Acaulospora, Entrophospora, Gigaspora y Scutellospora.

3.2.3. Estructuras de los Hongos Micorrízicos arbusculares

- **Esporas**

Es uno de los medios reproductivos del hongo, al germinar producen una estructura denominada hifas. La germinación de la espora se debe al estímulo de exudados producidos por las raíces de las plantas llamados flavonoides; sin embargo, este es solo uno de los tantos aminoácidos y carbohidratos que participan en la germinación de la espora siendo los flavonoides los más importantes (Chiriboga, 2001) citado por (Rodríguez Morena, 2001). El tiempo que necesita una espora para su germinación es alrededor de uno a dos meses, dependiendo de la especie con que esté trabajando.

- **Hifas**

De esporas germinadas o del micelio externo, las hifas penetran en la raíz y un apresorio en las capas más internas del parénquima cortical. La infección también puede ocurrir por hifas que recorren la superficie de la raíz. Estas hifas también hacen un haustorio para entrar en la raíz, se pueden presentar dos tipos de hifas: gruesas y delgadas, cuyo crecimiento es la epidermis de la raíz, puede ser intracelular o intercelular, pero estas nunca penetran la endodermis, tejidos vasculares, meristema, tejido viejo de la raíz o en sistemas especializados de organismos vivos. Es importante mencionar que, si en algún momento se observan al microscopio hifas muy oscuras, es debido que a través del tiempo existe una degradación y descomposición de las mismas (Rodríguez Morena, 2001).

- **Arbúsculos**

Es la estructura más importante de la simbiosis, porque es ahí donde ocurre el intercambio de nutrientes del hongo al huésped y viceversa. Al principio, el crecimiento de los arbúsculos es similar al de las hifas intercelulares, pero la ramificación característica de los arbúsculos puede llenar la célula por completo.

Los arbúsculos siempre están en contacto con hifas intracelulares. La vida de los arbúsculos es corta; la degradación empieza a partir de los extremos de las ramas hacia su base. En el interior de la misma célula pueden existir partes vivas y partes muertas; el tronco es la última parte en colapsar.

- **Vesículas**

Las vesículas, son estructuras de forma diversa según la especie (redondeadas, ovoides, etc.), con paredes finas producidas por el hinchamiento terminal de hifas. Éstas almacenan gran cantidad de lípidos y actúan como órgano de reserva del hongo en situaciones de estrés, como la falta de carbohidratos (Smith & Read, 2008).

3.2.4. Proceso de infección micorrízica

La infección o colonización de una raíz por parte de un hongo micorizógeno es un proceso que involucra una secuencia de etapas reguladoras por una precisa interacción entre endosimbionte y hospedero. La pre-infección está asociada a la actividad de los propágulos infectivos presentes en el suelo que circunda la

raíz. Dichos propágulos pueden ser esporas o micelio fúngico. Este último, generalmente se encuentra vinculado a raicillas de plantas vivas o segmentadas de raíz infectados (Corpoica, 1998).

3.2.5. Simbiosis de los Hongos Micorrízicos Arbusculares con el cultivo de café

El café es un cultivo que de forma natural desarrolla la simbiosis con los hongos micorizógenos arbusculares, necesitando de estos para su establecimiento, por lo que es considerado un cultivo micorófico obligatorio (Siqueira y Franco, 1988).

Es un hecho universalmente aceptado que las micorrizas estimulan el crecimiento, desarrollo y nutrición de las plantas, especialmente en suelos de baja y moderada fertilidad aunque últimamente se reconoce su efecto inclusive en suelos de alta fertilidad (Fernández, 1999); la micorriza beneficia substancialmente la absorción de nutrientes, especialmente de P y de agua por la planta, aunque en los últimos años ha quedado claro el papel de la misma en la absorción de los diferentes elementos minerales, como el N, Ca, etc. (George, 2000) y en el potasio (Ruíz, 2001).

Siqueira y franco (1988) plantearon un esquema general de manejo de las asociaciones micorrízicas, en el cual con razón condicionaban el éxito de la inoculación con HMA, a la existencia de poblaciones bajas de propagulos nativos o a la presencia de especies nativas no eficientes. También reportaron, que a medida que un ecosistema tuviera una inefectividad y efectividad natural alta, la necesidad de la inoculación seria baja y por ende la posibilidad de éxito pequeña; sin embargo, en caso contrario aumentaría la posibilidad de éxito de la inoculación (Siqueira & Franco, 1988).

No obstante, existe una elevada dependencia micorrízica del café en suelos de baja fertilidad y muy compactos, ejerciendo efectos beneficios en la nutrición, crecimiento y en la producción de granos de este cultivo, a pesar de esto, el uso de los HMA no es común entre los viveristas (Rivera et al., 1997).

Con base en algunos datos recopilados se menciona que el café tiene dependencia con algunas especies de hongos micorrízicos entre los cuales se encuentran los géneros *Acaulosporas* y *Glomus* (Trejo, 1997).

Así mismo Jiménez (1989), encontró que en viveros de café donde se inocularon varias especies de hongos, se registró un mayor crecimiento de plantas, como es en el caso de ensayos realizados con *Gigaspora margarita* en lo que se han obtenido crecimientos superiores a un 200% con relación a las plantas no inoculadas.

3.2.6. Factores que ayudan al proceso de micorrización

Potencial de iones de Hidrogeno (pH): Con relación a este parámetro se ha encontrado que altos valores de micorrización (50% a 84%) están asociados a bajos valores de pH (3.5 a 4.2). Reportes de otras zonas indican mayor micorrización a pH menor de 5 unidades. A nivel general se reportan niveles de tolerancia de distintos géneros a valores de pH entre 3 y 9 (Corpoica, 1998).

La relación que se establece entre los rangos de pH del suelo y el efecto de la colonización micorrizogena es verdaderamente compleja, dependiendo no solo de la especie micótica, sino también del tipo de suelo, la forma en que se encuentran los nutrientes fundamentalmente el fósforo (P), Nitrógeno (N) y otros elementos como cobre (Cu), molibdeno (Mo), boro (B), entre otros.

Fósforo disponible: el micelio externo explora el suelo y toma el fosfato inorgánico o es capaz de hidrolizar el fosforo orgánico (fosfatasas). El fosfato es transferido a las vacuolas fúngicas donde es polimerizado para formar cadenas de poli-fosfato, las vacuolas son transportadas a las hifas internas donde se lisan y liberan el fosfato en el arbusculo; el fosfato se libera al espacio interfacial mediante transporte pasivo. Una vez en el citosol el fosfato es traslocado al sistema vascular y distribuido a la planta (Fagro, 2009).

Hospedero: en general, el porcentaje de infección aparece ser alto por hifas cenocíticas, segundo por vesículas y en menor proporción por arbusculos. Tal tendencia podría indicar que se trata de una simbiosis saprofítica, donde los hongos harían un ciclaje directo desde la hojarasca. Sin embargo, es necesario hacer estudios de asociación a los MVA con otros microorganismos como los celulíticos y los lignolíticos (Corpoica, 1998).

Temperatura: La temperatura tiene una acción directa en el porcentaje de crecimiento radical y producción de nuevas raíces. En la misma dirección, esta juega también un papel muy importante en el establecimiento de las micorrizas, el cual presenta tres fases:

1. germinación de las esporas en el suelo
2. penetración de las hifas en la raíz
3. desarrollo dentro de las células del córtex

La temperatura óptima para el crecimiento de los hongos micorrízicos arbusculares varía entre 17 y 27°C (Molina, s.f.).

Humedad: Niveles adecuados de humedad en el suelo generan altos índices de micorrización, en tanto que los extremos secos, lluviosos o las inundaciones causan el efecto contrario (Corpoica, 1998).

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Materiales

4.1.1. Ubicación

La investigación se ubicó en el distrito de Huambo en las coordenadas $6^{\circ} 20' 10''$ S, $77^{\circ} 27' 58''$ O, a una altitud de 1630 m.s.n.m. en la provincia de Rodríguez de Mendoza. En este estudio la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza-UNTRM-A tiene una estación experimental INDES-CES (Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva) donde se construyó un invernadero con fondos del proyecto, financiado por INNOVATEPERÚ.

4.1.1.1. Ubicación geográfica del área de estudio

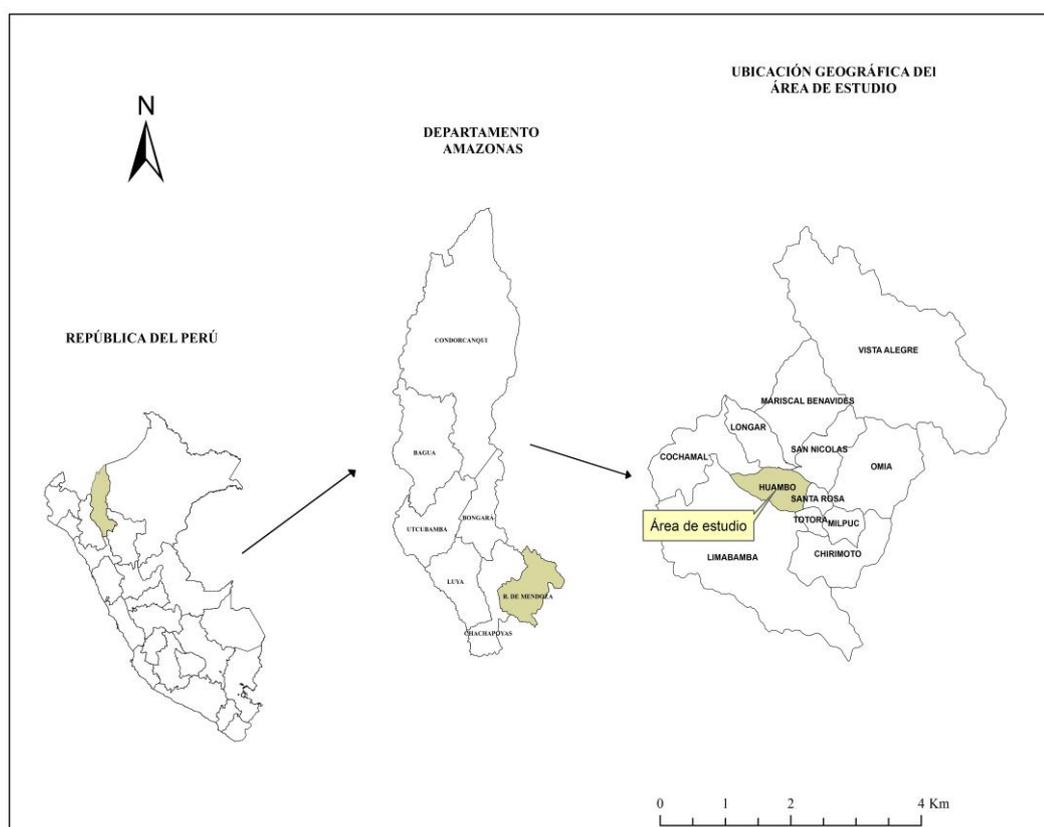


Figura 1. Ubicación geopolítica del distrito de Huambo/provincia de Rodríguez de Mendoza/Amazonas

4.2. Métodos y procedimientos

4.2.1. Características del campo experimental

En esta investigación se trabajó con un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 13 tratamientos y 3 repeticiones, cada repetición estuvo constituido por 4 plantas clonales de café (unidad de experimentación).

4.2.2. Población y muestra

Población: plantas clonales de cafeto variedad caturra micorrizadas, distrito Huambo, Rodríguez de Mendoza, Región Amazonas.

Muestra: se evaluó 12 plantones de café por tratamiento, y en total 156 plantas en todo el ensayo, se tuvo en cuenta evaluar todas las plantas para tener resultados más precisos.

4.2.3. Área del invernadero y distribución de unidades experimentales

Se utilizó el invernadero con dimensiones de 3 m de ancho y 5.30 m de largo, en la cual se instaló el trabajo de investigación, considerando 13 tratamientos, 3 repeticiones y 4 plantas por repetición (Ver Figura 2).

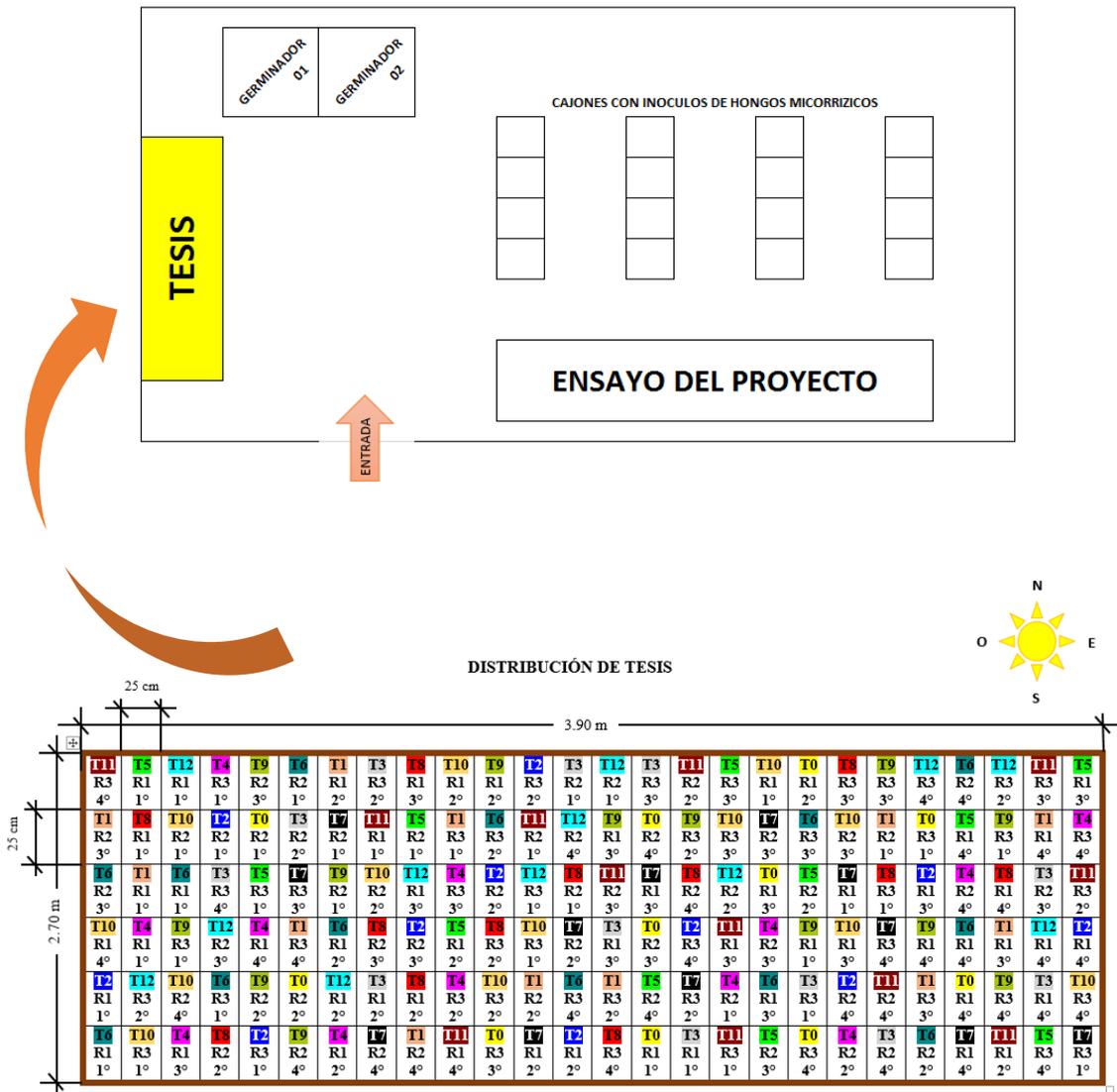


Figura 2. Croquis de la distribución de plantas clonales micorrizadas/Estación Experimental INDES-CES-UNTRM-A/HUAMBO

4.2.4. Diseño estadístico del campo experimental

La investigación fue de tipo experimental, para la cual se utilizó el diseño completo al azar (DCA); con 13 tratamientos, tres repeticiones y cada tratamiento tuvo 12 unidades experimentales, generando un total de 156 unidades experimentales (Tabla 1).

Los datos fueron registrados en una libreta de campo y luego transferidos a una base digital en una hoja de cálculo del software SPSS v. 20. Los promedios fueron sometidos a la prueba Tukey con nivel de significancia de $p < 0,05$.

Tabla 1. Descripción de tratamientos de estudio/Rodríguez de Mendoza/Amazonas

Tratamiento	Distrito	Variedad
T0	Testigo	Testigo
T1	San Nicolás	Típica
T2	Huambo	Típica
T3	Cochamal	Caturra
T4	Omia	Caturra
T5	Omia	Típica
T6	Omia	Caturra
T7	San Nicolás	Típica
T8	Mariscal Benavides	Caturra
T9	Omia	Típica
T10	Omia	Típica
T11	Omia	Caturra
T12	Huambo	Caturra

Fuente: Elaboración propia, 2017.

Modelo aditivo lineal

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}.$$

Para $i = 1, 2, 3, \dots, 13$ tratamientos y $j = 1, 2, 3, \dots$ Observaciones o repeticiones

Y_{ij} : representa la j -ésima observación del i -ésimo tratamiento

μ : representa a la media poblacional a partir de los datos del experimento

τ_i : Efecto del i -ésimo tratamiento a estimar a partir de los datos del experimento.

ϵ_{ij} : Representa a la media poblacional a partir de los datos del experimento.

Tabla 2. Fuente de variación y grados de libertad

Fuente de variación (FV)	Grados de libertad(GL)
TRATAMIENTOS	13-1 = 12
ERROR	155-12 = 143
TOTAL	156-1 = 155

Fuente: Elaboración propia, 2017.

4.2.5. Conducción del experimento

4.2.5.1. Instalación del experimento

El experimento se instaló cuando se tuvo completo el material de 156 clones enraizados en los microtuneles en invernadero.

4.2.5.2. Obtención de fuentes de inóculos

Se seleccionaron 12 parcelas de café variedades caturra y nacional con alta productividad y tolerantes a roya ubicados en 5 distritos de la provincia de Rodríguez de Mendoza: Omia, San Nicolás, Cochamal, Mariscal Benavides y Huambo (Figura 3), ubicadas en altitudes entre 1600 a 1630 m.s.n.m. En cada parcela se seleccionaron 4 plantas de café de las variedades caturra y nacional, de las cuales se extrajo 10 kg de suelo por planta, obteniendo una cantidad de 40 kg por parcela.

La colecta del suelo se hizo de tres puntos diferentes del pie de planta, a una profundidad de 0 a 15 cm, separadas a una distancia de 30 cm del tallo principal (Robles *et al.*, 2008). Las muestras de suelo fueron colocadas en bolsas de polietileno debidamente etiquetados y llevadas a la estación experimental INDES-CES.

Posterior a ello se sacó una sub-muestra de 1 kg de suelo (12 fuentes de inóculo) de las muestras colectadas para enviar al laboratorio del IIAP-San Martín, para realizar el conteo de esporas de hongos micorrízicos arbusculares nativos (Tabla 3). Otra sub-muestra de 1 kg se envió al laboratorio de la UNAM-L para su análisis físico-químico de cada fuente de inóculos (Tabla 14-anexo).

El suelo sobrante se colocó en los cajones multiplicadores de Hongos Micorrízicos Arbusculares.

MAPA DE LA PROVINCIA DE RODRÍGUEZ DE MENDOZA

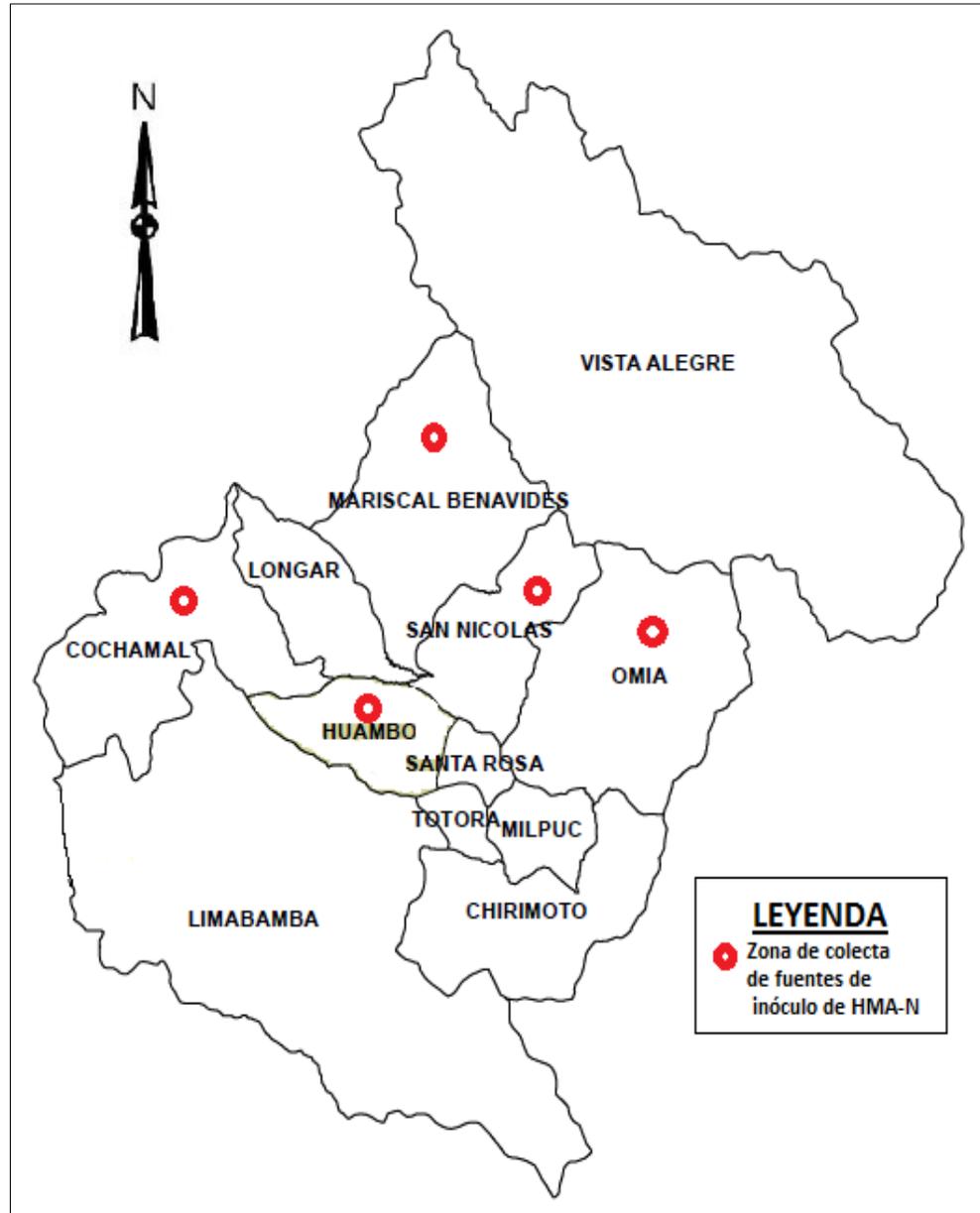


Figura 3. Mapa ubicación de los distritos de la provincia de Rodríguez de Mendoza y de recolección de fuentes de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares.

Tabla 3. Conteo de esporas de inóculos de HMA colectados de parcelas de café de la provincia de Rodríguez de Mendoza

TRATAMIENTOS	Número de esporas/10g de suelo
T1 (San Nicolás-Típica)	112
T2 (Huambo-Típica)	134
T3 (Cochamal-Caturra)	1028
T4 (Omia-Típica)	120
T5 (Omia-Típica)	225
T6 (Omia-Caturra)	315
T7 (San Nicolás-Típica)	192
T8 (Mariscal Benavides-caturra)	307
T9 (Omia-Típica)	75
T10 (Omia-Típica)	91
T11 (Omia-Caturra)	130
T12 (Huambo-Caturra)	763

Fuente: Elaboración propia, 2017.

4.2.5.3. Instalación e implementación de cajones de multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares

Los cajones multiplicadores para los hongos micorrízicos arbusculares se construyeron con tablas, con las siguientes medidas: 60 cm de largo por 50 cm de ancho y una profundidad de 30 cm, recubriéndolas con plástico doble de polietileno, con el fin de evitar el contacto con el suelo y evitar cualquier tipo de contaminación que se pueda presentar.

Seguidamente con las fuentes de inóculos de HMA ya recolectados y con la arena previamente esterilizada se procedió a la mezcla de ambos materiales, con la ayuda de un balde de aproximadamente 5 kg se midió las proporciones de ambos sustratos las cuales fueron de 40:60 (fuente de inóculo: arena respectivamente). La mezcla se realizó sobre una carretilla en la cual se depositó las concentraciones de ambos sustratos procediéndose a mezclarlos homogéneamente.

Cuando las mezclas de ambos sustratos estuvieron listas, éstas fueron llevadas al vivero de multiplicación de HMA, colocándose aproximadamente 25 a 35 kg del sustrato por cajón, así mismo se uniformizó la mezcla. Esta actividad fue realizada de la misma manera, para cada uno de los sustratos, que constituyeron al mismo tiempo los tratamientos.

4.2.5.4. Multiplicación de los Hongos Micorrízicos Arbusculares

Para multiplicar los HMA, se utilizó maíz (*Zea mays* L.) como planta trampa. Se hizo 5 surcos a 10 cm una de otra y se sembró las semillas de maíz un total de 18 semillas por surco, posterior a la siembra se aplicó una mezcla de 10 g de urea + 10 g de fosfato diamónico + 10 gramos de cloruro de potasio por cajón multiplicador. Treinta días después se aplicó 40 g de urea por cajón, y otra aplicación de 40 gramos de úrea se realizó a los 45 días después de la siembra. A los 60 días se suspendió el riego para generar estrés hídrico en las plantas de maíz y se logró estimular la multiplicación de esporas de HMA, 20 días después de la suspensión del riego, las plantas de maíz fueron cortadas a ras del suelo del sustrato. El sustrato fue utilizado como fuente de inóculo (Los Biofertilizantes, s.f.).

4.2.5.5. Cuantificación de esporas de hongos micorrízicos arbusculares multiplicados con plantas trampas de maíz

La cuantificación de esporas de HMA, se realizó siguiendo la metodología propuesta por León, (2006) con modificaciones.

Se pesó 10 g de muestra de suelo y se disolvió en un frasco de 5 litros de agua, siendo agitado por 10 segundos continuamente, luego se dejó reposar la mezcla por 30 segundos y seguidamente se vertió la solución sobre los tamices de 250 y 38 micras, repitiendo esta operación 5 veces y descartando los restos sobrantes en el frasco. Luego se lavó cada tamiz y la solución del primero (250 μm) fue colocado en una placa Petri, a su vez la solución del segundo (38 μm) se colocó en un tubo falcon en el que previamente fue colocado 20 ml de azúcar al 20 %, seguido de 20 ml de azúcar al 60% y guardado en refrigeración hasta terminar el ensayo con todas las muestras.

Los tubos se colocaron en centrifuga a una revolución de 2400 rpm/ 4 minutos para precipitar partículas de suelo y suspender las esporas hasta la interface entre los dos azúcares. Finalizado la centrifugación, los tubos falcon fueron

retirados con sumo cuidado, y dicha la muestra se colocó sobre el tamiz de 38 micras, para ser lavados con agua corriente y eliminar la sacarosa, dejando solamente las esporas, las cuales fueron transferidas a una placa Petri. Por ultimo las muestras de esporas obtenidas fueron llevadas a un microscopio estereoscopio, fueron observados y contadas a un aumento de 4X.

Tabla 4. Conteo de esporas de HMA multiplicados en cajones con plantas trampas de maíz.

TRATAMIENTOS	Número de esporas/10g de suelo
T1 (San Nicolás-Típica)	288
T2 (Huambo-Típica)	288
T3 (Cochamal-Caturra)	1860
T4 (Omia-Típica)	257
T5 (Omia-Típica)	342
T6 (Omia-Caturra)	533
T7 (San Nicolás-Típica)	243
T8 (Mariscal Benavides-caturra)	475
T9 (Omia-Típica)	182
T10 (Omia-Típica)	239
T11 (Omia-Caturra)	238
T12 (Huambo-Caturra)	1161

Fuente: Elaboración propia, 2017.

4.2.5.6. Selección de plantas matrices de café e inducción de brotes

Se seleccionaron plantas de café de variedad caturra en fincas cafetaleras de la provincia de Rodríguez de Mendoza, dichas plantas seleccionadas fueron de edades menor a 10 años y con buena productividad y tolerancia a roya.

De las plantas seleccionadas se evaluaron el número de frutos por planta, número de ramas productivas, número de flores, números de yemas axilares, tamaño, diámetro y severidad de roya, estos datos se registraron en una libreta de campo para luego ser pasados a un formato digital y tener su historial.

Seguidamente las plantas fueron codificadas y geo-referenciados, luego se cortaron las ramas hasta el tercio medio del tamaño de planta. Finalmente las

plantas fueron “agobiadas o inclinadas” con un ángulo de 45 grados respecto al suelo, con dirección de este a oeste, presentando radiación solar todo el día para la inducción de brotes.

4.2.5.7. Colecta de brotes de plantas matrices de café variedad caturra

Los “brotes o clones” se colectaron de 2 a 3 meses de edad. El procedimiento de la colecta fue el siguiente: se cortó los brotes de 10 cm aproximadamente de las plantas matrices utilizando una tijera de podar (limpia), luego se colocó en bolsas de papel craft teniendo en cuenta que los brotes no tengan contacto con otras plantas de la parcela ante posibles contaminaciones con roya y otras enfermedades. La colecta se hizo por la mañana, para no perder brotes por desecación, éstos fueron colocados en una caja de tecnopor y pulverizadas con agua para mantenerlos turgentes, y finalmente fueron llevados de inmediato al laboratorio para su proceso de enraizamiento.

4.2.5.8. Enraizamiento de brotes

En el invernadero se uniformizaron el tamaño de los brotes, dejando a todos ellos en 7 cm de longitud, al mismo tiempo se cortaron las hojas al 50% para evitar su deshidratación, estos brotes fueron sumergidos en una solución fúngica de Antracol 70% PM a una concentración de 3 g por 1 litro de agua durante un periodo de 10 minutos. Pasado el lapso de tiempo se introdujo la parte basal de los brotes en solución de hormona ácido indol butírico (AIB) 2000 ppm (0.2 g de AIB diluido en 100 ml de alcohol 96°) contenida en una placa Petri, por un lapso de 1 a 2 segundos; se dejó reposar por 20 segundos para volatilizar el exceso de alcohol y éstos se colocaron en sustratos pellets Jiffy® de 50 x 95 mm el cual se hidrató con abundante agua durante un periodo de 15 minutos, hasta que alcance su máximo volumen de longitud de 10 centímetros, los brotes se introdujeron 2 cm de la parte basal y se presionó el sustrato para no dejar espacios vacíos, completada la bandeja de 50 Jiffys® se llevó a los micro-túneles para su enraizamiento.

4.2.5.9. Esterilización de sustrato

Previamente a ello se colectó la tierra de una parcela agrícola en el caserío de Miraflores. Esta se zarandeó y se colocó en horno de panadería a 200 °C donde estuvo por un periodo de 2 horas, para eliminar todo tipo de microorganismos, principalmente los HMA. De esta manera se aseguró una menor contaminación con los tratamientos en estudio (figura 11-Anexo). Seguidamente se esterilizó arena de río, para ello se colocó en carretillas (limpias) y se lavó con agua hervida a 100 °C por 10 minutos, repitiendo esta operación tres veces, removiendo con una palana limpia (figura 12-Anexo).

4.2.5.10. Mezcla de sustrato y llenado de bolsas de vivero

Se mezcló tierra agrícola y arena de río previamente esterilizado, con proporción de mezcla 2:1 respectivamente, luego con la ayuda de una palana (limpia) se homogenizó el sustrato en plásticos de polietileno para evitar contacto con el suelo.

Después de la mezcla se llenaron las bolsas de vivero 5 x 8 pulgadas y humedecidos con agua en capacidad de campo para repicar e inocular adecuadamente las plántulas clonales de café. Finalmente se sacó un 1 kg de la mezcla de sustrato y envió al laboratorio de aguas y suelos de la UNTRM-A, para su caracterización físico-químico (Tabla 13-Anexo).

4.2.5.11. Pesado de sustratos con Hongos Micorrízicos Arbusculares para la inoculación en plantas clonales de café

Se colectaron doce muestras de HMA de los cajones multiplicadores previamente homogenizados, se pesó el sustrato en función a los resultados de la segunda cuantificación de esporas (Tabla 5) logrado tener en cada peso 1500 esporas de HMA por fuente de inóculo (Tabla 16-Anexo).

4.2.5.12. Repique de plantas clonales de café e inoculación con HMA

Después 4 meses se obtuvo el enraizamiento de los clones de cafeto en los sustratos Jiffys; efectuándose el repique y la inoculación simultáneamente, con la finalidad de reducir el estrés y poner en contacto directo el inóculo y las raíces de las plantas clonales de café.

Los clones de café al momento del repique se uniformizaron haciendo coincidir todos con similares parámetros morfológicos. Realizado la

homogenización se inocularon con 1500 esporas de HMA directamente a la raíz (Chinchay, 2016), cantidad que fue estándar para todos los tratamientos excepto el testigo que no fue inoculado, se cubrió con el mismo sustrato esterilizado para llenar las bolsas y se agregó agua para activar los HMA y evitar el marchitamiento de las plantas clonales de café.

Durante la inoculación se tuvo en cuenta que no exista contaminación entre los inóculos en estudio, para ello se utilizó guantes quirúrgicos y alcohol 96° para hacer desinfección de materiales.

Finalmente, cada uno de las plántulas fueron codificadas con etiquetas plásticas, colocando datos sobre el tratamiento, la repetición, número de planta y el código de procedencia de la planta matriz de café.

4.3. Evaluación

4.3.1. Evaluación de variables independientes

4.3.1.1. Determinación del porcentaje de colonización micorrízica

Se sacó 50 raíces finas de las plantas clonales de café, con tamaños mayores a un centímetro las cuales fueron lavadas con agua de caño y colocadas en tubos de ensayo en una solución de alcohol, a una concentración de 70%, cubriéndose los tubos de ensayo con cintas PARAFILM para que no se volatilice el alcohol y lograr una buena conservación. Finalmente, los tubos de ensayo se colocaron en refrigeradora a cuatro grados centígrados hasta el proceso de tinción de raíces.

A. Tinción de raíces

Para la tinción de raíces se siguió la metodología propuesta por Phillips & Hayman, (1970) con modificaciones, tal como se escribe a continuación:

Las raíces se colocaron en tubos de ensayo, dentro de una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% de concentración en peso/volumen, hasta cubrir la muestra por un periodo de 24 horas, pasado el tiempo éstas se colocaron en baño María a 90°C durante 30 minutos, para aclarar el tejido cortical.

Posterior a ello se lavó las raíces dos a tres veces con agua corriente, luego se dejaron en agua oxigenada durante 90 minutos a temperatura ambiente, para realizar el aclarado de los pigmentos de la raíz. Cumplido los 90

minutos se lavó dos o tres veces con vinagre blanco para acidificar las muestras y prepararlas para la tinción.

Por consiguiente las raíces se sumergieron en tinta azul de trypano al 0.25% en concentración peso/volumen y fueron colocadas en baño María a 90°C durante 60 minutos, posterior a la tinción de las raíces se dejó enfriar las muestras y se lavó dos o tres veces más con una mezcla vinagre al 50%, para eliminar el exceso del tinta y finalmente se dejó en los mismos tubos de ensayo las raíces con una solución de vinagre para su conservación.

B. Estimación del grado de colonización micorrízica

La determinación del grado de colonización micorrízica fue calculada utilizando la metodología de (Trouvelot, *et al.*, 1986). Para ello se colocaron 30 fragmentos de raíz teñidas de un centímetro de tamaño sobre una lámina portaobjetos y montadas paralelamente entre sí, con ayuda de estiletes y un bisturí número 20. Completado los 30 fragmentos de raíces, se añadió una gota de lactoglicerol para mantener húmedas las raíces, se cubrió con una laminilla cubre-objetos, para finalmente ser observadas en microscopio a un aumento de 40x.

En la evaluación a cada segmento de raíz se le asignó un porcentaje correspondiente a la colonización micorrízica de acuerdo a las siguientes categorías (Figura 12).

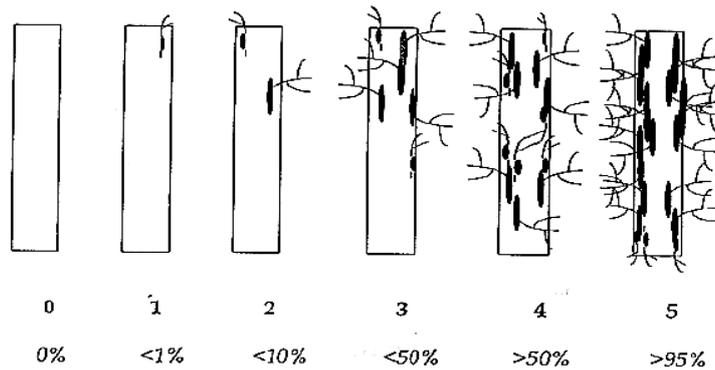


Figura 4. Niveles de colonización (0-5) de HMA según el grado, método de Trouvelot, *et al.*, 1986

Finalmente, para el cálculo de la intensidad de la colonización en el sistema radicular se utilizó la siguiente fórmula:

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

Dónde: n1 = número de fragmentos clasificados como 1 (<1%); n2 = número de fragmentos clasificados como 2 (<10%); n3 = número de fragmentos clasificados como 3 (<50%); n4 = número de fragmentos clasificados como 4 (>50%) y n5 = número de fragmentos clasificados como 5 (>95%).

4.3.1.2. Determinación de la longitud de micelio extraradical (MER)

Para la evaluación de esta variable se sacó 240 g de sustrato en el que estuvieron las plantas clonales de café, se homogenizó todo el sustrato de la bandeja, y se colocó en papel bond A4 para ser secado a temperatura ambiente, finalmente una vez secas el sustrato se colocaron en bolsas ZIPLOC con cierre hermético debidamente etiquetados.

A. Tinción de micelio extraradical

Los sustratos con HMA fueron llevados al laboratorio y se siguió la técnica del gel semisólido y cuantificación por el método de intersección de cuadrantes (Robles, 2009), con el siguiente procedimiento:

Se pesó una muestra de 1g de suelo en una balanza analítica y se colocó en un vaso precipitado de 250 ml, se agregó una pequeña cantidad de vinagre para dispersar los agregados del suelo y acidificar los segmentos de micelios.

Luego se añadió 20 ml de solución de tinta “ARTESCO” al 15% disuelto en ácido acético, se dejó reposar por 30 minutos a temperatura ambiente. En el mismo vaso de precipitado luego de los 30 minutos, se enrazó a 100ml con agua destilada.

Se colocó la muestra en baño maría (90°C), por un periodo de 90 minutos, realizando un agitado de la muestra constantemente.

Cumplido los 90 minutos en baño maría las muestras fueron pasadas por un tamiz de malla de 38 µm. El material en el tamiz se depositó en el mismo vaso y se agregó 30 ml de agua destilada. Se colocó esta muestra en baño maría (90°C) por 1 minuto, en seguida se enrazó a 100ml agregando 70ml de agar-agar al 0,64% en concentración peso volumen, la muestra se dejó reposar por aproximadamente 5 minutos más en baño maría (90°C), logrando una concentración final de 0,45% de la solución.

Luego de los 5 minutos en el baño maría se mezcló agitando 6 veces con una jeringa de 20 ml para homogenizarlo, se tomó 10ml de la

homogenización y se colocó en placas Petri, cubiertas en la base por una rejilla de papel cuadriculada de 0,5 cm², para realizar la cuantificación intersección de Hifa-Líneas.

B. Estimación de la longitud de micelio extraradical.

Las muestras en las placas Petri fueron observadas en un microscopio estereoscópico a un aumento de 5X, se contó con ayuda de un contómetro las intersecciones de las líneas de la rejilla y las hifas de HMA. El conteo se realizó de toda el área de la placa Petri haciendo un desplazamiento vertical y en recorrido ordenado, teniendo en cuenta que todas las intersecciones de las líneas tanto verticales como horizontales sean contabilizadas. La cantidad numérica obtenida se transformó a longitud de micelio por unidad de peso de suelo utilizando una fórmula propuesta por (Newman, 1966).

Fórmula

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

R= Longitud de micelio por unidad de peso de suelo

A= Área de la placa

N= Número de intersecciones

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

4.3.2. Evaluaciones de las variables dependientes.

A. Altura de planta

La medición de la altura de planta se realizó desde la base del tallo hasta el ápice de la planta. Las evaluaciones se realizaron cada 15 días durante 3 meses después de la inoculación con HMA, para ello se utilizó una regla milimetrada de 30 cm., previamente desinfectado los materiales con alcohol 96°, para evitar la contaminación entre los tratamientos estudiados.

B. Materia seca de la parte aérea y radicular

Para esta variable se evaluaron todas las plantas clonales de café, para ello fueron llevadas al laboratorio para obtener las muestras de raíces y de sustrato por cada tratamiento, realizando las actividades que se describen a continuación:

Primero se colocó las bolsas con las plantas en una bandeja limpia, y con ayuda de un bisturí se cortó las bolsas de vivero para extraer todo el sustrato cuidadosamente sin dañar las raíces. Se lavó dichas raíces en agua corriente de caño hasta que quedar limpias, luego se colocó las plantas sin sustrato en recipientes de descartable con agua para que no se marchiten.

Posteriormente se cortó la planta, en la unión del tallo con las raíces. Se secó la raíz en temperatura ambiente para eliminar exceso de agua, y junto a las hojas estas se colocaron en estufa a 60 C° por un periodo de 72 horas. Las hojas previamente fueron fotografiadas para la determinación del área foliar.

Después de las 72 horas las muestras aérea y radicular, fueron pesadas en una balanza analítica debidamente calibrado para la determinación de la materia seca (Tabla 17-Anexo).

C. Área Foliar

Para la determinación del área foliar, se cortó las hojas de plantas clonales de café desde la parte apical hacia la parte basal con un bisturí N° 20. El corte de la hoja se realizó en la unión del pedúnculo y el tallo, luego se colocó en una plataforma de color negro acomodando las hojas en pares y ordenados en zigzag. Éstas se pegaron con cinta masking tape en la parte del envés en la plataforma negra para evitar el movimiento, y se colocó una moneda de un sol en la parte superior media de la plataforma, luego se tomó dos fotografías con una cámara digital; finalmente el cálculo de área foliar se hizo en un software ASSES.

V. RESULTADOS

5.1. Altura de planta (cm)

Tabla 5. Análisis de varianza para la altura de las plantas clonales de café

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	36,860	12	3,072	32,008	0,01 *
Error	13,723	143	0,096		
Total	50,584	155			

a. $R^2(\%) = 72,87$ b. $CV(\%) = 4,30$

En la Tabla 5, se presenta el análisis de varianza para la variable altura de planta, donde se puede apreciar que existe diferencia significativa entre los tratamientos estudiados.

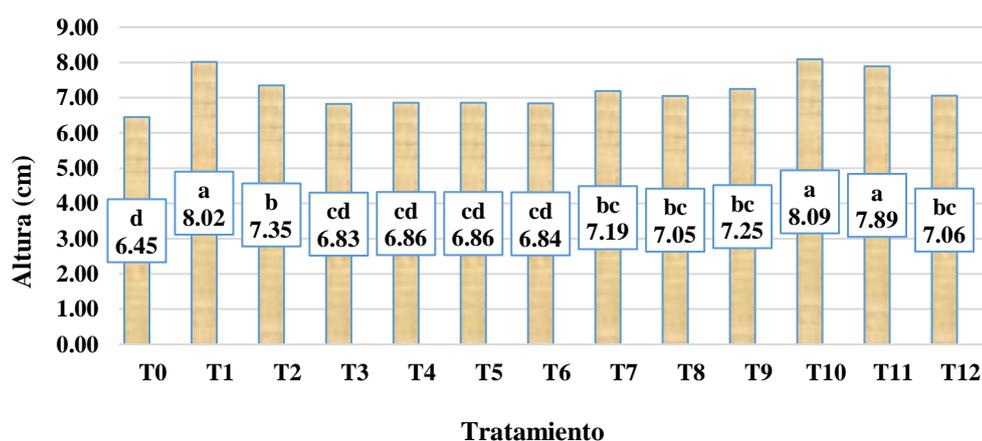


Figura 5. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la altura de planta clonal de café.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí

En la Figura 5, se presenta la comparación de medias con la prueba de Tukey ($P < 0,05$), para la variable altura de las plantas. En él se puede apreciar que el tratamiento T10, T1 y T11, obtuvieron los mayores promedios de altura de planta clonal de café con 8.09 cm; 8,02 cm y 7,89 cm respectivamente, sin diferencias significativas entre sí, seguidas por el tratamiento T2=7,35 cm. Así mismo el tratamiento testigo, al no haber sido inoculado con HMA, presentó el menor promedio de altura con 6,45 cm.

5.2. Materia seca aérea (g)

Tabla 6. Análisis de varianza para la biomasa seca aérea de las plantas de café

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	20,497	12	1,708	28,510	0,03 *
Error	8,567	143	0,060		
Total	29,064	155			

a. $R^2(\%) = 70,52$ b. $CV(\%) = 13,26$

La Tabla 6, muestra el análisis de varianza para la variable materia seca aérea, donde existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos estudiados.

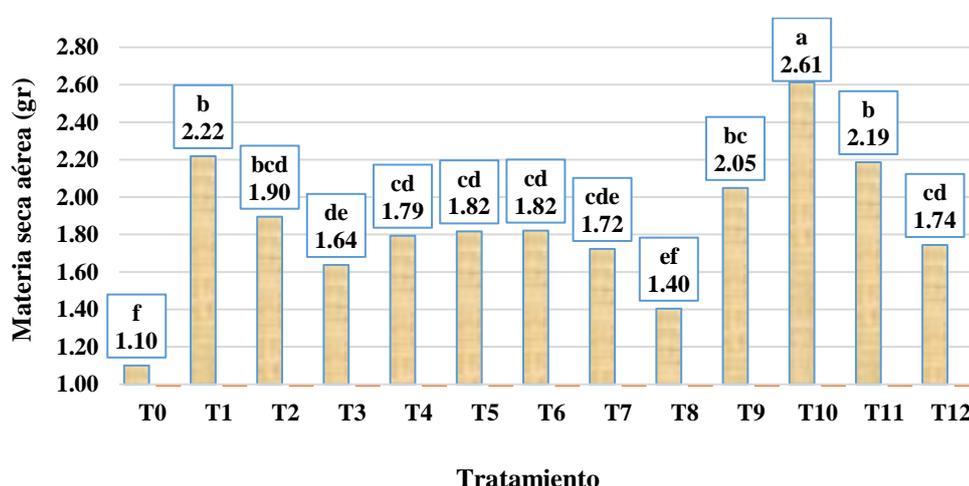


Figura 6. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la materia seca aérea de la planta clonal de café.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí

En la Figura 6, se presenta la comparación de medias con la prueba de Tukey ($P < 0,05$), para la variable de biomasa seca de la parte aérea. En el gráfico se puede apreciar que los tratamientos T10 y T1 tienen la mayor acumulación de la biomasa seca de la parte aérea de plantas clonales de café con 2,61 g y 2,22 g respectivamente, con diferencias significativas, seguida por los tratamientos T11, y T9 con 2,19 g y 2,05 g respectivamente, los cuales no mostraron diferencias significativas entre sí. Así mismo el tratamiento testigo fue el que presentó el menor valor para esta variable con 1,10g.

5.3. Materia seca radicular (g)

Tabla 7. Análisis de varianza para la biomasa seca radicular de las plantas de café

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	2,801	12	0,233	29,265	0,02 *
Error	1,140	143	0,008		
Total	3,941	155			

a. $R^2(\%) = 71,06$ b. $CV(\%) = 14,57$

En la Tabla 7, se presenta el análisis de varianza para la variable biomasa seca radicular, donde se observa que existe diferencia significativa entre los tratamientos estudiados.

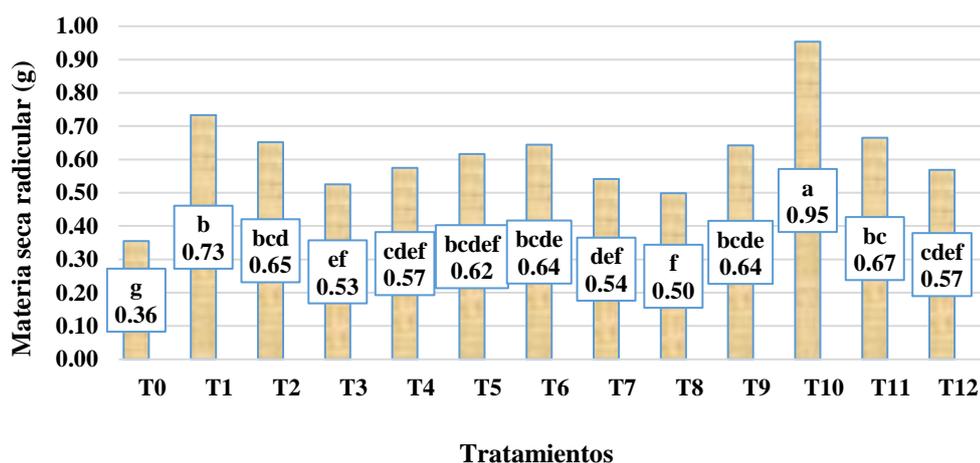


Figura 7. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la materia seca radicular de la planta clonal de café.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

La Figura 7, muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey ($P < 0,05$), para la variable biomasa seca radicular. En este gráfico se puede observar que el tratamiento T10 obtuvo el mayor valor para esta variable con 0,95 g, presentando diferencias significativas respecto a los demás, seguidos por los tratamientos T1 y T11 con 0,73 g y 0,67 g respectivamente, sin presentar diferencias significativas entre ellos. Así mismo el T8 obtuvo el menor valor en esta variable con 0,50 g, pero aun así éstos fueron mayor al testigo el cual alcanzó 0,36 g de biomasa seca de la parte radicular.

5.4. Área foliar (cm²)

Tabla 8. Análisis de varianza para el área foliar de las plantas del café

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	146258,699	12	12188,225	82,930	0,01 *
Error	21016,805	143	146,971		
Total	167275,503	155			

a. R²(%) = 87,44 b.CV(%)= 6,33

En la Tabla 8, se presenta el análisis de varianza para la variable área foliar, pudiendo observar que existe una diferencia estadística significativa entre los tratamientos estudiados.

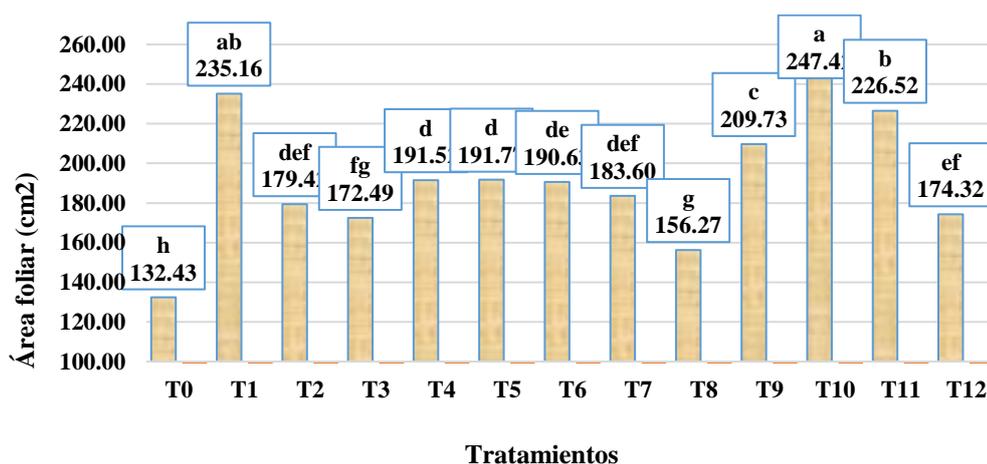


Figura 8. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para el área foliar de la planta clonal de café.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

En la Figura 8, se presenta la comparación de medias con la prueba de Tukey ($P < 0,05$) para el área foliar, en relación con el área foliar (cm²), nos muestra que los tratamientos T10, T1 y T11 mostraron los mayores valores en área foliar con 247,42 cm², 235,16 cm² y 226,52 cm² respectivamente, mostrando diferencias significativas respecto los otros tratamientos y el testigo, seguido por el tratamiento T9 =209,73 cm² que presentó también diferencia significativa respecto a los demás tratamientos. Finalmente, el tratamiento T0 (sin HMA), fue el que obtuvo el menor valor para esta variable con 132.43 cm².

5.5. Porcentaje de colonización

Tabla 9. Análisis de varianza de la intensidad micorrízica (%) de los HMA presentes en plantones clonales de café

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	1094,273	12	91,189	91,053	0,02 *
Error	143,214	143	1,001		
Total	1237,488	155			

a. R^2 (%) = 88,43 b.CV(%)= 20,48

Tabla 10. Análisis de varianza de la frecuencia micorrízica (%) de los HMA presentes en plantones clonales de café

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	12765,235	12	1063,770	54,171	0,04 *
Error	2808,137	143	19,637		
Total	15573,373	155			

a. R^2 (%) = 81,97 b.CV(%)= 22,24

En las Tablas 9 y 10, se presentan el análisis de varianza para la intensidad y frecuencia micorrízica, pudiendo observar que existe diferencia significativa entre los tratamientos estudiados.

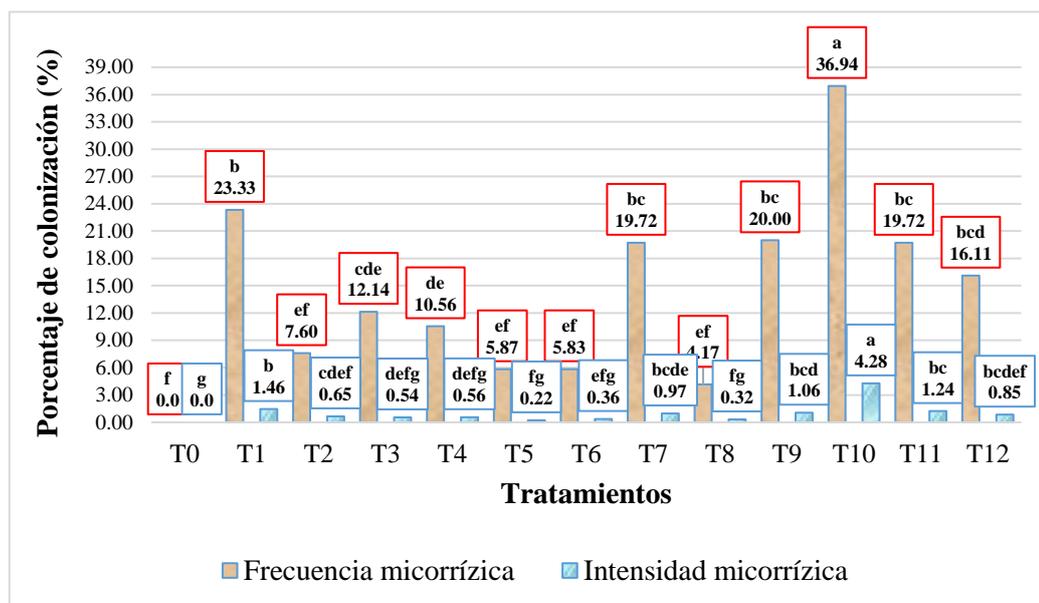


Figura 9. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la intensidad y frecuencia micorrízica (%) de los HMA presentes en plántulas clonales de café.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

En la figura 9, se observa que existe diferencia significativa en la variable porcentaje de colonización de HMA en las raíces de café, siendo los tratamientos con valores más altos para la intensidad y frecuencia el tratamiento T10=4.28% y 36.94%, tratamiento T1=1.46% y 23.33% y el tratamiento T11=1,24% en intensidad, no obstante se observa que este tratamiento presentó una frecuencia micorrízica de 19.72%, al igual que el tratamiento T7=19.72% y 0.97% y por debajo del tratamiento T9=20.00% y 1.06%, sin diferencias significativas entre ellos, pero estuvo dentro de los mejores tratamientos.

5.6. Longitud de micelio extraradical (MER) (cm)

Tabla 11. Análisis de varianza de la longitud de micelio extraradical (cm) de los HMA presentes en plántulas clonales de café

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	74881,424	12	6240,119	717,106	0,02 *
Error	1244,358	143	8,702		
Total	76125,782	155			

a. $R^2(\%) = 98,37$ b. CV(%)=13,47

En la Tabla 11, se presenta el análisis de varianza para la variable longitud de micelio extra-radicular. En dicho cuadro se observa diferencia estadística significativa entre los tratamientos estudiados.

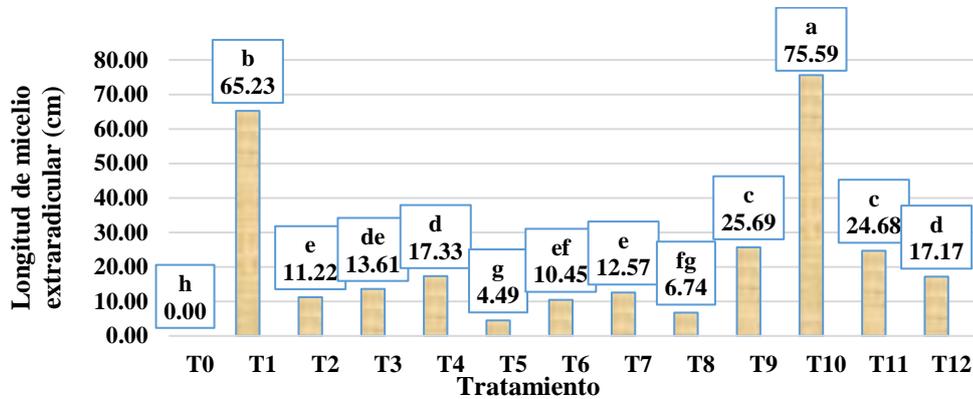


Figura 10. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la longitud de micelio extraradicular de la planta clonal de cafeto.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí

La figura 10, muestra que existe diferencia estadística significativa en la longitud de micelio extra-radicular de HMA, logrando identificar a los tratamientos con valores altos el tratamiento T10=75.59 cm, el tratamiento T1=65.23 cm, seguidos por los tratamientos T9=25.69 cm y el tratamiento T11=24.68 cm, sin embargo también se observa que el tratamiento T5=4.49 cm presentó menor valor junto al testigo T0=00 cm.

VI. DISCUSIÓN

Uno de los microorganismos más importantes dentro del sistema suelo-planta lo constituyen los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), que forman asociaciones micorrízicas con las raíces de las plantas y están consideradas simbioses universales, debido a que están presentes de manera natural en el 85 % de las especies vegetales con interés agronómico (Frías , Olalde, y Ferrera-Cerrato, 2004). Teniendo dentro de ellos el cultivo de café, donde se desarrolla de forma natural esta simbiosis, por lo que es considerado un cultivo micótrofo obligatorio con una alta dependencia micorrízica acorde a la especie que forme la asociación (Fernández *et al.*, 2005).

En el presente estudio se encontró que todos los consorcios de HMA estudiados mostraron efectos benéficos para la altura de plantas clonales de café a nivel de invernadero, con fluctuaciones de 6% a 25% de incremento respecto al testigo. Dentro de los consorcios beneficiosos los mejores fueron, el T10, T1 y T11, manifestando incrementos en altura de café de 8.09 cm; 8,02 cm y 7,89 cm respectivamente; resultados similares encontró (Del Águila-Parillo, 2016), con incrementos de altura que fluctuaron de 35% a 40% respecto al testigo; no obstante (Fernández y otros, 2005) encontraron incrementos de altura más sobresalientes, en promedio 73.3% respecto al testigo. Los beneficios de los HMA en esta variable refuerzan lo mencionado por (Siqueira y otros, 1993) donde determinaron que las plantas de café presentan respuestas positivas principalmente en altura, a la inoculación con Hongos Micorrízicos Arbusculares.

En la variable materia seca aérea, se encontró que los consorcios de HMA estudiados presentaron buena acumulación de ésta, en las plantas clonales de café, determinando que los tratamientos T10, T1 y T11 fueron los más sobresalientes, con 2.61 g, 2.22 g y 2.19 g respectivamente, comparado con el tratamiento testigo T0 que presentó 1.10 g de materia seca, obteniendo el menor valor al no presentar hongos micorrízicos; resultados similares encontró (Del Águila-Parillo, 2016) para esta variable, obteniendo biomasa seca aérea, que oscilaron de 2,31 g a 2.70 g, en investigaciones realizadas con inoculaciones de micorrizas en café en la región San Martín. La acumulación de materia seca aérea se explica, por el mayor aprovechamiento de fotosintatos producidos, gracias a la contribución de los HMA, en la distribución de nutrientes a los tallos (Ortas, 1996).

Por otra parte en la materia seca radicular, se encontró que todos los consorcios de HMA presentaron mejores valores respecto al testigo, con fluctuaciones de 39% a

164%, logrando identificar a los consorcios más eficientes el T10 con 0.95 g, T1 con 0.73 g y T11 con 0.67 g, a esto se suma los resultados encontrados por (Del Águila-Parillo, 2016) con pesos que oscilaron desde 0.69 g a 0.83 g en café micorrizados a nivel de vivero, los cuales se asemejan a los resultados obtenidos para el presente trabajo de investigación. Los beneficios encontrados en la biomasa radicular estuvieron estrechamente relacionados con lo obtenido en materia seca aérea y el Micelio extraradical, esto es explicado que, al incrementarse la materia seca aérea y el micelio, aumenta la materia seca del sistema radicular (Chinchay-Rubio, 2016).

De todos modos, los beneficios encontrados en el incremento de altura, biomasa seca aérea y radicular, se correlaciona con los beneficios encontrados en área foliar de las plantas clonales de café, todas las plantas inoculadas con consorcios de HMA mostraron mejores resultados respecto al testigo, que obtuvo el menor valor en todas las variables estudiadas. Dentro de la efectividad de los consorcios estudiados para esta variable, se identificó a los mejores tratamientos, siendo ellos el T10 con 247.42 cm², T1 con 235.16 cm² y T11 con 222.52 cm², resultados que se asemejan a los reportados por (Chinchay-Rubio, 2016), quien determinó áreas foliares de 384.26 cm² y 445.75 cm² en trabajos realizados en micorrizas como una alternativa de bioprotección a nematodos en café en la región San Martín. Los datos encontrados en área foliar son coherentes con lo encontrado en la variable altura de plantas, esto se refuerza a lo explicado por (Augé, 2001), quien indica que la micorrización de hongo-planta, genera incrementos de las tasas fotosintéticas, logrando plantas con buenas características en estas dos variables, principalmente en la parte foliar.

Dentro de las variables fúngicas se evaluó la colonización de los consorcios de HMA en las raíces de plantas clonales de café caturra, encontrándose bajas colonizaciones, con intensidad micorrízica de 4.28% y frecuencia micorrízica de 36.94% del consorcio T10, siendo estos datos los más altos en el estudio realizado. Por el contrario del Águila-Parillo, (2016) y Chinchay-Rubio, (2016) encontraron buenas colonizaciones de HMA con 30% y 29.3% en intensidad, en investigaciones realizadas con la inoculación micorrízica en café a nivel de vivero en la región San Martín. La baja colonización de los HMA encontrados en el estudio, pudo estar influenciada por la procedencia de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), ya que éstos fueron colectados de parcelas diferentes (Hart y Reader, 2002); del mismo modo pudo estar influenciado por las condiciones particulares del suelo de las fincas cafetaleras de las que fueron colectados los consorcios de HMA, así como también del sustrato utilizado

en el estudio (Hart y Reader, 2002). Sin embargo los factores meteorológicos también pudieron ser influyentes, dentro de ellos la luminosidad, ya que el área de investigación presentó un paso de luz de 50%, esto lo explica (Sieverding, 1991), que la presencia de sombra en la simbiosis de los HMA y las plantas, reducen la colonización micorrízica y la propagación de las esporas.

Según Hernández y otros (2008), la efectividad de los HMA en las plantas son influenciados principalmente al micelio extra-radical de los hongos, el mismo que funciona como un sistema radical complementario, extendiéndose más allá de la zona de agotamiento de nutrientes cercana a la raíz (Bucher, 2006), cumpliendo funciones de búsqueda, absorción y transporte de nutrientes para la planta; especialmente aquellos de lenta difusión en la solución del suelo como son el fósforo, zinc, cobre y amonio. Esto se refuerza a lo mencionado por (Peña-Venegas y Cardona, 2010), que un pelo radical puede absorber los nutrientes a 2 mm a la redonda y con los HMA las plantas pueden absorber los nutrientes hasta 40 veces más, a través de la amplia exploración del micelio extraradical. Encontrándose en el presente trabajo de investigación, que los 12 consorcios de HMA presentaron buena longitud de micelio externo, pero se dentro de todos ellos se identificaron, a los tratamientos T10, T1, T9 y T11 como los más sobresalientes, presentando longitudes micelares de 75.59 cm, 65.23 cm, 25.69 cm y 24.68 cm respectivamente; no obstante estos valores encontrados, fueron inferiores a los encontrados por del Águila-Parillo, (2016) y Chinchay-Rubio, (2016), ya que ellos reportaron longitudes de micelio externo de 148.72 cm y 168.5 cm respectivamente. Las bajas extensiones de micelio encontrados en la investigación, pudo haber estado influenciado por la procedencia de los consorcios, así como también por las condiciones particulares del suelo (Hart y Reader, 2002).

De todos los consorcios de HMA estudiados, el tratamiento T8 presentó menor valor para las variables, tanto morfológicas y fúngicas, siendo el tipo de suelo de su procedencia, un factor determinante de su baja efectividad, esta aseveración fue corroborado con el análisis de suelo realizado, donde se determinó que el tratamiento en mención presentó una clase textural franco-arcilloso, al respecto Sieverding (1991), sostiene que los hongos micorrízicos arbusculares presentan baja actividad en este tipos de suelos, ya que no logran extender bien sus micelios, por presentar características de compactación y baja circulación de aire.

VII. CONCLUSIONES

1. Los consorcios de HMA estudiados, presentaron efectos positivos en los parámetros morfológicos de plantas clonales de café, mostrando su efectividad cada uno según su procedencia, siendo dentro de ellos los más eficientes el T10, T1 y T11, colectados de la rizósfera de plantas de café variedades típica y caturra, procedentes de los distritos de Omía y San Nicolás de la provincia de Rodríguez de Mendoza.
2. El porcentaje de colonización de los 12 inóculos de HMA en las plantas clonales de café fueron bajos sin embargo, los consorcios T10 (4.28% y 36.94%), T1 (1.46 y 23.33%), T11 (1.24% y 19.72%) y T9 (1.06% y 20.00%), presentaron los mayores valores en intensidad micorrízica y frecuencia micorrízica.
3. La longitud de micelio extra-radicular de los HMA, fue determinante en el incremento de altura, materia seca aérea, materia seca radicular y área foliar de plantas clonales de café; logrando identificar a los consorcios T10, T1, T9 y T11, que presentaron mayor extensión de micelio, ayudando en la absorción de nutrientes y agua para el crecimiento y desarrollo de las plantas de cafeto.

VIII. RECOMENDACIONES

- 1.** Realizar ensayos con los de inóculos de HMA: T10, T1 y T11 en plantas clonales de café variedad típica en condiciones controladas.
- 2.** Validar los resultados con la inoculación de HMA: T10, T1 y T11 en fincas cafetaleras de los productores.
- 3.** Realizar ensayos con los 12 inóculos de HMA estudiados en plantas de café en condiciones meteorológicas no controladas.
- 4.** Realizar un estudio de identificación de géneros y especies de hongos micorrízicos arbusculares de los tratamientos T10, T1 y T11.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, L., Robson, A., & Malajczuk, N. (s.f.). Management of mycorrhizas in agriculture, horticulture and forestry (Developments on plant and soil sciences). Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Boston. *Kluwer Academic Publisher*.
- Agradataperú, C. G. (17 de setiembre de 2016). Recuperado el 14 de marzo de 2017, de <https://www.agrodataperu.com/2016/09/cafe-grano-peru-exportacion-2016-2.html>
- Alvarez-Solis, J., & Ferreira-Cerrato, R. (2006). Micorriza arbuscular y crecimiento del café en vivero. (J. Pohlán, L. Soto, & J. Barrera, Edits.) *El cafetal del futuro, realidades y visiones*, 19-22.
- Antunes, V., Cardoso, E., N., J. B., & Siqueira, J. O. (1988). Interacao entre diferentes tipos de solo e fungos micorrízicos vesículo arbusculares na producao de mudas de café *Coffea arabica*, L. *Turrialba*, 117-122.
- Augé, R. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11: 3-42.
- Baker, B. F., & Rivas. (1992). Life-history studies of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*, Scolitidae) on coffee trees in southern Mexico. *The Journal of Applied Ecology*.
- Barrer, S. E. (2009). El uso de hongos micorrizicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, VII(1), 123-132.
- Borreno, E. (1991). Biotecnología Forestal: Micorrizas, bosque, erosión y agricultura. *Departamento de Biología Vegetal y Botánica*.
- Bucher, M. (2006). Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytologist*, 173:11-26.
- Calzada, B. (1982). *Métodos Estadísticos para la Investigación* (Quinta ed.). Lima-Perú: Milagros S.A.
- Cárdenas, S. I. (2007). Caracterización morfológica y agronómica de la colección núcleo de café (*Coffea arabica* L.) del CATIE. *CATIE*, 117.
- Carrera, K. (1997). Efecto de la utilización de cuatro tipos de sustratos en la multiplicación de guarango (*Pentaclethra macroloba*). *Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ingeniería Agrómica*, 73.
- Castañeda, P. E. (1997). *manual tecnico cafetalero*. Lima-Peru: MSP-ADEX-USAID.
- Castro, I. (2009). Análisis de la estructura y diversidad de las comunidades de hongos formadores de micorrizas asociados a plantas de interés ecológico en ambientes mediterráneos. *Universidad de Granada*.

- Chinchay Rubio, D. O. (2016). Efecto de Hongos Micorrízicos Arbusculares Nativos sobre el nemátodo agallador de raíces (*Meloidogyne* spp.) en plántones de café (*Coffea arabica*) variedad caturra en la región San Martín. *UNSM-T*, 97.
- Cinza-Borrelli, R., Visconti, A., Mennella, C., Anese, M., & Fogliano, V. (2002). Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50.
- Corpoica (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria regional ocho). (1998). Las micorrizas como alternativa al manejo sostenible de los agroecosistemas tropicales. *Meta, Villavicencia*, 27.
- Cruz, B. (1990). Micorrización en la conservación de los bosques. *Revista Científica Multidisciplinaria de la Universidad Autónoma del Estado de México*, 159.
- Del Aguila Parillo, K. M. (2016). Efecto de la Inoculación de Hongos Micorrízicos Arbusculares a plántones de café (*Coffea arabica* L.) variedad caturra a nivel de vivero, en la Región San Martín. *UNSM-T*, 65-69.
- Duicela, G. L. (mayo de 2006). *Reproducción de Plantas Clonales de Café Robusta* (1era. ed.). Ecuador.: Consejo Cafetalero Nacional COFENAC.
- Duran, R. F. (2012). *Cultivo de Café*. Colombia: Grupo latino editores S.A.S. Recuperado el 02 de mayo de 2016
- El Comercio. (28 de agosto de 2015). *Café: producción histórica local se recuperará a partir de 2017*. Recuperado el 22 de marzo de 2017, de <http://elcomercio.pe/economia/peru/cafe-produccion-historica-local-se-recuperara-partir-2017-noticia-1836418>
- Fagro (Facultad de Agronomía, Universidad de la República). (2009). Intercambio de nutrientes. Fósforo. Obtenido de <http://www.fagro.edu.uy/~microbiologia/docencia/materiales%0teoricos/MICORRIZAS%2009.pdf>
- Fasabi, N. (2012). Los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) como alternativa para una agricultura sustentable”. Universidad Nacional de San Martín. *Universidad Nacional de San Martín*, 59.
- FEDERACIÓNCAFE. (*Federación Española de Café, ES*). (s.f.). Recuperado el 24 de Octubre de 2016, de Clasificación botánica del café: <http://www.federacioncafe.com/Publico/ElCafe/ElCafeto.asp>.
- Fernández, F. (1999). Manejo de las asociaciones micorrízicas arbusculares sobre la producción de posturas de café (*Coffea arabica* L. Var. Catuaí) en algunos tipos de suelos. *Instituto Nacional en Ciencias Agrícolas*, 102.
- Fernández-Martín, F., Rivera-Espinosa, R. A., Hernández-Jiménez, A., Herrera-Peraza, R. A., & Fernández-Suárez, K. (2005). Inoculación de hongos micorrízicos

arbusculares y diferentes relaciones suelo: humus de lombriz sobre el crecimiento del cafeto (*Coffea arabica* L.) cv. Catuaí bajo la etapa de vivero. *Revista Chapingo serie horticultura*.

Ficha técnica y comercial del café, 2007. (12 de noviembre de 2016). Obtenido de <http://www.infocafes.com/descargas/biblioteca/264.pdf>

Frías , J., Olalde, V., & Ferrera Cerrato, R. (2004). Avances en el conocimiento de la biología de las micorrizas. *Universidad de Guanajuato*, 302.

García, C. (1994). *Áreas naturales protegidas*. Mexico, D. F.: RAP-INAP.

George, E. (2000). *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. (K. Y. Douds, Ed.) *Kluwer Academic Publishers*.

Grace , C., & Stribley, D. (1991). A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 95: 1160-1162.

Grace, C., & Stribley D, P. (1991). A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycrological Research*, 1160-1162.

Guerrero, E. (1996). Micorrizas recurso biológico del suelo. *Fondo FEN Colombia*, 206.

Haissig, B. E. (1974). Influences of auxins and auxin synergists on adventitious root primordium initiation and development. *New Zealand Journal of Forestry Science*, 4(2): 311-323.

Hart M, M., & Reader R, J. (2002). Taxonomic basic for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, II(153), 335-334.

Hartmann, H., & Kester, D. (1995). Propagación de plantas. *Principios y prácticas*.

Hernández Cuevas, L., Guadarrama Chavez, P., Sánchez Gallén, I., & Ramos Zapata, J. (2008). Infectividad, Efectividad y Dependencia Micorrizica. *Universidad Autonoma de Tlaxcala*.

Jakobsen,, I., Gazey,, C., & Abbott, L. (2001). phosphate transport by communities of arbuscular mycorrhizal fungi in intact soil cores. *New Phytologist*, 95-103.

León, D. (2006). Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (*Manihot esculenta* sp.) en dos regiones de la Amazonía Colombiana. *Pontificia Universidad Javeriana* , 125.

Lopes, E. S., Oliveira, G., & Díaz, R. (1983). Occurrence and distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in coffee plantation in central, Sao Paulo, Brasil. *Turrialba*, 417-422.

Los Biofertilizantes. (s.f.). Recuperado el 03 de mayo de 2016, de Los Biofertilizantes: http://agritech.tnau.ac.in/org_farm/orgfarm_biofertilizertechology.html

- Mesén, F. (1998). *Enraizamiento de estacas juveniles de especies forestales: uso de propagadores de sub-irrigación* (Vol. Manual Técnico N° 30). Turrialba, Costa Rica.
- Mesén, F., & Jiménez, L. (2016). Producción de clones de café por miniestacas. *Centro Agronomico Tropical de Investigacion y enseñanza, CATIE*, 14-19.
- Molina, E. (s.f.). Caracterización de la micorrización "nativa" en plantaciones de cafeto en diferentes condiciones edafoclimáticas. 63. Obtenido de <http://www.inca.edu.cu/redmicorrizas/docs/posgrados/resultados/15.pdf>
- Monroig, M. (08 de enero de 2017). *ECOS DEL CAFE: manual para la propagacion del cafeto en Puerto Rico*. Obtenido de <http://academic.uprm.edu/mmonroig/id48.htm>.
- Montilla, E., Rivera, R., Herrera, R., & Fernández, F. (2005). Caracterización Espacial-Temporal de la Micorriza Nativa de dos plantaciones de cafeto en Cuba. *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas*, 26(4), 5-12.
- Morton, J. (1990). Evolutionary relationships among arbuscular mycorrhizal fungi in the Endogonaceae. *Mycologia*, 82: 192-207.
- Morton, J., & Benny, G. (1990). Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A New order, Glomales, Two new suborders, Glominae and Gigasporinae and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with and amendment of Glomaceae. *Micotaxon*, 471- 490.
- Mujica Peérez, Y., & Fuentes Martínez, A. G. (2012). Efecto a la biofertilización con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el cultivo de tomate en condiciones de estrés abiótico. *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas*, 4: 40-46.
- Newman, E. I. (1966). A method of estimating the total length of root in a sample. *Journal of Applied Ecology*, 3: 139.
- Núñez, Y. (1997). Propagación vegetativa del Cristóbal (*Platymiscium pinnatum*, Benth); pilon (*Hyeromina alchorneoides*, Allemo) y surá (*Terminalia oblonga*) mediante el enraizamiento de estacas juveniles. *CATIE*, 172.
- Ortas, I. (1996). The influence of use of different rates of mycorrhizal inoculum on root infection, plant growth and phosphorus uptake. *Soil Science*, 18-20.
- Patiño, R. C. (2005). *monografias.com*. Obtenido de <http://www.monografias.com/trabajos35/crisis-cafe/crisis-cafe.shtml>
- Peña Venegas, C. P., & Cardona. (2010). Dinámica de los suelos amazónicos: Procesos de degradación y alternativas para su recuperación. *Instituto de la Amazónico de Investigaciones Científicas-Sinchi*.

- Phillips, J. M., & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-161.
- Quijada, R. M. (1980). *Métodos de propagación vegetativa en mejora genética de árboles forestales*. (4ta. ed. ed.). (DANIDA, Ed.) Continental México: FAO.
- Ramirez, J. E. (1996). Poda y Manejo de Coffea arabica L. . *Instituto del Café de Costa Rica, Centro de Investigaciones en Café*.
- Read, D., & Pérez-Moreno, J. (2003). Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems-a journey towards relevance? *New Phytologist*, 157, 475-492.
- Renard, C. (1993). La comercialización internacional de café. En C. C. Universitarios (Ed.). Mexico: Serie Ciencias Sociales.
- Rivera, R., Fernández, F., Hernández, A., Triana, J. R., & Kelyane, F. (2003). *EL Manejo Efectivo de la Simbiosis Micorrizica, una Vía Hacia la Agricultura Sostenible Estudio de Caso*. El Caribe, ciudad de la Habana.
- Rivera, R., Fernandez, F., Sanchez, C., Bustamante, C., Herrera, R., & Ochoa, M. (1997). Efecto de la inoculación con HMA y bacterias rizosféricas sobre el crecimiento de posturas de café. *Cultivos Tropicales*, 14-24.
- Robles, C. (2009). Variación temporal de la diversidad de hongos de micorriza arbuscular y el potencial micorrízico en especies silvestres de Agave en Oaxaca. *Instituto Politecnico Nacional (IPN)*, 80.
- Rodríguez Morena, J. L. (2001). Efecto del biofertilizante Mycoral (micorriza arbuscular) en el desarrollo del café (Coffea arabica L.) en vivero en Zamorano, Honduras. *ZAMORANO-Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria*.
- Rodríguez, S. (2006). Efecto de las micorrizas arbusculares sobre la regulación de genes implicados en el metabolismo carbonado en plantas de tomate (Solanum esculentum). *Universidades de Granada (URG)*, 246.
- Ruíz, L. (2001). Efectividad de las asociaciones micorrízicas en especies vegetales de raíces y tubérculos en suelos pardos con carbonatos y Ferralíticos Rojos de la región central de Cuba. *INCA*, 117.
- Saggin-Junior, A. (1992). A Infestacao do solo com fungos micorrizicos no crescimento pos-transplante de mudas de cafeeiro nao micorrizadas. *vol 16(Nº 1)*, 39-46.
- Sánchez, C. (2001). Uso y manejo de los HMA y los abonos verdes en la producción de posturas de café. 103.
- Sieverding, E. (1991). Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal in Tropical Agrosystems. *Federal Republic of Germany: Deutsche Gesellsach off fur Techniis che Zusamenarbeit (Gtz) GMBH*, 371.

- Siqueira, J. O., & Franco, A. A. (1988). Biotecnología do solo. Fundamentos e Perspectiva. *MEC-ESAL-FAEPE-ABEAS*, 235.
- Siqueira, J. O., Collozzi-Filho, A., Saggin-Junior, O., & Guimaraes, P. (1993). Crecimiento de mudas e producao de cafeeiro sob influencia de fungos micorrízicos e superfosfato. *R. Bras. Ci.*, 53-60.
- Sistema de Producción de Café CENICAFE*. (2007). Recuperado el 30 de abril de 2016, de <http://www.cenicafe.org>
- Smith, S., & Read, D. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis* (Third Edition ed.).
- Téllez, O., & Ferrer, G. (1987). *Fitotecnia del Café*. Habana, CU.: Editorial Pueblo.
- Temis, P. A., López, M. A., & Sosa, M. M. (2011). Producción de café (*Coffea arábica* L.): cultivo, beneficio, plagas y enfermedades. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 54-74.
- Tisdall, J. M. (1991). Pungal Hyphae and structural stability of soil. *Aust. J. Soil. Res.*, 29: 729-743.
- Trejo, D. A. (1997). Ecología y comportamiento de la micorriza arbuscular en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.). *Universidad Nacional Autónoma de México*, 131.
- Trejo, D., Hernández, E., & Ferrera-Cerrato, R. (1998). Ecología y comportamiento de la endomicorriza arbuscular en el cultivo del café (*Coffea arabica* L.) Avances de la investigación micorrízica en México. (R. Zulueta, M. A. Escalona, & Trejo, Edits.) *Universidad Veracruzana*, 283.
- Trouvelot, A., & Kough, J. y.-P. (1986). Mesure du taux de micorrización VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimación ayant une signification fonctionnelle, en aspectos fisiológicos y genéticos de las micorrizas. (G.-P. V. (Eds.), Ed.) *Edición INRA*.

ANEXOS

TABLAS:

Tabla 12. Análisis fisicoquímico de fuentes de inóculos colectados de las parcelas de café de la provincia Rodríguez de Mendoza- Amazonas/Laboratorio de la UNAM-L

ANÁLISIS DE SUELOS : CARACTERIZACIÓN																					
Solicitante : IIAP												Provincia : RODRIGUEZ DE MENDOZA									
Departamento : AMAZONAS														Fecha : 03/03/17							
Referencia : H.R. 57762-026C-17														Fact: Pendiente							
Lab	Número de Muestra	Claves	pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase	CIC	Cationes Cambiables			Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat. De Bases		
									Arena %	Limo %	Arcilla %			Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺				Na ⁺	Al ³⁺ + H ⁺
1797	P1-N-Parcela 1		5.48	0.25	0.00	11.86	16.6	119	70	24	6	Fr. A	22.40	15.60	1.77	0.28	0.05	0.10	17.80	17.70	79
1798	P2-N-Parcela 2		5.31	34.00	0.00	14.94	30.9	204	54	32	14	Fr. A	38.40	22.10	1.43	0.53	0.06	0.10	24.23	24.13	63
1799	P3-N-Parcela 3		3.94	0.21	0.00	12.61	2.8	222	64	20	16	Fr. A	38.40	4.71	1.32	0.50	0.05	4.90	11.48	6.58	17
1800	P4-N-Parcela 4		5.40	0.25	0.00	12.14	16.6	272	62	24	14	Fr. A	24.00	13.20	2.47	0.53	0.04	0.10	16.34	16.24	68
1801	P5-N-Parcela 5		5.26	0.31	0.00	11.03	13.5	204	76	18	6	Fr. A	24.80	15.00	2.62	0.43	0.04	0.20	18.29	18.09	73
1802	P6-N-Parcela 6		6.35	0.37	0.00	11.86	3.8	300	70	22	8	Fr. A	22.72	16.70	2.65	0.52	0.10	0.00	19.97	19.97	88
1803	P7-N-Parcela 7		5.86	0.25	0.00	6.44	35.4	230	58	26	16	Fr. A	19.20	14.40	1.53	0.56	0.04	0.10	16.64	16.54	86
1804	P8-N-Parcela 8		5.04	0.30	0.00	14.48	7.6	220	28	44	28	Fr. Ar	32.00	17.00	3.27	0.52	0.04	0.10	20.93	20.83	65
1805	P9-N-Parcela 9		6.32	0.29	0.00	4.60	7.6	220	74	18	8	Fr. A	20.00	13.70	1.02	0.24	0.03	0.00	14.99	14.99	75
1806	P10-N-Parcela 10		5.63	0.28	0.00	11.03	6.6	77	70	22	8	Fr. A	24.00	15.80	2.27	0.26	0.04	0.10	18.47	18.37	77
1807	P11-N-Parcela 11		5.69	0.35	0.00	13.79	2.5	87	58	28	14	Fr. A	32.00	17.90	6.00	1.14	0.05	0.10	25.19	25.09	78
1808	P12-N-Parcela 12		4.50	0.28	0.00	16.55	43.0	405	68	22	10	Fr. A	40.32	9.64	1.95	0.90	0.06	1.80	14.35	12.55	31

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

Dr. Sady García Bendezú
Jefe del Laboratorio

Tabla 13. Resultado de análisis de sustrato utilizado en la inoculación con HMA a plantas clones de café/Labisag/UNTRM-A



"UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS"
 INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO SUSTENTABLE DE CEJA DE SELVA"
 LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN EN SUELOS Y AGUAS



1. DATOS:

Solicitante : TITO SANCHEZ SANTILLÁN
Departamento : AMAZONAS
Distrito : HUAMBO
Análisis solicitado : CARACTERIZACIÓN

Provincia : RODRÍGUEZ DE MENDOZA
Fecha : 03/03/17
B.V. : 0003-0042983

2. RESULTADO DEL ANÁLISIS SOLICITADO:

N° de lab.	MUESTRA	pH (1:1)	C.E (1:1) (mS/cm)	P		K	C	M.O	N	Análisis Mecánico			Clase textural	CIC meq/100g	Cationes cambiables Meq/100g					Suma de Cationes meq/100g	Suma de aniones meq/100g	%Sat. De Bases
				ppm	%					Arena	Limo	Arcilla			%	%	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺			
37	HUAMBO	4.22	0.55	13.70	391.12	4.00	6.90	0.34	79.3	4.0	16.7	Fr.A.	16.00	4.55	1.44	0.77	0.20	0.29	7.25	6.96	43	

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

UNIVERSIDAD NACIONAL
 TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS
 Labisag
 Bgo. FERNANDO CORROTO DE LA FUENTE
 RESPONSABLE

Tabla 14. Peso de inóculos de HMA con 1500 esporas/Laboratorio del INDES-CES-UNTRM/HUAMBO

TRATAMIENTOS	Peso de inóculos de HMA (g)	Número de esporas de HMA por peso de suelo
T0 (sin HMA)	0.00	1500
T1 (San Nicolás-Típica)	52.08	1500
T2 (Huambo-Típica)	52.08	1500
T3 (Cochamal-Caturra)	8.06	1500
T4 (Omia-Típica)	58.37	1500
T5 (Omia-Típica)	43.86	1500
T6 (Omia-Caturra)	28.14	1500
T7 (San Nicolás-Típica)	61.73	1500
T8 (Mariscal Benavides-caturra)	31.58	1500
T9 (Omia-Típica)	82.42	1500
T10 (Omia-Típica)	62.76	1500
T11 (Omia-Caturra)	63.03	1500
T12 (Huambo-Caturra)	12.92	1500

Tabla 15. Resultados de evaluación de variables morfológicas y variables fúngicas de HMA en café

DISTRITO	VARIEDAD	TRATAMIENTOS	VARIABLES MORFOLÓGICAS					VARIABLES FÚNGICAS		
			ALTURA (cm)	ÁREA FOLIAR (cm ²)	MATERIA SECA AÉREA (g)	MATERIA SECA RADICULAR (g)	LONGITUD DE MICELIO (cm)	FRECUENCIA MICORRIZICA (%)	INTENSIDAD MICORRIZICA (%)	
TESTIGO	TESTIGO	T0	6.45	132.43	1.10	0.36	0.00	0.00	0.00	
SAN NICOLAS	TIPICA	T1	8.02	235.16	2.22	0.73	65.23	23.33	1.46	
HUAMBO	TIPICA	T2	7.35	179.42	1.90	0.65	11.22	7.60	0.65	
COCHAMAL	CATURRA	T3	6.83	172.49	1.64	0.53	13.61	12.14	0.54	
OMIA	CATURRA	T4	6.86	191.52	1.79	0.57	17.33	10.56	0.56	
OMIA	TIPICA	T5	6.86	191.77	1.82	0.62	4.49	5.83	0.22	
OMIA	CATURRA	T6	6.84	190.63	1.82	0.64	10.45	5.83	0.36	
SAN NICOLAS	TIPICA	T7	7.19	183.60	1.72	0.54	12.57	19.72	0.97	
MARISCAL BENAVIDES	CATURRA	T8	7.05	156.27	1.40	0.50	6.74	4.17	0.32	
OMIA	TIPICA	T9	7.25	209.73	2.05	0.64	25.69	20.00	1.06	
OMIA	TIPICA	T10	8.09	247.42	2.61	0.95	75.59	36.94	4.28	
OMIA	CATURRA	T11	7.89	226.52	2.19	0.67	24.68	19.72	1.24	
HUAMBO	CATURRA	T12	7.06	174.32	1.74	0.57	17.17	16.11	0.85	

Tabla 16. Análisis químico y bacteriológico de agua utilizado para riego de plantas clonales de café - INDES-CES/UNTRM/HUAMBO

PARÁMETROS QUÍMICOS

Código de muestra	Punto de muestreo	PARÁMETROS QUÍMICOS				
		pH (1:1)	C.E (Conductividad eléctrica) ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Alcalinidad ppm CaCO_3	Cloruros ppm Cl^-	Dureza ppm CaCO_3
FQ-118-2016	P1	8.08	277.00	135	2.10	73.50
		Nitratos ppm NO_3	Nitritos ppm NO_2	Fosfatos ppm PO_4	Sulfatos ppm SO_4	Amonio ppm NH_4
		0.6049	0.0124	0.4750	0.0001	16.3005

PARÁMETROS BACTERIOLÓGICOS

Punto de muestreo	Código de muestreo	Fecha de toma de muestra	Coliformes	
			Coliformes totales (NMP/100mL)	Coliformes termototales (NMP/100mL)
P1	MB-049-16	26/08/2016	23	13

Tabla 17. Datos meteorológicos de invernadero del IIAP/INDES-CES/HUAMBO

HORA	OCT-NOV			NOV-DIC			DIC-ENE			
	T° (°C)	HR° (%)	Lux	T° (°C)	HR° (%)	Lux	T° (°C)	HR° (%)	Lux	
DÍA	8:00 a.m.	28	74	190	16	78	41	30	47	183
	12:00 m.	31	57	213	23	69	62	31	49	205
	5:00 p.m.	22	78	95	29	52	104	30	47	99
PROMEDIO		27	69	166	23	66	69	31	47	162

FIGURAS:



Figura 11. Esterilización de tierra agrícola en horno de panadería



Figura 12. Esterilización de arena de río con agua hervida

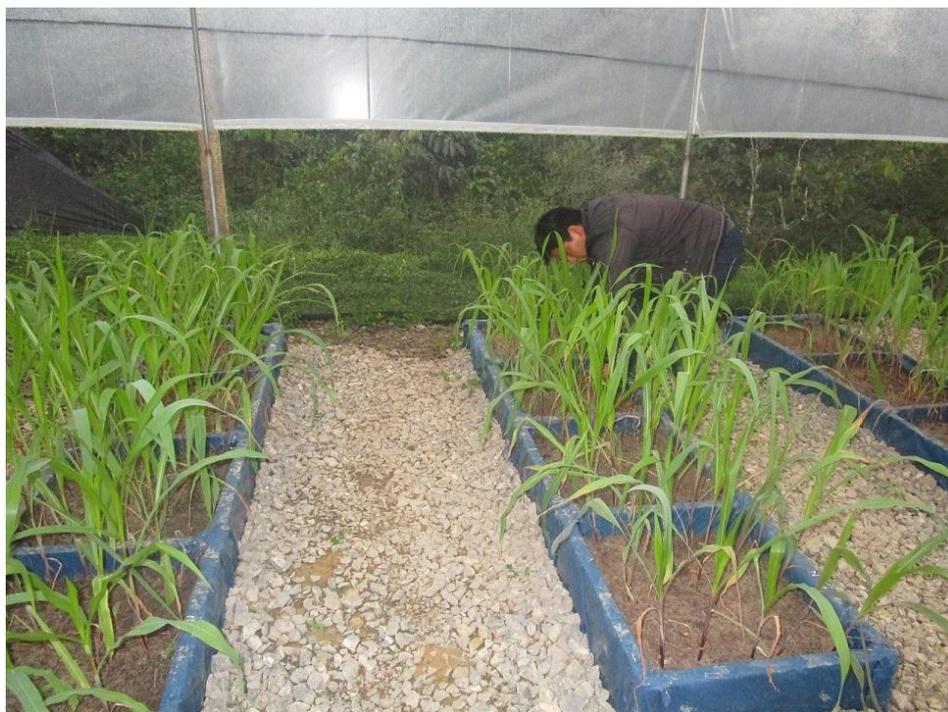


Figura 13. Multiplicación de fuentes de inóculos de HMA



Figura 14. Enraizamiento de brotes de café variedad caturra



Figura 15. Repique de plantas clonales de café e inoculación con HMA



Figura 16. Evaluación de altura de plantas clonales de café



Figura 17. Sacado de suelo y raíces de plantas clonales de café



Figura 18. Determinación de materia de seca de la parte aérea de las plantas de café



Figura 19. Determinación de la materia seca de la parte radicular de las plantas clonales de café



Figura 20. Observación de colonización de hifas de HMA en raíces de café, aumento 40X.



Figura 21. Observación de micelio extra-radicular de HMA en estereoscopio compuesto aumento 4X.

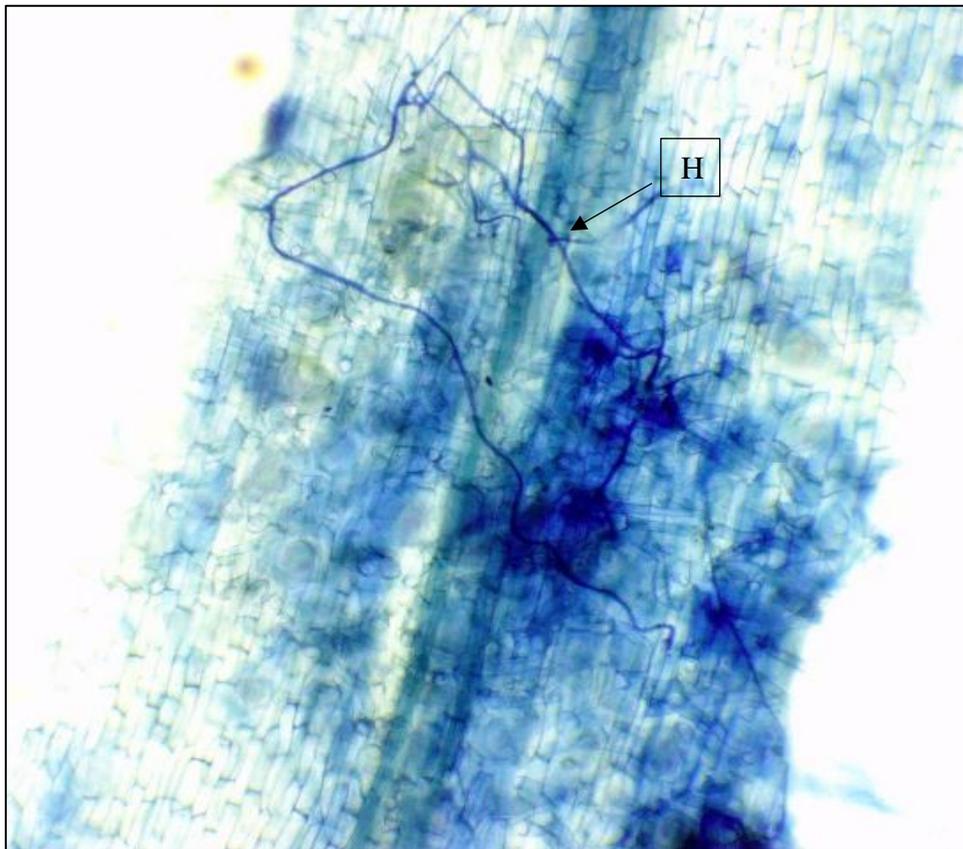


Figura 22. Observación de porcentaje de colonización de HMA en raíces de café

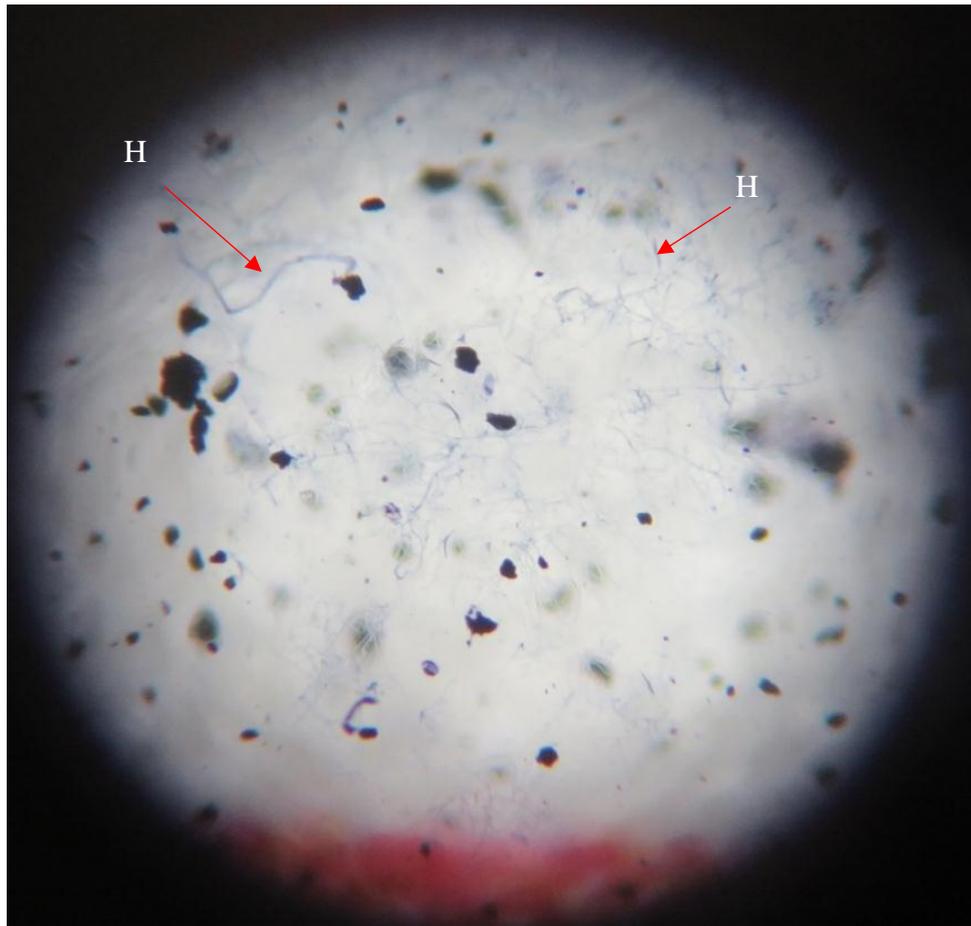


Figura 23. Micelio extra-radicular de HMA