



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución- NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).

Vea una copia de esta licencia en <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



Evaluación del efecto bioprotector de hongos micorrízicos arbusculares nativos sobre roya (*Hemileia vastatrix*) en café (*Coffea arabica*) variedad caturra bajo condiciones de vivero en la Región San Martín

Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

AUTOR:

Anabel Saboya Pisco

ASESOR:

Ing. Agr. Eybis José Flores García

Tarapoto – Perú

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN – TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



Evaluación del efecto bioprotector de hongos micorrízicos arbusculares nativos sobre roya (*Hemileia vastatrix*) en café (*Coffea arabica*) variedad caturra bajo condiciones de vivero en la Región San Martín

AUTOR:

Anabel Saboya Pisco

Sustentada y aprobada el día 19 de diciembre del 2018, ante el honorable jurado:

Dr. Winston Franz Ríos Ruiz

Presidente

Ing. MSc. Manuel Santiago Doria Bolaños

Secretario

Blgo. MSc. César D. Quesquén López

Vocal

Ing. Eybis José Flores García

Asesor

Declaratoria de autenticidad

Anabel Saboya Pisco con DNI N° 73507758, egresada de la Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela profesional de Agronomía, de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, con la tesis titulada Evaluación del efecto bioprotector de hongos micorrízicos arbusculares nativos sobre roya (*Hemileia vastatrix*) en café (*Coffea arabica*) variedad caturra bajo condiciones de vivero en la Región San Martín.

Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría.
2. He respecto a las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni totalmente ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiado; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico premio o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

De considerar que el trabajo cuenta con una falta grave, con el hecho de contar con datos fraudulentos, demostrar indicios y plagio (al no citar la información con sus autores), plagio (al presentar información de otros trabajos como propios), falsificación (al presentar la información e ideas de otras personas de falsa), entre otros, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normativa vigente de la Universidad Nacional de San Martín

Tarapoto, 19 de diciembre del 2018



.....
Anabel Saboya Pisco
DNI N° 73507758



Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis.

1. Datos del autor:

Apellidos y nombres:	Saboya Pisco Anabel		
Código de alumno :	121113	Teléfono:	936 241029
Correo electrónico :	Saboya123@hotmail.com		DNI:

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

2. Datos Académicos

Facultad de:	Ciencias Agrarias
Escuela Profesional de:	Agronomía

3. Tipo de trabajo de investigación

Tesis	(<input checked="" type="checkbox"/>)	Trabajo de investigación	()
Trabajo de suficiencia profesional	()		

4. Datos del Trabajo de investigación

Título:	Evaluación del efecto bioprotector de hongos micorrízicos arbusculares nativos sobre roya (<i>Hemileia vastatrix</i>) en café (<i>coffea arabica</i>) variedad caterra bajo condiciones de vivero en la Región San Martín
Año de publicación:	2018

5. Tipo de Acceso al documento

Acceso público *	(<input checked="" type="checkbox"/>)	Embargo	()
Acceso restringido **	()		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, una licencia **No Exclusiva**, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indique el sustento correspondiente:

6. Originalidad del archivo digital.

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el título profesional o grado académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado.

7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el inciso 12.2, del artículo 12° del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales - RENATI "Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA".



Firma del Autor

8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM – T.

Fecha de recepción del documento:

09 / 05 / 2019



Firma del Responsable de Repositorio
Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso
Abierto de la UNSM – T.

***Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

** **Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

Dedicatoria

A mis queridos padres: **Genibrardo Saboya Aspajo** y **Maria Pisco Ceopa**, quienes, con su infinito amor, sacrificio, perseverancia y sabiduría, me brindaron su confianza y apoyo incondicional en todo momento, dándome fuerzas para lograr una de mis metas propuestas.

A mis hermanos **Dolibeth, Leslita, Carlos** y familiares, que siempre me ofrecieron su cariño, sus ánimos y las ganas de seguir adelante.

A los miembros del Laboratorio de Micorrizas Arbusculares – IIAP – Instituto de investigaciones de la Amazonía Peruana, por la confianza, el apoyo que me brindaron y permitir ser parte de este equipo de investigación.

Autor: **Anabel Saboya Pisco**

Agradecimiento

A la Universidad Nacional de San Martín - Facultad de Ciencias Agrarias, por darme la oportunidad de formarme en sus aulas, y así asimilar los conocimientos para mi formación profesional y personal que me servirá para poder desenvolverme plenamente en el campo de mi carrera y en el camino de mi vida.

Al Ing. Eybis José Flores García, por su apoyo incondicional en el desarrollo de esta tesis.

Agradecer infinitamente al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), en especial al Ing. Geomar Vallejos Torres por su apoyo, brindándome las facilidades de sus instalaciones para poder realizar la presente tesis y por comprometerse siempre por el desarrollo de la Región con nuevas tecnologías para la agricultura.

Al Programa Nacional de Innovación Agraria – PNIA por financiar el trabajo de investigación enmarcado en el proyecto de investigación: Biofertilización y Bioprotección de plantas clonales de café (*Coffea arabica L.*) Con micorrizas arbusculares en la Región San Martín - CONTRATO N° 23-2015- INIA-PNIA/UPMSI/IE.

A mis amigos y familiares que siempre me apoyaron en mi formación profesional y a los que me ayudaron a realizar mi tesis, por su colaboración y apoyo incondicional con gran espíritu y calidad humana.

Índice general

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	2
1.1. Antecedentes de la investigación.....	2
1.2. Micorrizas.....	4
1.2.1. Generalidades	4
1.2.2. Tipos de micorrizas.....	4
1.2.3. Ciclo de vida de las micorrizas.....	5
1.2.4. Hongos Micorrízicos arbusculares (HMA).....	5
1.2.5. Proceso de Colonización de los HMA.....	6
1.2.6. Ventajas y beneficios de la colonización de HMA.....	7
1.2.7. Estructuras de los HMA.....	8
1.2.8. Factores abióticos relacionados a la simbiosis de los HMA.....	10
1.2.9. Mecanismo de acción.....	11
1.2.10. Importancia de los HMA en la agricultura.....	12
1.3. Cultivo de café (<i>Coffea arabica</i>).....	14
1.3.1. Clasificación taxonómica.....	15
1.3.2. Morfología del cafeto.....	15
1.3.3. Características de la variedad caturra.....	17
1.3.4. Condiciones edafoclimáticas del cultivo.....	18
1.4. Roya (<i>Hemileia vastatrix</i>).....	19
1.4.1. Morfología.....	19
1.4.2. Sintomatología.....	20
1.4.3. Ciclo de vida.....	20
1.4.4. Mecanismo de acción.....	21
CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
2.1. Metodología de investigación.....	22
2.1.1. Tipo de investigación.....	22
2.1.2. Población.....	22
2.1.3. Muestra.....	22
2.1.4. Ubicación y caracterización del área de estudio.....	22
2.1.5. Diseño experimental	23
2.2. Fases de instalación del experimento.....	25
2.2.1. Fase de campo	25

2.2.2. Fase vivero	25
2.2.3. Fase laboratorio	27
2.3. Variables Evaluadas.....	31
2.3.1. Indicadores de las variables morfológicas	31
2.3.2. Indicadores de las Variables fúngicas.....	33
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
3.1. Variables morfológicas.....	35
3.1.1. Altura de plántulas de café.....	35
3.1.2. Área foliar en plántulas de café.....	37
3.1.3. Biomasa seca foliar de plántulas de café.....	39
3.1.4. Incidencia de roya en plántulas de café.	41
3.1.5. Severidad de roya en plántulas de café	43
3.2. Variables Fúngicas.....	45
3.2.1. Longitud de micelio extrarradical (MER).....	45
3.2.2. Porcentaje de colonización micorrízica	47
CONCLUSIONES.....	49
RECOMENDACIONES.....	50
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
ANEXOS.....	59

Índice de tablas

Tabla 1	<i>Descripción de los Tratamientos (Fuentes de inóculo HMA / inoculación de roya).</i>	24
Tabla 2	<i>El ANVA de los datos expresados en porcentaje (Colonización micorrízica, incidencia y severidad), fueron transformados al arco seno % (Box y Hunter 1989).</i>	24
Tabla 3	<i>ANVA para la altura (cm) de plántulas de café bajo condiciones de vivero (Alto Chontal - Lamas).</i>	35
Tabla 4	<i>ANVA para el área foliar (cm²) de plántulas de café evaluadas a 150 días bajo condiciones de vivero (Alto Chontal – Lamas).</i>	37
Tabla 5	<i>ANVA para biomasa seca foliar en plántulas de café evaluados a 150 días bajo condiciones de vivero (Alto Chontal – Lamas).</i>	39
Tabla 6	<i>ANVA para el porcentaje de incidencia ocasionada por roya (%) en plántulas de café</i>	41
Tabla 7	<i>ANVA para el porcentaje de severidad ocasionada por roya (%) en plántulas de café</i>	43
Tabla 8	<i>ANVA para longitud de micelio extrarradical (MER) en plantas de café</i>	45
Tabla 9	<i>ANVA para el porcentaje de colonización micorrízica (%) en plántulas de café</i>	47

Índice de figuras

<i>Figura 1.</i> A y B Localización de la zona Alto Chontal – Lamas y laboratorio de micorrizas, indicando el área de estudio.	23
<i>Figura 2.</i> A) Colecta de hojas infestadas con roya, B) Placas Petri conteniendo hojas con roya.	25
<i>Figura 3.</i> Vivero de Multiplicación de Hongos Micorrízicos Arbusculares.	26
<i>Figura 4.</i> A) Mezcla de tierra agrícola + arena a proporción de 2:1, B) Homogenizando el sustrato estéril y C: Embolsado.	26
<i>Figura 5.</i> A) Inoculantes de HMA; B) Pesado del inoculante de HMA; C) Homogenización del inoculante a usar; D) Plántula de café listo para el trasplante E) Aplicando el inoculante HMA a plántulas de café; F) plántula inoculada.	27
<i>Figura 6.</i> Esterilización del sustrato en la olla autoclave.	27
<i>Figura 7.</i> A) Muestras de hojas infestadas con roya (<i>Hemileia vastatrix</i>), B) Solución conteniendo uredinosporas de roya (<i>Hemileia vastatrix</i>), C) Muestra colocada en la cámara de Neubauer, D) Conteo del número de uredinosporas roya (<i>Hemileia vastatrix</i>).	28
<i>Figura 8.</i> A) Aplicación de uredinosporas de roya (<i>Hemileia vastatrix</i>) con el dispensador, B) Plántula aplicada.	29
<i>Figura 9.</i> Pasos para la tinción de MER (Micelio extrarradical)	30
<i>Figura 10.</i> A, B, C, D, E, F, G y H: Procedimientos para tinción en raíces de café.	31
<i>Figura 11.</i> A) Medición de la altura de plántulas de café y B) Comparación entre una planta inoculada con HMA y testigo.	31
<i>Figura 12.</i> Medición del área foliar de las plántulas de café.	32
<i>Figura 13.</i> Determinación de la Biomasa seca foliar de plántulas de café.	32
<i>Figura 14.</i> A) Observación en estereoscopio para la evaluación de MER; B y C : Muestras de Micelio Extrarradical (MER) observados en estereoscopio a un aumento de 5X.	34

<i>Figura 15.</i> Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto fuentes de inóculo (HMA). Medias con letras iguales difieren estadísticamente entre sí.	35
<i>Figura 16.</i> Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto fuentes de inóculo (HMA). Medias con letras iguales difieren estadísticamente entre sí.	37
<i>Figura 17.</i> Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto inoculación de roya. Medias con letras iguales difieren estadísticamente entre sí.	37
<i>Figura 18.</i> Interacción entre fuentes de inóculo (HMA) x Inoculación de roya, en relación al área foliar de plántulas de café.	38
<i>Figura 19.</i> Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de fuentes de inóculo (HMA). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente entre sí.	40
<i>Figura 20.</i> Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de inoculación de roya. Medias con letras iguales difieren estadísticamente entre sí.	40
<i>Figura 21.</i> Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de fuentes de inóculo. Medias con letras iguales no difieren estadísticamente entre sí.	42
<i>Figura 22.</i> Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de inoculación de roya. Medias con letras iguales no difieren estadísticamente entre sí.	42
<i>Figura 23.</i> Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de fuentes de inóculo. Medias con letras iguales no difieren estadísticamente entre sí.	44
<i>Figura 24.</i> Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de fuentes de inóculo. Medias con letras iguales no difieren estadísticamente entre sí.	44
<i>Figura 25.</i> Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de fuentes de inóculo. Medias con letras iguales difieren estadísticamente entre sí.	45
<i>Figura 26.</i> Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de fuentes de inóculo (HMA). Medias con letras iguales difieren estadísticamente entre sí.	47

Lista de siglas y acrónimos

HMA	: Hongos Micorrízicos Arbusculares
MER	: Micelio Extraradical
sp	: Varias especies del género
spp	: Una especie del género
KOH	: Hidróxido de Potasio
FCA	: Facultad de Ciencias Agrarias
UNSM-T	: Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto
MSc	: Magister
Ing	: Ingeniero
T	: Tratamiento
mm	: Milímetro
cm	: Centímetro
Conidias ml⁻¹	: Conidias/mililitro
ml	: Mililitro
mg	: Miligramo
µm	: Micrómetro
g	: Gramo
H.R	: Humedad Relativa
Aprox	: Aproximadamente
AD	: Agua Destilada
SENASA	: Servicio Nacional de Sanidad Agraria
PNIA	: Programa Nacional de Innovación Agraria
IIAP	: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana
ANVA	: Análisis de varianza
F.I	: Fuentes de inóculo
I.R	: Inoculación de roya

Resumen

En el trabajo de investigación, se evaluó el efecto de los HMA nativos, sobre la presencia de roya (*Hemileia vastatrix*) en plántulas de café variedad caturra bajo condiciones de vivero ubicado en el centro poblado de Alto Chontal – Lamas de la Región San Martín. Se desarrolló bajo un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial de 5A x 2B, considerando el factor A (Fuentes de inóculo HMA nativos) y el factor B (Inoculación de roya), la interacción entre los factores dió como resultado 10 tratamientos con 3 plántulas por tratamiento, haciendo 30 unidades experimentales; se utilizó sustrato a base de tierra agrícola y arena (2:1) luego se inoculó con 1 500 esporas de HMA nativos, posteriormente se inoculó con esporas de roya; las variables evaluadas fueron (altura de plántula, área foliar, biomasa seca aérea, incidencia, severidad, porcentaje de colonización y longitud de micelio). Los resultados mostraron que los tratamientos inoculados con HMA presentaron incrementos en altura, área foliar, porcentaje de colonización micorrízica, longitud de micelio extrarradical, biomasa seca aérea en comparación con los testigos que no fueron inoculados con HMA, ejerciendo el efecto de resistencia a enfermedades foliares (roya). El proyecto de investigación se desarrolló gracias al financiamiento del Programa Nacional de Innovación Agraria – PNIA.

Palabras clave: Hongos Micorrízicos Arbusculares, Colonización, *Hemileia vastatrix*, Café.

Abstract

In the following research work, the effect of native AMF was evaluated on the presence of rust (*Hemileia vastatrix*) in caturra variety coffee seedlings under nursery conditions located in the town of Alto Chontal - Lamas of the San Martín Region. It was developed under a Completely Random Design with factorial arrangement of 5A x 2B, considering factor A (sources of native AMF inoculum) and factor B (Inoculation of rust), the interaction between the factors resulted in 10 treatments with 3 seedlings by treatment, making 30 experimental units; a substrate based on agricultural soil and sand (2:1) was used, then inoculum with 1500 native AMF spores, then inoculum with rust spores; the variables evaluated were (seedling height, leaf area, aerial dry biomass, incidence, severity, percentage of colonization and length of mycelium). The results showed that the treatments inoculated with AMF showed increases in height, foliar area, percentage of mycorrhizal colonization, extraradical mycelium length, aerial dry biomass in comparison with the controls that were not inoculated with AMF, exerting the effect of resistance and tolerance to foliar diseases (rust). This research project was developed thanks to the financing of the National Agrarian Innovation Program - PNIA

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi, Colonization, *Hemilea vastatrix*, Coffea.



Introducción

“La mayoría de países productores de Café (*Coffea arabica*), señalan que este cultivo es importante para la estabilidad económica, social y política, y nuestro país no es la excepción”; (Guzmán, 2017), entre las cuales se encuentra la Región San Martín que en el año 2015 este cultivo representó el 14,7% de la producción nacional, ocupando el cuarto puesto con 540 mil toneladas; siendo por ello el eje económico de miles de familias contribuyendo significativamente al PBI (Andrade, 2009).

El café es altamente apreciado en el mercado mundial por su calidad de tasa, sin embargo, como todo cultivo, es atacado por plagas y enfermedades pese a su gran demanda en el mercado internacional, la producción ha tenido altos y bajos durante la historia, siendo uno de los problemas principales que diezma la producción la enfermedad de roya, cuyo agente causante es el hongo *Hemileia vastatrix*, es destructiva a nivel mundial con gran impacto económico y social (Dalmazzone, 2002).

Una de las innovaciones respecto a este cultivo es la inoculación con Hongos micorrízicos arbusculares, la cual está sustentada en brindar resistencia a la planta ante el ataque de cualquier patógeno (Sevilla, 2004). El Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – San Martín, en el marco del Proyecto “Biofertilización y Bioprotección de Plantas Clonales de café (*Coffea arabica*) con Micorrizas Arbusculares en la Región San Martín”, para el cual, esta investigación proporcionará información que define parte del protocolo de producción, específicamente en el área de fertilización.

El trabajo de investigación tuvo como objetivo general evaluar el efecto de los HMA sobre la presencia de roya (*Hemileia vastatrix*) en café (*Coffea arabica*) variedad caturra bajo condiciones de vivero y específicos a) Determinar el porcentaje de colonización micorrízica y longitud de micelio extraradical de los HMA en café (*Coffea arabica*) variedad caturra, b) Evaluar incidencia y severidad de la roya en plántulas de café y c) Evaluar las características morfológicas en plántulas de café.

CAPÍTULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Antecedentes de la investigación

Fernández (2012), menciona en su tesis de doctorado: “Manejo de las asociaciones micorrízicas arbusculares sobre las enfermedades foliares del café (*Coffea arabica*), en algunos tipos de suelos”, resultados del estudio, mostraron que las plantas de café de la variedad Caturra micorrizadas presentaron mayor crecimiento y desarrollo morfológico en comparación con las plántulas testigos. Así mismo, presentaron resistencia y tolerancia al ataque de enfermedades foliares (mancha de hierro y roya) con menores porcentajes de incidencia y severidad.

Estrella (2014), menciona en su tesis: “Evaluación física y sensorial de cuatro variedades de café (*Coffea arabica l.*) tolerantes a roya (*Hemileia vastatrix*), en relación a dos pisos ecológicos de las provincias de Lamas y Rioja”, los resultados obtenidos en la presente investigación muestra que no existe diferencias significativas en la interacción de variedad y altitud, pero sí independientemente. La variedad presentó mayor influencia sobre la característica físicas del fruto de la variable espesor, en ancho y longitud sus medidas son prácticamente similares entre las variedades estudiadas; en características sensoriales influyó significativamente en fragancia/aroma, sabor, acidez y balance; sobresaliendo la variedad caturra en los dos primeros atributos y también se obtuvo mejor calificación en calidad en taza, sin embargo catimor presenta la más baja calificación en los atributos sensoriales como también de calidad en taza.

Vallejos (2015), menciona en su tesis: “Tolerancia a *Hemileia vastatrix* en plantas clonadas de café arábico (*Coffea arabica*) variedad “caturra roja”, Se colectaron muestras de hojas con roya de dos pisos altitudinales en la Region San Martín”, los resultados obtenidos en la presente investigación muestra que las fuentes de inóculo procedente de la Altitud 2 (1 001 - 1 200 m.s.n.m.m.), presentó las mejores características morfológicas (Altura, Producción de hojas principales y Producción de hojas axilares) para tolerar la infestación de roya del cafeto.

Chinchay (2016), menciona en su tesis: “Efecto de Hongos Micorrízicos Arbusculares Nativos sobre el nemátodo agallador de raíces (*Meloidogyne spp.*) en plántones de café

(*Coffea arabica* L.) variedad caturra en la Región San Martín”, utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con 11 tratamientos (9 fuentes de inóculo de HMA nativos + 2 testigos) y 3 repeticiones. Para determinar el efecto antagónico entre estos dos organismos, inoculó 1 500 esporas por plantón de cada uno de las diferentes fuentes de inóculo empleando un sustrato estéril y luego de 140 días realizó la infestación con *Meloidogyne* spp., a razón de 2 000 Huevos+J2 por plantón. La altura de plantas se evaluó a los 15 días después de la infestación (DDI) y las demás variables 90 DDI. Durante el proceso, realizó un análisis de varianza y la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) para las variables estudiadas. Los tratamientos T2 (4,75%), T8 (4,71%) y T9 (5,14%) mostraron resultados eficientes en el control de *Meloidogyne* spp. y las demás variables de estudio.

Del Águila (2016), menciona en su tesis: “Efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares a plantones de café (*Coffea arabica* L.), variedad caturra a nivel de vivero en la Región San Martín”, determinó el efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en plantones de café, (*Coffea arabica* L.) variedad caturra, a nivel de vivero. Se evaluó las siguientes variables: multiplicación de HMA-N, porcentaje de colonización, longitud de micelio extraradicular, altura de planta, área foliar, biomasa seca aérea y biomasa seca radicular. Los resultados de este estudio mostraron que los consorcios más eficientes fueron los pertenecientes a los tratamientos T9, T5 y T8. Los cuales favorecieron significativamente el crecimiento y desarrollo de las plantas de cafeto en la etapa de vivero.

Sánchez (2017), menciona en su tesis: “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”, cuyo objetivo fue evaluar el efecto de 12 inóculos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en las características morfológicas de plantas clonales de café (*Coffea arabica* L.). 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.

Marlo (2017), menciona en su tesis titulada: “Efecto biofertilizante de hongos micorrízicos arbusculares nativos en plantas clonales de café (*Coffea arabica* var. caturra), bajo condiciones de vivero en la Región San Martín”, El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto biofertilizante de los hongos micorrízicos arbusculares nativos en plantas clonales de café (*Coffea arabica*) en condiciones de vivero en la región de San Martín, evaluándose las variables morfológicas (altura, diámetro y estrés hídrico) y fúngicas (colonización, área foliar, sistema radicular, biomasa aérea, micelio extraradical). Los resultados obtenidos indicaron la influencia positiva de los HMA nativos en las variables morfológicas y fúngicas de las plantas, siendo el T7 con fuente de inóculo de El Dorado A1 (altura 800 a 1 000 m.s.n.m) el mejor tratamiento en los resultados obtenidos del estudio, así mismo se pudo ver que los tratamientos que fueron inoculados fueron superiores al tratamiento testigo T0.

1.2. Micorrizas

Generalidades

El término micorriza fue propuesto por primera vez en 1885, por Albert Bernard Frank, quien descubrió la asociación regular de tejidos fungosos, con el tejido radical de los árboles, son tan antiguas como las propias plantas y se conoce su existencia desde hace más de 400 millones de años; estimándose que aproximadamente el 95% de las especies vegetales conocidas establecen de forma natural y constante este tipo de simbiosis con hongos del suelo (Pérez, Montes, Rojas, 2011).

Las micorrizas (gr. Mykes: hongo; rhiza: raíz) son simbiosis mutualistas que se establecen entre ciertas especies de hongos (Basidiomycetes, Ascomycetes, Zygomycetes y Glomeromycetes) y las raíces de la mayor parte de las plantas (Álvarez y Naranjo, 2003). Esta asociación de ambos simbiosis trae beneficios de vivir en una estrecha relación de mutua dependencia. Los beneficios más conocidos es el intercambio nutricional, en el que la planta da al hongo carbohidratos y otras sustancias sintetizada por la misma, y el hongo da a la planta, agua, nutrientes minerales y orgánicos del suelo y otros sintetizados por el hongo (Montilla, 2010).

Tipos de micorrizas

Rivera (2003), menciona que existe una gran diversidad en la morfología y fisiología de las asociaciones micorrízicas, existen tres tipos de asociaciones micorrízicas vigentes (ectomicorrizas, ectendomicorrizas y endomicorrizas), en las ectomicorrizas el hongo se

desarrolla en los espacios intercelulares de la corteza radical, no penetran dentro de las células, sino que forman la llamada red de Hartig; penetran a la endodermis de la raíz y se aprecian la típica capa o manto de hifas que tejen alrededor de las raíces que colonizan. Mientras que (Pérez, Cury y Oviedo, 2016), mencionan que esta asociación se da en aproximadamente el 3% de las especies vegetales en las ectendomycorrizas ocurren penetraciones intracelulares y desarrollo de manto típicos. Por otro lado, Rivera (2003) mencionan que las ectendomycorrizas presentan características intermedias comunes a las ecto y endomycorrizas, y se encuentran restringidas a un pequeño grupo de especies vegetales y fúngicas. Por último, las endomycorrizas no son detectadas visiblemente, forman una red externa de hifas menos profusa que la anterior se propagan a través de las raíces y penetran al interior de las células corticales sin llegar a colonizar la endodermis.

Ciclo de vida de las micorrizas

León (2016), menciona que los HMA son simbiontes biotróficos obligados con un ciclo de vida dividido en dos etapas distintas. Por un lado, los estadios de reposo y reproductivo (esporas, esporocarpos, arbuscúlos y posiblemente también vesículas), son independientes de la planta. Por otra parte, los estadios vegetativos están involucrados en interacciones complejas con las plantas entre las cuales se incluyen el reconocimiento, la colonización y el intercambio de nutrientes. Estas etapas son representadas por el desarrollo de hifas externas en el suelo e hifas espirales, arbuscúlos y vesículas dentro de la raíz. Es así que en la zona externa del córtex de la raíz forma unas estructuras intracelulares típicas que son los “ovillos”; en la zona medias las hifas crecen normalmente de forma longitudinal en los espacios intercelulares; mientras que en la zona interna las hifas penetran intercelularmente y forman los arbuscúlos de los cuales se produce el intercambio de nutrientes. También habría que destacar la formación de vesículas en el córtex cuya función es el almacenamiento de reservas lipídicas. Tras la colonización interna se produce la ramificación y desarrollo del micelio externo que es la clave en la captación de nutrientes y da lugar a nuevos puntos de colonización en la propia raíz o en otras próximas (León, 2006).

Hongos Micorrízicos arbusculares (HMA)

Asociación mutualista establecida entre las raíces de la mayoría de las plantas (tanto cultivadas como silvestres), y ciertos hongos del suelo presentan una relación beneficiosa para los dos organismos implicados, el hongo coloniza la raíz sin causar daño a la planta y le proporciona nutrientes minerales y agua que extrae del suelo por medio de su red

externa de hifas, particularmente fósforo, mientras que la planta suministra al hongo sustratos energéticos y carbohidratos que elabora a través de la fotosíntesis; se trata de una simbiosis universal, no sólo porque casi todas las especies vegetales son susceptibles de ser micorrizadas, sino también porque puede estar presente en la mayoría de los hábitats naturales (Molina, Mahecha y Medina, 2005).

Esta asociación beneficia significativamente la nutrición mineral de los cultivos, brinda protección contra patógenos del suelo y confiere resistencia a diferentes agresiones tales como sequía, salinidad, metales pesados, regulando de esta manera el estrés biótico y abiótico para la planta; por lo cual esta simbiosis es considerada un recurso biológico en la agricultura moderna y sostenible, tanto en programas de seguridad alimentaria como de biorremediación de suelos (Guerra, 2014).

Proceso de Colonización de los HMA.

Rivillas (1996), menciona que el proceso y la tasa de colonización determinan la efectividad de un HMA o una asociación micorrizal, la colonización de la raíz por parte de un hongo micorrízico es un proceso que involucra tres etapas básicas: colonización (pre- colonización, penetración y colonización intra-radical), desarrollo del micelio extra-radical (esporulación del hongo) y recolonización.

Primera etapa: Se produce la diferenciación de la espora, propagación del hongo e identificación mutua entre la planta y el hongo, y viceversa, en la rizósfera, o en regiones próximas a las raíces o pelos radicales, este reconocimiento lo facilitan al parecer, sustancias exudadas o emitidas por la raíz, que provocan el crecimiento del micelio y un biotropismo positivo del mismo hacia la raíz.

Segunda etapa: Consiste en el acercamiento y acoplamiento progresivo y gradual del micelio a la raicilla, produciéndose el contacto intercelular, al formarse una estructura que adhiere a ambos especímenes.

Tercera etapa: Se realiza la colonización, produciéndose cambios morfológicos y estructurales tanto en los tejidos colonizados por el hongo, como en la organización de la pared celular de la raíz, posteriormente se produce la integración fisiológica de ambos simbiontes (hongo - raíz), y por último se produce una alteración de las actividades enzimáticas, que se coordinan entre los simbiontes para integrar sus procesos metabólicos.

Este proceso de asociación para formar micorrizas, provoca alteraciones morfológicas y anatómicas en las plantas colonizadas tales como: cambios en la relación

tallo - raíz, en la estructura de los tejidos radicales, en el número de cloroplastos, aumento de la lignificación, alteración de los balances hormonales, etc. Una de las respuestas simbióticas de la planta con el hongo, es destinar fotosintatos en forma de sacarosa, para que el hongo pueda nutrirse heterotróficamente y para que pueda sintetizar azúcares propios tales como manitol, trehalosa, glicógeno. Luego de haberse formado la micorriza, el hongo empieza a colonizar el interior de su hospedante formando hifas intraradicales, arbuscúlos y vesículas; existen varios métodos que ayudan a determinar el porcentaje de colonización de los HMA, siendo uno de ellos el método de (Giovannetti y Mosse, 1980), que es la densidad visual de la ocupación de las estructuras del hongo en la raíz del macrosimbionte (Grace y Stribley, 1991). Sin embargo, el porcentaje de la Colonización por HMA en las Raíces del hospedante no determina la efectividad de los mismos (Ruiz, Rojas y Sieverding, 2011).

A pesar de que el porcentaje de colonización no representa la efectividad de la simbiosis entre los HMA y las plantas, su determinación permite conocer y cuantificar visualmente las estructuras de los HMA que se forman a nivel intraradical (Grace y Stribley, 1991).

Ventajas y beneficios de la colonización de HMA

Rojas (2010), indica que, las ventajas de la aplicación de micorrizas son:

- Mayor crecimiento y desarrollo de las plantas en beneficio de la adaptación y eficiencia de éstas al facilitar una mayor absorción de nutrientes minerales del suelo.
- Mejora el reciclado de nutrientes en el suelo.
- Aumenta la eficiencia de otros microorganismos que tienden a asociarse con ellas, tales como *Rizhobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, que a su vez incrementan la captación de nutrientes para las plantas.
- Mejora el control de enfermedades y por ende se facilita la disminución en gasto de insecticidas y fungicidas.
- Produce plantas más resistentes al ataque de patógenos.
- Facilitan la adaptación a suelos salinos.
- Contribuyen con la disminución de la erosión (Sieverding , 1991).
- Se incrementan la tasa fotosintética, potencial osmótico, conductancia estomática, reproducción y la transpiración.
- Se incrementa la biomasa seca aérea y radicular (Abbott, Robson y Ortos, 1991), mencionan que ello se debe a la distribución de los nutrientes a los tallos, los mismos

que aumentan el consumo de fotosintatos en la parte aérea que se expresa en el aumento de biomasa.

En cuanto al crecimiento y desarrollo de la planta Koch (1997), nos indican que la inoculación de HMA en plantas hace que la tasa de fotosíntesis se eleve notablemente en comparación con plantas no inoculadas, y puede atribuirse el incremento en el crecimiento de las plantas micorrizadas a dicho aumento de la actividad fotosintética; la micorrización temprana del material vegetal confiere un beneficio inicial a las plantas micorrizadas en cuanto a supervivencia al trasplante y establecimiento en plantación (Camprubí y Estaún, 2000).

Los efectos beneficiosos de la introducción de inóculo micorrízico resultan más evidentes en suelos donde las poblaciones de hongos MA nativos no existen, o han sido eliminadas por empleo de prácticas agrícolas desfavorables para su desarrollo como la fumigación del suelo y el cultivo intensivo (Sieverding, 1991).

Otros autores como Dávila, Ramos, y Rosales, (2009), afirman que la presencia de HMA en las raíces del hospedante con respecto a los incrementos de su tasa de crecimiento y producción de biomasa, tienen efectos mayores en suelos de baja fertilidad o desequilibrados nutricionalmente, especialmente cuando el contenido de fósforo asimilable es bajo, los efectos benéficos de las micorrizas son ampliamente conocidos e incluyen mejoras en la nutrición mineral e incrementos en la capacidad para superar los estrés bióticos y abióticos a través de una red de señales, entre las vías de señales que se establecen, el sinergismo y antagonismo proveen un potencial regulatorio que permiten la inducción de mecanismos de defensa (Azcón, 2007).

Según Sylvia y Williams, (1992), los HMA son altamente adaptables a diferentes ambientes, sin embargo; Hart y Reader, (2002), al trabajar con inoculaciones multiespóricas (esporas provenientes de varias especies de HMA), menciona que se puede encontrar diferencias en el comportamiento de sus respectivas colonizaciones y Barea (1991), hace referencia también al grado de especificidad entre los organismos simbióticos al que se le ha denominado compatibilidad.

Estructuras de los HMA

A. Esporas

Las esporas son la forma de conservación de los HMA en la naturaleza, y aunque el ciclo de vida de los HMA se puede iniciar de otros propágulos como redes de micelio y

fragmentos de raíces colonizadas (Ordoñez, 2009). las esporas son más resistentes a las condiciones medioambientales y pueden entrar en latencia, mediante el engrosamiento de su pared, si éstas son desfavorables (Tena, 2002).

Estas esporas o clamidosporas son células reproductoras producidas asexualmente, que pueden estar individualmente en el suelo, en el interior de las raíces de la planta hospedera, o formando densas masas no estructuradas conocidas como esporocarpos, en su mayoría, son de forma globosa (esférica) pero algunas especies tienen esporas ovaladas u oblongas; de ellas se desprende una hifa de sustentación que en conjunto dan la apariencia de un globo con su hilo colgando (Bucher, 2006).

Las esporas son de diferentes colores: blancas, amarillas, pardas y su tamaño puede variar de 20 a 50 μm , y en las más grandes de 200 a 1000 μm , son multinucleadas, contienen gotas de lípidos y otros contenidos los cuales varían en color y al romperse la espora en una lámina porta objetos se observa su arreglo en gotas pequeñas o grandes, lo cual puede ser una ayuda en la identificación del hongo (Brundrett, 1991).

Las paredes de las esporas están formadas por una o más láminas, que varían en grosor, estructura, apariencia y tinción a reactivos, características que también ayudan al taxónomo a identificar la especie (Reyes, 2011).

B. Micelio extraradical de los HMA

Ante el establecimiento de la simbiosis, el hongo coloniza la corteza de la raíz, y también desarrolla un extenso micelio externo que simula un sistema radical complementario y altamente efectivo, ayuda a la planta a adquirir nutrientes minerales y agua del suelo. A su vez, la planta hospedadora le proporciona al hongo fuentes de carbono procedentes de la fotosíntesis y un nicho ecológico protegido (Smith y Read, 2008).

El micelio externo incluye micelio y esporas inicialmente se producen hifas relativamente gruesas denominadas hifas exploradoras, que crecen de forma apical estas hifas sufren ramificaciones (hifas secundarias) que a su vez vuelven a ramificarse las hifas exploradoras son las responsables del avance del micelio y la extensión de la colonia fúngica; este micelio externo funciona como un sistema radical complementario que se extiende más allá de la zona de agotamiento de nutrientes cercana a la raíz, su función es

la 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 (Hernández, 2010).

Es así que la determinación de la eficiencia o efectividad está asociada al micelio extraradical, la cantidad de raíz colonizada define la capacidad de influir favorablemente (Herrera y Ferrer, 2006).

La simbiosis representa un alto costo para la planta, entre el 4% y el 20% del carbono fijado a través de la fotosíntesis es consumido por el hongo (Parniske, 2008). Sin embargo, las hifas del hongo son mucho más finas que las raíces y para la planta podría ser desgastante producir más raíces que establecer una simbiosis que le aporte beneficios nutricionales (Helgason y Fitter, 2009).

El carbono tomado de la planta, es usado para la producción de estructuras: esporas e hifas, dicho carbono, es absorbido en forma de hexosas por los arbusculos intraradicales y son convertidos a lípidos y glicógeno que luego son exportados al micelio externo el cual no tiene la capacidad de absorber carbono del suelo (Smith y Read, 2008).

Estos cambios originados por la simbiosis, evidencian su eficiencia en incrementos del área de exploración radical de las plantas y en la consiguiente absorción de nutrimentos, considerando que éstas se encuentren en una misma condición de disponibilidad de los mismos, de tal manera que presenten mayores o menores coeficientes de aprovechamiento y crecimiento, dependiendo de los consorcios micorrízicos inoculados (Barea y Richardson, 2015).

Factores abióticos relacionados a la simbiosis de los HMA

De acuerdo con Oliveira (2005), la precipitación tiene un efecto positivo sobre la densidad de esporas, pero no en el porcentaje de colonización. Además, estos autores observaron que el contenido de humedad en el suelo tiene un efecto positivo sobre el número de esporas y en la colonización por HMA.

Por otro lado, Ordoñez (2016), reporta que el pH del suelo afecta positivamente la densidad de esporas, pero el contenido de fósforo aprovechable tiene un efecto negativo sobre éstas. También observaron una relación positiva entre el porcentaje de colonización y el contenido de carbono orgánico.

Los efectos de los HMA en plantas son dependientes de la planta hospedera y las condiciones ambientales (Smith y Read, 1997).

Entre los factores condicionantes se pueden mencionar los siguientes:

Luz: Al aumentar la intensidad luminosa el aumento de micorrizas es proporcional al número de raíces secundarias y terciarias posiblemente por un aumento en la disponibilidad de nutrientes, principalmente carbohidratos libres en las raíces.

Temperatura: La temperatura tiene una acción directa sobre el porcentaje de crecimiento radical y sobre la producción de nuevas raíces; la temperatura óptima para el crecimiento de las micorrizas varía entre 17 y 27°C.

Agua y Aireación: Las formaciones micorrízicas están influenciadas por la humedad del suelo y por la aireación, se presume que el crecimiento del micelio decrece a una baja concentración de oxígeno debido a que la mayoría de estos hongos micorrízicos son aeróbicos, en efecto, la formación micorrízica se inhibe en suelos arcillosos debido a la dificultad de las raíces para penetrar en este, así como también por una pobre aireación.

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). Así mismo a nivel general se reportan niveles de tolerancia de distintos géneros a valores de pH entre 3 y 9, argumentan que las micorrizas arbusculares tienen amplia adaptación a condiciones de pH (éstas se han encontrado en suelos con pH desde 2,7 a 9,2).

Mecanismo de acción

Estas formas simbióticas se inician con la activación del micelio del hongo procedente de la germinación de las esporas, dando comienzo a la formación de la micorriza, lo que genera los propágulos para lograr en forma natural perpetuar y propagar la especie, cuando las esporas germinan, desarrollan unos filamentos conocidos como hifas, que por proliferación dan lugar al micelio del hongo que se extiende en el suelo según su potencial saprofítico; el micelio es el encargado de llevar a cabo la infección de la raíz, que se produce por una identificación mutua, en primera instancia, entre la planta y el hongo en la rizósfera en regiones próximas a las raíces; este reconocimiento es mediado por sustancias exudadas por la raíz, que provocan el crecimiento del micelio y un biotropismo positivo del mismo hacia la raíz, luego se produce el contacto intercelular

al formarse una estructura llamada apresorio; posteriormente se producen cambios morfológicos y estructurales, tanto en los tejidos colonizados por el hongo, como en la organización de la pared celular del simbionte fúngico, el proceso continúa con la integración fisiológica de ambos simbiontes, y por último, se presenta una alteración de las actividades enzimáticas, para integrar los procesos metabólicos (Miyasaka y Habte, 2003).

Debemos considerar que la colonización por HMA de las raíces, no conllevan daño alguno para éstas, los desarrollos de las hifas externas se ramifican y distribuyen en el suelo, el micelio externo tiene la función de ser participe en la adquisición de nutrientes y agua para las plantas, también beneficios dan a las plantas una mayor capacidad de tolerancia a los ambientes extremos, en la actualidad es muy bien conocido que están presentes en todos los biomas y ecosistemas (Ramirez, 2008).

Importancia de los HMA en la agricultura

Los HMA forman parte de la mayoría de los ecosistemas terrestres y se acepta que su diversidad influye de forma determinante en las comunidades vegetales con las que viven asociados (Jeffries, Gianinazzi, Tumaú y Barea, 2003).

La planta cede al hongo compuestos carbonatados procedentes de la fotosíntesis, mientras que éste cede a la planta nutrientes minerales, 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 (Sánchez, 2009).

Smith y Read (2008), las micorrizas arbusculares cumplen una función vital en los ecosistemas, originando múltiples efectos positivos para el crecimiento y desarrollo de las plantas, la cual, se describen a continuación:

- Aumentan la capacidad de absorción de fósforo y nutrientes de lenta difusión en el suelo reduciendo su dependencia a fertilizantes.
- Aumentan la tolerancia a periodos de sequía y al déficit hídrico.
- Aumentan la tolerancia al aluminio, a la toxicidad por metales pesados y contaminantes orgánicos.
- Potencialmente incrementan el crecimiento de la planta y la uniformidad en cultivos.
- Actúan sinérgicamente con bacterias fijadoras de nitrógeno y microorganismos solubilizadores de fósforo.

- Aumentan la tolerancia de las raíces a patógenos del suelo (nematodos, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*).
- 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. Además, la glomalina constituye un componente importante de la materia orgánica del suelo y es clave para el almacenamiento de carbono en el suelo.
- 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.

Así mismo, las asociaciones micorrízicas desarrollan otras funciones importantes para el hospedero, de las que se pueden destacar las siguientes: favorecen el crecimiento, desarrollo y nutrición vegetal, mejoran su tolerancia frente al estrés hídrico y a agentes patógenos, facilitan la adaptación a suelos salinos y contribuyen a disminuir el proceso de erosión (Marin, 2012).

De acuerdo con Alarcón y Ferrera (1999), las funciones micorrízicas están determinadas por la actividad del micelio externo del hongo, ya que éste posee una alta capacidad de absorción de los nutrientes del suelo mediante la extensa red de hifas que pueda generar; de este modo, la actividad del micelio ayuda a la raíz en situaciones de estrés. Es por ello, la función clave radica en su abundante micelio intra y extra-radical, constituye un enlace o puente entre las plantas y el suelo. Gracias a ella, la planta es capaz de explorar más volumen de suelo del que alcanza con sus raíces, al sumársele en esta labor las hifas del hongo; también capta con mayor facilidad ciertos elementos (fósforo, nitrógeno, calcio y potasio) y agua del suelo. En este sentido, la micorriza influye y conecta los componentes bióticos del suelo entre sí y con los abióticos. La protección brindada por el hongo hace que, además, la planta sea más resistente a los cambios de temperatura y la acidificación del suelo derivada de la presencia de azufre, magnesio y aluminio. Por si todo esto fuera poco, algunas reacciones fisiológicas del hongo inducen a la raíz a mantenerse activa durante más tiempo que si no estuviese micorrizada. El beneficio no sólo se debe al establecimiento de los hongos en el sistema radical, sino también a factores edáficos y ambientales (Alarcón y Ferrera, 1999).

Se ha observado que la estimulación del crecimiento de las plantas por los hongos micorrízicos está acompañada generalmente por un incremento en el contenido y la

concentración de algunos nutrientes en los tejidos vegetales. La absorción de los nutrientes por las raíces va a depender fundamentalmente de la llegada de los mismos a la superficie de la raíz y de su ritmo de translocación por el sistema radical. Por otro lado, la llegada de los nutrientes hasta la zona de influencia de la raíz va a estar condicionada por su concentración en la solución del suelo, la capacidad de tamponamiento de éste para amortiguar las variaciones que se produzcan en dicha concentración y del ritmo de desplazamiento hacia la superficie de la raíz (Giovannetti y Gianinazzi, 1994).

La simbiosis micorrízica es un componente clave que determina la productividad y diversidad vegetal en un ecosistema natural y es raro encontrar una situación donde la presencia de esta asociación no tenga una importancia ecológica (Jeffries *et al.*, 2003).

1.3. Cultivo de café (*Coffea arabica*)

Uno de los cultivos principales de exportación agrícola en el Perú; el área cultivada se estima en 420 000 hectáreas a lo largo de la vertiente Oriental de los Andes (Minagri, 2016).

El Perú considerado como el segundo productor y exportador mundial de café orgánico detrás de México, lo que permitió conquistar casi 50 países, además de ser el principal abastecedor de Estados Unidos bajo el sello de Comercio Justo, abarcando el 25% de este nicho de mercado (Anacafé, 2015).

En San Martín se encuentra en toda la cuenca del Huallaga, en la provincia de Lamas, en el Valle de Sisa, en Alto Mayo y Bajo Mayo, crece desde los 100 hasta los 2 000 m.s.n.m.; es una planta que se adapta a suelos arcillosos, ácidos y se desarrolla mejor en climas cálidos, para proteger a los suelos de la erosión indiscriminada, situación en la que se encuentran la mayoría de los suelos de la Región San Martín (Manco, 2006). Así mismo, el café tiene gran importancia social, ya que su cultivo sirve de sustento a 223 000 familias de pequeños productores, generando más de 54 millones de jornales directos y 5 millones de jornales indirectos en la cadena productiva (Minagri, 2016). Este cultivo perenne contribuye a la conservación de los suelos, la creación de condiciones para reforestar con diferentes especies, el reciclaje de nutrientes y cuando se trata de una caficultura orgánica evita la contaminación con agroquímicos y la estabilidad de los ecosistemas (Zapata, 2012).

Clasificación taxonómica

Según Integrated Taxonomic Information System (2017), clasifica al cultivo de café de la siguiente manera:

Reino Plantae

División: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Gentianales

Familia: Rubiaceae

Género: *Coffea* L.

Especie: *Coffea arabica* L.

Morfología del cafeto

El café es una planta arbustiva que tiene un solo eje, en cuyo extremo hay una zona de crecimiento activo permanente, que va alargando el tallo, formando nudos y entrenudos (Delgado, 2007).

Las ramas laterales se alargan y la parte superior del eje vertical continúa creciendo, así se producen nuevas ramas en diversos ángulos, por lo que la planta adquiere una forma cónica. El eje central o ramas ortotrópicas que crecen verticalmente, solo producen yemas vegetativas.

Las ramas laterales o plagiotropicas, llamadas bandolas, son las ramas primarias y dan origen a ramas secundarias o de segundo orden, de las que a su vez pueden salir ramillas terciarias. Las ramas secundarias y terciarias constituyen lo que se conoce como palmilla (Delgado, 2007). Si el punto de crecimiento del eje central es cortado, ciertas yemas laterales localizadas en el mismo producen nuevos ejes verticales (Christiansen, 2004).

El cafeto es un arbusto perennifolio que puede llegar a medir hasta 6 m de altura (Marin, 2012), de forma cónica o irregular y bajo condiciones normales de crecimiento desarrolla un solo eje. La planta puede crecer con una sola raíz, pero después desarrolla múltiples raíces en la base o en la parte baja de la raíz principal o pivotante, las ramificaciones laterales son las responsables de la nutrición mineral y de proveer a la planta de agua, en mayoría de las raíces se distribuyen a 30 cm. de profundidad y en un radio de 2,5 m del tronco (Morfin *et al.*, 2006) y comienza a producir flores a partir del primer año (Marin, 2012).

A. Raíces

La raíz central es pivotante, su longitud en una planta adulta es de 50 a 60 cm aproximadamente, las raíces secundarias (de sostén y laterales) se originan a partir de la pivotante; de las secundarias, generalmente se desarrollan los pelos absorbentes que, en un alto porcentaje (80-90%), se encuentran en los primeros 30 cm del suelo, con un radio de 2 a 2,5 m a partir de la base del tronco. Los pelos absorbentes son muy importantes porque le permiten a la planta la absorción de agua y nutrientes del suelo (Marin, 2012).

B. Tallo

El tallo es leñoso, erecto y de longitud diversa de acuerdo a la variedad, tiene la particularidad de producir tres tipos de yemas que originan diferentes partes de la planta: el tallo, las ramas y las hojas (Marin, 2012). En una planta adulta, la parte inferior es cilíndrica, mientras que la parte superior (ápice) es cuadrangular y verde, con esquinas redondas y salidas. Presenta la particularidad de producir tres tipos de yemas que originan diferentes partes de la planta: el tallo, bandolas y hojas (Alvarado y Rojas, 2007).

C. Hojas

La lámina de la hoja mide de 12 a 24 cm de largo por 5 a 12 cm de ancho, variando su forma de elíptica a lanceolada (Marin, 2012) de color verde oscuro brillante en el haz, cerosos y coriáceos, con un verde más pálido y menos brillante en el envés, con nervadura central prominente y márgenes de ondulaciones diversas (Morfin *et al.*, 2006).

D. Inflorescencia

La floración del café es marcadamente estacional, generalmente coincide con la presencia de las primeras lluvias (Marin, 2012). La inflorescencia del café es una cima de eje muy corto que posee flores pequeñas, de color blanco y de olor fragante en número variado. Las especies *C. canephora* y *C. liberica* son especies alógamas y los arábigos son autógamos; en los arábigos el 94% de la polinización es autopolinización y sólo en un 6% puede ocurrir polinización cruzada (Fundesyram, 2010).

E. Fruto

Después de la fecundación, el óvulo se transforma en fruto y sus dos óvulos en semillas. El fruto maduro es una drupa elipsoidal en los cultivares comerciales, ligeramente aplanada, cuyos tres ejes principales miden 12 y 18 mm de longitud, 8 y 14 mm de ancho y 7 y 10 mm de espesor. El fruto es de superficie lisa y brillante y de pulpa

delgada; está constituido de tres partes diferentes: el epicarpio o epidermis; el mesocarpio o pulpa y el endosperma o semilla. Cuando madura puede ser de color rojo o amarillo, dependiendo del cultivar (Alvarado y Rojas, 2007). El fruto es una baya drupácea con dos almendras con sus respectivos embriones, que constituyen la semilla (Marin, 2012).

F. Semilla

Las semillas del café son oblongas, planoconvexas, cubiertas por una película plateada o perisperma (vestigios del tegumento del óvulo). La semilla se constituye por el endospermo cuya coloración es verde oscuro amarillento, mide de 10 a 15 mm de largo por 5-10 mm de ancho, con un embrión pequeño basal de 1 a 2 mm. La semilla se encuentra cubierta por un endocarpio fibroso, conocido como pergamino, el endospermo es córneo formado por hemicelulosa, proteínas, cafeína, aceite, azúcares, dextrina, celulosa, ácido clorogénico y otros compuestos.

La madurez fisiológica de la semilla se alcanza alrededor de los 220 días después de la antesis y carece de periodo de latencia, siendo capaces de germinar en forma inmediata (Morfin *et al.*, 2006).

Características de la variedad caturra

Fischersworing y Robkamp (2001), nos mencionan que la variedad caturra es mutante de la variedad Bourbon, originario en Minas Gerais, Brasil. Se caracteriza por sus entrenudos cortos, de lo cual se deriva el porte bajo de la planta, su tronco grueso, área con relación a las líneas comunes de Typica y Bourbon. En el mutante rojo de caturra los frutos adquieren un color rojo vinoso a la madurez, mientras que el mutante amarillo, un color amarillo. Su porte pequeño favorece altos rendimientos por unidad de superficie bajo un manejo intensivo, (Alvarado y Rojas, 2007). Esta variedad Caturra tiene una alta producción y buena calidad, pero requiere de una amplia atención y fertilización; ya que a mayor altitud aumenta la calidad, pero disminuye la producción (Vergara, 2012).

Heredia (2011), menciona que la variedad caturra se caracteriza por ser de porte bajo, tiene entrenudos cortos, tronco grueso y poco ramificado, y ramas laterales abundantes, cortas, con ramificación secundaria, lo que da a la planta un aspecto vigoroso y compacto. La adaptabilidad de esta variedad es muy amplia, particularmente en cuanto a altitud y el potencial productivo es muy sobresaliente, ya que a pesar de su tamaño pequeño la cualidad de presentar entrenudos muy cortos y ramificación secundaria abundante, posibilita su alta productividad. Se puede sembrar a una densidad de 5000 plantas por

hectárea, aunque en condiciones muy favorables para el cultivo, la densidad puede ser un poco mayor.

Condiciones edafoclimáticas del cultivo

A. Altitud

La altitud donde se encuentran establecidas las plantaciones. La altitud óptima para el cultivo de café se localiza entre los 1 000 y 2 000 m.s.n.m. Por encima de este nivel altitudinal se presentan fuertes limitaciones en relación con el desarrollo de la planta, de donde se puede obtener un café de excelente calidad, por sus características organolépticas (sabor, aroma, cuerpo, y acidez). Sin embargo, existen algunas variedades nuevas de la especie *C. canephora* que a menor altura también producen café de buena calidad (Morfin *et al.*, 2006).

B. Humedad

- **Precipitación.** La precipitación media anual requerida por el cafeto es de 1 800 a 2 000 mm distribuidos a través del año con un periodo de sequía de dos a tres meses, el cual coincide con un periodo de reposo vegetativo, para dar inicio a la floración (Morfin *et al.*, 2006). Sin embargo, una precipitación de 1 500 mm distribuida en forma uniforme puede ser suficiente, por debajo de ésta el crecimiento de la planta se ve limitado afectando la cosecha del año siguiente. Los periodos prolongados de sequía propician la caída de las hojas, limitan la actividad fotosintética y por consecuencia la cosecha disminuye y en algunos casos puede llegar hasta la muerte de los cafetales. Con precipitaciones superiores a 3 000 mm la calidad física del café y la calidad de taza se deterioran (Morfin *et al.*, 2006).
- **Humedad Relativa.** Se ha determinado que la humedad del aire no es un factor determinante en el cultivo del café. No obstante, se señala que un promedio de humedad relativa, de 70 a 95%, es recomendable para *Coffea arabica* L. (Morfin *et al.*, 2006).

C. Temperatura

La temperatura media mensual óptima para el desarrollo del cafeto es de 19 a 22°C y con mínimas de 16°C y máximas de 25°C, valores superiores o inferiores a éstos causan daños severos a la planta (Morfin *et al.*, 2006). Las temperaturas que oscilan entre 17°C y 23°C durante la noche y el día, respectivamente, son las más favorables para la

iniciación floral, dado que a temperaturas altas se marchitan los botones florales; cuando la temperatura es inferior a 10°C, se produce clorosis por la muerte de los cloroplastos, lo cual detiene el crecimiento de la planta (Morfin *et al.*, 2006). Temperaturas de 34°C causan daños permanentes a la planta.

D. Luminosidad

Los cafetos requieren de 1 500 a 2 500 horas efectivas de luminosidad, siendo importante por su intensidad, duración diaria y distribución durante el año, la planta requiere de 200 a 280 horas luz durante los meses secos y de 100 a 150 en los meses húmedos (Morfin *et al.*, 2006).

E. Suelos

Los mejores suelos para el cultivo del café son aquellos profundos, permeables y textura franca, ya que en estos las raíces no tienen dificultad. El suelo ideal debe tener un espacio poroso de 60% del cual la mitad debería ser ocupada por aire cuando se encuentre en condiciones de humedad. El café se desarrolla bien en suelos ácidos con pH de 4,5 a 5,5. Es importante considerar las propiedades físicas del suelo para la nutrición (Silva, 2006).

1.4. Roya (*Hemileia vastatrix* Berck et.Br.)

Es una de las enfermedades limitativas de la caficultura mundial se encuentra diseminada en todos los países donde es cultivado el café y causa pérdidas en la producción (Rodríguez, 2006).

Es considerado el hongo de mayor importancia en el mundo debido a las grandes pérdidas que puede ocasionar al afectar a las plantas de café, éste hongo uredosporas actúa atrofiando e interfiriendo con su buen funcionamiento del sistema fotosintético de la planta, en la parte aérea se puede apreciar amarillamiento, marchitez y crecimiento retardado (González, 2003).

1.4.1. Morfología

Las esporas son de tamaño microscópico (30µm de largo x 20µm de ancho) de forma reniforme, lisas en la cara interna y rugosa en la externa, denominadas urediniósporas, y son producidas en grandes cantidades, y corresponden al polvillo amarillo o naranja que se visualiza en el envés de las hojas de café y es característico de esta enfermedad; las

teliósporas, cuya ocurrencia es muy baja, son de forma redondeada de 20-25 μ m (Castro, Charles y Barreto, 2009).

1.4.2. Sintomatología

Las primeras síntomas de la enfermedad consisten en pequeñas lesiones amarillentas aparecen alrededor del punto de penetración (envés de las hojas), que con el tiempo se unen y producen las uredosporas de color anaranjado característico; en el haz se observa manchas cloróticas y finalmente las lesiones se vuelven necróticas, el área afectada por una sola infección tiene un diámetro de aproximadamente 3 mm, pero gradualmente aumenta el tamaño hasta 2 cm o más y tiende a unirse con otras infecciones para formar una lesión más o menos irregular que a veces puede abarcar gran parte de la superficie foliar; en los estados muy tempranos se nota sólo una mancha pálida, amarillenta, en el envés de la hoja, esta mancha es translúcida y si se examina contra la luz se observa la apariencia de una gota de aceite (Silva, 2006).

Una vez ha penetrado al interior de la hoja, el hongo desarrolla unas estructuras denominadas haustorios, los cuales entran en contacto con las células de la planta y extraen los nutrientes para su crecimiento; las células de café parasitadas pierden su coloración verde y, en este momento, se aprecian zonas cloróticas o amarillentas en la hoja, que corresponden a la aparición de los síntomas de la enfermedad, transcurridos 30 días después de la colonización, el hongo está lo suficientemente maduro como para diferenciarse en estructuras llamadas soros, que son las encargadas de producir nuevas uredioniosporas, a razón de 1 600 por milímetro cuadrado (mm²) de hoja, por un período de 4 a 5 meses y que serán dispersadas para iniciar el nuevo ciclo (Castro *et al.*, 2009).

1.4.3. Ciclo de vida

El ciclo de vida del hongo inicia con el proceso de liberación y deposición de la espora en la hoja de café; posteriormente, la espora germina y se inicia el proceso de infección recién en la tercera etapa se presentan los síntomas de la enfermedad, cuando aparecen las manchas de color amarillo pálido en el envés de las hojas que, con el tiempo, aumentan de tamaño y se unen formando las características manchas amarillas o anaranjadas con polvo fino amarillo que produce las nuevas esporas del hongo (Avelino y Galileo, 2013).

Mientras el ciclo de vida del hongo cubre 30 días, transcurrido el 75% de este tiempo (24 días), se inicia la formación de manchas de color amarillo pálido translúcidas; los

signos típicos de la enfermedad son las esporas de color anaranjado, que se hacen visibles a partir del día 27 del ciclo, cuando ha transcurrido el 90% del tiempo; una vez que se inicia la formación de las esporas en las lesiones o manchas de roya, la producción se mantiene activa mientras la hoja permanezca adherida a la planta, lo cual puede prolongarse por varios meses (Agrios, 2005).

1.4.4. Mecanismo de acción

Según Miranda (2013), el tiempo entre la germinación de la espora, penetración a los tejidos internos de la hoja e inicio de la producción de esporas oscila entre 20 a 40 días; cuanto más favorables sean las condiciones de temperatura y permanencia de agua sobre la hoja menor será el tiempo para completar el ciclo reproductivo del hongo. Para la germinación de las esporas se requiere de la presencia de agua libre por al menos durante seis horas, temperaturas entre 21-25 °C y condiciones de oscuridad, para formarse el apresorio (modificación de las hifas para la infección de una célula epidérmica del huésped) se requiere de un periodo de entre 5 y 8 horas (Rozo y Cristancho, 2010).

Luego de germinar, el hongo penetra en las hojas a través de las estomas (aberturas naturales usadas por las plantas para respiración y transpiración) situados en el envés de las hojas maduras (Wilson, 2001); una vez que ha penetrado al interior de la hoja, el hongo desarrolla unas estructuras denominadas haustorios, los cuales entran en contacto con las células de la planta para extraer los nutrientes necesarios para su crecimiento la concentración óptima de espora del hongo para que se produzca la infección debe ser de 15-30 esporas por centímetro cuadrado; si las esporas están demasiado dispersas no se produce la infección; transcurridos 30 días después de la colonización, el hongo está lo suficientemente maduro para diferenciarse en estructuras llamadas soros, que son las encargadas de producir nuevas uredosporas; “El tiempo transcurrido desde la infección hasta la producción de esporas se denomina periodo de latencia”.

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Metodología de investigación

2.1.1. Tipo de investigación

La investigación pertenece al tipo Descriptivo – Explicativo por que se describe y explica la evaluación del efecto de los Hongos Micorrízicos Arbusculares, sobre roya (*Hemileia vastatrix*) en plántulas de café (*Coffea arabica*), es decir, cuánto pueden influenciar los HMA sobre el crecimiento, resistencia al ataque de roya.

2.1.2. Población

Fuentes de inóculo de HMA de las Provincias / Localidad (Rioja - Oriente Nuevo, Lamas - Chirapa, El Dorado - Buena Vista y Huallaga - Nuevo Brasil) de la región San Martín.

2.1.3. Muestra

Las plántulas de Café inoculadas con Hongos Micorrízicos Arbusculares HMA e infestados con roya, bajo condiciones de vivero (Lamas – Alto Chontal).

2.1.4. Ubicación y caracterización del área de estudio

El trabajo de investigación se desarrolló en la localidad de Alto Chontal , ubicado en el Centro Poblado Alto Chontal del Distrito San Antonio de Cumbaza Provincia de Lamas y Departamento de San Martín. Fue establecido bajo condiciones vivero y luego en el laboratorio de micorrizas. Esta investigación estuvo bajo la supervisión de los ingenieros Eybis José Flores García (UNSM - T), Omar Decny Chinchay Rubio (IIAP), Geomar Vallejos Torres (IIAP) y Luis A. Arévalo López (IIAP).

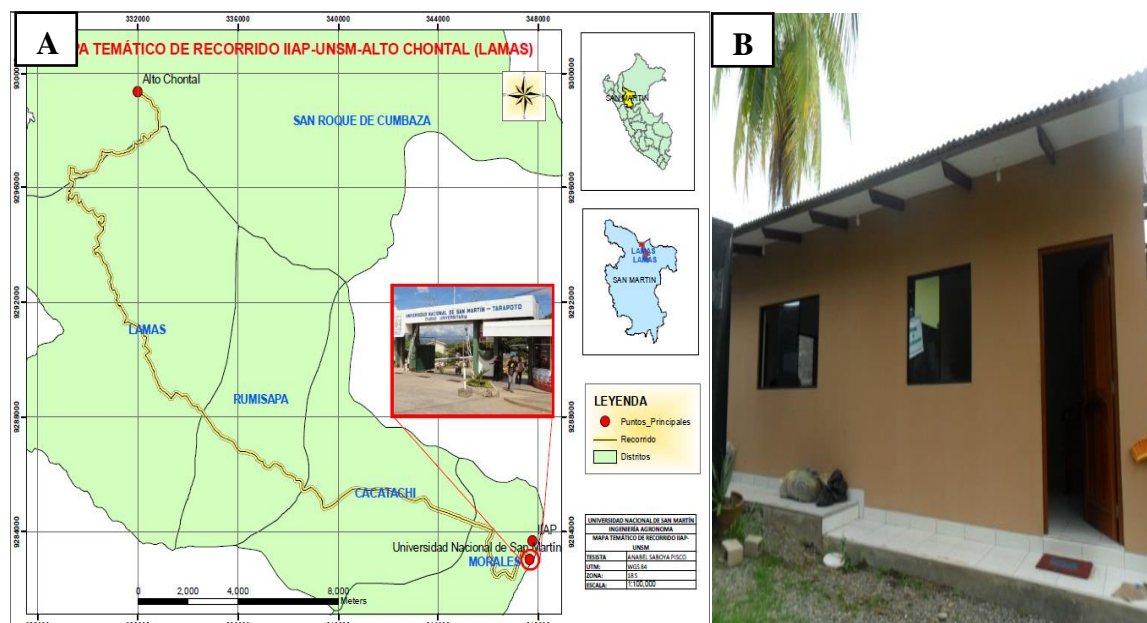


Figura 1. A y B Localización de la zona Alto Chontal – Lamas y laboratorio de micorrizas, indicando el área de estudio.

2.1.5. Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar (DCA), con arreglo factorial de 5A x 2B, considerando el factor A: fuentes de Inóculo HMA y el factor B: Inoculación de roya.

Factor A: fuentes de inóculo HMA

- A1 = fuente de Inóculo HMA Rioja - Oriente Nuevo
- A2 = fuente de Inóculo HMA Lamas – Chirapa
- A3 = fuente de Inóculo HMA El Dorado - Buena Vista
- A4 = fuente de Inóculo HMA Huallaga - Nuevo Brasil
- A5 = Testigo Sin HMA

Factor B: Inoculación de roya

- B1 = Sin inoculación de roya
- B2 = Con inoculación de roya

La interacción entre los factores dió como resultado 10 tratamientos (Tabla 1), con 3 plántulas por tratamiento, haciendo un total de 30 unidades experimentales, con un nivel de significancia de $p < 0,05$ y probabilidad de error para determinar la confiabilidad y naturaleza de las diferencias entre tratamientos (Padron, 1996).

Todos los datos fueron sometidos al Análisis de Varianza (ANVA) y para la comparación de las medias se utilizó la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0$, previo el análisis de varianza se sometieron los datos a la evaluación del supuesto de normalidad utilizándose la dócima de Shapiro - Wilk (Diz, 2008) y para el supuesto de homogeneidad de varianza se utilizó la dócima de Levene (Font, 2007), cumpliendo con los dos supuestos.

Para el procesamiento del análisis de datos, se utilizó el programa estadístico Infostad versión 2015, para determinar la naturaleza de las diferencias entre tratamientos, Así mismo; se calculó el Coeficiente de Variabilidad (C.V), Coeficiente de determinación (R^2) y el promedio general corroborado por Calzada (1982) ver Anexo 3.

Tabla 1

Descripción de los Tratamientos(Fuentes de inóculo HMA / inoculación de roya).

F.I / I.R	Rioja	Lamas	El Dorado	Huallaga	Testigo
Sin roya	A1 x B1	A2 x B1	A3 x B1	A4 X B1	A5 x B1
Con roya	A1 x B2	A2 x B2	A3 XB2	A4XB2	A5 X B2

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2

El ANVA de los datos expresados en porcentaje (colonización micorrízica, incidencia y severidad), fueron transformados al arco seno $\sqrt{\%}$ (Box y Hunter, 1989).

F. de V.	G.L
A	$p - 1 = 4$
B	$q - 1 = 1$
A B	$(p - 1) (q - 1) = 4$
ERROR	$(p \times q) (r - 1) = 20$
TOTAL	$(p \times q \times r) - 1 = 29$

Fuente: Elaboración propia

2.2. Fases de instalación del experimento

2.2.1. Fase de campo

A. Colecta de hojas con uredinosporas de roya (*Hemileia vastatrix*)

Se ubicaron parcelas que presentaron la sintomatología de la enfermedad de la roya del café en el centro poblado de Chirapa, Distrito de San Roque de Cumbaza, Provincia de Lamas y Departamento San Martín; luego se colectó las hojas con alta reproducción de uredinosporas de roya, las cuales fueron cortadas con tijeras y colocadas en placas Petri. Posteriormente se procedió a sellarlas y trasladarlas al laboratorio de micorrizas del IIAP - San Martín ubicado en el Distrito de Morales.



Figura 2. A) Colecta de hojas infestadas con roya, B) Placas Petri conteniendo hojas con roya.

2.2.2. Fase vivero

A. Selección de fuentes de inóculo (HMA)

La colecta y multiplicación del inóculo de HMA, fue ejecutado en la primera etapa como parte del proyecto “Biorestauración de suelos con Hongos Micorrízicos Arbusculares nativos en fincas con café arábicos (*Coffea arabica*.L) en la Amazonía Peruana”. Con la finalidad de identificar especies pertenecientes a estos consorcios de hongos micorrízicos arbusculares; se recolectó de los cajones multiplicadores fuentes de inóculo de 4 Provincias / Localidad, Rioja - Oriente Nuevo, Lamas - Chirapa, El Dorado - Buena vista y Huallaga - Nuevo Brasil de la Región San Martín; para tener que inocular a las plántulas de café teniendo la Institución una base de datos de las provincias mas resaltantes.



Figura 3. Vivero de Multiplicación de Hongos Micorrízicos Arbusculares.

B. Preparación de sustrato para la instalación del experimento

La colecta del sustrato (tierra agrícola) se extrajo del distrito de San Antonio de Cumbaza de la parcela del agricultor Filemón Vilela Huamán. El mismo que fue esterilizado con la finalidad de que no exista algún factor que puedan modificar o alterar los resultados de la investigación. En el experimento se utilizó como sustrato, tierra agrícola con arena gruesa de río esterilizada en olla autoclave a 121°C por 60 minutos, en proporción 2:1. Luego se procedió a llenar sustrato en bolsas almacigueras de 2 kg.



Figura 4. A) Mezcla de tierra agrícola + arena a proporción de 2:1, B) Homogenizando el sustrato estéril y C: Embolsado.

C. Inoculación con Hongos micorrízicos arbusculares

La inoculación con hongos micorrízicos arbusculares consistió en mezclar cantidades de suelo rizosférico ver Anexo 4, las fuentes de inóculo HMA a aplicar por plántula; el suelo rizosférico perteneciente a una Provincia / Localidad seleccionada Rioja - Oriente Nuevo, Lamas Chirapa, El Dorado - Buena Vista y Huallaga - Nuevo Brasil.

Las plántulas fueron inoculadas en el momento del trasplante a bolsas almacigueras utilizando 1 500 esporas / bolsa almaciguera, posteriormente fueron llevadas al vivero de aclimatación.

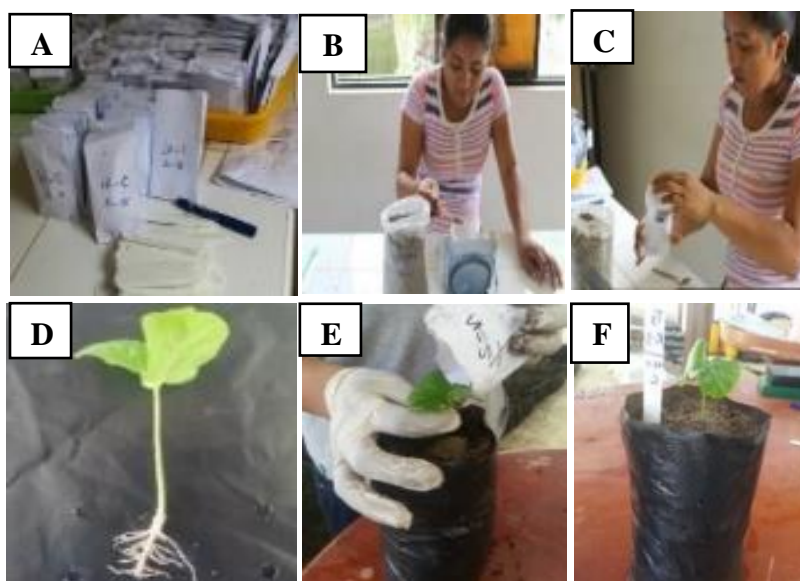


Figura 5. A) Inoculantes de HMA; B) Pesado del inoculante de HMA; C) Homogenización del inoculante a usar; D) Plántula de café listo para el trasplante E) Aplicando el inoculante HMA a plántulas de café; F) plántula inoculada.

2.2.3. Fase laboratorio

A. Esterilización de suelo agrícola (tierra negra) y arena de río

Para obtener el sustrato estéril, el suelo agrícola y arena de río pasaron por un proceso de esterilización. En el caso de la arena de río, se desinfectó con NaCl al 4% (20 ml NaCl/10 l de agua) para eliminar cualquier microorganismo y se secó durante un día, moviéndolo secuencialmente. Posteriormente, el suelo agrícola y la arena de río lavada, fueron colocados en bolsa de polipropileno y esterilizados en una olla autoclave a 121 °C por 15 lb de presión durante 30 minutos según la metodología (Razavi y Lakzian, 2017).



Figura 6. Esterilización del sustrato en la olla autoclave.

B. Cuantificación de uredinosporas de roya (*Hemileia vastatrix*)

La cuantificación de la concentración de uredinosporas de roya permitió determinar el número de unidades infectivas, utilizando el siguiente protocolo:

- Se preparó la suspensión original de 10 ml de agua estéril adicionándose Tween 20 (0,1%) constituyéndose la dilución 10^{-0} ml
- Se agitó la muestra en un vortex aprox. por 30 segundos para facilitar el desprendimiento de las conidias.
- Se realizó la dilución 10^{-1} ml tomando 1 ml del primer tubo y se le adicionó a un tubo de prueba con 9 ml de Tween al 0,1%, bajo el mismo proceso se consiguió la dilución 10^2 ml.
- Después de haber concluido con este proceso, las muestras fueron llevadas a observación. Con una pipeta se tomó una alícuota de la última dilución y se llenó la cámara de Neubauer por capilaridad, luego se llevó al microscopio y se procedió a contar los conidios en el cuadrante central de la cámara, en la que se consideró cinco cuadrados, los 4 de las esquinas y el del centro. con esto se determinó las conidias por ml mediante la siguiente fórmula, descrita por (French y Hebert 1982) : Conidias / ml = SUMA de 5 C.S. x 50 000; si las conidias son pequeñas. De las cuales se obtuvo 2×10^5 conidias/ml, y para el número total de conidias, es decir la concentración, se utilizó la siguiente fórmula:

Conidias total = conidias/ ml x Vol. de suspensión original de conidias.

$$\text{Conidias total} = 2 \times 10^5 \times 10 \text{ ml}$$

$$\text{Conidias total} = 2 \times 10^6 \text{ conidias ml}^{-1}$$

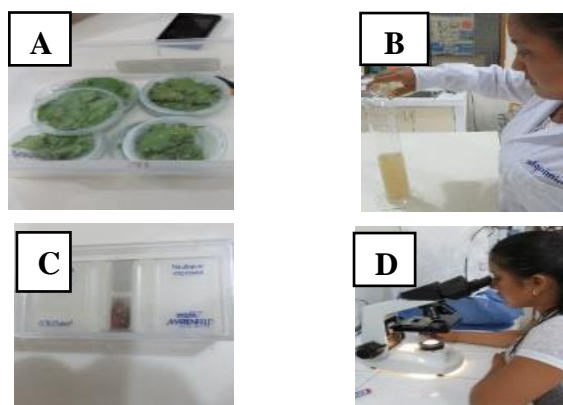


Figura 7. A) Muestras de hojas infestadas con roya (*Hemileia vastatrix*), B) Solución conteniendo uredinosporas de roya (*Hemileia vastatrix*), C) Muestra colocada en la cámara de neubauer, D) Conteo del número de uredinosporas roya (*Hemileia vastatrix*).

C. Aplicación de uredinosporas de roya (*Hemileia vastatrix*) a las plántulas de café

Se formuló 1 dosis aplicar 2×10^5 conidias/ml, las plántulas de café fueron infectadas por aspersión durante 1 minuto con las suspensiones y el testigo fue separado del lugar de la inoculación siguiendo la metodología de virulencia (Nussenbaum, 2014). La aplicación de la dosis formulada se realizó con un asperjador, el volumen asperjado por tratamiento y testigo fue de 2 ml de suspensión, a los 5 días estas plántulas fueron trasladadas al vivero de Alto Chontal - Lamas.



Figura 8. A) Aplicación de uredinosporas de roya (*Hemileia vastatrix*) con el dispensador, B) Plántula aplicada.

D. Preparación de las muestras para la Tinción de micelio extrarradical

Se realizó utilizando la técnica del gel semisólido y cuantificación por el método de intersección de cuadrantes descrita por Robles (1999), teniendo como procedimiento lo siguiente.

- Se pesó una muestra de 1g de suelo previamente secado bajo sombra y luego se colocó en un vaso precipitado de 200 ml.
- Se agregó 0.5 ml de vinagre (4,5%) por 10 minutos, para dispersar los agregados del suelo y acidificar los segmentos de micelios.
- Se añadieron 5 ml de solución de tinta azul de trypano al 0.25% disuelto en ácido acético, seguidamente, se dejó reposar a temperatura de ambiente por 30 minutos.
- Se enrazó a 100 ml con agua destilada
- Se colocó la muestra en baño maría (90°C), por un periodo de 90 minutos, y durante este periodo se agitó la muestra constantemente. Para eliminar las fracciones más finas del suelo la mezcla resultante.
- Se pasó por un tamiz con luz de malla de 38 μm , el material retenido en el tamiz fue depositado nuevamente en el mismo vaso precipitado y se enrazó a 50 ml con agua destilada.

- Se calentó esta muestra en baño maría (90°C) por 1 minuto y posteriormente se enrazó a 100 ml (Agregando 50 ml de agar - agar al 1,46% en concentración peso volumen), esta solución se dejó reposar por aproximadamente 5 minutos más en baño maría (90°C).
- En el baño maría se mezcló la muestra hasta homogenizar la suspensión y se tomó 10 ml con una jeringa para distribuir homogéneamente en una placa Petri.
- Se dejó enfriar la muestra hasta la formación de un gel semisólido y se procedió a evaluar.

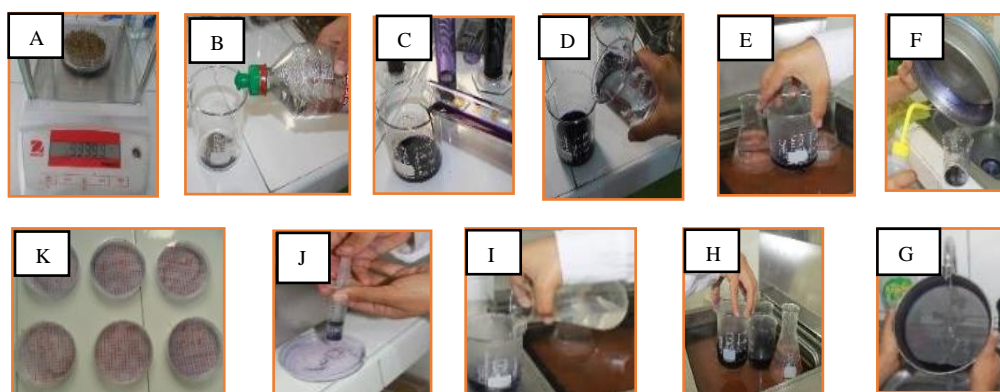


Figura 9. Pasos para la tinción de MER: A) Se pesó 1 g de suelo, B) Se agregó una pequeña cantidad de vinagre por 10 minutos, C) Se añadieron 5ml de tinta azul de trypano al 0.25% , D) Se enrazó hasta 100 ml con agua destilada, E) Se colocó las muestras a baño maría por 90 minutos, F) Se pasó por un tamiz el material retenido en el tamiz fue depositado nuevamente en el mismo vaso, G) El suelo restante en vaso precipitado con 30 ml de agua destilada. H) Muestra en baño María 90° por 1 minuto, I) Se calentaron las muestras por 1 minuto y se enrazó con 50 ml de agar - agar , se mezcló la muestra hasta homogenizar la suspensión, J) Se tomó 10 ml con una jeringa la suspensión fueron colocados en placas Petri, K) Muestra final.

E. Porcentaje de colonización micorrízica

La tinción de raíces de café, se realizó de acuerdo a la metodología de Viertheilig, Coughlan, Wyss y Piché (1998) modificado.

- Se lavaron con agua corriente las raíces.
- Se agregó solución de KOH al 10% (p/v) donde las raíces permanecieron inmersas por un tiempo de 6 horas.
- Se calentaron en baño maría a 90°C durante 30 minutos
- Se añadió H₂O₂ al 10% a las raíces.
- Se añadió tinta azul Parker al 5% .
- Se llevó a baño maría durante un minuto a 90° C.

Las raíces teñidas fueron conservadas en lagtoglicerol.

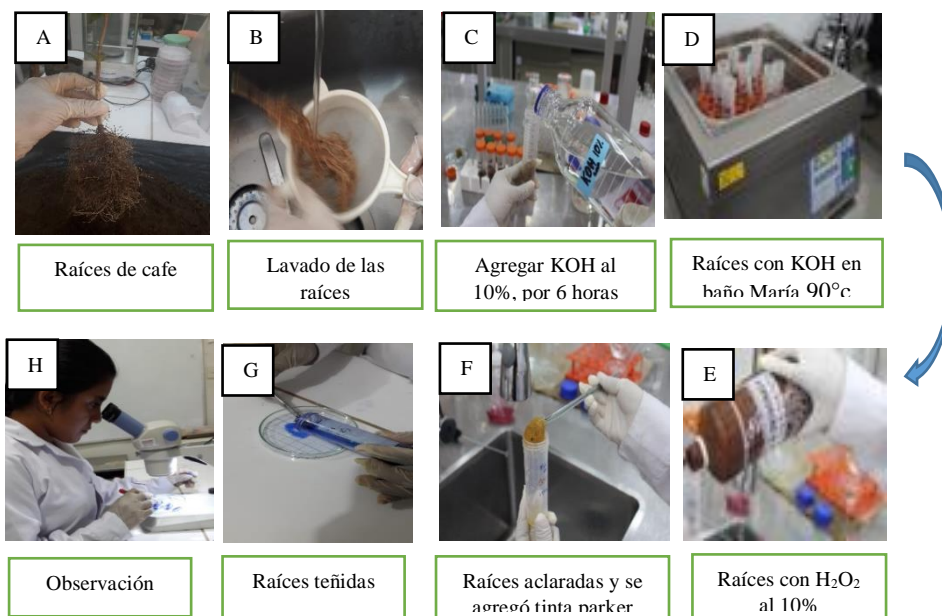


Figura 10. A, B, C, D, E, F, G y H: Procedimientos para tinción en raíces de café.

2.3. Variables Evaluadas

2.3.1. Indicadores de las variables morfológicas

A. Altura de plántulas de café

La medición de la altura de plántulas de café se realizó desde la base del tallo hasta el ápice de la plántula. 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°C, para evitar la contaminación entre los tratamientos estudiados.

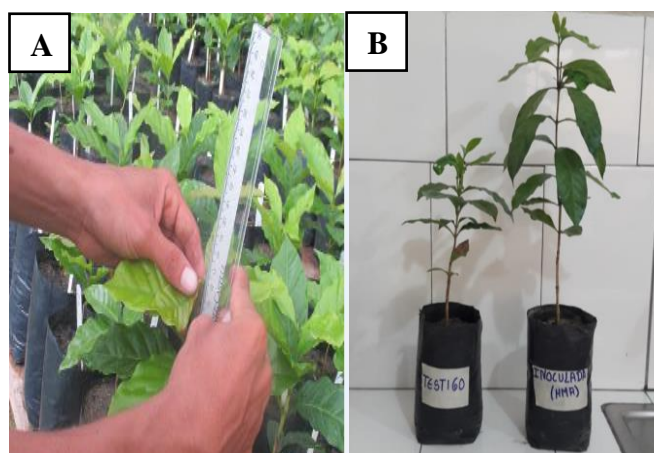


Figura 11. A) Medición de la altura de plántulas de café y B) Comparación entre una planta inoculada con HMA y testigo.

B. Área foliar

Para la determinación del área foliar se tomaron fotografías a las hojas de los plántones de café. El cálculo se hizo mediante el uso del software ASSES, que puede calcular el área foliar usando colores de contraste y mediante la calibración de un objeto cuya área es conocida.



Figura 12. Medición del área foliar de las plántulas de café.

C. Biomasa seca foliar

Las plántulas de café fueron extraídas a los 105 días posteriormente fueron sometidos por un periodo de 48 horas en la estufa a 60°C se extrajo las muestras y se pesó en una balanza analítica la parte aérea.

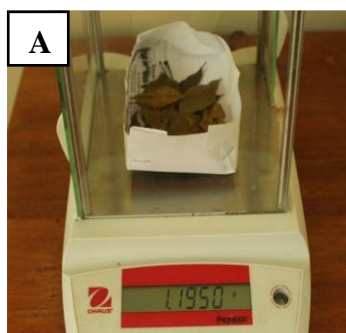


Figura 13. Determinación de la Biomasa seca foliar de plántulas de café.

D. Incidencia a roya en plántulas de café

Para la determinación del porcentaje de incidencia a roya en plántulas de café se realizó utilizando la metodología según Senasa (2015), Se evaluaron 3 plántulas por tratamiento; se contó el número total de hojas y el número de hojas con presencia de roya realizando cálculo según la fórmula de incidencia.

$$I (\%) = \frac{NHR}{NHT} * 100$$

Dónde:

I%	=	Porcentaje de incidencia
NHR	=	Número de hojas con roya evaluada
NHT	=	Número de hojas totales evaluada

E. Severidad a roya en plántulas de café

La severidad se estimó por el método de Kushalapa y Chávez, (1980) citado por López (2010), el cual estima la proporción de área foliar afectada.

- Se tomó 1 plántula por tratamiento y se eligió 3 sectores de la planta (bajo, medio, alto), seguidamente se evaluó 9 hojas escogidas haciendo un total de 90 hojas.
- Se utilizó las medidas del área foliar obtenido mediante el programa ASSES (cálculo de área foliar).
- Se contabilizó el número de pústulas
- Se midió el (largo x ancho) de cada pústula.
- Posteriormente se cálculo el % de severidad.

% Severidad

AFA= Área foliar afectada

AFP= Área foliar de la planta

$$\% \text{ Severidad} = \frac{\text{AFA area foliar afectada}}{\text{Area foliar de la planta}} \times 100$$

2.3.2. Indicadores de las Variables fúngicas**A. Determinación de la longitud de micelio extraradical (MER)**

Se realizó utilizando la técnica del gel semisólido y cuantificación por el método de intersección de cuadrantes, metodologías propuestas por (Robles, 2009). En la cual las muestras que previamente fueron preparadas siguiendo la metodología de tinción de micelio extraradical, y fueron llevados a un estereoscópico de 10X y 5X, en la cual se contaron las intersecciones hifa - línea en 10 ml de solución basándose en la fórmula de utilizando la fórmula Robles (2009). $R = \pi AN / 2H$.

En donde:

R= Longitud de micelio por unidad de peso de suelo.

A= Área de la placa.

N= Número de intersecciones hifa-línea.

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

Por tanto, las longitudes de micelios obtenidos en suelos rizosféricos colectados se presentan más adelante.

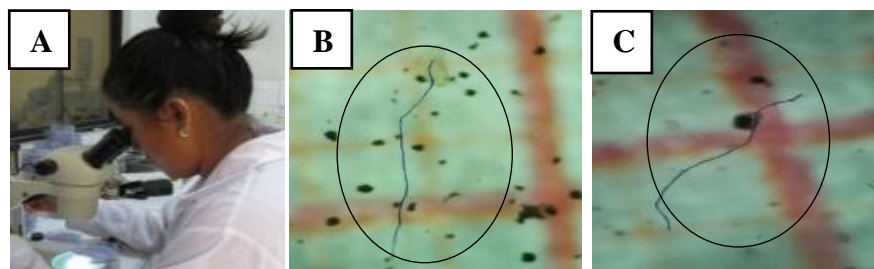


Figura 14. A) Observación en estereoscopio para la evaluación de MER; B y C : Muestras de Micelio Extrarradical (MER) observados en estereoscopio a un aumento de 5X.

B. Determinación de la colonización micorrízica

Para determinar el porcentaje de colonización micorrízica por HMA, se realizó según la metodología de Giovannetti y Mosse (1980), las raicillas se distribuyeron en forma aleatoria en una placa Petri cuadrículada en solución de lactoglicerol, donde fueron evaluadas los fragmentos de raíces conteniendo estructuras fúngicas de los HMA (hifas, vesículas, arbusculos, esporas y células auxiliares) vistas en un estereoscopio binocular. Se observó cada campo visual, la intersección de las raíces con la línea horizontal, anotando la presencia o ausencia de colonización micorrízica del segmento de la raíz que está en contacto con la línea de la cuadrícula. según la metodología propuesta por Giovannetti y Mosse (1980), se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de colonización} = \frac{N^{\circ} \text{ de segmentos colonizados}}{N^{\circ} \text{ total de segmentos evaluados}} \times 100$$

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Variables morfológicas

3.1.1. Altura de plántulas de café

Tabla 3

ANVA para altura (cm) de plántulas de café bajo condiciones de vivero (Alto Chontal - Lamas)

Fuente de variabilidad	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F.C	P - Valor Sig.
Fuente inóculo de HMA	4	1,03	0,26	8,69	0,0003 **
Inoculación de roya (HMA) X (I.R)	1	0,19	0,19	4,39	0,224 ^{N.S}
	4	0,16	0,04	1,33	0,2923 ^{N.S}
Error	20	0,59	0,03		
Total	29	1,96			

** : Altamente Significativo a 5% * : Significativo a 5%; ^{N.S}: No Significativo

C.V= 7.7% R²= 87% \bar{X} = 24,979 cm (Fuente : Elaboración propia)

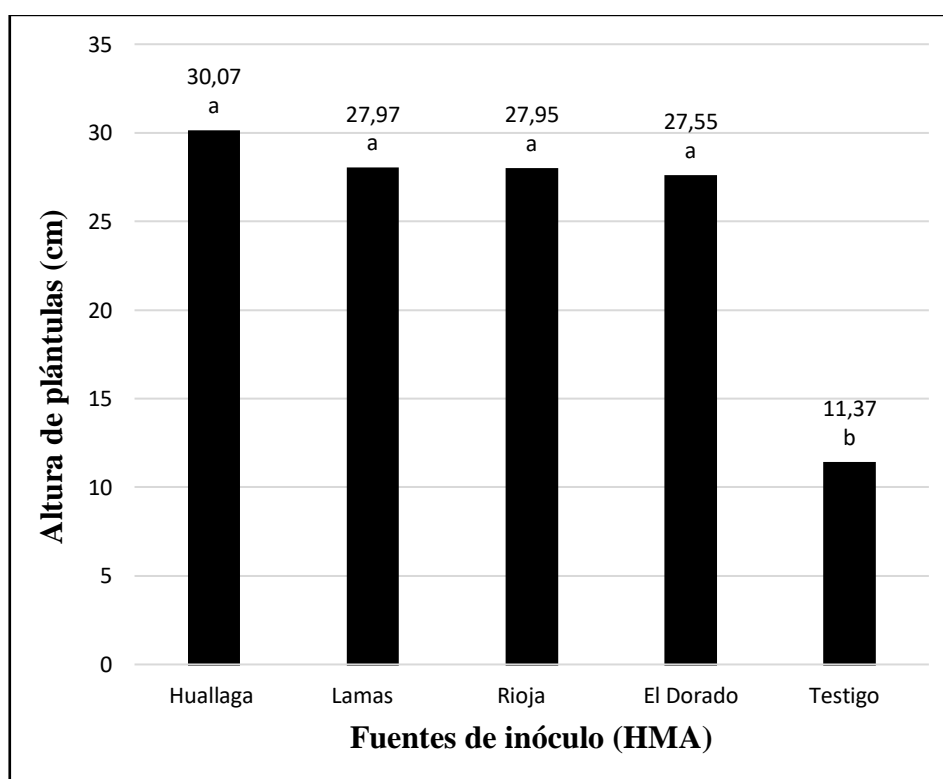


Figura 15. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto fuentes de inóculo (HMA). Medias con letras iguales difieren estadísticamente entre sí.

Para el análisis de varianza, se observó un efecto altamente significativo (**) en la fuentes de inóculo (HMA) de las cuatro provincias. En cambio, el factor inoculación de roya resultó ser estadísticamente no significativo, al igual que la interacción, fuente de inóculo (HMA) x Inoculación de roya (Tabla 3).

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 87% y el coeficiente de variabilidad (C.V) fue de 7,7 %, estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982). La figura 15, muestra el análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$), para el efecto fuentes de inóculo (HMA), demuestran que hay diferencia significativa entre las fuentes de inóculo respecto a la altura de plántulas de café. Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron promedios de altura superiores y estadísticamente diferentes en comparación del testigo (sin HMA), que presentó un valor promedio de 11,37 cm de altura. Estos resultados muestran que los HMA tienen un potencial benéfico, favoreciendo el crecimiento y desarrollo de las plántulas de café en condiciones de vivero, observándose un mayor crecimiento longitudinal.

Así mismo, numerosas investigaciones han demostrado una respuesta positiva a la inoculación, no solo en la fase inicial de su desarrollo, sino también sobre el rendimiento del café en las primeras cosechas (Siqueira *et al.*, 1993). De igual manera Sánchez (2017), reportó que diferentes consorcios de HMA mostraron efectos benéficos en la altura de plántulas clonales de café a nivel de invernadero, con fluctuaciones de 6% a 25% de incremento con relación al testigo. Similares resultados obtenidos por Hernández (2018), quienes encontraron incrementos máximos de 198% de altura en plantas micorrizadas de café con respecto al tratamiento testigo. Resultado semejante a los reportados por Del Águila (2016), sus valores establecidos muestran que todos los tratamientos que tuvieron inóculo de HMA crecieron en altura más que los testigos; con altura de 35% a 40%. Semejante a estos resultados también presenta Chinchay (2016), donde encontró significancia de los tratamientos inoculados con HMA mostraron mejores resultados con respecto a altura cultivo de cafeto; así mismo Jiménez (2003), encontró en viveros donde se inocularon varias especies de HMA, se registraron mayor crecimiento de plantas; al igual que Trejo, Ferrera, García, Valera y Alarcon, (2017), quienes encontraron que en condiciones controladas de invernadero los consorcios micorrízicos arbusculares incrementaron la altura de plantas en 91% con respecto a plantas no inoculadas.

3.1.2. Área foliar en plántulas de café

Tabla 4

ANVA para el área foliar (cm^2) de plántulas de café evaluadas a 150 días bajo condiciones de vivero (Alto Chontal – Lamas)

Fuente de variabilidad	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F.C	P - Valor Sig.
Fuentes de Inóculo (HMA)	4	296,78	74,2	198,83	0,0001**
Inoculación de Roya	1	41,98	41,98	112,51	0,0001**
F.I (HMA) X (I.R)	4	20,89	5,22	14	0,0001**
Error	20	7,46	0,37		
Total	29	367,12			

** : Altamente Significativo a 5% * : Significativo a 5%; ^{N.S.}: No Significativo

C.V= 4.77% $R^2= 98\%$ $\bar{X}= 176,1 \text{ cm}^2$ (Fuente: Elaboración propia)

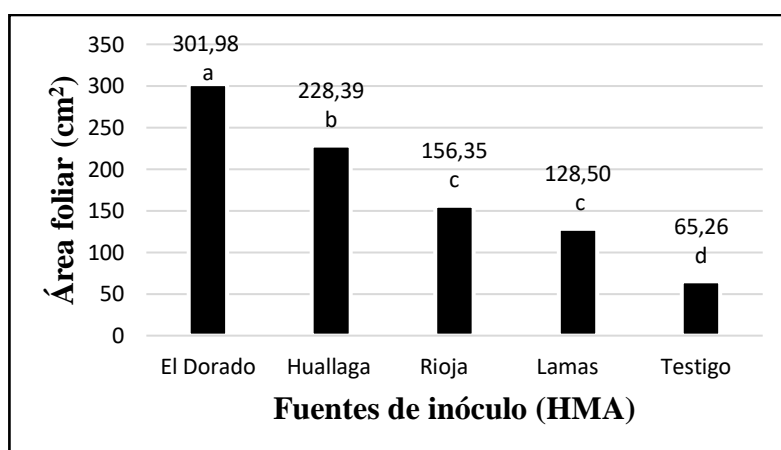


Figura 16. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto fuentes de inóculo (HMA). Medias con letras iguales difieren estadísticamente entre sí.

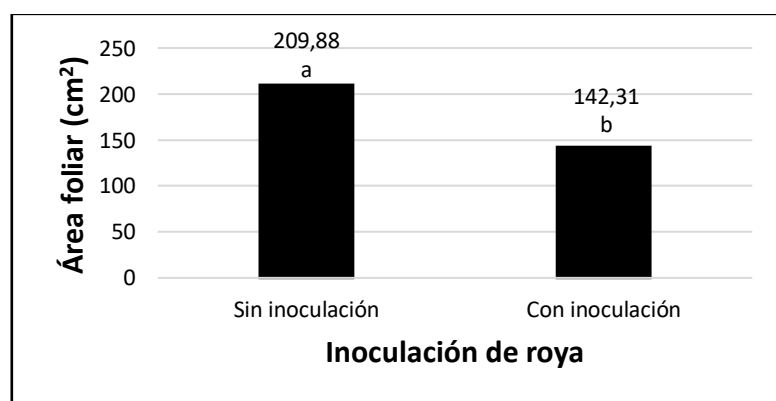


Figura 17. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto inoculación de roya. Medias con letras iguales difieren estadísticamente entre sí.

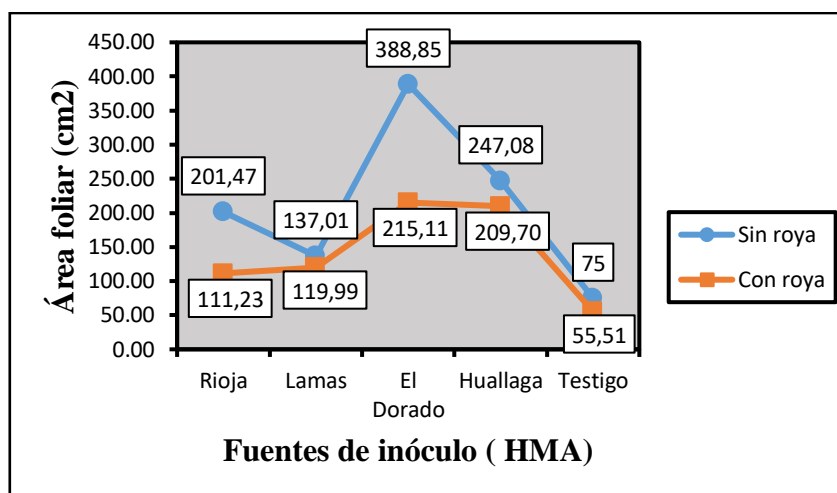


Figura 18. Interacción entre fuentes de inóculo (HMA) x Inoculación de roya, en relación al área foliar de plántulas de café.

Para el análisis de varianza, se observó efecto altamente significativo (**) en todos los factores, en la fuentes de inóculo (HMA) de las cuatro provincias, al igual que en la inoculación de roya y la interacción de ambos; fuentes de inóculo (HMA) x Inoculación de roya, lo cual nos indica que si existe diferencia significativa entre los niveles de los dos factores (Tabla 4). El coeficiente de determinación (R^2) fue de 98% y el coeficiente de variabilidad (C.V) fue de 4,77 %, estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

En el análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (Figura 16) para el efecto fuentes de inóculo (HMA), inoculación de roya y la interacion de ambos; para el área foliar (cm^2), se observó diferencias significativas. La fuente de inóculo HMA El Dorado - Buena Vista, muestra que es el mejor tratamiento en cuanto al área foliar, seguido por la fuente de inóculo de Rioja – Oriente Nuevo respectivamente. Comparados con los tratamientos testigos, quienes mostraron resultados menores respectivamente.

Estos resultados demuestran que los HMA si influenciaron sobre el área foliar en las plantas de café, al mostrarse como mayor follaje al verse reflejado en plantas con un mayor volumen foliar. Semejante reportó Del águila (2016), los resultados obtenidos, muestran que la inoculación con HMA nativos, resultó provechosa, lográndose incrementos en el área foliar que fluctuaron entre 77% más con relación a las plantas no inoculadas. Resultados similares a los encontrados por Fernández, Guadarrama, Sánchez y Ramos (2005), en sus investigaciones realizadas en café en etapa de vivero,

con incrementos entre 6% y 140% de área foliar con respecto a plantas no inoculadas con HMA, y también similares a Barrer (2009), que el uso de HMA en los tratamientos utilizados en su ensayo dieron un incremento en área foliar de 5 y 50% con respecto al testigo absoluto y de un 9 y 66% con respecto al testigo infestado con *Meloidogyne* spp. Así mismo semejante a Chinchay (2016), con respecto al efecto de los CHMA ya que obtuvo áreas mucho más elevadas comparando al testigo.

En el análisis de comparación de medias de Prueba de Tukey ($p < 0.05$) (figura 17) para el efecto inoculación de roya para el área foliar (cm^2), se observó diferencias significativas en las plantas inoculadas con roya y las no inoculadas, las plantas que no fueron inoculadas con roya muestran mejor área foliar a comparación de las que fueron inoculadas con roya esto se refuerza a lo explicado por (Augé, 2001), en la que manifiesta que la micorrización de hongo - planta, genera incrementos en la tasa fotosintéticas de las plantas, logrando plantas con buenas características morfológicas.

En la (figura 18), se muestra que existe interacción de los dos factores la curva de índice de área foliar para las cuatro fuentes de inóculo conjuntamente anexadas a un testigo, muestran que entre los tratamientos evaluados, existe un balance entre las dos curvas y su comparativo con las cuatro fuentes de inóculo de HMA.

3.1.3. Biomasa seca foliar de plántulas de café

Tabla 5

ANVA para biomasa seca foliar en plántulas de café evaluados a 150 días bajo condiciones de vivero (Alto Chontal – Lamas).

Fuente de variabilidad	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F.C	P - Valor Sig.
Fuente inóculo de HMA	4	1,03	0,26	8,69	0,0003**
Inoculación de roya	1	0,19	0,19	6,39	0,02*
(HMA) X (I.R)	4	0,16	0,04	1,33	0,2923 ^{N.S}
Error	20	0,59	0,03		
Total	29	1,96			

** : Altamente Significativo a 5% * : Significativo a 5%; ^{N.S}: No Significativo

C.V= 13,85 %

R²= 75%

X̄= 1,242 g (Fuente : Elaboración propia)

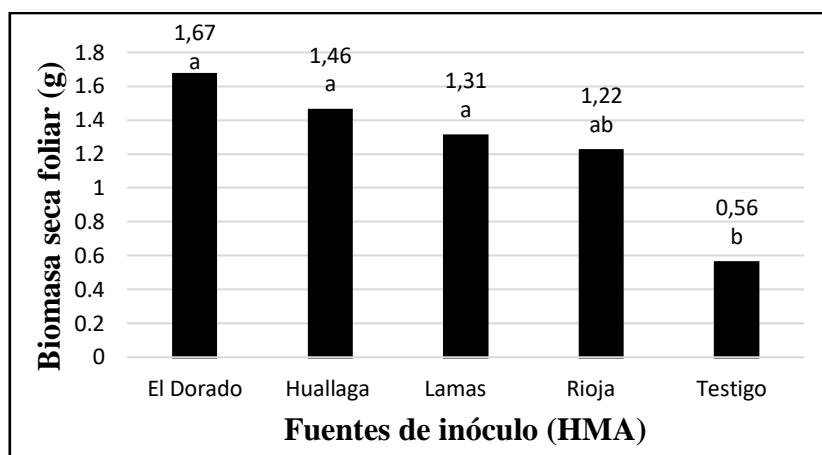


Figura 19. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de fuentes de inóculo (HMA). Medias con letras iguales no difieren estadísticamente entre sí.

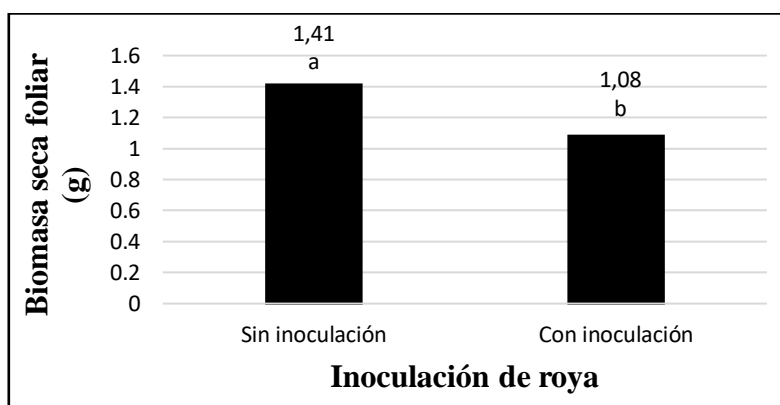


Figura 20. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de inoculación de roya. Medias con letras iguales difieren estadísticamente entre sí.

El análisis de varianza, resultó altamente significativo (**) para el factor fuente de inóculo (HMA) de las cuatro provincias, y significativo (*) en el factor inoculación de roya; muy al contrario, sucedió en la interacción de ambos; fuentes de inóculo (HMA) por inoculación de roya (HMA) X (I.R), quien no mostró diferencias significativas (N.S) (Tabla 6). El coeficiente de determinación (R^2) fue de 75% y el coeficiente de variabilidad (C.V) fue de 13,85 %, estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (figura 19) muestra que el mejor tratamiento fue la fuente de inóculo HMA Dorado – Buena Vista, con una biomasa seca foliar de 1,67 g. Seguido por la fuente de inóculo de Huallaga, con un

peso de biomasa seca de 1,46 g respectivamente. Comparados con el testigo, quien mostró resultado de 0,56 respectivamente.

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (figura 20) muestra que los tratamientos sin inoculación de roya presentaron mayor biomasa seca foliar. Comparados con los tratamientos inoculados con uredinosporas de roya, quienes mostraron menor biomasa seca foliar.

Resultados semejantes reportó (Chinchay, 2016), quien obtuvo resultados altamente significativos entre sus tratamientos con peso seco foliar que fluctúan entre 6,26 - 7,14 así mismo con cierta similitud a Del Águila, (2016) en el efecto de HMA - N, con resultados donde se observaron incrementos de la biomasa seca área de los tratamientos inoculados con HMA que fluctuaron entre 86,52% y 203,37% más que las plantas no inoculadas, siendo esto, otro de los beneficios de la simbiosis con los HMA, ya que incrementa la cantidad de biomasa seca aérea Abbott *et al.*, (1991); Si bien es cierto los incrementos de biomasa seca son altos, estos resultados no son extraños dado que autores como Smith y Read (1997), citados por Dávila, (2009), afirmaron que la presencia de HMA en las raíces del hospedante incrementan su tasa de crecimiento y producción de biomasa.

3.1.4. Incidencia de roya en plántulas de café.

Tabla 6

ANVA para el porcentaje de incidencia ocasionada por roya (%) en plántulas de café.

Fuente de variabilidad	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F.C	P - Valor Sig.
Fuentes de inóculo de HMA	4	968,9	242,22	52,82	0,001*
Inoculación de roya	1	181,15	181,15	39,5	0,001*
(HMA) X (I.R)	4	75,82	18,96	4,13	0,134 ^{N.S}
Error	20	91,72	4,59		
Total	29	1 317,59			

** : Altamente Significativo a 5% * : Significativo a 5%; ^{N.S.}: No Significativo

C.V= 6,03 % R²= 93%

\bar{X} = 34,07% (Fuente: Elaboración propia)

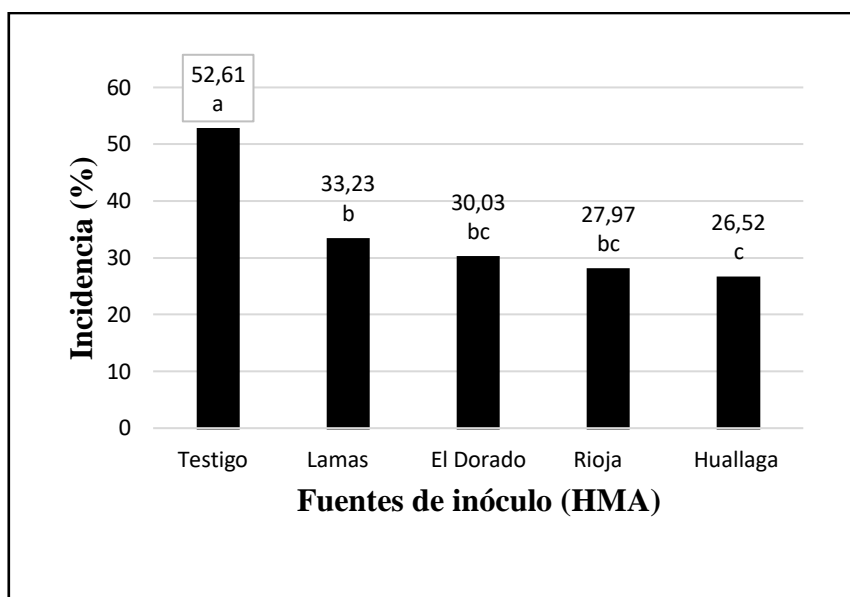


Figura 21. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de fuentes de inóculo. Medias con letras iguales no difieren estadísticamente entre sí.

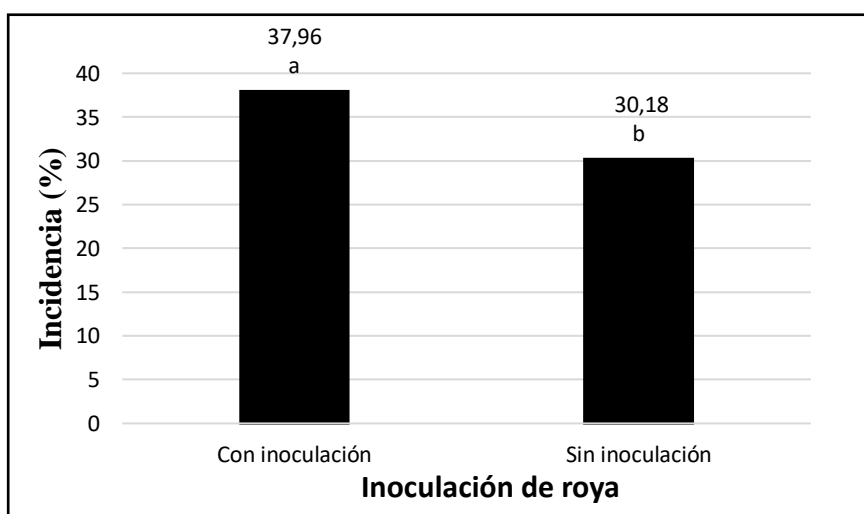


Figura 22. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de inoculación de roya. Medias con letras iguales no difieren estadísticamente entre sí.

Para el análisis de varianza, se obtuvo diferencias significativas (*) tanto en el factor fuentes de inóculo de HMA de las cuatro provincias, como en el factor inoculación de roya, además se obtuvo no significativas en la interacción de ambos factores (HMA) X (I.R)) (Tabla 9). El coeficiente de determinación (R^2) fue de 93% y el coeficiente de variabilidad (C.V) fue de 6,03%, estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (figura 21) muestra que el Testigo, tuvo mayor porcentaje de incidencia a roya, con un 52,61%; comparados con las plántulas que fueron inoculados con fuentes de HMA que presentan niveles inferiores en incidencia. Según Fernández (2012), menciona que plántulas inoculadas con consorcios de HMA, resultado del estudio, mostraron que las plantas de café de la variedad Caturra micorrizadas presentaron mayor crecimiento y desarrollo morfológico en comparación con las plantas testigo. Así mismo, presentaron tolerancia al ataque de la mancha de hierro y roya con menores porcentajes de incidencia. La infestación del testigo con roya, explica que ha existido una inoculación natural a todos los tratamientos; a pesar de ello las plántulas de café inoculadas con roya tuvieron menor incidencia que los testigos esto quiere decir que los HMA mejoran la calidad de vida de las plántulas, al absorber el agua y extenderse por las hifas, al asimilar el fósforo para la formación de aminoácidos y proteínas estructurales y funcionales.

La menor incidencia que se observa en plantas inoculadas con HMA es debido a que la infección a nivel de campo fue más tardía y por consiguiente la incidencia es baja esto más aun corrobora nuestra tesis de que los HMA dan mejor calidad de vida a la planta y mecanismo de resistencia.

3.1.6. Severidad de roya en plántulas de café

Tabla 7

ANVA para el porcentaje de severidad ocasionada por la roya (%) en plántulas de café.

Fuente de variabilidad	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F.C	P - Valor Sig.
Fuentes de inóculo (HMA)	4	4 604,48	1 151,12	1 036,63	0,001*
Inoculación de roya (HMA) X I.R	1	262,91	262,92	65,75	0,003*
Error	4	47,47	11,87	2,758	0,134 ^{N.S}
Total	20	22,21	1,11		
Total	29	4 937,07			

** : Altamente Significativo a 5% * : Significativo a 5%; ^{N.S}: No Significativo

C.V= 8,58 % R²= 99% \bar{X} = 7,05% (Fuente: Elaboración propia)

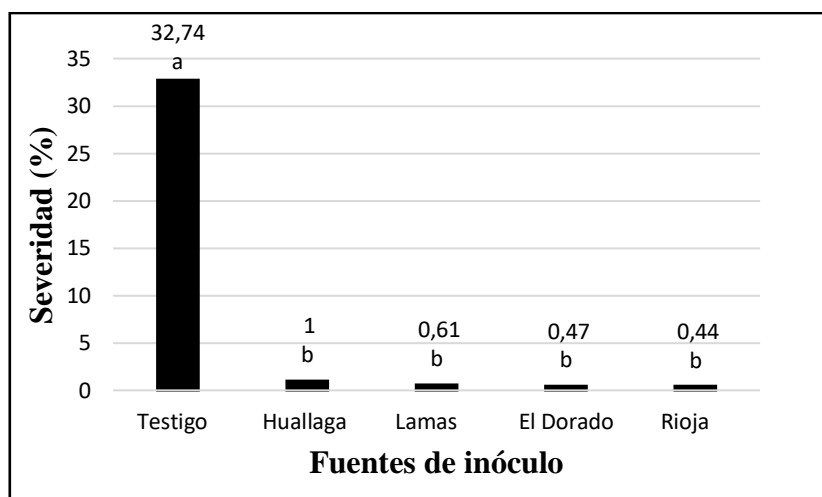


Figura 23. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de fuentes de inóculo. Medias con letras iguales no difieren estadísticamente entre sí.

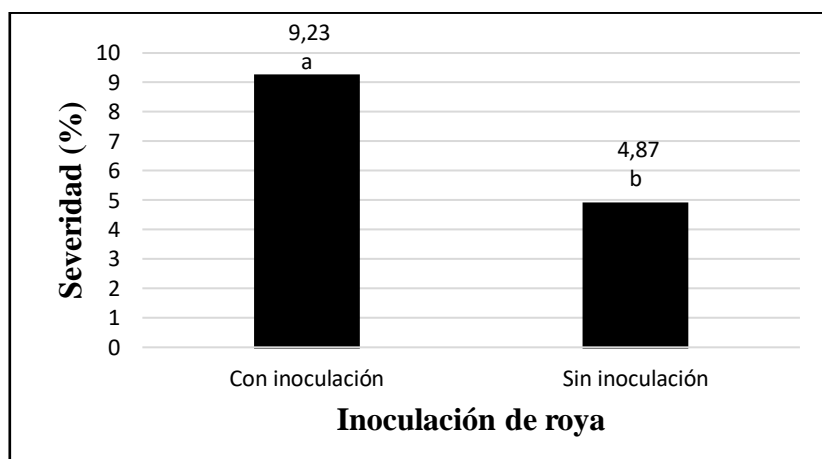


Figura 24. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de fuentes de inóculo. Medias con letras iguales no difieren estadísticamente entre sí.

Para el análisis de varianza, los resultados muestran diferencias altamente significativas (*) en el factor A (fuentes de inóculo de HMA), en el factor B (inoculación y sin inoculación con roya) y en su interacción fuentes de inóculo (HMA) X (I.R) (Tabla 7). El coeficiente de determinación (R^2) fue de 99% y el coeficiente de variabilidad (C.V) fue de 8,58%, estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (figura 25) muestra mayor porcentaje de severidad el Testigo (34,72%). Comparados con las plántulas que fueron inoculadas con las fuentes de inóculo de las cuatro provincias, quienes presentaron menor porcentaje de severidad ante el ataque. De acuerdo con Vallejos (2015),

menciona que una plántula inoculada con HMA disminuye el porcentaje de severidad de las enfermedades foliares y radiculares.

El menor porcentaje de severidad que se observa en plántulas inoculadas con HMA es debido a que la infección a nivel de campo fue tardía y por consiguiente la severidad es baja esto mas aun corrobora mi tesis de que los HMA dan mejor calidad de vida a la planta y brindan mecanismo de resistencia a enfermedades foliares.

3.2. Variables Fúngicas

3.2.1. Longitud de micelio extrarradical (MER)

Tabla 8

ANVA para longitud de micelio extrarradical (MER) en plantas de café.

Fuente de variabilidad	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F.C	P - Valor Sig.
Fuentes de inóculo (HMA)	4	181,88	45,47	462,58	0,0001**
Inoculación de roya (HMA) X (I.R)	1	0,2	0,2	2,02	0,1708 ^{N.S}
Error	4	0,59	0,15	1,49	0,2426 ^{N.S}
Error	20	1,97	0,1		
Total	29	184,64			

** : Altamente Significativo a 5% * : Significativo a 5%; ^{N.S}: No Significativo

C.V= 6,68 % R²= 99%

\bar{X} = 28,19 cm (Fuente: Elaboración propia)

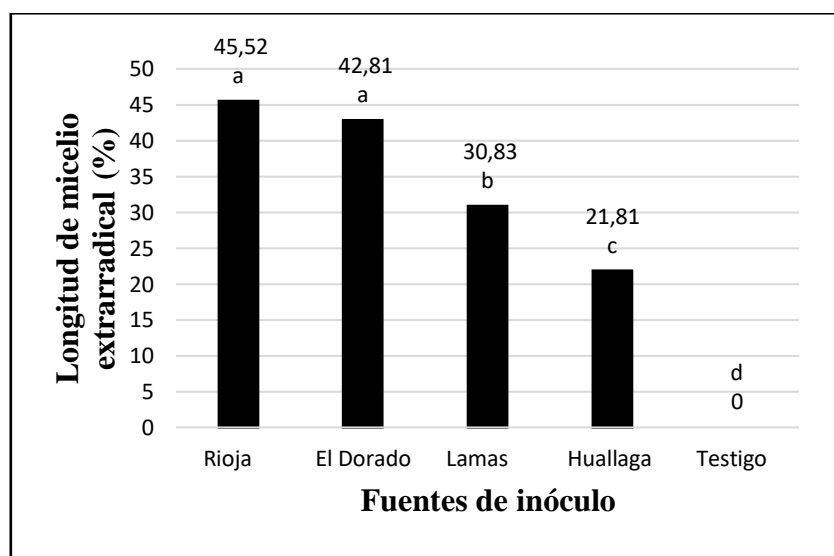


Figura 25. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de fuentes de inóculo. Medias con letras iguales difieren estadísticamente entre sí.

Para el análisis de varianza, se obtuvo un efecto significativo (**) en el factor fuente de inóculo de HMA de las cuatro provincias, en cambio en el factor inoculación de roya y la interacción de ambos, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas (N.S) (Tabla 8). El coeficiente de determinación (R^2) fue de 92% y el coeficiente de variabilidad (C.V) fue de 6,68 %, estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (figura 27) muestra que la fuente de inóculo de Rioja sobresalio en mayor longitud de micelio, seguido de la fuente de inóculo del El Dorado. Comparados con los tratamientos testigos, quienes mostraron resultados de 0 cm por no haber sido inoculados con esporas de HMA respectivamente. Estos resultados demuestran que las esporas de HMA lograron colonizar las raíces de las plantas de café, influenciando de manera bioprotectora y biofertilizante a cada planta, demostrando el gran efecto benéfico de estos microorganismos hacia el cultivo, además hubo resultados distintos entre tratamiento y tratamiento lo que podría estar influenciado por la presencia de consorcios micorrízicos propios de cada fuente de inóculo.

Resultados semejantes a Chinchay (2016) que obtuvo resultados significativos ya que el efecto de los CHMA obtuvo buenos resultados entre 38,2 cm – 168,5 cm de MER. De manera similar presenta Del Águila (2016), logrando alcanzar hasta 148,72 cm en el tratamiento T9. Así mismo se observó que la longitud de micelio extrarradicular de los HMA nativos tuvo diferencias significativas en comparación con el tratamiento testigo. Luego de haber ocurrido la colonización de la raíz, se desarrolla en el suelo una red de micelio que constituye la fase extraradical de la simbiosis, la principal responsable de la absorción de nutrientes minerales cedidos a la planta (Smith y Read, 2008).

Diferentes a lo encontrado en otros cultivos a nivel de campo por Robles (2009), quien realizando muestreos de suelo en 4 épocas (Julio, Octubre, Enero y Abril) encontró que la longitud del MER entre las especies de *Agave* fueron significativamente altas hace referencia que los miembros de la familia Glomeraceae pueden colonizar intensivamente las raíces de las plantas, sin embargo, la densidad de hifas en el suelo llegan a ser muy bajo.

3.2.2. Porcentaje de colonización micorrízico

Tabla 9

ANVA para el porcentaje de colonización micorrízica (%) en plántulas de café.

Fuente de variabilidad	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F.C	P - Valor Sig.
fuentes de inóculo (HMA)	4	6 500,92	1 625,23	310,26	0,0001**
Inoculación de roya	1	7,18	7,18	1,37	0,2553 ^{N.S}
F.I (HMA) X (I.R)	4	41,51	10,38	1,98	0,1363 ^{N.S}
Error	20	104,77	5,24		
Total	29	6 654,37			

** : Altamente Significativo a 5% * : Significativo a 5%; ^{N.S} : No Significativo

C.V= 8,13%

R²= 95%

\bar{X} = 26,78 % (Fuente: Elaboración propia)

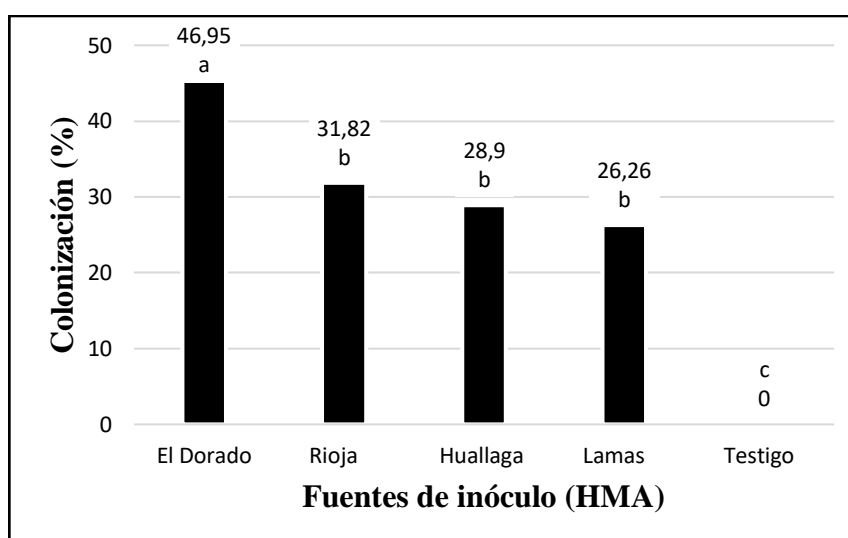


Figura 26. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el efecto principal de fuentes de inóculo (HMA). Medias con letras iguales difieren estadísticamente entre sí.

Para el análisis de varianza, se obtuvo diferencias altamente significativas (**) en el factor fuente de inóculo (HMA) de las cuatro provincias, en cambio en el factor inoculación de roya y la interacción de ambos, no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas (N.S) (Tabla 9). El coeficiente de determinación (R^2) fue de 95% y el coeficiente de variabilidad (C.V) fue de 8,13 %, estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (Figura 27) para el efecto principal provincia para la colonización (%). En este gráfico se puede observar que los

resultados de cada fuentes de inóculo presentan diferencia significativa entre sí. La fuente de inóculo de El Dorado presento mayor porcentaje de colonización, con un porcentaje de colonización de 46.95%. Seguido por la fuente de inóculo de Rioja con un porcentaje de colonización micorrízica de 31,82 %. Comparados con los tratamientos testigos, quienes mostraron resultados de 0 cm por no haber sido inoculados con esporas de HMA respectivamente.

Los resultados reflejados en esta variable tienen cierta similitud con lo encontrado por Carbajal (2009) quien también obtuvo una buena respuesta en porcentaje de colonización (43.3%) por parte de los HMA nativos en respuesta al nematodo *Meloidogyne incognita* en el cultivo de *Hypericum* bajo condiciones de vivero, siendo en un principio inoculados con HMA y después de cuatro meses infestadas con nematodos; semejante a ello Alban (2013) trabajando con plantas de café a nivel de vivero, encontraron que hubo un gran efecto por parte de los HMA en el control del nematodo *Meloidogyne exigua*, ya que el mayor porcentaje de colonización (52.6%). De manera similar presenta Del águila (2016) donde el porcentaje de colonización de las plantas inoculadas con HMA-N en los diferentes tratamientos fluctuó entre 13,83% y 30%. Escalona (2002) encontró resultados similares en café con valores de porcentaje de colonización en vivero que fluctuaron de 23,6% a 42,96% en plantas inoculadas con HMA.

Así mismo Rivera (2003) reportó resultados entre 21% y 54% de colonización de HMA también en plantas de cafeto en la etapa de vivero. Estos resultados demuestran que las esporas de HMA al igual que en los resultados de longitud de micelio extraradical (MER), lograron colonizar las raíces de las plantas de café, influenciando de manera bioprotectora y biofertilizante a cada planta, además se demuestra que las esporas de HMA no se vieron perjudicadas por la presencia de roya, aparte se obtuvo resultados distintos entre tratamiento y tratamiento lo que podría estar influenciado por la presencia de consorcios Micorrízicos propios de cada fuente de inóculo

CONCLUSIONES

Las plántulas de café inoculadas con HMA nativos presentaron mayor porcentaje de colonización y longitud de micelio, las fuentes de inóculo sobresalientes fueron de las provincias: El Dorado – Buena Vista y Rioja – Nuevo Brasil.

La inoculación con fuentes de inóculo de HMA nativos a plántulas de café ejercieron efectos de resistencia al ataque roya (*Hemileia vastatrix*) mostrando menores porcentajes de incidencia y severidad.

Las plántulas de café inoculadas con fuentes de inóculo de HMA nativos mostraron desarrollo en el aspecto morfológico (altura de planta, área foliar y biomasa seca foliar).

RECOMENDACIONES

Se recomienda el uso de HMA para la producción de plántulas de café por mostrar resistencia a las enfermedades foliares y mejoraron el desarrollo morfológico de las plántulas (altura de planta, área foliar y biomasa seca foliar).

Utilizar las fuentes de inóculo de las provincias de El Dorado y Rioja para posteriores trabajos ya que presentaron mayores porcentajes de colonización y longitud de micelio.

Realizar ensayos con las fuentes de inóculo de HMA sobresalientes en plántulas de café con diferentes variedades bajo condiciones de vivero.

Realizar estudios con plantas inoculadas con HMA establecidas en campo definitivo, para determinar el efecto de resistencia a roya.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, L., Robson, A., y Ortos, P. (1991). Factors influencing the occurrence of vesicular arbuscular mycorrhizas. *Agri, Ecosyst Environment* 36: 121-150.
- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. 5th Edition. Elsevier Inc. All rights reserved. Printed in the United States of America. 948 pp.
- Albán, R. (2013). Interactions between a Root Knot Nematode (*Meloidogyne exigua*) and Arbuscular Mycorrhizae in Coffee Plant Development (*Coffea arabica*). *American Journal of Plant Sciences*, 2013, 4, 19-23.
- Alarcón, A. y Ferrera, R. (1999). Dinámica de colonización y efecto de hongos endomicorrízicos sobre el crecimiento de *Casuarina equisetifolia* L. pp. 298-302. Montecillo, México.
- Álvarez, J. y Naranjo, E. (2003). *Ecología del suelo en la selva tropical húmeda de México* (1 a Ed.). Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México. 89 pp.
- Alvarado, M. y Rojas, G. (2007). *El cultivo y beneficio del café*. Editorial Universidad Nacional a Distancia. San José, Costa Rica, 184 pp.
- Augé, R. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*. 11:3-42.
- Anacafe. (2008). *Asociación Nacional del Café, Manual de caficultura*. Guatemala. Fisiología del cultivo de café, boletín técnico.
- Andrade, F. (2009). Importancia del cultivo de café, reducción de raíces finas y micorrización en café (*Coffea arabica* L.) cultivado bajo sistema convencional y orgánico en turrialba, costa rica.
- Asociación Americana de Cafés Especiales - SCAA. (2015). Estados Unidos. feria de la asociación americana de cafés especiales scaa.
- Avelino, J., y Galileo, R. (2013). La roya amarilla del cafeto. 47 2013. Honduras.
- Azcón, R. (2007). Mycorrhizosphere interactions for legume improvement. In: M.S. Khan, A. Zaidi, J. Musarrat (eds). *Microbes for legume improvement*. Springer-Verlag, pp: 237-271.
- Barea, k. (1991). Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. *Soil Sci*. 15:1-40.
- Barea, J., y Richardson, A. (2015). Phosphate mobilisation by soil microorganisms. In: B. Lugtenberg (ed). *Principles of Plant-Microbe Interactions*. Springer, pp: 225-234.

- Barrer, S. (2009). El uso de Hongos Micorrízicos Arbusculares como una alternativa para la agricultura. Universidad Industrial de Santander (UIS). Bucaramanga, Colombia. 10 pp.
- Box, G., y Hunter, W. (1989). Estadística para investigadores. Introducción al diseño de experimentos, análisis de los datos y construcción de modelos. Ed. Reverté S.A. 675 p. Estados Unidos.
- Brundrett, M., (1991). Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR). Monografía 32. Canberra, Australia.
- Bucher, M. (2006). Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytologist* 173: 11-26.
- Calzada, J. (1982). Métodos Estadísticos para la Investigación (Quinta ed.). Lima-Perú: Milagros S.A.
- Camprubí, A., y Estaún, V. (2000). Micorrizas arbusculares en producción agrícola. *Horticultura*. Abril. España. 96.
- Carbajal, E. (2009). Colonización Micorrízica por Hongos Vesículo Arbusculares en *Hypericum*, y Control del Nematodo Nodulador (*Meloidogyne incognita*). Escuela Politécnica del Ejército. Sangolquí, Ecuador. 148 pp.
- Castro, F., Charles, E., y Barreto, R. (2009). Conformation of the occurrence of teliospores of *Hemileia vastatrix* in Brazil with observations on their mode of germination. *Tropical Plant Pathology*, 32 (2): 108-113.
- Chinchay, O. 2016. Efecto de Hongos Micorrízicos Arbusculares nativos sobre el nematodo agallador de raíces (*Meloidogyne* spp.) en plantones de café (*Coffea arabica*) variedad caturra en la Región San Martín-Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto.
- Christiansen, J. (2004). Café orgánico diversificación. Primera edición. Editorial Ideas litográficas. Teguligalpa. Honduras. pág. 135
- Dalmazzone, C., Perrings y Williamson. (2002). Enfermedades y plagas exóticas: una perspectiva económica. *Ekonomiaz* No. 49, 1º Cuatrimestre. Pp. 78-95.
- Dávila, R. (2009). Multiplicación de hongos micorrizicos arbusculares nativos de cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) en maíz (*Zea mays*) bajo distintos tratamientos agronómicos. Valledupar. España.
- Del Águila, K. (2016). Efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares a plantones de café (*Coffea arabica*), variedad caturra a nivel de vivero en la región San Martín. Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, Perú.

- Delgado, L. (2007). Agrocadena de café sostenible. Ministerio de Agricultura y Ganadería DRCS. Puriscal. Costa Rica. Pág. 8.
- Diz, R. (2008). Métodos para evaluar normalidad y homogeneidad de varianza. Relación con el tamaño de muestra. Universidad de Granma. Bayamo. Cuba. 44p.
- Escalona, P. (2002). Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a *Manihot sculenta* sp. (Yuca) en dos regiones de la amazonía colombiana. Tesis Mag. Sc. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 125 p
- Estrella, L. (2014), Evaluación física y sensorial de cuatro variedades de café (*Coffea arabica* L.) tolerantes a roya (*Hemileia vastatrix*), en relación a dos pisos ecológicos de las provincias de Lamas y Rioja, en la Región San Martín. Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, Perú.
- Fernández, C., Guadarrama, C., Sánchez, G., Ramos, Z. (2005). Micorriza Arbuscular: Colonización intraradical y extracción de esporas del suelo. Tlaxcala. México.
- Fernández, F. (2012). Manejo de las incidencias y severidades presentes en las plantas de café , en algunos tipos de suelos, 102 pp., Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Inst. Nac. Cienc.
- Fischersworing, H. y Robkamp, R. (2001). Guía para la agricultura ecológica. Pág. 14 y 15. Editorial López – Alemania
- Font, H. (2007). Estudio de precisión en la variable producción de huevos en gallinas White Leghorn. Tesis al título de Máster en Producción Animal. 84 p.
- Franco, N. (2008). Efectos beneficiosos de las micorrizas sobre las plantas. Universidad de Sevilla. Disponible en Página Web: www.bioscripts.net.
- French, E., y Hebert, T. (1982). Métodos de investigación fitopatológica. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica.
- Fundación para el Desarrollo Socioeconómico y Restauración Ambiental (2010). Guía para la innovación de la caficultura de lo Convencional a lo orgánico. San Salvador, El Salvador. 142 pp.
- Giovannetti, M., y Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New phytologist*, 84(3), 489-500.
- Giovannetti M., Gianinazzi, V. (1994). Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. *Review Mycology Research*. 98 (7): 705-715.
- González, k. (2003). Norma Técnica del café Verde. Clasificación de calidades, determinación de materias extrañas y defectos. Managua, Nicaragua. 15 p.

- Grace, C., y Stribley, D. (1991). A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research* 95: 1160-1162
- González, D. M. Guerra, P. (2014). Evaluación de programas de fertilización de almacigales de café en el cantón de Pérez Zeledón. San José. Costa Rica. ICAFE. Boletín Técnico 53.
- Guzman, P. (2017). Producción de café a nivel San Martín, Producción nacional. Boletín técnico 54.
- Harley, J. (1971). Fungi in Ecosystems. *The Journal of Ecology*, 59(3): 653- 668.
- Hart, M., y Reader, J. (2002). Beneficio de la planta huésped de la asociación con hongos micorrízicos arbusculares: variación debido a las diferencias en el tamaño del micelio. *Biology and Fertility of Soils*, 36 (5), 357-366.
- Helgason, T., y Fitter, A. (2009). Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (*Phylum Glomeromycota*). *Journal of experimental botany*: 1-16.
- Heredia (2011). Guía técnica para el cultivo de café. Instituto del Café de Costa Rica. Centro de Investigaciones en Café (CICAFE). Primera edición. Costa Rica. Pág. 72.
- Hernández, D. (2010). Micorrización temprana de portainjertos de frutales como alternativa biotecnológica para el control de nemátodos. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. 187 pp. 100.
- Hernández, E. (2018). Hongos Micorrízicos Arbusculares en el Crecimiento de Café (*Coffea arabica* L.) variedades Garnica, Catimor, Caturra y Catuaí. *Agroproductividad: Vol. 11, Núm. 4. pp: 61-67.*
- Herrera, P., y Ferrer, P. (2006). Micorrizas Arbusculares de la Amazonía Colombiana. Catálogo ilustrado. Instituto Amazónico de Investigaciones científicas SINCHI.
- Integrated Taxonomic Information System [ITIS] (2017). Recuperado de <https://www.itis.gov/>.
- Jeffries, J., Gianinazzi, S., Perotto, K., Turnau y Barea, J. (2003). The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in the sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biol. Fertil. Soil.* 37:1-16.
- Jiménez, J. (2003). Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades. M.I.P.E de Cucurbitáceas”. Pág. 30 – 40; 1º Edición; Costa Rica.
- Koch, P. (1997). Consumo de fotosíntesis en plantas cultivadas en la amazonia peruana, tesis de maestría.

- Kushalappa, A., y Chavez, G. (1980). An analysis of the developpement of coffee rust in tne field. *Fitopatologia Brasileira* 5: p 95 - 103.
- León, V. (2006). Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (*Manihot esculenta* sp) en dos regiones de la Amazonía Colombiana. Bogotá – Colombia.
- Manco, D. (2006). El uso de Hongos Micorrízicos Arbusculares como una alternativa para la agricultura. Universidad Industrial de Santander (UIS). Bucaramanga, Colombia. 10 pp.
- Marin, C. (2012). Control de Calidad del Café. Manual técnico. Lima, Perú. Equipo técnico del proyecto Fondoempleo. Programa Selva Central – Desco. 48.
- Medina, V. (2016). Biogeografía de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.) en la región San Martín, Perú” en la Región San Martín- Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto.
- Minagri, (2006). Ministerio de Agricultura y Riego - Dirección de Estudios Económicos e Información Agraria (Minagri-DGPA-DEEIA). 2016. Estudio del café en el Perú y en el Mundo. Un análisis de la producción y el comercio.
- Miranda, B. (2013). A comparación of Two Methods Used for Measuring Antagonistic symbiosis to increase phosphorus uptake.
- Miyasaka, S., y Habte, M. (2003). Plant mecanisms and mycorrhizal symbiosis to increase phosphorus uptake efficiency. Journal Series Nro. 4468, College of tropical Agriculture and Human resources, Hawaii, Honolulu; pp. 1101 – 1133.
- Molina, M., Mahecha, L., y Medina, M. (2005). Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 18: 162-175.
- Montilla, E. (2010). Caracterización de la micorrización “nativa” en plantaciones de cafeto en diferentes condiciones edafoclimáticas.
- Marlo, H. (2017). Efecto biofertilizante de hongos micorrízicos arbusculares nativos en plantas clonales de café (*Coffea arabica* var. caturra), bajo condiciones de vivero en la Región San Martin”
- Morfin, V. A.; Castillo, P. y Vizcaíno G. (2006). El cultivo de café (*Coffea arábica* L.) en colima. Instituto de investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Folleto Técnico Núm. 1. Campo Experimental Ticomán. 85 pp.
- Nussenbaum, k. (2014). Metodologías de virulencia de esporas. Instituto de Investigaciones, Colombia – Estados generales.

- Oliveira, L. (2005). Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in plantas of *Theobroma grandiflorum* schum and *Pullinia cupana* Mart. of an agroforestry system in Central Amazonia, Amazonas State, Brazil. *Brazilian J. Microb.* 36: 262-270.
- Ordoñez, C. (2009). Interacción sinérgica entre hongos formadores de micorrizas arbusculares - *Pseudomonas fluorescens* y su relación en la nutrición vegetal de fósforo. Tesis de Maestría en Microbiología. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias. Bogotá.
- Ordoñez, C. (2016). Condiciones favorables del uso de fosforo en el suelo con la utilización de HMA. Tesis de Maestría en suelos. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias. Bogotá.
- Padron, E. (1996). Diseños experimentales con aplicación a la agricultura y la ganadería. 1 a Ed. Trillas. México. 215 p.
- Parniske, M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses. *Nature Review Microbiology.* 6: 763-775.
- Pérez, A., Cury, K., y Oviedo, L. (2016). Colonización de micorrizas arbusculares en tres especies de pasturas del departamento de Sucre. *Revista Temas Agrarios.*
- Pérez, C. A.; Montes, V. D. y Rojas, S. J. (2011). Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el Caribe Colombiano. *Rev. Colombiana cienc. Anim.* 3(2).
- Ramírez, F. (2008). Fertilización como medio de aumentar la productividad y calidad en café. Curso Internacional de nutrición y fertilización del cultivo de café – Relacionado a la colonización de los HMA -. MISTI. Perú.
- Razavi, D y Lakzian, A. (2007). Evaluation of chemical and biological consequences of soil sterilization methods. *Caspian Journal of Environmental Science,* 5(2), 87-91.
- Reyes, M. (2011). Identificación de especies. Crecimiento vegetal de plantas de maíz, chile y frijol, Mexico.
- Reyes, M. (2015). Evaluación de consorcios micorrízicos arbusculares en el crecimiento vegetal de plantas de maíz, chile y frijol, Mexico.
- Rodríguez, O. (2006). Evaluación de programas de fertilización de almacigales de café en el cantón de Pérez Zelendón. San José. Costa Rica. ICAFE. Boletín Técnico 53, 1.
- Rivera, R. (2003). El manejo eficiente de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe. INCA.
- Rivillas C. A. (1996). Las Micorrizas Arbusculares en el cultivo del Café. CENICAFE. Colombia. pp. 64-74.

- Robles, C. (2009). “Variación temporal de la diversidad de hongos de micorriza arbuscular y el potencial micorrízico en especies silvestres de Agave en Oaxaca”. Instituto Politecnico Nacional (IPN). Oaxaca, México. 80 pp.
- Rojas, L. (2010). Respuesta del cultivo de pimentón (*Capsicum annuum*) a la inoculación con *Glomus manihotis* y *Acaulospora lacunosa*. Maracaibo – Zulia.
- Rozo, P., y Cristancho, A. (2010). Evaluación de la susceptibilidad de *Hemileia vastatrix* berk. & Br., a fungicidas del grupo de los triazoles. *Cenicafé*, 61(4):297-314. 2010.
- Ruiz, P., Rojas, K., y Sieverding, E. (2011). La distribución geográfica de los hongos micorrízicos arbusculares. Pucallpa – Perú.
- Sánchez, T. 2017. 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. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.
- Sánchez, M. (2009). Las Endomicorrizas: Expresión bioedáfica de importancia en el trópico. Palmira. Universidad Nacional de Colombia. Facultad Ciencias Agropecuarias. 352 p.
- Senasa, (2015), Servicio Nacional de Sanidad Agraria, Cartillas de evaluaciones de café, evaluaciones incidencia de roya. Ed. 2012. Region San Martín.
- Sevilla, H. (2004). Recursos genéticos vegetales. Primera edición. Edit. Torre Azul SAC. Lima, Perú. 445 p.
- Sieverding, E. (1991). Vesicular Arbuscular Mycorrhizal in Tropical Agrosystems. Federal Republic of Germany: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ). 371 p.
- Siqueira, J. (2005). Influencia do substrato de formacao e da micorriza no crescimento de mudas de cafeeiro transplantadas. *Pesquisas Agropecuarias do Brazil*. 1517-1532.
- Siqueira, J., y Oliveira, E. (2005). Influencia do substrato de formacao e da micorriza no crescimento de mudas de cafeeiro transplantadas. *Pesquisas Agropecuarias do Brasil*. 1417-1425.
- Smith, S., y Read, J. (1997). Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, San Diego, CA. Mutualism and Parasitism: biodiversity in function and structure in the arbuscular (VA) mycorrhizal symbiosis. *ADV. Bot* 22: 1-43.
- Smith, S., y Read, D. (2008). Mycorrhizal Symbiosis, Elsevier Edition. Third Edition. 10-90. Academic Press, San Diego, CA. Mutualism and Parasitism: biodiversity in function and structure in the arbuscular (VA) mycorrhizal symbiosis. *ADV. Bot* 27: 10-43.

- Silva, M. (2006). Coffee resistance to the main diseases: leaf rust and coffee Berry disease. *Braz. Journal Plant. Physiol.* 18(1): 119-147.
- Sylvia, D., y Williams, S. (1992). Vesicular arbuscular mycorrhizae and environmental stress. Pp.101.124. In: Bethlenfalvay GJ and RG Linderman (Eds.). *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. ASA-Special Publication No. 54.
- Tena, P. (2002). *Mycorrhizal Symbiosis*, Elsevier Edition. Third Edition. 10-90. Academic Press, San Diego, CA. Mutualismo and Parasitism: (VA) mycorrhizal symbiosis. *ADV. Bot* 30: 11-54.
- Tennant, D. (1975). A test of a modified line intersect method of estimating root length. *Journal of Ecology* to: 995-1001.
- Trejo, D., Ferrera, R., García, R., Varela L., y Alarcón, A. (2007). Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 84: 23-31 p.
- Vallejos, P. (2015). Tolerancia a *Hemileia vastatrix* en plantas clonadas de café arábico (*Coffea arábica*) variedad "caturra roja", colectadas de dos pisos altitudinales; en la Region San Martín.
- Vergara, S. (2012). Reporte de Inteligencia de Mercados "Café peruano: Aroma y Sabor para Nosotros y el Mundo". Perú. 92 pp.
- Vierheilig, H., Coughlan, A., Wyss, U., y Piché, Y. (1998). La tinta y el vinagre, una técnica de tinción simple para los hongos micorrízicos arbusculares-. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (12), desde 5004 hasta 5007.
- Wilson, J. (2001). Development of compost-based media for containerized perennials. *Scientia Horticulturae* 93(3-4): 311-320.
- Zapata, R. (2012). La producción sostenible del café. Resumen de la Segunda exposición de café Peruano. Lima - Perú. Disponible en internet:
http://www.expocafeperu.com/archivos/2012/Alternativas_de_produccion_Sostenible_de_Cafe_Reiles_Zapata_Comercio_y_Cia

ANEXOS

ANEXO 1: Coordenadas del muestreo de las fuentes de inóculo de HMA de las cuatro provincias / localidad según (Medina, 2016).

Provincias	Localidades	Rango de altitud (m.s.n.m.m.)	Coordenadas del muestreo		Altitud (m.s.n.m.m.)
			Este	Norte	
Rioja	Nuevo Oriente	1000 - 1200	268030	9336779	1123
			268006	9336777	1123
			268008	9336770	1126
Lamas	Chirapa	1000 - 1200	338719	9290377	1195
			338740	9290350	1194
			338731	9290406	1195
El Dorado	Buena Vista	800 - 1000	305838	9287451	837
			305841	9287459	836
			305836	9287463	838
Huallaga	Nuevo Brasil	800 - 1000	304142	9289238	880
			304137	9289249	871
			304147	9289250	890

Fuente: Elaboración propia

ANEXO 2: Género y especies de hongos micorrízicos identificados por (Medina, 2016), colecta de suelo de las cuatro Provincias / localidades de la región San Martín Rioja - Nuevo Oriente, Lamas - Chirapa, El Dorado - Buena Vista y Huallaga - Nuevo Brasil.

Época/ Localidad	Orden	Familia	Género	Especie
Rioja - Nuevo Oriente	Diversisporales	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>	<i>sp.</i> , <i>sp.1</i> , <i>sp. 2</i> , <i>sp. 3</i> , <i>sp.4</i> .
	Glomerales	Glomeraceae	<i>Funneliformis</i> <i>Glomus</i>	<i>geosporum</i> , <i>macrocarpum</i> , <i>microcarpum</i> , <i>spinuliferum</i>
Lamas – Chirapa	Diversisporales	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>	<i>sp.</i> , <i>sp.1</i> , <i>sp. 2</i> , <i>sp. 3</i> .
	Glomerales	Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i>	<i>claroideum</i> <i>etunicatum sp.</i>
		Glomeraceae	<i>Funneliformis</i> <i>Glomus</i>	<i>geosporum</i> , <i>macrocarpum</i> <i>geosporum</i> <i>microcarpum</i>
El Dorado - Buena Vista	Diversisporales	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>	<i>sp.</i> , <i>sp.1</i> , <i>sp. 2</i> , <i>sp. 3</i> , <i>sp.4</i> , <i>sp.5</i> .
	Glomerales	Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i>	<i>glaroideum</i> , <i>etunicatum</i>
		Glomeraceae	<i>Funneliformis</i> <i>Glomus</i>	<i>constrictum</i> , <i>geosporum</i> <i>macrocarpum</i> , <i>microcarpum</i> , <i>piuliferum</i>
Huallaga - Nuevo Brasil	Diversisporales	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>	<i>sp</i> , <i>sp1</i> .
	Glomerales	Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i>	<i>claroideum</i> <i>geosporum</i>
		Glomeraceae	<i>Funneliformis</i> <i>Glomus</i>	<i>geosporum</i> <i>macrocarpum</i> , <i>microcarpum</i>
			<i>Rhizophagus</i>	<i>fasciculatus</i>

Fuente: Elaboración propia

ANEXO 3 : Base de datos (fuentes de inóculo utilizados en la inoculación de HMA nativos a plántulas de café).

Localidad	Provincias	Nº Esporas	Gramos a usar(1500 Esporas)
Oriente Nuevo	Rioja	313	47.9
Chirapa	Lamas	653	23
Buena Vista	El Dorado	215	69.8
Nuevo Brasil	Huallaga	483	31.1

Fuente: Proyecto: Biorestauración de suelos con Hongos Micorrízicos Arbusculares nativos en fincas con café arabicos (*Coffea arabica*.L) en la Amazonía Peruana". 2017, PNIA.

ANEXO 4: Análisis físico químico del sustrato.

ANÁLISIS DE SUELO: CARACTERIZACIÓN										
Muestra de Vivero	pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis mecánico			Clase Textural
							Arena	Limo	Arcilla	
							%	%	%	
M-01	5,73	0,61	0,00	1,88	8,2	53	86	6	8	A.Fr

Fuente: Proyecto: Biofertilización y Bioprotección de plantas clonales de café (*Coffea arabica* L.) Con micorrizas arbusculares en la región San Martín - CONTRATO N° 23-2015- INIA-PNIA/UPMSI/IE.