

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**



**TESIS**

**“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”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

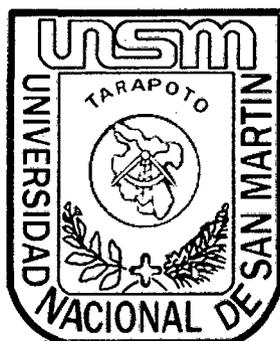
**PRESENTADO POR EL BACHILLER:**

**DECNY OMAR CHINCHAY RUBIO**

**TARAPOTO - PERÚ**

**2016**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**



**TESIS:**

**“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”**

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

**PRESENTADO POR EL BACHILLER:  
DECNY OMAR CHINCHAY RUBIO**

**TARAPOTO – PERÚ  
2016**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL  
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**

**ÁREA DE PROTECCIÓN Y MEJORAMIENTO DE CULTIVOS**

**TESIS:**

**“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”**

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

**PRESENTADO POR EL BACHILLER:  
DECNY OMAR CHINCHAY RUBIO**

**COMITÉ DE JURADO DE TESIS**



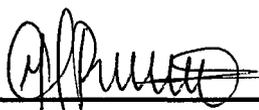
Dr. Winston Franz Ríos Ruiz

**Presidente**



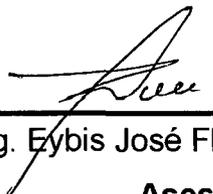
Ing. Segundo Darío Maldonado Vásquez

**Secretario**



Ing. María Emilia Ruíz Sánchez

**Miembro**



Ing. Eybis José Flores García

**Asesor**

## **DEDICATORIA**

A **Dios** por permitirme vivir esta agradable experiencia y poder compartirla con mis seres queridos.

### **A mis padres:**

RAFAEL CHINCHAY Y ALBERTINA RUBIO  
con mucho amor y cariño por el esfuerzo y sacrificio que hacen para poder culminar satisfactoriamente mis estudios superiores.

### **A mis hermanos:**

Santos Edin, Doraliza, Elmer, Genaro,  
José Dante, Seleni y Jaime, por su  
invalorable y desinteresado apoyo.

## **AGRADECIMIENTOS**

Ing. Eybis José Flores García (UNSM), asesor del presente trabajo, por su apoyo en la elaboración del presente informe.

Al Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana (IIAP), Universidad Nacional de San Martín y a las personas que colaboraron y apoyaron en la realización del presente trabajo de investigación.

Al fondo Nacional de Ciencia y Tecnología – FONDECYT por financiar el presente trabajo de investigación en el marco del proyecto “Biorestauración de suelos con Hongos Micorrízicos nativos en fincas con café arábicos (*Coffea arabica*. L) en la Amazonía Peruana.

M.Sc. Mike A. Corazón Guivin (IIAP) por el apoyo como co-asesor, para que este trabajo de investigación salga de lo mejor y sea un punto de partida para muchas otras investigaciones.

Al Ing. Luis Alberto Arévalo López investigador principal del proyecto y al Ing. Geomar Vallejos Torres, por darme la oportunidad y confiar en mis capacidades para realizar mi tesis de pregrado.

A mis amigos(as) del IIAP Laura Coral y Karen Del Aguila, gracias por su apoyo y comprensión a lo largo de todo este proceso.

## ÍNDICE

	Pág.
I. <b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
II. <b>OBJETIVOS</b> .....	3
III. <b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	4
<b>3.1. Antecedentes del Cultivo de Cafeto</b> .....	4
3.1.1. Origen y distribución geográfica del cafeto.....	4
3.1.2. Descripción del cultivo.....	4
3.1.3. Clasificación Taxonómica.....	5
3.1.4. Morfología.....	5
3.1.5. Características de la especie arábica en el Perú.....	7
3.1.6. Conducción del semillero y vivero para plántones de cafeto.....	8
3.1.7. Factores edafoclimáticos del cultivo.....	9
3.1.8. Principales plagas y enfermedades del cultivo de cafeto.....	10
<b>3.2. Las Micorrizas</b> .....	11
3.2.1. Generalidades.....	11
3.2.2. Tipos de asociaciones micorrízicas.....	12
3.2.3. Los Hongos Micorrízicos arbusculares (HMA).....	14
3.2.3.1. Clasificación taxonómica de los HMA.....	15
3.2.3.2. Importancia de los HMA.....	16
3.2.3.3. Características agroecológicas de los HMA.....	17
3.2.3.4. Ciclo simbiótico de los HMA.....	20
3.2.4. La simbiosis planta – hongo.....	21
3.2.5. Influencia de las micorrizas arbusculares en la absorción del fósforo.....	22
3.2.6. Ventajas para los productores del uso de micorrizas en plantas de cafeto.....	24
<b>3.3. Nematodo Agallador de Raíces (<i>Meloidogyne</i> spp.)</b> .....	26
3.3.1. Generalidades.....	26
3.3.2. Clasificación taxonómica.....	26
3.3.3. Importancia del género.....	27

3.3.4.	Sintomatología.....	27
3.3.5.	Ciclo de vida.....	27
3.3.6.	Tipos de nematodos.....	29
3.3.7.	Hospederos del nematodo.....	32
3.3.8.	Control del nematodo.....	32
<b>3.4.</b>	<b>Efecto antagonista entre Hongos Micorrizas Arbusculares y <i>Meloidogyne</i> spp., en el cultivo de café.....</b>	<b>33</b>
<b>IV.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1.</b>	<b>Metodología.....</b>	<b>36</b>
4.1.1.	Ubicación del área de estudio.....	36
4.1.2.	Diseño experimental.....	37
4.1.3.	Flujograma de Actividades.....	38
4.1.3.1.	Fase de campo.....	38
	• Zonas de colecta de las fuentes de inóculo de HMA nativos.....	38
	• Colecta de muestras biológicas (Fuente de inóculo) de HMA nativos...	39
	• Colecta de granos de cafeto.....	39
	• Análisis físico y químico del suelo rizosférico.....	40
	• Análisis físico y químico del suelo de vivero.....	41
4.1.3.2.	Fase de vivero.....	41
	• Multiplicación de HMA nativos.....	41
	• Cama almaciguera de plantas de café.....	42
	• Repique e inoculación con HMA a los plántones de cafeto.....	43
	• Colecta, preparación y aplicación de la fuente de inóculo ( <i>Meloidogyne</i> spp.) en plántones de cafeto.....	44
4.1.3.3.	Fase de laboratorio.....	47
	• Identificación y cuantificación de esporas de HMA nativos.....	47
	• Tinción de raíces de plantas de café.....	48
	• Técnica sistemática de portaobjeto.....	50
	• Tinción de micelio extraradical de HMA nativos.....	50

4.1.4. Variables Estudiadas.....	52
4.1.4.1. Variables Biológicas.....	52
A. Porcentaje de colonización Micorrízica.....	52
B. Longitud de Micelio Extraradical (MER).....	53
C. Porcentaje de infección por <i>Meloidogyne</i> spp.....	54
4.1.4.2. Variables morfológicas.....	55
A. Altura de planta.....	55
B. Área foliar.....	56
C. Peso seco de la biomasa aérea.....	57
D. Peso seco del sistema radicular.....	57
4.1.5. Análisis estadístico.....	58
<b>V. RESULTADOS.....</b>	<b>59</b>
<b>VI. DISCUSIONES.....</b>	<b>67</b>
<b>VII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>77</b>
<b>VIII. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>78</b>
<b>IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>79</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1:</b> Esquema de tipos de micorrizas. Se representa en azul el desarrollo del micelio en cada tipo de micorriza. Leyenda: M= manto fúngico, H= red de Harting, A= arbusculos, V= vesículas, E= espora externa, H.S= hifas septadas, H.NS= hifas no septadas (Rodríguez, 2006).....	12
<b>Figura 2:</b> Diagrama del ciclo de vida de los HMA durante el establecimiento de la simbiosis funcional (Giovannetti, 2000, citado por Lucero <i>et al.</i> , 2012)...	21
<b>Figura 3:</b> Ciclo de la enfermedad del nudo de la raíz causada por nematodos del género <i>Meloidogyne</i> (Agrios, 2005).....	29
<b>Figura 4:</b> Área de Vivero (A) y área de laboratorio de micorrizas (B), IIAP – San Martín.....	36
<b>Figura 5:</b> Mapa del departamento de san Martín, ubicación de las tres provincias de colecta(A); localidades de las que se recolecto las muestras con los consorcios micorrízicos nativos por cada provincia (B).....	38
<b>Figura 6:</b> Plantaciones de café (A), selección de plantas etiquetadas (B) y colecta de las muestras biológicas (C).....	39
<b>Figura 7:</b> Recolección de muestras de semillas de cafeto, variedad caturra...	40
<b>Figura 8:</b> Camas multiplicadoras de los HMA en planta trampa ( <i>Zea mays</i> )...	42
<b>Figura 9:</b> Cama germinadora de las semillas de cafeto.....	43
<b>Figura 10:</b> Repique e inoculación de los plantones de cafeto con HMA nativos.....	43
<b>Figura 11:</b> Colecta de muestras de raíces infectadas con nematodos <i>Meloidogyne spp</i> .....	45
<b>Figura 12:</b> Proceso de preparación del inóculo <i>Meloidogyne spp</i> .....	46
<b>Figura 13:</b> Aplicación de fuente de Inóculo a base de <i>Meloidogyne spp.</i> , a cada plantón.....	47

<b>Figura 14:</b> Observación de esporas de HMA en suelo rizosférico proveniente de fincas de café .....	48
<b>Figura 15:</b> Proceso de tinción de raíces de cafeto.....	49
<b>Figura 16:</b> segmentos de raíces teñidas (30 raíces).....	50
<b>Figura 17:</b> Proceso de tinción de micelio extraradical.....	51
<b>Figura 18:</b> Escala gradual de intensidad de colonización, según Trouvelot <i>et al.</i> , (1986, citado en Gañán <i>et al.</i> , 2011).....	52
<b>Figura 19:</b> Observación de los segmentos de micelios a 5X en un microscopio estereoscópico.....	53
<b>Figura 20:</b> Procedimiento para determinar el porcentaje de infección en raíces de cafeto ocasionado por <i>Meloidogyne</i> spp.....	55
<b>Figura 21:</b> Medición de las alturas de plantas de cafeto.....	56
<b>Figura 22:</b> Fotografías para determinar el área foliar de cada plantón de cafeto.....	56
<b>Figura 23:</b> Peso seco de la biomasa aérea.....	57
<b>Figura 24:</b> Peso seco del sistema radicular.....	57

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
<b>Cuadro 1:</b> Clasificación actual de los Glomeromycota (Oehl et al., 2011, citado por Martín, 2013).....	15
<b>Cuadro 2:</b> Análisis físico-químico de suelos de los 9 tratamientos evaluados en las tres provincias (Lamas, Moyobamba, el Dorado) de la región San Martín. UNALM, 2014.....	40
<b>Cuadro 3:</b> Análisis físico-químico del sustrato utilizado en vivero. UNALM, 2014.....	41
<b>Cuadro 4:</b> Escala cuantitativa y de resistencia de infección radical causado por <i>Meloidogyne</i> sp.....	54
<b>Cuadro 5:</b> Análisis de varianza para el porcentaje de colonización micorrízica, en plántones de café bajo la aplicación de <i>Meloidogyne</i> spp. Datos transformados "ASeno (x/100)" .....	59
<b>Cuadro 6:</b> Análisis de varianza para la Longitud de Micelio Extraradical (MER) en suelo de plántones de café bajo la aplicación de <i>Meloidogyne</i> spp.....	60
<b>Cuadro 7:</b> Análisis de varianza para porcentaje de infección por <i>Meloidogyne</i> spp en raíces de plántones de café inoculados con HMA nativos. Datos transformados "ASeno (x/100)" .....	61
<b>Cuadro 8:</b> Análisis de varianza para altura en respuesta a la inoculación con HMA nativos e infestación con <i>Meloidogyne</i> spp.....	62
<b>Cuadro 9:</b> Análisis de varianza para el área foliar de plántones de café inoculadas con HMA nativos e infestados con <i>Meloidogyne</i> spp.....	63
<b>Cuadro 10:</b> Análisis de varianza para peso seco de la biomasa aérea de plántones de café inoculadas con HMA nativos e infestados con <i>Meloidogyne</i> spp.....	64
<b>Cuadro 11:</b> Análisis de varianza para el peso seco del sistema radicular de plántones de café inoculadas con HMA nativos e infestados con <i>Meloidogyne</i> spp.....	65
<b>Cuadro 12:</b> Efecto de los tratamientos sobre las diferentes variables biológicas y morfológicas estudiadas.....	66

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
<b>Gráfico 1:</b> Prueba de <i>tukey</i> ( $p<0.05$ ) para el porcentaje de colonización micorrízica bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de <i>Meloidogyne</i> spp. Fueron evaluados a los 90 días de haberse realizado la infestación.....	59
<b>Gráfico 2:</b> Prueba de <i>tukey</i> ( $p<0.05$ ) para la Longitud de Micelio Extraradical (MER) bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de <i>Meloidogyne</i> spp. Fueron evaluados a los 90 días de haberse realizado la infestación.....	60
<b>Gráfico 3:</b> Prueba de <i>tukey</i> ( $p<0.05$ ) para el Porcentaje de Infección del sistema radicular bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de <i>Meloidogyne</i> spp. Fueron evaluados a los 90 días de haberse realizado la infestación.....	61
<b>Gráfico 4:</b> Prueba de <i>tukey</i> ( $p<0.05$ ) para la Altura de Planta bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de <i>Meloidogyne</i> spp. Fueron evaluados a los 15 días de haberse realizado la infestación.....	62
<b>Gráfico 5:</b> Prueba de <i>tukey</i> ( $p<0.05$ ) para el Área Foliar bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de <i>Meloidogyne</i> spp. Fueron evaluados a los 90 días de haberse realizado la infestación.....	63
<b>Gráfico 6:</b> Prueba de <i>tukey</i> ( $p<0.05$ ) para el Peso seco de la biomasa aérea bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de <i>Meloidogyne</i> spp. Fueron evaluados a los 90 días de haberse realizado la infestación.....	64
<b>Gráfico 7:</b> Prueba de <i>tukey</i> ( $p<0.05$ ) para el Peso seco del sistema radicular bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de <i>Meloidogyne</i> spp. Fueron evaluados a los 90 días de haberse realizado la infestación.....	65

## I. INTRODUCCIÓN

El Perú participa en el mercado mundial del café con el 3% de la producción, siendo su cultivo de suma importancia en la economía nacional (AGROBANCO, 2007), debido a que es el principal productor de agro exportación, generador de divisas y fuente de empleo, de aproximadamente 43 millones de jornales anuales (Vergara, 2012). El café, es una de las bebidas de consumo más antigua y difundida en el mundo debido a su agradable sabor y el contenido de cafeína que ha sido un factor decisivo en la generalización de su consumo a escala mundial (Vergara, 2012).

El cultivo del café es la base de la economía rural y cultivo bandera del departamento de San Martín, el mismo que genera ingresos para más de 27 mil familias en la región, que siembran un promedio de 95 mil hectáreas, de las cuales 67 mil se encuentran en producción, y que en el año 2010 originó un ingreso a nivel nacional de 100 millones de nuevos soles. Sin embargo los últimos años, ha disminuido esta producción, como resultado de la presencia de plagas y enfermedades; siendo la Roya Amarilla (*Hemileia vastatrix*) primordialmente, y el nematodo agallador de raíces (*Meloidogyne* spp); existiendo una fuerte correlación entre el nematodo y la roya amarilla en provincias cafetaleras de la región San Martín (Lamas, Rioja, Moyobamba, El Dorado, Huallaga), lo cual sugeriría que la infección por parte del nematodo debilitó a las plantas de café volviéndolas más susceptibles al ataque de la roya amarilla. A esto se suma la poca capacidad de reacción económica y técnica de los productores, que al ser limitada e insuficiente, los hace aún más vulnerables y sensibles y con pocas posibilidades de enfrentar a esta plaga.

Actualmente se intenta cambiar el tipo de manejo de los cultivos a formas orgánicas mediante el uso de microorganismos, con la finalidad de minimizar el deterioro de los suelos ocasionados por las malas prácticas agrícolas (uso de productos químicos), es así que una de las alternativas para mitigar el problema sanitario es el uso de Hongos Micorrizicos Arbusculares (HMA) nativos, ya que estos microorganismos presentan una simbiosis mutualista con alrededor del 80% de plantas, entre ellas el cafeto, existiendo algunos trabajos de investigación (Carbajal, 2009; Leguizamón, 1995; Mariscal, García, Anzueto & Molina, 1995) que afirman los efectos positivos por parte de los HMA en el control del nematodo agallador de raíces, así como también una mejor asimilación de agua y nutrientes por parte de la planta.

Es por esta razón que el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la respuesta de plantones de café inoculados con HMA nativos ante la presencia de *Meloidogyne* spp., en condiciones de vivero, a fin de observar los efectos (hongo-nematodo) y tratar de validar dichos resultados. Para esto se realizó una parte experimental llevada a cabo en el Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana (IIAP), donde se ensayó con HMA nativos el cual fue aplicado a cada plantón de café para luego comprobar su capacidad de control del nematodo (*Meloidogyne* spp), así como también observar sus efectos en algunas características morfológicas de la planta.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo General.

Determinar el efecto de las diferentes fuentes de inóculo de Hongos Micorrizas Arbusculares nativos sobre el nematodo agallador de raíces (*Meloidogyne* spp.) en plántones de café (*Coffea arabica*) variedad caturra en la región de San Martín.

### 2.2. Objetivos Específicos.

- Evaluar el porcentaje de colonización y longitud de micelio extraradical (MER) de los HMA nativos, presentes en los plántones de café (*Coffea arabica*) micorrizadas e infestadas con *Meloidogyne* spp.
- Evaluar el porcentaje de infección por *Meloidogyne* spp en plántones de café (*Coffea arabica*) inoculadas con Hongos Micorrizicos Arbusculares nativos, para determinar la mejor fuente de inóculo.
- Evaluar las características morfológicas en plántones de café (*Coffea arabica*) micorrizadas e infestadas con *Meloidogyne* spp.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1. Antecedentes del Cultivo de Cafeto

##### 3.1.1. Origen y distribución geográfica del cafeto

África es el centro de origen de la mayoría de las especies de cafetos (López, 2006), que comprende alrededor de 60 especies, de las cuales 2 especies son las más cultivadas: Arábicas (*Coffea arabica* L.) Originario de Etiopía, y Robustas (*Coffea Canephora* Pierre ex Froehner) presumiblemente originaria del África o Indonesia (Vergara, 2012).

##### 3.1.2. Descripción del cultivo

El Café es un cultivo permanente, producido por el árbol del cafeto. Estos arbustos requieren una temperatura elevada (20° a 25° C) y una humedad atmosférica importante. Es una planta de semi-sombra, que hay que proteger de los vientos y de las temperaturas bajas. La primera cosecha de un árbol de café se produce alrededor de los 2 años, tomando aún hasta 2 o 3 años más que el árbol alcance su producción normal. Los árboles pueden producir frutos de calidad hasta 20 años, posteriormente la calidad del fruto declinará (AGROBANCO, 2007).

### 3.1.3. Clasificación Taxonómica

Alvarado & Rojas (2007), clasifica al cultivo de café de la siguiente manera:

<b>Reino</b>	: Plantae
<b>División</b>	: Magnoliophyta
<b>Clase</b>	: Angiosperma
<b>Orden</b>	: Rubiales
<b>Familia</b>	: Rubiaceae
<b>Género</b>	: <i>Coffea</i>
<b>Especie</b>	: <i>arabica</i>

### 3.1.4. Morfología

El cafeto, es una planta gimnosperma, leñosa, perennifolia, de producción bianual que prefiere crecer bajo sombra (FUNDESYRAM, 2010).

#### 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 (DESCO, 2012).

#### **b. Tallo**

Es leñoso, erecto y de longitud variable de acuerdo con el clima y tipo de suelo; en las variedades comerciales varía entre 2 y 5 m de altura. 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 & 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 (DESCO, 2012).

#### **d. Inflorescencia**

La inflorescencia del cafeto es una cima de eje muy corto que posee flores pequeñas, de color blanco y de olor fragante en número variado. Las especies *canephora* y *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, sus dos óvulos se transforman 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 endospermo o semilla. Cuando madura puede ser de color rojo o amarillo, dependiendo del cultivar (Alvarado & Rojas, 2007).

#### **f. Semilla**

Ésta consta de dos núcleos, cada uno de ellos con un grano de café con forma plana-convexa, el grano de café está encerrado en un casco semirrígido transparente, de aspecto apergaminado, que corresponde a la pared del núcleo (FUNDESYRAM, 2010).

#### **3.1.5. Características de la especie arábica en el Perú**

Los cafés del Perú son *Coffea arabica* con distintos perfiles de sabor, aroma y acidez. Las variedades que se cultivan son: Typica (70%), Caturra (20%) y otras (10%), el 90% de los cafetos en el Perú crece bajo sombra, principalmente de leguminosas, a una densidad promedio de 2,000 plantas por hectárea. En concordancia con las tendencias actuales, algunos grupos de agricultores peruanos se han especializado y trabajan en orgánico y otros cafés especiales, reconocidos por su perfil y características peculiares como su calidad de taza, acidez y sabor balanceado que se ajusta muy bien a los microclimas, la temperatura y la estricta altitud 1400 - 1800 msnm (AGROBANCO, 2007).

#### **Variedad caturra**

Es una mutación de la variedad Bourbon descubierta en Brasil con una alta producción y buena calidad, pero que requiere de una amplia atención y fertilización; ya que a mayor altitud aumenta la calidad, pero disminuye la producción (Vergara, 2012).

El 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 (CICAFE, 2011).

### **3.1.6. Conducción del semillero y vivero para plántones de café**

#### **Selección de semillas**

La selección de la semilla es una actividad de suma importancia, de ella depende en gran parte el futuro de una nueva plantación de café, esta labor comienza en la selección de plantas de donde se obtendrá la semilla tomándose en cuenta las características físicas y la producción de los cafetos (Sotomayor & Duicela, 1988).

#### **Semillero o germinador**

Es el sitio donde se siembran las semillas para su germinación y crecimiento primario de las plántulas previas a su trasplante al vivero. El sustrato recomendable a utilizarse es la arena porque en este tipo de sustrato es posible observar un mejor sistema radicular de las plantas. Las semillas germinan más fácilmente cuando la parte plana es colocada hacia abajo, se estima que por cada kilogramo de semilla de café en pergamino al 14% de humedad se obtienen aproximadamente 4000 a 5000 semillas; el tiempo en que las semillas germinan y alcanzan el estado de soldadito (fosforito) varía de acuerdo a la especie de café y

el clima de la finca, en la especie arábica (caturra, catuai, típica, pacas, catimor, etc.) el tiempo varía de 35 a 50 días para las zonas bajas y de 50 a 65 días en zonas altas (Sotomayor & Duicela, 1988).

### **Vivero**

Es el lugar donde se desarrollan las plantitas hasta el momento de ser plantadas al sitio definitivo en el campo. El trasplante al vivero, es una operación que consiste en trasladar las plántulas que provienen del semillero y sembrarlas en las fundas plásticas al mismo nivel o profundidad que estaban en el semillero. Debe mantenerse siempre una adecuada humedad del sustrato, es recomendable efectuar tres o cuatro riegos por semana dependiendo de las condiciones ambientales del lugar; así mismo la fertilización, el control de malezas y plagas en vivero, son importantes y necesarias para obtener plántulas de buen desarrollo vegetativo. Las plantitas deben permanecer en el vivero por un tiempo de 150 – 180 días y luego se trasladan al campo para su establecimiento en el terreno definitivo, que debe coincidir con la época lluviosa (Sotomayor & Duicela, 1988).

#### **3.1.7. Factores adafoclimáticos del cultivo.**

##### **Clima**

En el Perú el Cafeto es una planta que se adapta bien en las partes altas de nuestra Amazonía (ceja de selva). La temperatura óptima es de 20 a 26°C, pero puede desarrollarse de los 5 °C hasta 30°C. Se puede cultivar desde el nivel del mar hasta los 2000 m.s.n.m.m., aunque lo óptimo es de 900 a 1500 m.s.n.m.m.

Sus requerimientos de agua son de 1500 a 2300 mm de precipitación anual (Vergara, 2012).

### **Suelo**

Es un factor muy importante para determinar la distancia de siembra y la variedad apropiada (Charpantier, 1988). Los tipos de suelo adecuados para el cultivo de café son de textura franca, con buena fertilidad, drenaje y aireación, buena profundidad efectiva y adecuado contenido de materia orgánica (DESCO, 2012); además en cuanto a la topografía, el cultivo del café se practica tanto en suelos planos como de fuerte pendiente (Carvajal, 1984), necesitan de un pH que vaya de 5.0 a 6.5 (Vergara, 2012).

#### **3.1.8. Principales plagas y enfermedades del cultivo de cafeto.**

El cultivo del café, presenta diferentes problemas de plagas y enfermedades, las cuales atacan al sistema radicular, hojas, ramas, tallos y frutos, afectando el rendimiento de los cafetos. Entre las más importantes se encuentran: la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrer), la roya amarilla (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.), ojo de gallo (*Mycena citricolor* Berk. y Curt), mancha de hierro (*Cercospora coffeicola* Berk. y Cooke) y antracnosis (*Colletotrichum coffeanum* Noak). Además, dentro de los problemas fitosanitarios más relevantes a nivel internacional, se encuentran los nematodos fitoparásitos del cafeto, que pueden afectar severamente el sistema radicular (Figuroa, 1980, citado en Cruz, 2013).

## **3.2. Las Micorrizas**

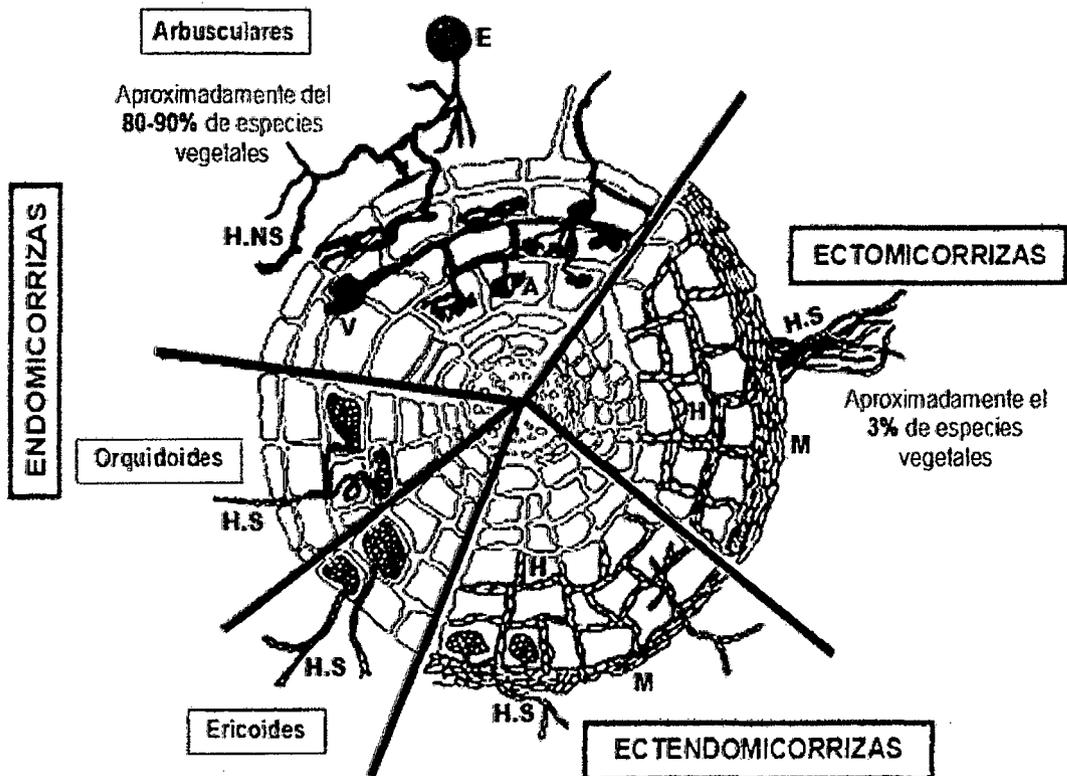
### **3.2.1. Generalidades**

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 & Naranjo, 2003). Es mediante esta asociación que el hongo coloniza biotróficamente la corteza de la raíz sin causar daño a la planta, llegando a ser, fisiológica y morfológicamente, parte de dicho órgano. A su vez, la planta hospedera proporciona al hongo simbionte (heterótrofo) compuestos carbonados procedentes de la fotosíntesis y un hábitat ecológico protegido (Robles, 2009).

En esta asociación el hongo forma dentro de la planta, estructuras características como hifas, micelios, arbusculos, esporas y vesículas. Las esporas de estos hongos germinan, dando origen a las hifas que al ramificarse forman el micelio que explora el suelo y coloniza raíces de la planta, formando un cuerpo central con muchas ramificaciones de hifas llamados arbusculos, que viene a ser los encargados de realizar e intercambio de agua y nutrientes entre el suelo y la raíz; así mismo en dichas raíces se originan estructuras internas de forma globosa, llamadas vesículas, que sirven para almacenar alimento para el hongo (CORPOICA, 2004).

### 3.2.2. Tipos de Asociaciones Micorrízicas

Existe una gran diversidad en la morfología y fisiología de las asociaciones micorrízicas. De acuerdo con Rivera *et al.*, (2003, citado en Robles, 2009) existen tres tipos de asociaciones micorrízicas vigentes, considerando sus características morfo-anatómicas y ultraestructurales: ectomicorrizas, ectendomicorrizas y endomicorrizas.



**Figura 1:** Esquema de tipos de micorrizas. Se representa en azul el desarrollo del micelio en cada tipo de micorriza. Leyenda: M= manto fúngico, H= red de Harting, A= arbusculas, V= vesículas, E= espora externa, H.S= hifas septadas, H.NS= hifas no septadas (Rodríguez, 2006).

**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 la endodermis de la raíz y se aprecian a simple vista debido a la típica capa o manto de hifas que tejen alrededor de las raíces que colonizan (Robles, 2009). Esta asociación se da en aproximadamente el 3% de las especies vegetales (Pérez, 2001, citado en Robles, 2009).

**Endomicorrizas:** 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. Este grupo es el más difundido en las plantas y está dividido en varios subtipos (ericoides, orquidoides y arbusculares), de los cuales el más representativo e importante es el **arbuscular**, cuyos protagonistas fúngicos pertenecen al Phylum Glomeromycota (Schüssler *et al.*, 2001, citado en Robles, 2009).

**Ectendomicorrizas:** Presentan características comunes con los dos tipos de micorrizas expuestos anteriormente y son las menos extendidas. Con las ectomicorrizas tienen en común que pueden formar un "manto" más o menos desarrollado y la red de Hartig, y con las endomicorrizas, que existe penetración de las hifas en las células de la corteza formando enrollamientos u ovillos (Yu *et al.*, 2001; Gutiérrez *et al.*, 2003, citado en Sánchez, 2009). Los hongos pertenecen al phylum Basidiomycota y las plantas son fundamentalmente arbutoides o monotropales (Sánchez, 2009).

### **3.2.3. Los Hongos Micorrizas Arbusculares (HMA).**

La evidencia de los registros fósiles, la biología molecular y de los análisis filogenéticos colocan el origen de estos hongos y por consiguiente de la simbiosis, hace 353-462 millones de años durante el periodo Devoniano, consistente con la hipótesis de que los HMA fueron instrumentos de la colonización de la tierra por las plantas antiguas (Ruiz, Rojas y Sieverding, 2011).

De todos los tipos de micorriza, la arbuscular es la más extendida en la naturaleza (Allen, 1996, citado en Barrer, 2009) ya que esta asociación la presentan aproximadamente el 80-90% de las plantas, pertenecientes a casi todas las familias botánicas (Pérez, 2001, citado en Barrer, 2009) formando arbuscúlos, vesículas (en algunas especies) e hifas, dentro de las células corticales de las plantas que colonizan.

Los HMA son simbioses biótrofos obligados, puesto que sólo pueden completar su ciclo de vida cuando colonizan las raíces de la planta hospedera (Pérez, 2001, citado en Robles, 2009). Dicha colonización lo realizan sin causarle perjuicio y desarrolla una red de micelio externo a la raíz, que conecta la planta con los microhábitats del suelo, y que es más eficaz que la propia raíz para extraer nutrientes y agua del mismo. Además, el desarrollo de la simbiosis induce cambios en la fisiología de la planta que la hacen más resistente a diferentes tipos de estreses ambientales (Smith & Read, 2008, citado en Sánchez, 2009).

### 3.2.3.1. Clasificación Taxonómica de los HMA

**Cuadro 1. Clasificación actual de los *Glomeromycota***

CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO			
Glomeromicetos	Glomerales	Glomeraceae	Glomus			
			Funneliformis			
			Simiglomus			
			Septoglomus			
	Diversisporales	Claroideoglomeraceae		Claroideoglomus		
				Viscospora		
		Diversisporaceae		Diversispora		
				Redeckera		
				Otopora		
		Entrophosporaceae		Entrosphospora		
				Acaulosporaceae		Acaulospora
						Kuklospora
		Pacisporaceae		Pacispora		
		Gigasporales	Gigasporaceae		Gigaspora	
Scutellosporaceae					Scutellospora	
					Orbispora	
Racocetraceae			Racocetra			
			Cetraspora			
Dentiscutataceae			Dentiscutata			
		Fuscutata				
Archaeosporomicetos	Archaeosporales	Archaeosporaceae	Archaeospora			
			Intraspora			
			Ambisporaceae	Ambispora		
Paraglomeromicetos	Paraglomerales	Paraglomeraceae	Geosiphon			
			Paraglomus			

Fuente: Oehl *et al.*, 2011, citado en Martín, 2013.

### 3.2.3.2. Importancia de los HMA

Las bases fundamentales sobre las que se establece la simbiosis MA son nutritivas. Como ya se indicó, la planta cede al hongo compuestos carbonados procedentes de la fotosíntesis, mientras que éste cede a la planta nutrientes minerales, especialmente aquellos menos asequibles para la misma, en virtud de la mayor accesibilidad del micelio externo del hongo a recursos del suelo más distantes de la capacidad de acceso del sistema radical (Barea *et al.*, 2008; Smith & Read, 2008; Ferrol & Pérez-Tienda, 2009, citado en Sánchez, 2009).

Las asociaciones micorrízicas desarrollan múltiples funciones importantes para el hospedero, de las que se pueden destacar las siguientes: estimulan el crecimiento de la planta y aumenta considerablemente la producción y biomasa aérea y radical, esto debido a la mayor y más rápida disponibilidad de nutrientes en el sistema vascular de las plantas, que acelera su actividad fotosintética para mantener su equilibrio fisiológico, la producción de fitohormonas por parte de la micorriza (Fasabi, 2012). También ayuda a mejorar tolerancia frente al estrés hídrico, facilitan la adaptación a suelos salinos y contribuyen a disminuir el proceso de erosión (Brundrett *et al.*, 1996; Rivera *et al.*, 2003, citado en Robles, 2009). Así mismo los HMA cumplen otras funciones vitales en los ecosistemas, como: aumentar la capacidad de absorción de fósforo y nutrientes de lenta difusión en el suelo reduciendo su dependencia a fertilizantes; aumentan la tolerancia de las raíces a patógenos del suelo (nematodos, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y otros); funcionan como un mecanismo de restauración ecológica de los suelos; aumentan la biodiversidad vegetal en el ecosistema como producto de la

biodiversidad de especies de HMA; y aumentan la agregación del suelo mejorando su estructura mediante la producción de glomalina (glicoproteína que actúa como un pegante natural de las partículas del suelo, siendo este un componente importante de la materia orgánica y clave para el almacenamiento de carbono), (Smith y Read, 2008, citado en Ruiz *et al.*, 2011).

### **3.2.3.3. Características Agroecológicas de los HMA**

Según las investigaciones realizadas por Lugo y Cabello (2002, Chaurasia *et al.*, 2005, citados en Robles, 2009) observaron que los patrones poblacionales y la diversidad de los HMA son fuertemente afectados por varios factores como: las propiedades del suelo, las condiciones ambientales, la especie de planta hospedera y las prácticas agrícolas, en el caso de los cultivos. Por otro lado Jeffries *et al.*, (2003, citado en Robles, 2009) hacen mención de que el cambio climático, la contaminación, los metales pesados y las relaciones bióticas con otros microorganismos del suelo influyen en el desarrollo de la asociación micorrízica. De acuerdo con Oliveira y Oliveira (2005, citado en Robles, 2009) la precipitación tiene un efecto positivo sobre la densidad de esporas, pero no en el porcentaje de colonización. Así mismo se han encontrado relaciones inversas entre la concentración del Fósforo disponible en el suelo y los grados de infección, es decir, a menor disponibilidad del fósforo mayor infección (Escobar, Zuluaga, Colorado y Paez, 1998). Según Barea y Jeffries (1994, citado en León, 2006) argumentan que los Hongos Micorrízicos Arbusculares tienen amplia adaptación a varios tipos de pH ya que los podemos encontrar en suelos con pH que van desde 2.7 hasta

9.2, teniendo respuestas positivas a pH ácidos como alcalinos dependiendo de las especies o géneros.

Resulta importante también considerar que en la Amazonía peruana (Loreto, Ucayali), alrededor del 65% de los suelos están clasificados como Ultisoles, los que se caracterizan por ser extremadamente ácidos y deficientes en fósforo disponible. Es precisamente en estos suelos donde los hongos de micorriza arbuscular abundan y tienen un rol relevante, ya que muchas especies de plantas dependen de estos hongos para tomar en forma eficiente el fósforo del suelo y sobrevivir (Ruiz *et al.*, 2011). Así también hacen mención que los beneficios de estos organismos son mayores cuando los niveles de fósforo están por debajo de 50 ppm y que la colonización micorrízica va disminuyendo por encima de este nivel (Swift, 2003, citado en Ruiz *et al.*, 2011).

Cabe recalcar que el uso de HMA en la agricultura contribuye a mejorar el nivel nutricional de la planta lo que se ve reflejado en mayor masa seca, crecimiento y área foliar de la planta; estos hongos micorrízicos son encontrados en todo tipo de suelos y pueden colonizar cualquier planta que establezca simbiosis con ellos, sin embargo, las condiciones físico-químicas del suelo podrían estar generando cierto tipo de especificidad con respecto a las plantas hospederas, según las respuestas que muestran las plantas a determinadas especies de HMA, es por ello que el uso de pesticidas y los suelos más alterados por el hombre para la agricultura, estarían generando diferentes tipos de respuestas de los HMA, desde estimulantes hasta poco significantes (Barrer, 2009). Según estudios realizados por Munkvold *et al.*, (2004, citado en Robles, 2009) la longitud del micelio extraradical (MER) de los

HMA presente en el suelo juega un papel crucial en la incorporación y translocación de nutrientes hacia la planta hospedera, ya que aumenta la superficie de absorción a partir de un incremento en el volumen del suelo explorado, además la longitud de estas pueden cambiar significativamente a través de la estación del año. En una de sus investigaciones realizadas por Robles (2009), encontró que la longitud del MER entre las especies de *Agave* fueron significativamente más altas en el mes de enero que en los otros meses de muestreo (Julio, Octubre, Abril), obteniendo valores de 2.88 a 4.35 m g<sup>-1</sup> de suelo, pudiendo deberse a la composición de especies de HMA que estaba presente en esos momentos, ya que se ha reportado que la cantidad de micelio producido por las diferentes especies puede variar considerablemente. Así también Robles (2009), observó 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 baja; contrario a ello, Hart y Reader (2002, citado en Robles, 2009) demostraron que los miembros de la familia Gigasporaceae suelen presentar una gran cantidad de MER, pero no colonizan intensivamente la raíz de la planta hospedera.

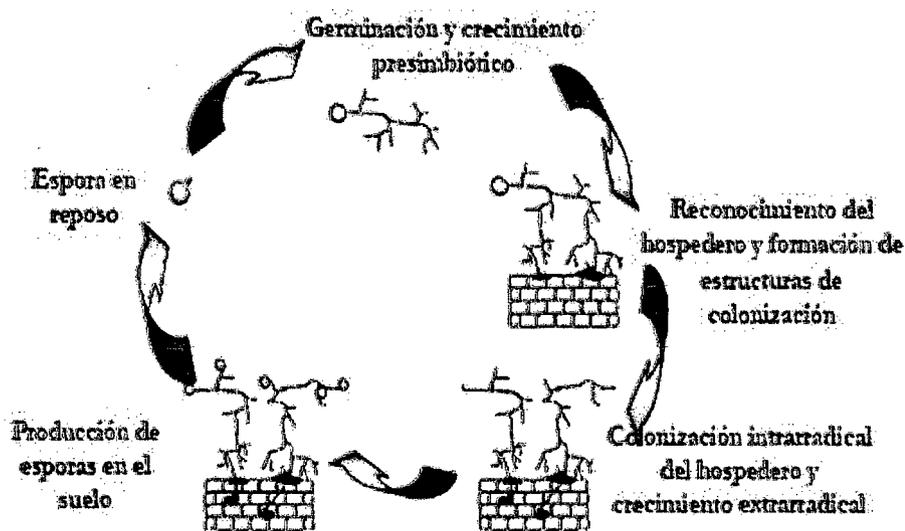
Por otro lado en una investigación reciente realizada por Coral (2015), quien realizó estudios en tres variedades de café (caturra, pache y nacional) bajo diferentes condiciones agroecológicas de la región de San Martín, encontró que los mayores porcentaje de colonización se dieron en la provincia Lamas (12.7 – 20%) seguido de Moyobamba (2.3 – 8.5%) y El Dorado (0.7 – 2.3%); así mismo menciona que las variables, altitud y variedad, no mostraron ninguna influencia

significativa en la colonización micorrízica en el cultivo de café; siendo su incidencia directamente correlacionada con las características físico-químico del suelo y parámetros ecológicos de las zonas en estudio.

#### **3.2.3.4. Ciclo simbiótico de los HMA**

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) cuentan con un ciclo de vida dividido en dos etapas, la primera etapa, son los estadios de reposo y reproductivo que son independientes de la planta y en el que es frecuente observar esporas, esporocarpos y algunas vesículas; la segunda etapa, los estadios vegetativos, representadas por las hifas, arbusculos y vesículas dentro de las raíz, implicadas en las interacciones donde ocurre el reconocimiento, la colonización y el intercambio de nutrientes entre hongo-planta (Guachón, Prado y Lucero, 2012). La manera como el hongo Micorrízico Arbuscular penetra a las células de la planta hospedera sin causarle ningún daño, se da por la invaginación de las paredes del plasmalema a través de una serie de procesos mecánicos y enzimáticos controlados, esta es la primera indicación de una alta compatibilidad entre el hongo y la planta. Los estados morfológicos del desarrollo son variables y dependen también, de la especie de la planta implicada, pero habitualmente, las esporas del suelo van a germinar y la hifa fúngica va a crecer desde la espora hasta la superficie de las células epidérmicas de la raíz, este contacto, va a formar un abultamiento denominado apresorio, que originará seguidamente la hifa colonizadora que penetrará en dicha célula o atravesará el espacio intercelular. La unidad de colonización avanza mediante el crecimiento de las hifas que se

extienden entre las células corticales y que generan estructuras características como los arbusculos y las vesículas. Semanas después, y sobre la red tridimensional de las hifas se forman las esporas que al madurar completan el ciclo del hongo (Guachón *et al.*, 2012).



**Figura 2:** Diagrama del ciclo de vida de los HMA durante el establecimiento de la simbiosis funcional (Giovannetti, 2000, citado en Guachón *et al.*, 2012).

### 3.2.4. La Simbiosis Planta – Hongo

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) se caracterizan por presentar un crecimiento intra e intercelular en la corteza de la raíz y por formar dos tipos de estructuras, arbusculos y vesículas, siendo los arbusculos hifas que se dividen dicotómicamente, son invaginados por la membrana plasmática de las células corticales y presentan periodos de vida cortos (9 a 15 días), mientras que las vesículas son estructuras de almacenamiento que se forman en la parte terminal de las hifas. Las hifas externas pueden ser de tres tipos según su morfología y las

funciones que llevan a cabo: las hifas infectivas, son las que inician los puntos de colonización en una o varias raíces; las hifas absorbentes son las que se encargan de explorar el suelo para la extracción de nutrientes y las hifas fértiles son las que llevan las esporas (Barrer, 2009).

El crecimiento del hongo de manera asimbiótica se da entre una o dos semanas hasta que hace contacto con la raíz del hospedero. Cuando las plantas son invadidas por microorganismos del suelo, se inician una serie de cambios fisiológicos y bioquímicos que no ocurren cuando un HMA coloniza la planta, esto soporta la hipótesis de que el hongo emite señales que reconoce la planta para que esta no inicie una reacción de defensa (Barrer, 2009). Depende de la simbiosis micorrízica y las prácticas culturales, la producción y crecimiento máximo de los pelos radiculares para un mejor efecto en la asociación de las micorrizas y poder mejorar así la producción de los cultivos agrícolas y aumentar su importancia económica (Tena, 2002).

### **3.2.5. Influencia de las micorrizas arbusculares en la absorción de fósforo**

Existen numerosos ejemplos y evidencias acerca de la influencia, así como de la función que desempeñan los microorganismos dentro de los ciclos de los diferentes elementos, tales como Carbono, Nitrógeno, Azufre , Fósforo, etc., lográndose usar muchos de ellos para mejorar las condiciones ya sea físicas o químicas del suelo, lo que lleva también a mejorar aspectos biológicos del mismo. Esto se ve reflejado en un incremento de la producción de los suelos agrícolas. Uno de los grupos microbianos que mayor interés científico ha despertado, es el

de los hongos micorrízicos arbusculares; cuya distribución es de tipo cosmopolita y con la característica de colonizar el sistema radical de una gran diversidad de plantas (Tena, 2002).

Uno de los nutrimentos que más se ha estudiado en relación con su absorción mediada por micorrizas arbusculares, es el fósforo, debido a que las plantas lo requieren en relativamente grandes cantidades, pero que también se encuentra en concentraciones muy bajas en la solución del suelo. La razón principal para este fenómeno, es que los iones de fosfato inorgánico se unen rápidamente a coloides del suelo o se fijan como sales de fierro o aluminio volviéndose relativamente inmóviles además de que una gran proporción del fósforo inorgánico total está normalmente en forma insoluble, no disponible fácilmente para las plantas. La asociación simbiótica planta-hongo se ve afectada por una elevada concentración de P en el sustrato, este efecto se produce debido a que un incremento de fósforo endurece la pared celular, dificultando la colonización micorrízica (Herrera, 2001, citado en Paillacho, 2010) presentándose una correlación inversamente proporcional entre el porcentaje de colonización y la absorción de fósforo, es decir, a medida que se disminuye la concentración de P disponible en el sustrato, el porcentaje de colonización se incrementa (Cuadros, Gómez y Rodríguez, 2011). Así mismo la concentración de entre 40-70 ppm de P asimilable para un suelo franco es considerada alta. De igual manera, el autor señala que concentraciones de entre 351-500 ppm de K asimilables son consideradas altas y porcentajes mayores a 2,5% de materia orgánica son muy altos (Agustí, 2000, citado en Paillacho, 2010).

Ferguson y Menge, (1982, Guzmán, 1991, citados por Lucas, 2011) hacen referencia que la concentración de fósforo en el suelo es el principal factor nutrimental que limita la producción de propágulos infectivos de los HMA; esto ha sido ampliamente demostrado en diversos estudios de invernadero y campo, cuyos incrementos en la concentración de este elemento normalmente causan la disminución del porcentaje de colonización y la esporulación de este simbiote.

Según Lucas, (2011), menciona que algunos autores reportaron que el porcentaje de colonización en el sistema radicular tiende a disminuir a medida que se aumenta la dosis de fosforo, tal es el caso de los cultivos, como el trigo y tricale (Portilla *et al.*, 1998), eucalipto (Perea-Estrada *et al.*, 2005), *Capsicum annuum* (Castillo *et al.*, 2007).

Por el contrario, Alarcón y Ferrera-Cerrato (2003) y Gonzáles y Ferrera-Cerrato (2000) citado en Lucas (2011) no encontraron disminución en la colonización de MA en diferentes especies de cítricos a pesar de aumentar la dosis de fósforo.

### **3.2.6. Ventajas para los productores del uso de micorrizas en plantas de cafeto.**

Según FENIAGRO (2010) el cafeto es un cultivo que de forma natural establece simbiosis con los hongos micorrizas arbusculares (HMA), necesitando de estos para su establecimiento, por lo que es considerado un cultivo micotrófico obligatorio, es así que en sus investigaciones utilizando HMA demostraron que después de una época seca de 4 meses se encontró que las plantas de café micorrizadas presentaron 74.22% de sobrevivencia en comparación con 36.25% de las no micorrizadas, comprobando así que las plantas micorrizadas son más

resistentes al estrés de agua ya que cuentan con una mayor capacidad de exploración en el suelo y mayor eficiencia en la extracción de nutrientes gracias a sus hongos simbiotes; así también observaron que el uso de micorrizas en el cafeto contribuye a la reducción de afectaciones por nematodos (*Meloidogyne* y otros), debido a la protección que hacen estas al sistema radicular; además, la micorriza se puede combinar con hongos bioplaguicidas (*Paecilomyces*, *Trichoderma*) que controlan nematodos y patógenos del suelo. Por otro lado Hernández (1999, citado en FENIAGRO, 2010) hace alusión que en uno de los trabajos realizados en Cuba, encontró una alta y consistente respuesta del cafeto a la inoculación con HMA en tres tipos de suelos en que se trabajó (vivero), oscilando los incrementos en la producción de área foliar entre 10 y 263% con respecto a los testigos. Estos beneficios también fueron reflejados en ensayos realizado por Trejo *et al.*, (2000, citado en FENIAGRO, 2010) quienes concluyeron que las plantas de café inoculadas con HMA a nivel de vivero presentaron mejor desarrollo que aquellas con adición de fertilizante, tanto inorgánico como orgánico, por lo que la incorporación de los hongos (MA) como una tecnología tendiente a la sustentabilidad, representa una alternativa para incrementar el rendimiento de la cosecha y mejorar la calidad del ambiente en el agroecosistema. De igual forma en otro de sus trabajos realizados en México Trejo, Ferrera, García, Varela, Lara, Alarcón (2011) trabajando con 7 consorcios de HMA nativos en vivero obtuvieron buenos resultados de altura de planta que fue de un 10 a 15 cm en comparación con el testigo, en un periodo de 130 DDI; haciendo mención también que los efectos de los consorcios micorrízicos fueron visibles a partir de los 90 DDI.

### 3.3. Nematodo Agallador de Raíces (*Meloidogyne* spp.)

#### 3.3.1. Generalidades

El género *Meloidogyne* spp., contiene más de 90 especies que infectan miles de plantas herbáceas y leñosas (Gelpud, Mora, Salazar, Betancourth, 2011). Según estudios de nocividad han demostrado que la progresión de los daños ha significado pérdidas en rendimientos superiores al 60% en campos de producción afectados debido a que este género destruye completamente la raíz del cafeto, haciendo que la planta no forme raíces nuevas, quedando las raíces gruesas, las que tienen una capacidad muy limitada para la absorción de agua y nutrientes. A diferencia de otros géneros *Meloidogyne* posee una característica muy peculiar, (formación de agallas) a simple vista son fáciles de identificar; inicialmente de color blanco, pero después se tornan parduzcas (Escobar, 2008).

#### 3.3.2. Clasificación Taxonómica

Sánchez (2010), clasificación al género *Meloidogyne* spp., de la siguiente manera:

<b>Phyllum</b>	: Nemata
<b>Clase</b>	: Secernentea
<b>Orden</b>	: Tylenchida
<b>Familia</b>	: Heteroderidae
<b>Género</b>	: <i>Meloidogyne</i>

### **3.3.3. Importancia del género**

Las especies del género *Meloidogyne* constituyen los nematodos patógenos de plantas de mayor importancia económica por su amplia distribución y por el gran número de hospederos que atacan, llegando a causar más del 5% de pérdidas a nivel mundial (Sánchez, 2010).

### **3.3.4. Sintomatología**

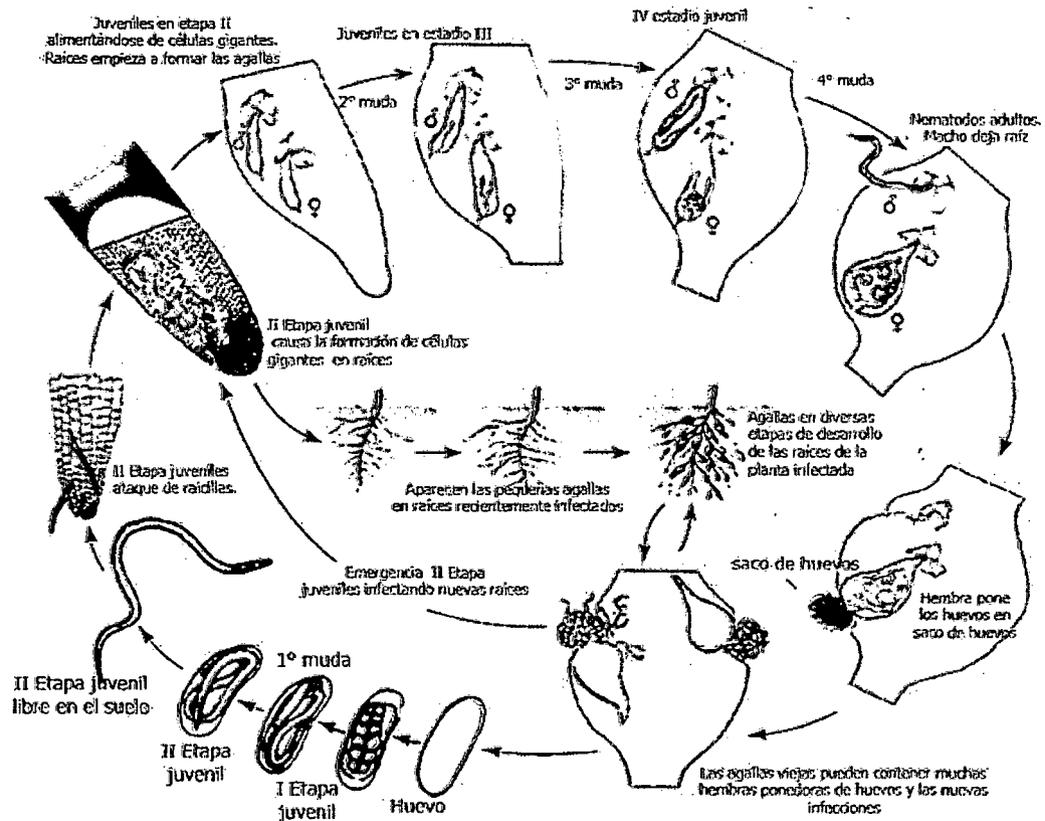
Las plantas infectadas por *Meloidogyne* spp., muestran amarillamiento, marchitamiento y reducciones en la producción. La infección de las raíces produce engrosamientos característicos o agallas que pueden ser de varios tamaños dependiendo del número de hembras que alberguen (Talavera, 2003). Las agallas pueden variar considerablemente dependiendo de las especies de *Meloidogyne*; la apariencia típica de las agallas es la siguiente: Hinchamientos pequeños de forma redondeada, abultamientos masivos de tejido indiferenciado que confluyen entre sí, puntas de la raíz hinchadas, abultamientos irregulares a lo largo de la raíz, puntas de raíz curvadas en forma de gancho, no se aprecia ningún hinchamiento de forma definida, solamente la superficie levantada en donde se encuentra el nematodo embebido (Coyne, Nicol y Claudius, 2010).

### **3.3.5. Ciclo de vida**

El ciclo de vida de todas las especies de *Meloidogyne* es esencialmente el mismo, sin embargo, algunos autores indican que el tipo de hospedero y condiciones ambientales como luminosidad, temperatura, altitud, pH, textura del suelo, etc., hacen que varíe el ciclo de vida de estos nematodos (Sánchez, 2010).

La duración del ciclo de vida de *Meloidogyne* spp., es de 3 a 4 semanas en hospederas susceptibles presentes en suelos ligeros con temperaturas que oscilan entre los 25 y 30°C, y pueden presentarse 3 a 10 generaciones por año. Su ciclo biológico inicia con el huevo, posteriormente pasa por cuatro estados larvales para convertirse en adulto. El huevo es depositado por una hembra parcial o totalmente incrustada en la raíz de la planta hospedera, en una masa gelatinosa que los mantiene agregados en ésta o en sacos, en los que han encontrado hasta mil huevos en una misma masa; el desarrollo del huevo inicia pocas horas después de la ovoposición hasta que se desarrolle una larva, la cual presenta un estilete enrollado en la membrana del huevo. La primera muda tiene lugar en el huevo; el segundo estadio (J2) es donde la larva emerge a través de un agujero hecho por medio de pinchazos repetidos con el estilete, generalmente se encuentra varias larvas emergidas en la masa de huevos junto con huevos en varios estados de desarrollo. Cuando se desprenden dos cutículas se considera que se ha completado la segunda y tercera muda en la hembra, en esta fase el estilete y el bulbo esofágico medio desaparecen. Poco después de la cuarta muda el estilete y el bulbo medio son regenerados, se forma la vagina y el patrón perineal se hace visible. Se forman dos gónadas femeninas, que se alargan y se doblan en el cuerpo, casi globular o ligeramente alargado con un cuello que puede ser corto y robusto. Los machos son escasos, alongados y vermiformes con la cola redondeada, generalmente presentan una gónada, una espícula y un gubernáculum muy notorios, este estado sexual no es útil en general para la identificación, no se les encuentra asociados con la hembra y en general su ciclo

de vida es muy corto, eclosionan cuando están completamente desarrollados y estos no se alimentan (Sánchez, 2010).



**Figura 3:** Ciclo de la enfermedad del nudo de la raíz causada por nematodos del género *Meloidogyne* (Agrios, 2005).

### 3.3.6. Tipos de nematodos.

Los nematodos fitoparásitos se pueden agrupar por su hábito y movilidad en tres grupos principales: Ectoparásitos, Endoparásitos migratorios y los Endoparásitos sedentarios (Coyne *et al.*, 2010).

- **Ectoparásitos**

Los nematodos ectoparásitos se alimentan sobre la superficie de la planta externamente, generalmente lo hacen de los pelos radicales o de los tejidos corticales. Normalmente, se encuentran en grandes densidades poblacionales pero no siempre constituyen un problema (Coyne *et al.*, 2010). Entre los nematodos ectoparásitos, se encuentran reportados en el cultivo de café los géneros siguientes: *Aphelenchus*, *Helicotylenchus*, *Hemicycliophora*, *Longidorus*, *Paratylenchus*, *Psilenchus*, *Rotylenchus*, *Trichoduros*, *Trophurus*, *Tylenchus* y *Xiphinema* (Montes, 2000, citado en Cruz, 2013).

- **Endoparásitos migratorios.**

Todos los estadios del ciclo de vida de los nematodos endoparásitos son móviles excepto el huevo. Los nematodos perforan el tejido vegetal desplazándose de célula en célula, o pueden abandonarlo en busca de nuevos sitios de alimentación. Mientras se alimentan normalmente depositan los huevos dentro del tejido cortical de la planta y también en el suelo que rodea la raíz. Las células dañadas liberan toxinas las cuales provocan la muerte de las células vecinas dando lugar a pequeñas manchas o lesiones de tejido necrótico. Con frecuencia, los hongos que producen podredumbre de las raíces y las bacterias se encuentran asociados con las infestaciones de los nematodos migratorios y entran en los tejidos de la planta a través de las zonas dañadas por los nematodos (Coyne *et al.*, 2010). Entre los nematodos endoparásitos migratorios se encuentra el género: *Pratylenchus* del cual las

especies *P. coffeae*, *P. gutierrezii*, *P. brachyurus*, *P. pratensis*, *P. loosi*, *P. goodeyi* y *P. zae* han sido reportados en el cultivo de café (Villain, 2008, citado en Cruz, 2013).

- **Endoparásitos sedentarios.**

Los juveniles de segundo estadio (J2) de los nematodos endoparásitos sedentarios recién eclosionados de los huevos son los que normalmente invaden el tejido de la planta y constituyen el estadio infectivo. Estos se mueven a través de las partículas de suelo para localizar las raíces de la planta huésped, y posteriormente, a través del tejido radical para encontrar un sitio de alimentación, es ahí donde se desarrolla la hembra y permanece ubicada durante el resto de su ciclo de vida. Conforme la hembra se desarrolla, su cuerpo se hincha y adopta forma esférica, de limón, riñón, u ovoide (Coyne *et al.*, 2010). Como ejemplos representativos de este grupo, están: *Globodera*, *Heterodera*, *Nacobbus*, *Punctodera*, *Cactodera* y ***Meloidogyne*** que es un género dentro del cual se reconocen 17 especies parásitas del cultivo de café (Cameiro y Cofcewicz, 2008, citado en Cruz, 2013).

De todos los géneros mencionados, *Meloidogyne* y *Pratylenchus*, son los de mayor importancia económica debido a su alta frecuencia y abundancia en los cafetales (Figuroa, 1980; Eisenback y Triantaphyllou, 1991, citado en Cruz, 2013).

### 3.3.7. Hospederos del nematodo

Entre los cultivos que parasita de manera importante se encuentran: tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), pepino (*Cucumis sativus* L.), berenjena (*Solanum melongena* L.), maíz (*Zea mays* L.), sandía (*Citrullus vulgaris*), papa (*Solanum tuberosum* L.), **café** (*Coffea arabica*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), fresa (*Fragaria chiloensis*), cebolla (*Allium cepa* L.), girasol (*Helianthus annuus* L.), alfalfa (*Medicago sativa*), durazno (*Prunus pérsica* L.), vid (*Vitis venifera*), entre otros (Sánchez, 2010).

### 3.3.8. Control del nematodo

En primer lugar es necesaria la prevención de la entrada del nematodo, pues una vez éste se ha establecido es virtualmente imposible erradicarlo, por lo que es importante el uso de semilla y plantones certificados y material limpio de nematodos. Las malas hierbas deben ser eliminadas para evitar que sirvan como hospedadores alternativos a los nematodos (Talavera, 2003), así mismo las prácticas culturales, tales como la rotación de cultivos, solarización, y ciertas enmiendas, también son útiles en la reducción de pérdidas por nematodos agalladores (Agrios, 2005).

Para el control biológico de nudo de la raíz existen diferentes agentes biológicos entre ellos algunos hongos como: *Pasteuria penetrans*, *Dactylella oviparasitica*, y algunos hongos micorrízicos arbusculares que pueden limitar el incremento poblacional de los nematodos (Agrios, 2005). Según estudios realizados, las infecciones radiculares por nematodos son generalmente menores sobre plantas

micorrizadas que sobre plantas no micorrizadas, pero la respuesta puede variar, y los mecanismos involucrados son controversiales (Vega, 2011).

En una prueba preliminar que realizaron algunos investigadores para evaluar el control de *Meloidogyne* en plantas de café con dos leguminosas (*Arachis* y *Desmodium*) de cobertura, se encontró que la asociación de *Arachis* con plantas de café redujo significativamente el número de agallas en raíces, ejerciendo un 58% de control en comparación con el testigo y el tratamiento con *Desmodium*, en los cuales no se observó diferencia alguna (CATIE, 1993).

#### **3.4. Efecto antagonista entre Hongos Micorrizas Arbusculares y *Meloidogyne* spp., en el cultivo de café.**

En estudios realizados por Bañuelos (2008) hace mención que en plantas ocupadas tanto por los HMA y nematodos endoparásitos las poblaciones de nematodos pueden aumentar como un resultado de un mayor sistema radical en plantas micorrizadas, pero generalmente la penetración y desarrollo de los nematodos puede ser inhibido por los HMA; también hace mención de que los HMA no colonizan regiones de raíces ya infestados por nematodos y los nematodos solo raramente afectan regiones previamente colonizadas por los HMA.

En una investigación realizada por Leguizamón (1995) encontró que las plantas de café de la variedad Caturra que se inocularon con HMA al momento del transplante (vivero) y a las cuales un mes después se les adicionó el nematodo fitoparásito *Meloidogyne incognita*, al realizar la evaluación de las raíces a los cinco meses, se registraron las mayores alturas de las plántulas, pesos secos de

la parte aérea y radical, y niveles de infección del 9% en las plantas tratadas mientras que los testigos tuvieron un 97% de infección. Alban, Guerrero & Toro (2013) hacen mención que si los hongos *Glomeromycota* se inocularan antes que *Meloidogyne exigua*, las plantas de café serían sanas y fuertes y podían resistir mejor a la infestación por nematodos, ya que los HMA ayudan a las plantas de café con la lignificación de la cutícula de la pared celular vegetal de las raíces, haciendo que esta se vuelva más espesa y sea difícil para los nematodos penetrar, por lo que la tasa de infestación causada por estos organismos fitoparásitos, sería baja; los resultados obtenidos por estos investigadores demostraron que los HMA no actuaron de forma efectiva en el incremento del porcentaje de colonización y peso seco del sistema radicular.

Según Talavera *et al*, (2001 citado en Bañuelos, 2008) hace mención que la inoculación simultánea de nematodos inhibe el efecto de los HMA debido a la diferencia en la velocidad de infestación de cada organismo, siendo de 2-4 semanas para los HMA y solo de pocas horas para el nematodo. Los investigadores Mariscal, García, Anzueto & Molina (1995) mencionan que luego de dos meses de haber aplicado la micorriza (vivero), inocularon a cada planta con 2000 nematodos de una población de *Meloidogyne* sp., los resultados de los tratamientos micorrizados tuvieron una mejor nutrición de las plantas y mecanismos de tolerancia a pesar de los niveles de nematodos encontrados.

En un estudio realizado por Carbajal (2009) a nivel de vivero, indicó que obtuvo una mejor respuesta contra el ataque de *Meloidogyne* incognita, en plantas de *Hypericum* inoculadas con HMA nativos en comparación con la micorriza

comercial, viéndose reflejadas positivamente en las variables como: Índice de agallamiento, porcentaje de colonización y longitud de raíz, mientras que para las variables número de nematodos, número de esporas, peso de raíz y altura de planta, ambas actuaron de forma similar. Guzmán, Castaño & Sánchez (2013) también hacen mención que la inoculación del nematodo del nudo radical, *Meloidogyne* spp., afectó en forma negativa y significativamente el desarrollo radical y aéreo de las plántulas de tomate, tanto cuando se aplicó solo como cuando se combinó con los HMA.

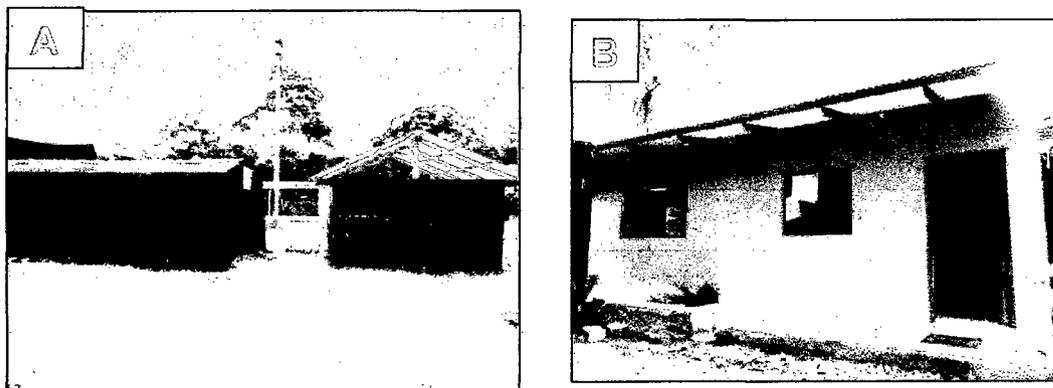
## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Metodología

#### 4.1.1. Ubicación del área de estudio

Se realizó en las instalaciones de vivero (**Figura 4: A**) del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), ubicado en el distrito de Morales – provincia y departamento de San Martín (6° 28' 741", sur, 76° 22' 618" Oeste, 330 m.s.n.m.m). Esta investigación estuvo bajo la supervisión científica de los ingenieros Eybis José Flores García (UNSM), M.Sc. Mike A. Corazón Guivin (IIAP), Geomar Vallejos Torres (IIAP) y Luis A. Arévalo López (IIAP).

Las evaluaciones de las distintas variables estudiadas se realizaron en el Laboratorio de Micorrizas, ubicada dentro del mismo Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), San Martín (**Figura 4: B**).



**Figura 4:** Área de Vivero (A) y área de laboratorio de micorrizas (B), IIAP – San Martín.

#### 4.1.2. Diseño experimental

Cada uno de los 11 tratamientos evaluados tuvo 3 repeticiones, distribuidos en un diseño experimental completamente al Azar (D.C.A). La unidad experimental fue un plantón por bolsa, lo que dio un total de 33 plantones o unidades experimentales.

#### Tratamientos en estudio

		Concentración del inóculo/Plantón	
		HMA	Nematos
		(Esporas)	(Huevos+J2)
T0 =	Testigo infestado con <i>Meloidogyne</i> spp.	00	2000
T1 =	Con HMA de Chirapa (Lamas) mas <i>Meloidogyne</i> spp.	1500	2000
T2 =	Con HMA de Aviación (Lamas) mas <i>Meloidogyne</i> spp.	1500	2000
T3 =	Con HMA de Chontalillo (Lamas) mas <i>Meloidogyne</i> spp.	1500	2000
T4 =	Con HMA de Calzada (Moyobamba) mas <i>Meloidogyne</i> spp.	1500	2000
T5 =	Con HMA de Los Ángeles (Moyobamba) mas <i>Meloidogyne</i> spp.	1500	2000
T6 =	Con HMA de Potrerillo (Moyobamba) mas <i>Meloidogyne</i> spp.	1500	2000
T7 =	Con HMA de Nueva Juventud (Dorado) mas <i>Meloidogyne</i> spp.	1500	2000
T8 =	Con HMA de Buena Vista (Dorado) mas <i>Meloidogyne</i> spp.	1500	2000
T9 =	Con HMA de Monte de los Olivos (Dorado) mas <i>Meloidogyne</i> spp.	1500	2000
T10 =	Testigo absoluto	00	00

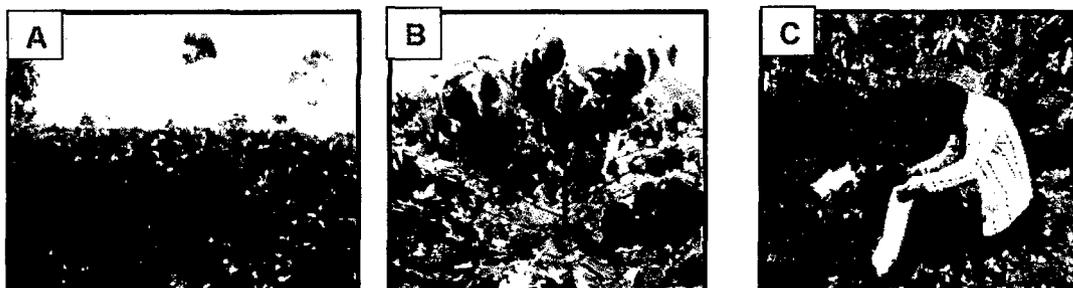
La inoculación con las diferentes fuentes de inóculo se realizó al momento del repique (83 DDS) de las plántulas de café y la infestación con *Meloidogyne* spp., se efectuó a los 140 días después de la inoculación con las diferentes fuentes.



- **Colecta de muestras biológicas (Fuente de inóculo) de HMA nativos.**

Las muestras biológicas (biomasa radicular y suelo rizosférico) fueron colectadas de 27 plantas de cafeto (3 plantas/localidad) variedad caturra, pertenecientes a las tres provincias cafetaleras anteriormente mencionadas.

Se colectó suelo rizosférico (2 kg.) y muestras de raíces (secundarias y terciarias) de la misma planta a una distancia de 30 cm del tallo principal en tres puntos diferentes de 0 – 20 cm de profundidad, siguiendo la metodología propuesta por León (2006) con modificaciones, la cual se depositó en una bolsa plástica con los datos respectivos de colecta con la finalidad de evitar confusión al momento del traslado al sitio donde se realizó la multiplicación de estos hongos, que en este caso fue en las instalaciones del vivero del IIAP-SM.



**Figura 6:** Plantaciones de café (A), selección de plantas etiquetadas (B) y colecta de las muestras biológicas (C).

- **Colecta de granos de cafeto**

La colecta de granos de café (variedad caturra) se realizó de la localidad de Chontalillo – Lamas, considerando algunas características propuestas por Sotomayor, & Duicela (1988), como son la selección de plantas jóvenes, sanas, libres de plagas y enfermedades, para de esta manera poder garantizar la obtención de semillas de buena calidad.



**Figura 7:** Recolección de muestras de semillas de café, variedad caturra.

- **Análisis físico y químico del suelo rizosférico**

Se realizó los análisis físicos-químicos de suelos de los 9 tratamientos estudiados, para determinar su pH, materia orgánica (M.O), niveles de fósforo y nitrógeno, así también su clase textural.

**Cuadro 2:** Análisis físico-químico de suelos de los 9 tratamientos evaluados en las tres provincias (Lamas, Moyobamba, Dorado) de la región San Martín.

N°	MUESTRAS		pH	N %	M.O %	P ppm	K ppm	Arena %	Limo %	Arcilla %	Clase Textural
	PROVINCIA	LOCALIDAD									
1	LAMAS	Chirapa	3,97	0,18	2,15	3,9	50	75	19	6	Fr, A.
2		Aviación	3,22	0,23	5,22	5,1	157	71	17	12	Fr, A.
3		Chontalillo	3,97	0,32	5,36	3,7	146	73	19	8	Fr, A.
4	MOYOBAMBA	Calzada	3,32	0,32	7	3,7	124	61	31	8	Fr, A
5		Los Angeles	4,12	0,55	7,04	4,5	281	31	35	34	Fr, Ar
6		Potrillo	3,41	0,37	5,7	5,4	160	79	17	4	A, Fr
7	EL DORADO	Nueva Juventud	7,01	0,49	6,46	9,4	482	33	41	26	Fr.
8		Buena Vista	5,6	0,43	5,7	5,5	373	33	47	20	Fr.
9		Monte de los Olivos	4,48	0,42	5,49	6,3	147	55	37	8	Fr, A.

Fuente: UNALM, 2014.

- **Análisis físico y químico del suelo de vivero.**

Se realizó el análisis de suelo de vivero para determinar las concentraciones físico-químicas en el que se sembraron los plantones de café.

**Cuadro 3:** Análisis físico-químico del sustrato utilizado en vivero.

<b>Análisis Físico - Químico de suelos</b>								
<b>MUESTRA</b>	<b>pH</b>	<b>M.O %</b>	<b>P ppm</b>	<b>K ppm</b>	<b>Arena %</b>	<b>Limo %</b>	<b>Arcilla %</b>	<b>Clase Textural</b>
<b>Vivero: M-01</b>	5.31	2.38	3.9	114	75	11	14	Fr.A.

**Fuente:** UNALM, 2014.

#### **4.1.3.2. Fase de vivero**

- **Multiplicación de HMA nativos**

La multiplicación de la fuente de inóculo se realizó en 09 camas almacigueras, conteniendo las diferentes fuentes de inóculo de HMA nativos que previamente habían sido colectados de las fincas cafetaleras de las tres provincias ya mencionadas, estas fuentes fueron mezcladas con arena lavada de río en proporción de 40:60, así mismo se utilizó maíz (*Zea mays* L.) como planta trampa a una distancia de 20 cm entre surcos y se fertilizó de acuerdo a los periodos ya establecidos, que consistió en una 1ª aplicación con urea, superfosfato y cloruro de potasio con una cantidad de 10 g de cada una por metro cuadrado; así mismo a los 30 dds se realizó una 2ª aplicación de urea con una cantidad de 40 g el mismo que se volvió a repetir a los 45 dds. A los 60 dds se suspendió el riego a las plantas de maíz y a los 20 después de esta, se procedió al corte de las plantas con la

finalidad de ocasionar en ellas un estrés hídrico, para así las esporas que se encontraron colonizando las plantas de maíz, en afán de sobrevivir empieza el proceso de esporulación e incrementen la cantidad de esporas que hubo en un inicio el cual tuvo en promedio 200 esporas/10g suelo y al final se llegó a obtener una fuente de inóculo con una cantidad de 1069 esporas/10g suelo, obteniéndose un incremento de hasta 5 veces la cantidad inicial, en un periodo de 80 días después de la siembra de los granos de maíz (Web: Los Biofertilizantes, s.f.).



**Figura 8:** Camas multiplicadoras de los HMA en planta trampa (*Zea mays*)

- **Cama almaciguera de plantas de café**

Las camas almacigueras disponían de sustrato (arena de río) previamente esterilizado a razón de 10 litros de agua hervida por metro cuadrado. La siembra de los granos de café se realizó colocando estos en posición ventral con la ranura hacia abajo a una distancia de 1 cm, posteriormente estos granos fueron cubiertos con una capa de arena de 2 cm (metodología propuesta por Sotomayor, & Duicela, 1988, con modificaciones). Luego de 43 días después de la siembra se llegó a obtener un porcentaje de emergencia de un 88,75%.



**Figura 9:** Cama germinadora de las semillas de cafeto

- **Repique e inoculación con HMA nativos a los plantones de cafeto**

El repique y la inoculación se realizó a los 40 días después de la emergencia siguiendo la metodología propuesta por Colozzi, Siqueira, Saggin, Gumaraes & Oliveira (1994) con modificaciones, en la que se colocó las plántulas de cafeto traídas de la cama germinadora en bolsas almacigueras de polietileno de 3 kilogramos, el cual contenía sustrato estéril (tierra negra + arena de río), en una proporción 2:1 y se inóculo con una mezcla de fragmentos de raíces de maíz (70 % de colonización en promedio) y suelo, de cada fuente de inóculo obtenido de los cultivos trampa, a razón de 1500 esporas por cada plantón de vivero.



**Figura 10:** Repique e inoculación de los plantones de cafeto con HMA nativos

Después de la inoculación se realizó 2 test de porcentaje de colonización, en uno de los tratamientos (T8) que mejor respuesta daba en altura de planta, llegándose a obtener en el 1° test (2 meses después de la inoculación con HMA nativos) un promedio de 8% de colonización el cual era muy bajo para el promedio que se quiso alcanzar, ya que en uno de sus trabajos Cooper (1984, citado en Siqueira, Colozzi, Oliveira, Fernandes & Florence ,1987) hacen referencia que para causar una respuesta fisiológica positiva en plantas de cafeto micorrizadas, estas tienen que tener un porcentaje de un 20% a 30%. Es por ello que se tuvo que esperar más tiempo, llegándose a obtener resultados positivos en el 2° test (2 meses y 20 días después del 1° test) que fue de un 21,17 % de colonización en un lapso total de 140 días, este dato nos sirvió para proceder a realizar el siguiente paso, el cual era la infestación de los plántones de café con *Meloidogyne* spp.

- **Colecta, preparación y aplicación de la fuente de inóculo (*Meloidogyne* spp.) en plántones de cafeto.**

#### **Colecta de raíces infestadas por *Meloidogyne* spp.**

Se colectó raíces infectadas de plantas de cafeto (Figura 10: A) de una de las parcelas de Lamas, en este caso Chirapa que presentó un alto porcentaje de infección causado por *Meloidogyne* en plantas de café ya establecidas en campo. Luego estas muestras fueron llevadas al laboratorio de Micorrizas del IIAP-SM donde se seleccionaron las raicillas que mostraban ciertas nodulaciones y daños por nematodos (Figura 10: B), luego se procedió a lavarlas quitándole así la

suciedad (Figura 10: C), y por último se obtuvo las raicillas de café limpias y con bastantes agallas (Figura 10: D), las cuales se colocaron en papel toalla para su secado y previo proceso de preparación.



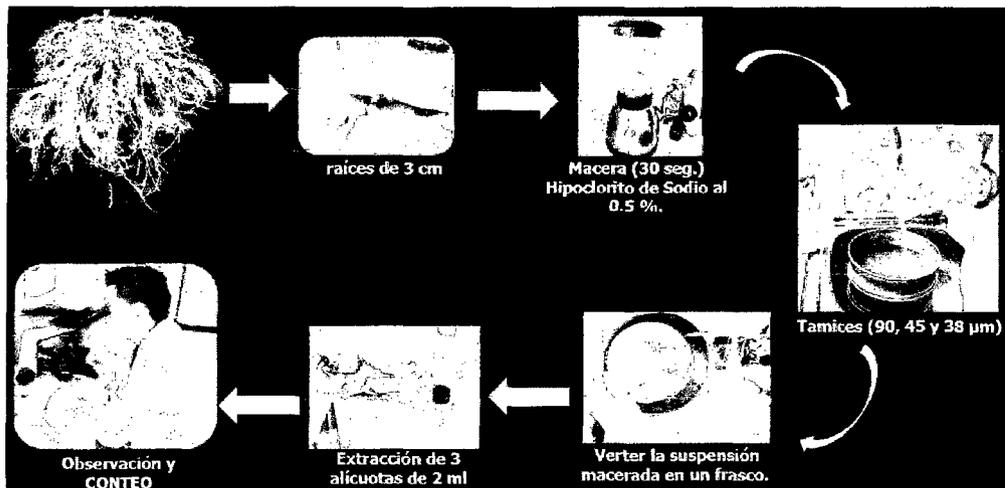
**Figura 11:** Colecta de muestras de raíces infectadas con nematodos *Meloidogyne* spp.

#### **Preparación de Fuente de Inóculo a base de *Meloidogyne* spp.**

La preparación del inóculo con el nematodo *Meloidogyne* se realizó siguiendo la metodología propuesta por Rojas & Salazar (2013), con modificaciones.

Se tomaron raíces de café previamente lavadas que contenían gran cantidad de agallas y se cortaron en trozos de aproximadamente 3 cm de longitud, los que se maceraron en una licuadora por un período de 30 segundos en una solución de Hipoclorito de sodio (0.5%). Posteriormente el material macerado se pasó a través de un juego de tamices de 90  $\mu\text{m}$ , 45  $\mu\text{m}$  y 38  $\mu\text{m}$ , con la finalidad de retener en los dos últimos tamices (45  $\mu\text{m}$  y 38  $\mu\text{m}$ ), huevos y juveniles de *Meloidogyne* spp. Después de realizar varias extracciones hasta obtener la cantidad de inóculo necesaria para todos los tratamientos, siguiendo el procedimiento anterior, se acumuló el contenido en un frasco de vidrio de 1 litro, para posteriormente homogenizarlo y por medio del conteo de 3 alícuotas de 2 mL, obtener un

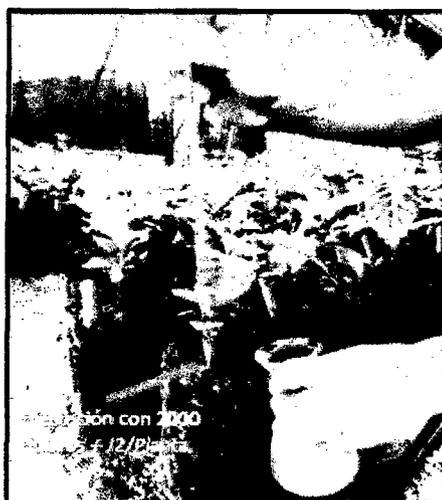
promedio del número de huevos y estadios juveniles por mL de la solución. Dicho conteo se realizó con la ayuda de un microscopio binocular a 4X de aumento.



**Figura 12:** Proceso de preparación del inóculo *Meloidogyne* spp

### **Aplicación de Fuente de Inóculo a base de *Meloidogyne* spp.**

La infestación con nematodos a los plantones de los diferentes tratamientos se realizó después de 140 días de haber inoculado las plantas de café con los HMA nativos, en una proporción de 2000 huevos+J2/plántula de cafeto, según metodología propuesta por Ferreira y Crozzoli (1995, citado en Rojas & Salazar, 2013) con modificaciones. La aplicación se realizó utilizando una pipeta con el cual se extraían los 5 mL conteniendo el inóculo, luego se hizo un orificio de aproximadamente 1 cm de profundidad sobre la superficie y se procedió a la aplicación del inóculo alrededor de las plántulas de cafeto.



**Figura 13:** Aplicación de fuente de Inóculo a base de *Meloidogyne* spp., a cada plantón.

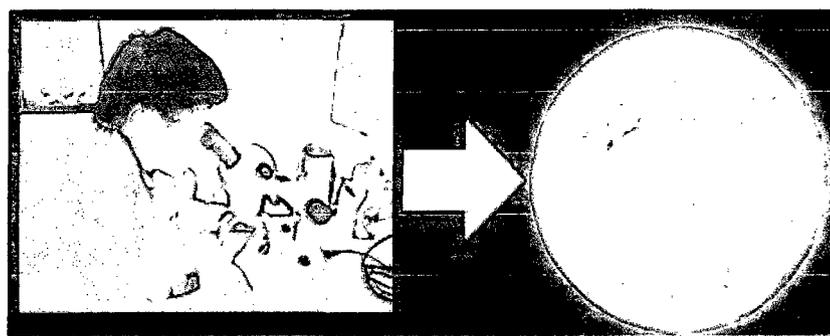
#### **4.1.3.3. Fase de Laboratorio.**

- **Identificación y Cuantificación de esporas de HMA nativos.**

La cuantificación de esporas de HMA nativos, se realizó mediante la técnica del tamizado húmedo y decantación, para los suelos rizosféricos provenientes de las diferentes provincias, siguiendo la metodología propuesta por León (2006), con modificaciones. Se realizó 2 cuantificaciones, la primera para saber la densidad de esporas de las muestras que se trajo de campo, el cual fue de 200 esporas en promedio y la segunda fue para determinar la cantidad de esporas antes de su inoculación a los plantones de cafeto, el cual tuvo en promedio 1069 esporas.

El procedimiento consistió en pesar 10 g de muestra de suelo y disolverlo en suficiente agua, para luego vaciarlo en un frasco de aproximadamente 5 L, el mismo que fue llenado con agua hasta el 80% de su capacidad y agitado por 10 segundos, luego se dejó reposar la mezcla por 30 segundos y seguidamente se vació el sobrenadante sobre los tamices de 250 y 38 micras, repitiendo el mismo

procedimiento 5 veces y descartando lo que sobraba en el frasco. Luego se lavó cada tamiz y el sobrenadante del primero (250  $\mu\text{m}$ ) fue colocado en una placa Petri, a su vez el sobrenadante del segundo (38  $\mu\text{m}$ ) se colocó en un tubo de falcon en el que previamente fue colocado 20 ml de azúcar al 20 %, seguido de 20ml de azúcar al 60% y guardado en refrigeración hasta llegar a terminar el ensayo con todas las muestras. Estos tubos fueron centrifugados a 2400 rpm/ 4 minutos para precipitar partículas de suelo y suspender las esporas hasta la interface entre los dos azúcares. Por último el tubo falcon fue retirado cuidadosamente de la centrifuga, colocando el sobrenadante sobre el tamiz de 38 micras, para proceder a lavar con agua corriente y eliminar la sacarosa, dejando solamente las esporas, el cual fue vaciado en una placa Petri, para luego ser observado en un microscopio estereoscópico a 3X de aumento.

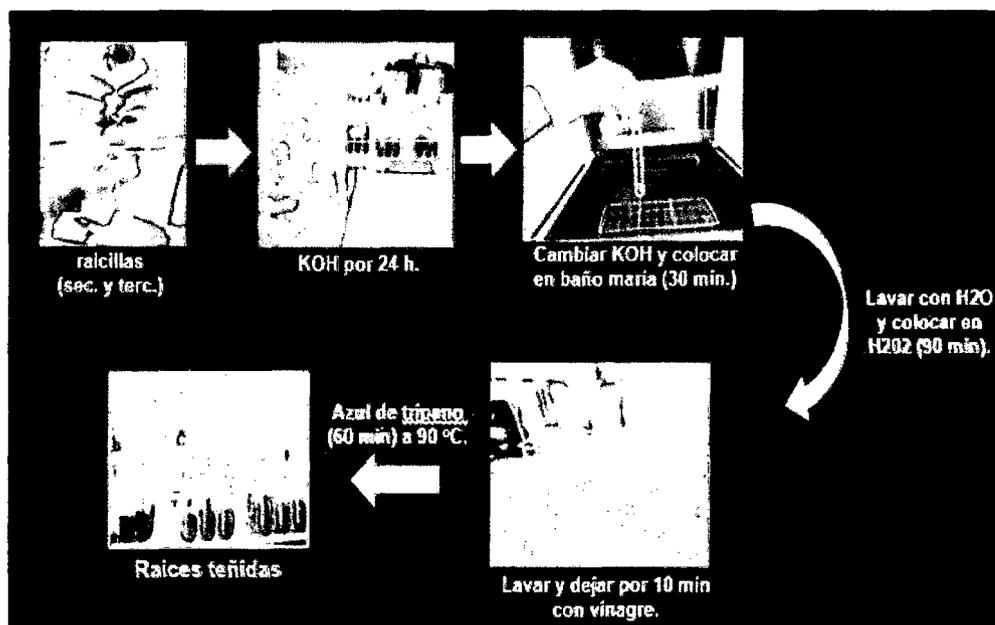


**Figura 14:** Observación de esporas de HMA en suelo rizosférico proveniente de fincas de café.

- **Tinción de raíces de plantas de café**

La tinción se realizó de acuerdo con la técnica de Phillips y Hayman (1970) con modificaciones. Para esto las raíces fueron puestas en tubos de ensayo de 16x150 mm conteniendo una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% hasta cubrir

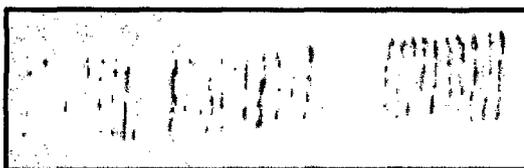
la muestra, las cuales se dejaron en KOH por 24 horas. Después fueron colocadas en baño maría a 90°C durante 30 minutos con la finalidad de remover el contenido citoplasmático y clarificar el tejido cortical, luego se lavó tres veces con agua corriente hasta eliminar todo el KOH. Posteriormente las raíces fueron sumergidas en agua oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) durante 90 minutos a temperatura ambiente, para aclarar los pigmentos de la raíz, luego se lavaron con vinagre blanco de 2-3 veces para acidificar las muestras y se dejó en vinagre por 10 minutos. Finalmente las raíces fueron sumergidas en tinte azul de trypano (0.25%), y colocadas en baño maría a 90°C durante 60 minutos, después del tiempo transcurrido estas fueron lavadas entre 2-3 veces con vinagre para eliminar el exceso de tinta. Por último las raíces teñidas fueron conservadas en vinagre blanco, hasta su evaluación.



**Figura 15:** Proceso de tinción de raíces de café.

- **Técnica sistemática de portaobjeto**

Sobre una lámina porta objetos se colocó 10 segmentos de raíces teñidas de aproximadamente de 1 cm. en forma vertical, cuidadosamente amasados, con la finalidad de facilitar la observación del tejido interno, sobre estas raíces se adicionó gotas de lactoglicerol. Las observaciones se realizaron a 40X de aumento en un microscopio binocular, donde se registró el porcentaje de colonización. Metodología propuesta por León (2006) con modificaciones.



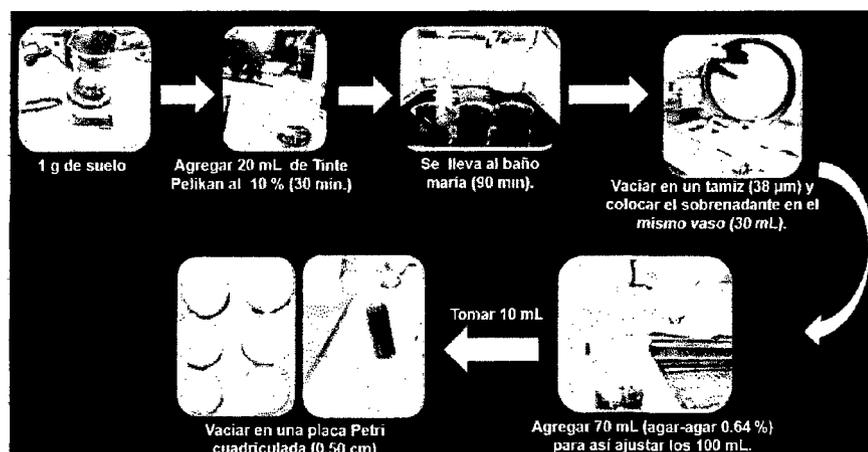
**Figura 16:** segmentos de raíces teñidas (30 raíces)

- **Tinción de Micelio Extraradical de HMA nativos.**

El MER constituye la interface activa entre el suelo y la planta, y se considera la estructura más importante para el cumplimiento de la función de la micorriza en cuanto a captación de nutrientes y agua (Whittingham & Read, 1982, citado en Robles, 2009). La determinación de su longitud por unidad de masa de suelo es un indicador del posible beneficio que reciben las plantas de esta estructura y de su contribución al mejoramiento de las propiedades físicas del suelo (Tisdall, 1991, citado en Robles, 2009).

El procedimiento consistió en pesar 1 g de suelo previamente secado al aire y colocarlo en un vaso precipitado de 200 mL, al cual se le agregó una pequeña cantidad de vinagre y se dejó por de 10 minutos, esto fue para dispersar los agregados del suelo y acidificar los segmentos de micelios. Así mismo se agregó

20 mL de solución de PELIKAN al 10% disuelto en ácido acético y se dejó a T° ambiente por 30 minutos. Seguidamente se enrazó hasta los 100 mL con agua destilada y se colocó en baño maría (90 °C) por un periodo de 90 minutos, siendo ésta agitada constantemente. Para eliminar las fracciones más finas del suelo la mezcla resultante se pasó por tamices con diferente luz de malla (38 µm), el material retenido en ambos tamices fue depositado nuevamente en el mismo vaso precipitado con una cantidad de 30 mL de agua destilada. Posteriormente se volvió a llevar las muestras a baño maría (90°C) por 1 minuto y se enrazó hasta los 100 mL (agregando 70 ml con agar-agar al 0.64%), esta solución se dejó por aproximadamente 5 minutos más en baño maría (90°C), obteniendo al final una concentración de solución de agar-agar al 0.45 %. En el baño maría se agitó la mezcla para homogeneizar la suspensión y con la ayuda de una jeringa se tomó 10 mL, el cual se depositó homogéneamente, en una placa Petri y se dejó enfriar hasta la formación de un gel semisólido, el cual posteriormente se llevó a observar en un microscopio estereoscópico a 5X de aumento, colocando en la base de la placa una rejilla cuadrículada de exactamente 0.5 cm<sup>2</sup>.



**Figura 17:** Proceso de tinción de micelio extraradical.

#### 4.1.4. Variables Estudiadas.

##### 4.1.4.1. Variables Biológicas

###### A. Porcentaje de colonización Micorrízica.

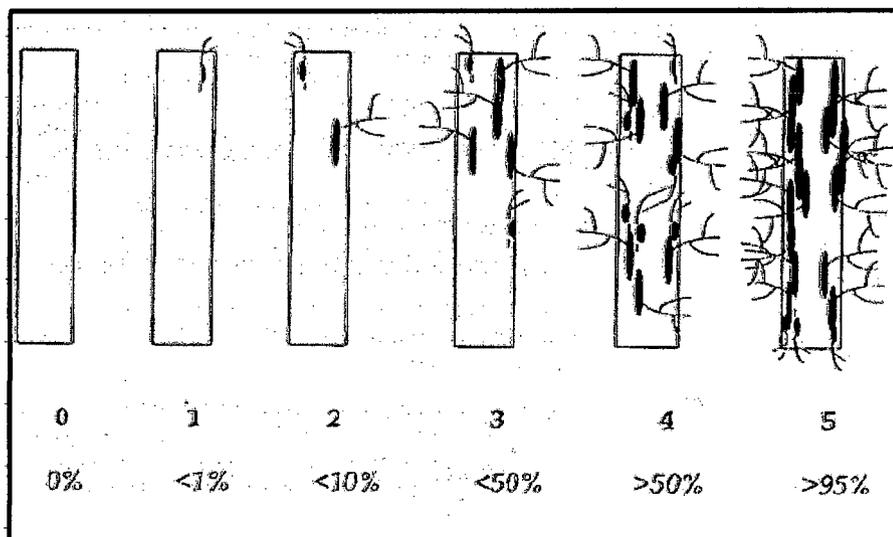
Se realizó utilizando raíces tiernas (secundarias y terciarias) de cafeto, siguiendo la metodología de tinción de raíces propuesta por Phillips y Hayman (1970) y el protocolo de la técnica sistemática de porta objetos propuesta por León (2006) con modificaciones.

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

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

N= Número total de segmentos observados

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



**Figura 18:** Escala gradual de intensidad de colonización, según Trouvelot *et al.*, (1986, citado en Gañán *et al.*, 2011).

## B. 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) con modificaciones. En la cual las muestra que previamente fueron preparadas siguiendo la metodología de tinción de micelio extraradical, fueron llevados a un microscopio estereoscópico de 5X, en la cual se contaron las intersecciones hifa-línea y se trasformaron a longitud de micelio por unidad de peso de suelo utilizando la fórmula de Newman, (1966, citado en Robles, 2009).

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

R= Longitud de micelio por unidad de peso de suelo

A= Área de la placa

N= Número de intersecciones

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



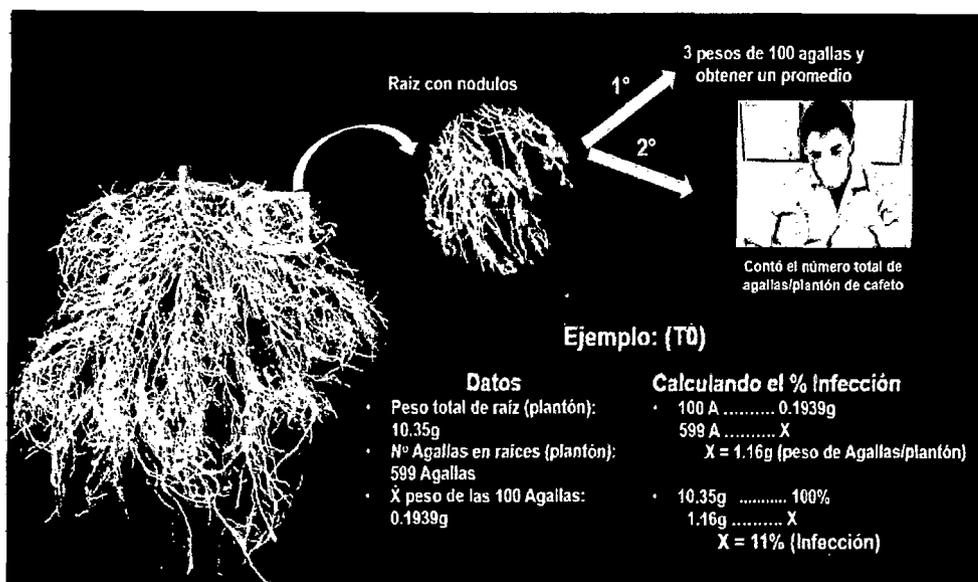
**Figura 19:** Observación de los segmentos de micelios a 5X en un microscopio estereoscópico.

### C. Porcentaje de infección por *Meloidogyne* spp.

La determinación del porcentaje de infección causado por *Meloidogyne* spp., en el sistema radicular de las plantas de cafeto, se realizó mediante una escala cuantitativa de infección radical propuesta por Taylor y Sasser (1983, citado en Gelpud *et al.*, 2011) y a la vez tomando los grados de reacción de estos, se pudo obtener una escala de resistencia (Sañudo *et al.*, 2003; Sharma *et al.*, 2006, citado en Gelpud, *et al.*, 2011), siendo estas probadas para el nematodo *Meloidogyne* sp en el cultivo de tomate (Cuadro 4). El cálculo del porcentaje de infección consistió en pesar 3 repeticiones de 100 agallas para así obtener un promedio (0.1939 g), luego se contó la cantidad de agallas presentes en cada plantón de cafeto y se comparó con el promedio de las 100 agallas, finalmente para obtener el porcentaje de infección se tuvo que comparar el peso fresco total del sistema radicular con el peso total de las agallas presentes en cada plantón de cafeto (Figura 20).

**Cuadro 4:** Escala cuantitativa y de resistencia de infección radical causado por *Meloidogyne* sp.

<b>Grado de Infección</b>	<b>% de Infección</b>	<b>Clasificación</b>
0	0 %	Inmune (I)
1	1 – 10 %	Resistente (R)
2	11 – 25 %	Moderadamente resistente (MR)
3	26 – 50 %	Moderadamente susceptible (MS)
4	51 – 75 %	Susceptible (S)
5	76 – 100 %	Altamente susceptible (AS)
(Taylor y Sasser, 1983)		(Sañudo <i>et al.</i> , 2003; Sharma <i>et al.</i> , 2006)



**Figura 20:** Procedimiento para determinar el porcentaje de infección en raíces de cafeto ocasionado por *Meloidogyne* spp.

#### 4.1.4.2. Variables Morfológicas

##### A. Altura de planta

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



**Figura 21:** Medición de las alturas de plantas de cafeto

## **B. Área Foliar**

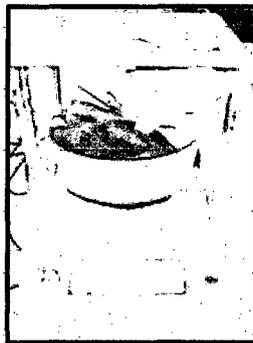
Para esta evaluación se tomaron fotografías de 3 plantones de cafeto representativos por cada tratamiento (Figura 5: A), tomando fotografías de todos los pares de hojas verdaderas con que contaba cada plantón (Figura 5: B), luego estas hojas fueron llevadas a un programa de computadora llamado "ASSESS, Image Analysis software for plant disease quantification", el cual nos permitió obtener un dato más exacto sobre el área foliar de los plantones. Metodología propuesta por Leiva (2009) con modificaciones.



**Figura 22:** Fotografías para determinar el área foliar de cada plantón de cafeto.

### **C. Peso seco de la biomasa aérea.**

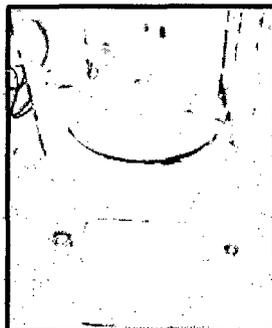
Para la evaluación de la variable peso seco de la biomasa aérea, se tomaron 3 plántones previamente lavados y se cortaron en dos partes separando la parte aérea de la parte radicular; tomando únicamente la parte aérea, del cual se llegó a obtener un peso fresco, siendo luego llevada a una estufa con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



**Figura 23:** Peso seco de la biomasa aérea

### **D. Peso seco del sistema radicular.**

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



**Figura 24:** Peso seco del sistema radicular

#### **4.1.5. Análisis estadístico**

Todos los datos obtenidos de las diferentes variables de estudio, fueron ordenados y sometidos a su análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa estadístico Statistics Program Service System (SPSS) versión 22. Se aplicó una comparación de medias por la prueba de Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

## V. RESULTADOS

### 5.1. Variables Biológicas

**Cuadro 5:** Análisis de varianza para el **Porcentaje de Colonización Micorrízica** en plantones de café bajo la aplicación de *Meloidogyne* spp. Datos transformados "ASeno ( $\times/100$ )".

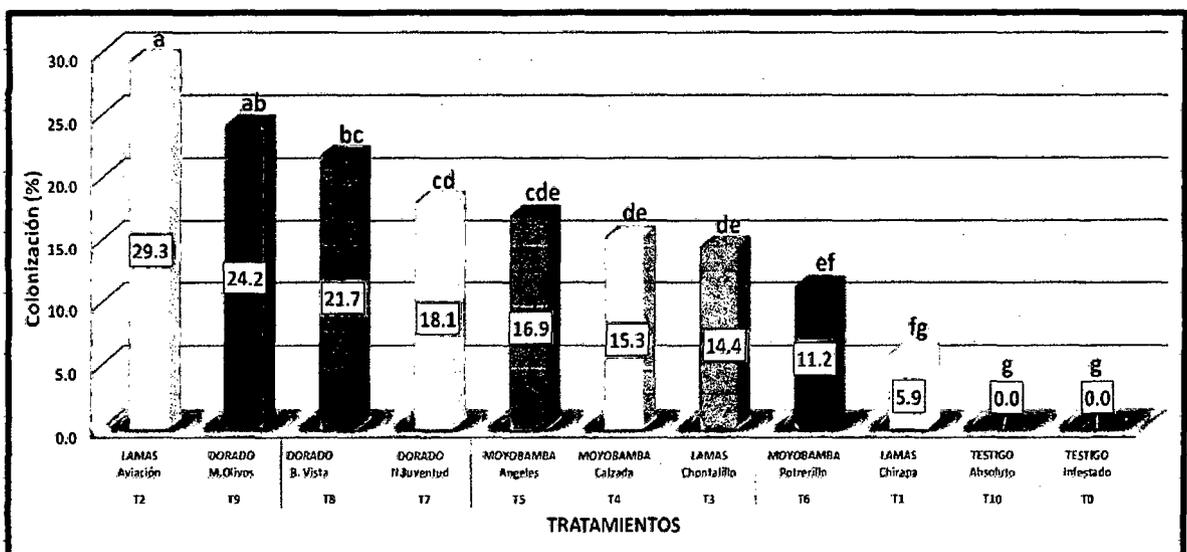
Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F.C.	P - valor Sig.
<b>Tratamientos</b>	0.274	10	0.02700	66.677	<0.0001**
<b>Error experimental</b>	0.009	22	0.00041		
<b>Total</b>	0.283	32			

\*\*= Altamente Significativo

C.V = 0.14 %

R<sup>2</sup> = 96.8 %

$\bar{X}$  = 14.28 %



**Gráfico 1:** Prueba de *tukey* ( $p < 0.05$ ) para el porcentaje de colonización micorrízica bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de *Meloidogyne* spp. Fueron evaluados a los 90 días de haberse realizado la infestación.

**Cuadro 6:** Análisis de varianza para Longitud de Micelio Extraradical (MER) en suelo de plantones de café bajo la aplicación de *Meloidogyne* spp.

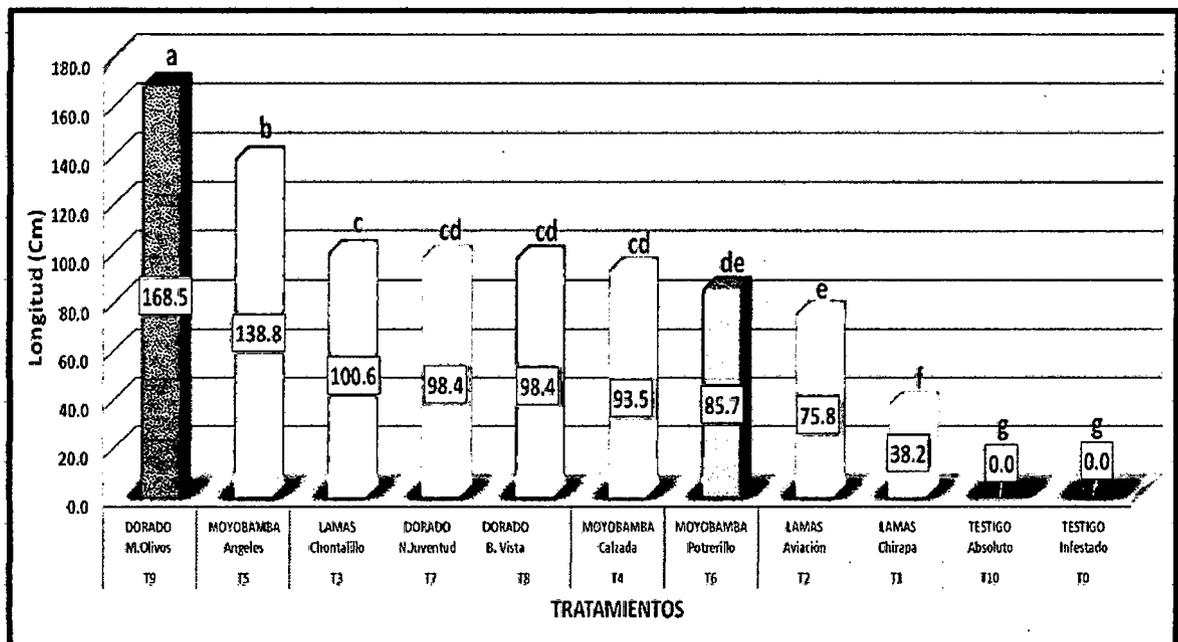
Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F.C.	P - valor Sig.
Tratamientos	81443.888	10	8144.389	340.474	<0,0001**
Error experimental	526.257	22	23.921		
Total	81970.145	32			

\*\*= Altamente Significativo

C.V = 5.99 %

R<sup>2</sup> = 99.4 %

$\bar{X}$  = 81.63 cm



**Gráfico 2:** Prueba de *tukey* ( $p < 0.05$ ) para la Longitud de Micelio Extraradical (MER) bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de *Meloidogyne* spp. Fueron evaluados a los 90 días de haberse realizado la infestación.

**Cuadro 7:** Análisis de varianza para **Porcentaje de Infección por *Meloidogyne* spp** en raíces de plantones de café inoculados con HMA nativos. Datos transformados "ASeno (x/100)".

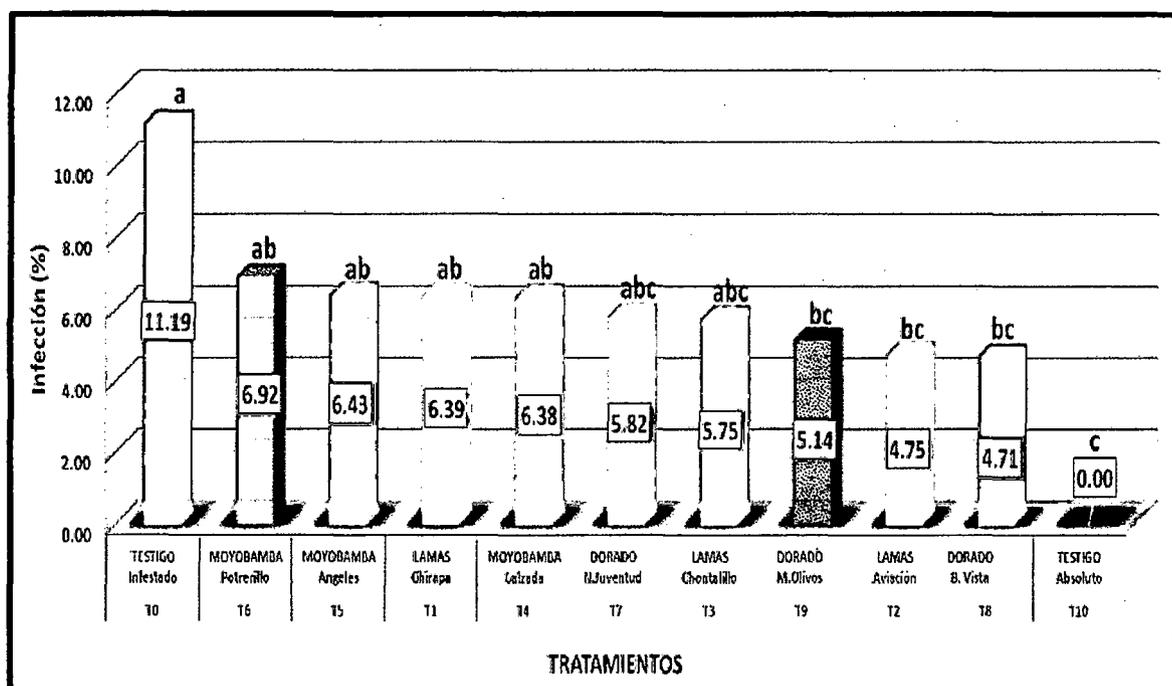
Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F.C.	P - valor Sig.
Tratamientos	0.020	10	0.00200	4.978	<0,001**
Error experimental	0.009	22	0.00041		
Total	0.029	32			

\*\*= Altamente Significativo

C.V = 0.35 %

R<sup>2</sup> = 69.4 %

X̄ = 5.77 %



**Gráfico 3:** Prueba de *tukey* ( $p < 0.05$ ) para el **Porcentaje de Infección del sistema radicular** bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de *Meloidogyne* spp. Fueron evaluados a los 90 días de haberse realizado la infestación.

## 5.2. Variables Morfológicas

**Cuadro 8:** Análisis de varianza para altura de planta en respuesta a la inoculación con HMA nativos e infestación con *Meloidogyne* spp.

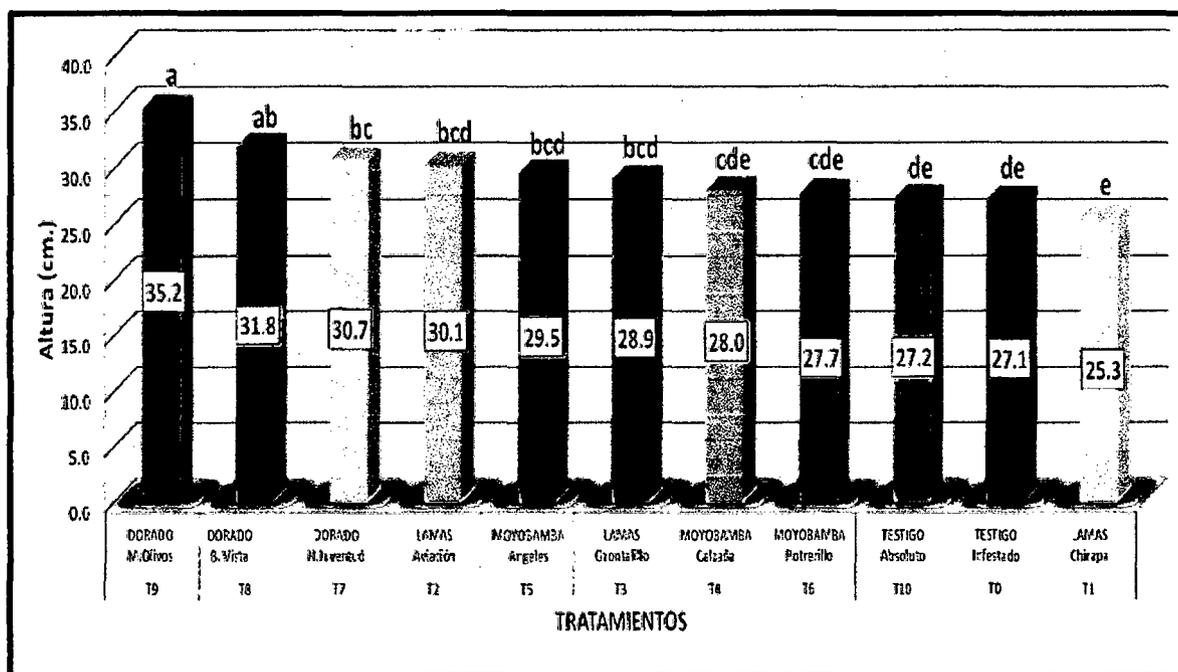
Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F.C.	P - valor Sig.
Tratamientos	220.319	10	22.032	15.944	<0,0001**
Error experimental	30.400	22	1.382		
Total	250.719	32			

\*\*= Altamente Significativo

C.V = 4.02 %

R<sup>2</sup> = 87.9 %

$\bar{X}$  = 29.2 cm



**Gráfico 4:** Prueba de *tukey* ( $p < 0.05$ ) para la **Altura de Planta** bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de *Meloidogyne* spp. Fueron evaluados a los 15 días de haberse realizado la infestación.

**Cuadro 9:** Análisis de varianza para el Área Foliar de plántulas de café inoculadas con HMA nativos e infestados con *Meloidogyne* spp.

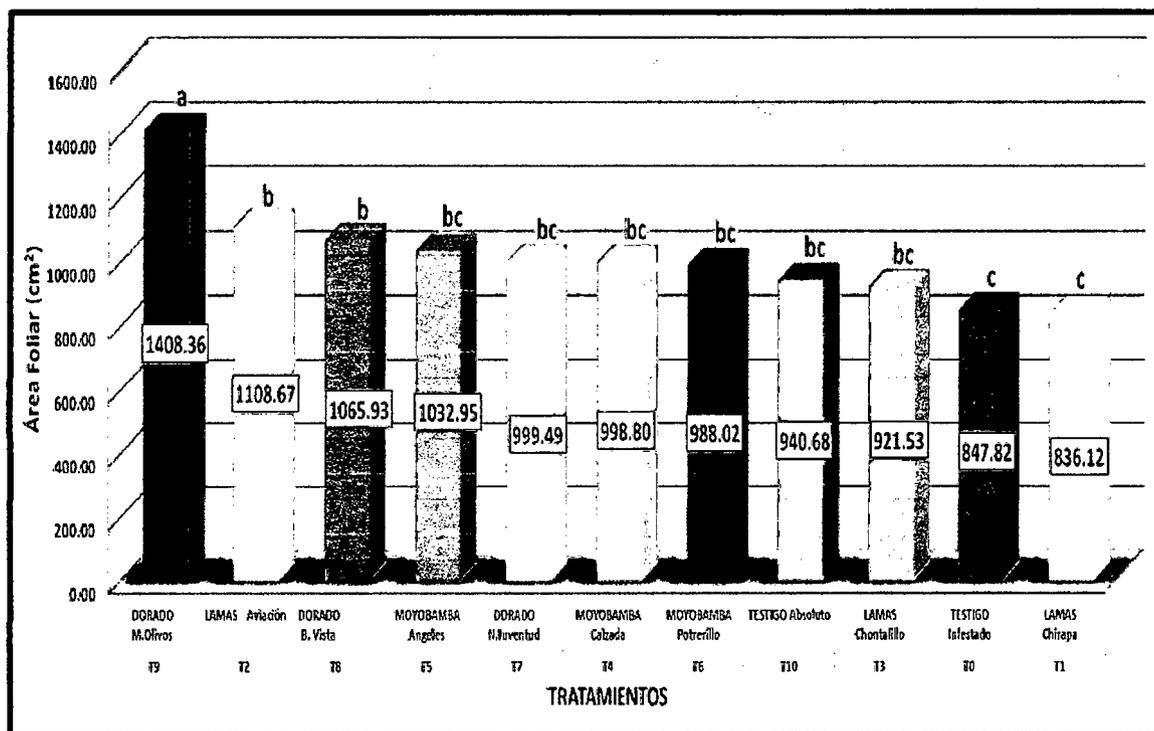
Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F.C.	P - valor Sig.
<b>Tratamientos</b>	725496.237	10	72549.624	14.937	<0,0001**
<b>Error experimental</b>	106853.279	22	4856.967		
<b>Total</b>	832349.515	32			

\*\*= Altamente Significativo

C.V = 6.88 %

R<sup>2</sup> = 87.2 %

$\bar{X}$  = 1013.49 cm<sup>2</sup>



**Gráfico 5:** Prueba de *tukey* ( $p < 0.05$ ) para el Área Foliar bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de *Meloidogyne* spp. Fueron evaluados a los 90 días de haberse realizado la infestación.

**Cuadro 10:** Análisis de varianza para el peso seco de la biomasa aérea de plántulas de café inoculadas con HMA nativos e infestadas con *Meloidogyne* spp.

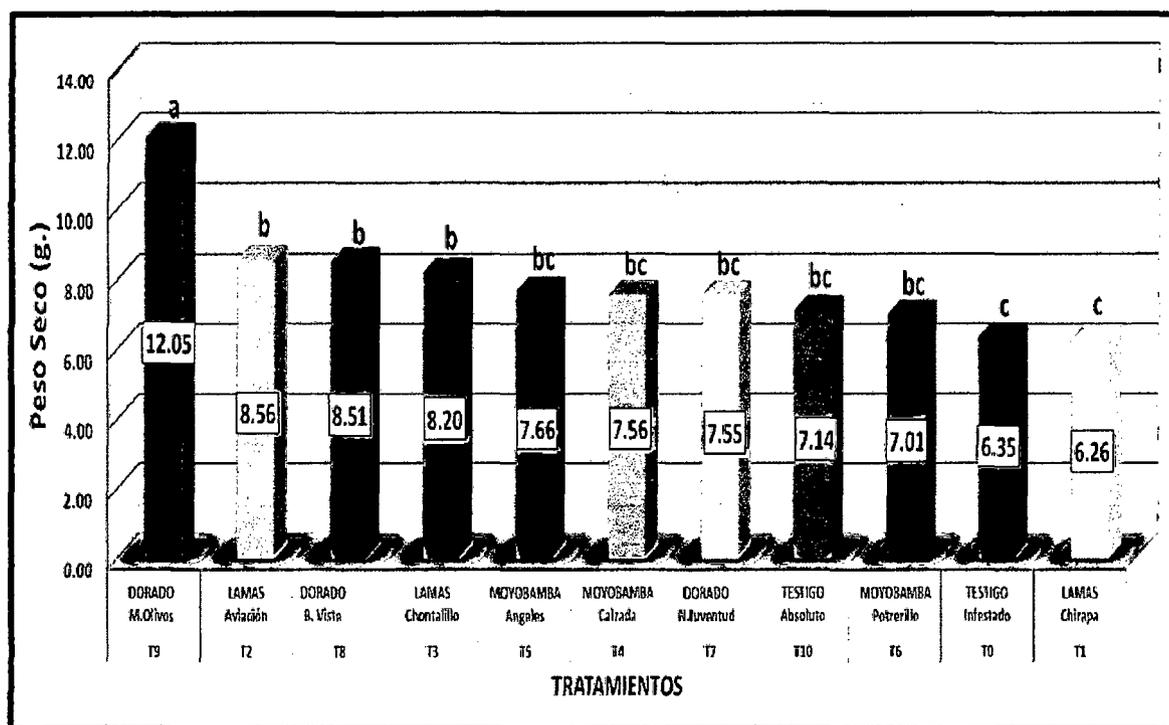
Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F.C.	P - valor Sig.
Tratamientos	74.710	10	7.471	19.087	<0,0001**
Error experimental	8.611	22	0.391		
Total	83.321	32			

\*\*= Altamente Significativo

C.V = 7.92 %

R<sup>2</sup> = 89.7 %

$\bar{X}$  = 7.90 g



**Gráfico 6:** Prueba de *tukey* ( $p < 0.05$ ) para el **Peso seco de la biomasa aérea** bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de *Meloidogyne* spp. Fueron evaluados a los 90 días de haberse realizado la infestación.

**Cuadro 11:** Análisis de varianza para el peso seco del sistema radicular de plántulas de café inoculadas con HMA nativos e infestadas con *Meloidogyne* spp.

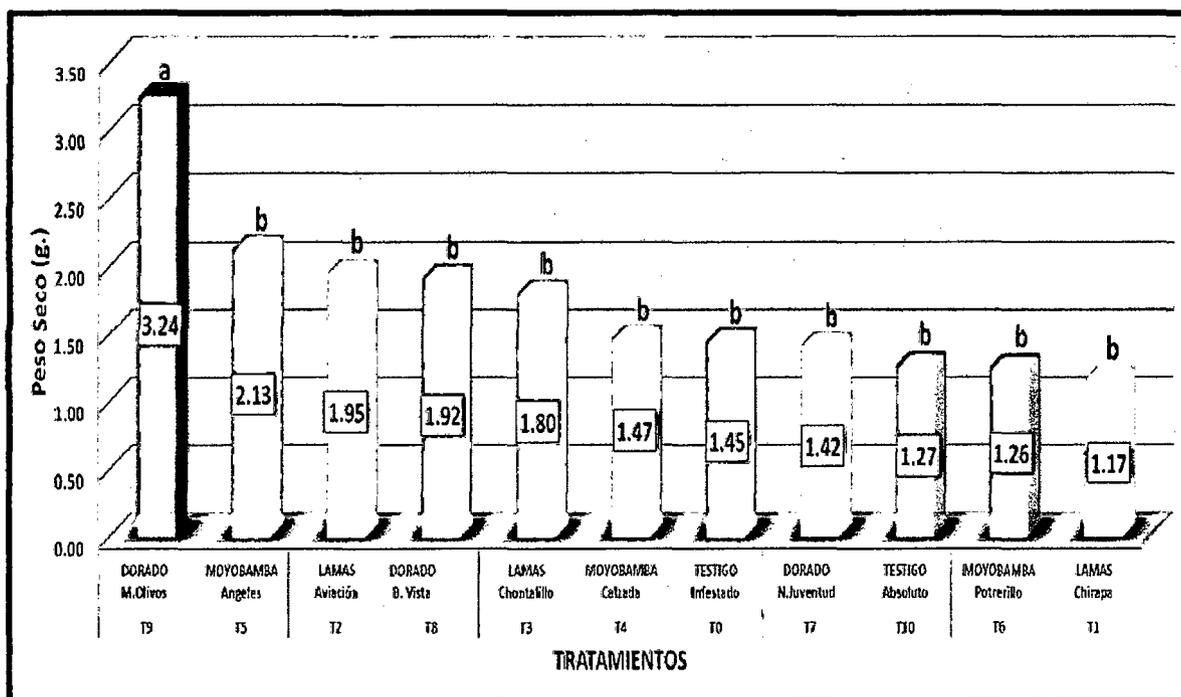
Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F.C.	P - valor Sig.
Tratamientos	10.569	10	1.057	9.381	<0,0001**
Error experimental	2.478	22	0.113		
Total	13.047	32			

\*\*= Altamente Significativo

C.V = 19.38 %

R<sup>2</sup> = 81 %

$\bar{X}$  = 1.73 g



**Gráfico 7:** Prueba de *tukey* ( $p < 0.05$ ) para el **Peso seco del sistema radicular** bajo el efecto conjunto: inóculos de HMA nativos e inóculo de *Meloidogyne* spp. Fueron evaluados a los 90 días de haberse realizado la infestación.

**Cuadro 12:** Efecto de los tratamientos sobre las diferentes variables biológicas y morfológicas estudiadas.

Trat.	VARIABLES BIOLÓGICAS			VARIABLES MORFOLÓGICAS			
	Colonización (%)	MER (Cm)	Infección %	Altura de planta (cm)	Área Foliar (Cm <sup>2</sup> )	Pesos Secos (g.)	
						Biomasa Aérea	Sistema Radicular
T0	0.00 g	0.00 g	11.19 a	27.1 de	847.82 c	6.35 c	1.45 b
T1	5.89 fg	38.24 f	6.39 ab	25.3 e	836.12 c	6.26 c	1.17 b
T2	29.33 a	75.78 e	4.75 bc	30.1 bcd	1108.67 b	8.56 b	1.95 b
T3	14.45 de	100.56 c	5.75 abc	28.9 bcd	921.53 bc	8.20 b	1.8 b
T4	15.28 de	93.48 cd	6.38 ab	28 cde	998.8 bc	7.56 bc	1.47 b
T5	16.95 cde	138.80 b	6.43 ab	29.5 bcd	1032.95 bc	7.66 bc	2.13 b
T6	11.24 ef	85.69 de	6.92 ab	27.7 cde	988.02 bc	7.01 bc	1.26 b
T7	18.05 cd	98.44 cd	5.82 abc	30.7 bc	999.49 bc	7.55 bc	1.42 b
T8	21.72 bc	98.44 cd	4.71 bc	31.8 ab	1065.93 b	8.51 b	1.92 b
T9	24.17 ab	168.55 a	5.14 bc	35.2 a	1408.36 a	12.05 a	3.24 a
T10	0.00 g	0.00 g	0.00 c	27.2 de	940.68 bc	7.14 bc	1.27 b
<b>Prom.</b>	<b>14.28</b>	<b>81.63</b>	<b>5.77</b>	<b>29.2</b>	<b>1013.49</b>	<b>7.9</b>	<b>1.73</b>

## VI. DISCUSIONES

### 6.1. Variables Biológicas

#### 6.1.1. Porcentaje de colonización micorrízica.

El análisis de varianza (**cuadro 5**) para el porcentaje de colonización micorrízica obtenido en los 11 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 14.28%, con un coeficiente de variabilidad de 0.14% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 96.8%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey (**Gráfico 1**) muestra que los tratamientos más sobresalientes estadísticamente a diferencia de los testigos fueron el T2 con 29.3%, seguidamente de los tratamientos T9 y T8 con valores estadísticamente diferentes de 24.2% y 21.7% respectivamente. Contrario a esto fue el T1 el que presentó el menor porcentaje con 5.9%, mientras que los testigos T0 y T10 tuvieron valores de 0% de colonización en raíces, dado que estos tratamientos no fueron inoculados con los HMA nativos.

Que el porcentaje de colonización se haya reflejado más en algunos tratamientos (T2, T9 y T8), puede estar influenciada en gran medida por el pH, ya que el sustrato con el que se trabajó en vivero contenía un pH de 5.31, y según **Barea y Jeffries (1994, citado en León, 2006)** los HMA se pueden adaptar a varios tipos de pH pudiéndoles encontrar en suelos con pH que van desde 2.7 – 9.2, teniendo respuestas positivas a pH ácidos como alcalinos dependiendo de las especies o géneros; esto nos demuestra que los tratamientos que presentaban una baja

colonización, contenían una deficiente composición de especies o géneros que no se podían adaptar con facilidad al pH del suelo de vivero, a diferencia de los tratamientos T2 (Lamas), T9 y T8 (Dorado), quienes respondieron positivamente a dicha simbiosis planta-Hongo, obteniendo los más altos porcentajes de colonización. Los resultados reflejados en esta variable tienen cierta similitud con lo encontrado por **Carbajal, (2009)** quien también obtuvo una buena respuesta en porcentaje de colonización (53.3%) por parte de los HMA 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 infestados con nematodos; contrario a ello **Alban et al., (2013)** trabajando con plantas de café a nivel de vivero, encontraron que no 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%) no se dio en plantas de café micorrizadas en un inicio, sino más bien en plantas que fueron infestadas con nematodos y después de 12 días inoculadas con los HMA, pudiendo esta deberse a que los HMA actúan más rápido al competir con otros organismos extraños a ellos.

### **6.1.2. Longitud de micelio extraradical (MER)**

El análisis de varianza (**cuadro 6**) para Longitud de Micelio Extraradical obtenido en los 11 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 81.63 cm, con un coeficiente de variabilidad de 5.99% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 99.4%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey (**Gráfico 2**) muestra que los tratamientos que más sobresalieron estadísticamente a diferencia de los testigos fueron el T9 con 168.5 cm., seguidamente de los tratamientos T5 y T3 con valores estadísticamente diferentes de 138.8 cm y 100.6 cm respectivamente. Contrario a esto, fue el T1 el que presentó el menor valor con 38.2 cm; mientras que los testigos T0 y T10 tuvieron valores de 0 cm de longitud de micelio, debido a que ninguno de los dos fue inoculado con HMA nativos. Los resultados obtenidos en los mejores tratamientos, nos demuestran que no existe una estrecha relación con el porcentaje de colonización a excepción del T9, ya que los tratamientos que tuvieron los mejores valores en colonización micorrízica no fueron los mismos en longitud de micelio extraradical, pudiendo deberse también a la composición de especies o géneros presentes en cada tratamiento; siendo estos resultados totalmente diferentes a lo encontrado en otros cultivos a nivel de campo, tal como lo menciona **Robles (2009)** 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 en el mes de enero, obteniendo valores de 2.88 a 4.35 m g<sup>-1</sup> de suelo; asimismo 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 bajas; contrario a ello, **Hart y Reader (2002, citado en Robles, 2009)** demostraron que los miembros de la familia Gigasporaceae suelen presentar una gran cantidad de MER, pero no colonizan intensivamente la raíz de la planta hospedera.

### 6.1.3. Porcentaje de infección por *Meloidogyne* spp.

El análisis de varianza (**cuadro 7**) para porcentaje de infección por *Meloidogyne* spp., obtenido en los 11 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 5.77%, con un coeficiente de variabilidad de 0.35% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 69.4%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey (**Gráfico 3**) muestra que el tratamiento con mayor infección radical fue el T0 con un 11.19%, seguidamente de los tratamientos T6, T5, T1, T4 quienes estadísticamente presentaron similares resultados con 6.92%, 6.43%, 6.39% y 6.38% respectivamente. Contrario a esto, los tratamientos que presentaron los menores valores de infecciones radical causados por *Meloidogyne* spp., fueron el T8, T2 y T9 con valores estadísticamente similares de 4.71 %, 4.75% y 5.14% respectivamente, a diferencia del T10 que presentó 0% de infección en raíces, el cual se debe a que no fue infestado con dichos nematodos; estos resultados nos demuestran que existe una relación inversamente proporcional con el porcentaje de colonización, es decir a mayor porcentaje de colonización se obtuvo un menor porcentaje de infección en raíces de plantones de café, obteniendo una resistencia (Grado 1) por parte de los HMA nativos contra los nematodos en los tratamientos micorrizados y moderadamente resistente (Grado 2) para el tratamiento infestado (Cuadro 4), mostrando así resultados favorables contra el ataque de este fitoparásito.

Así mismo que los tratamientos T8, T2 y T9 hayan presentado los valores más bajos en infección radical causados por *Meloidogyne* spp., puede deberse a que

estos tratamientos presentan más especies o géneros de HMA, las cuales ayudan de cierta forma contra la defensa de estos organismos fitoparásitos (*Meloidogyne spp.*), siendo estos resultados semejantes a lo encontrado por **Leguizamón (1995)**, quién trabajando con HMA a nivel de vivero encontró que plantas de café de la variedad caturra que se inocularon con HMA y a las cuales un mes después se les adicionó el nematodo fitoparásito *Meloidogyne incognita*, al realizar la evaluación de las raíces a los cinco meses, se registraron niveles de infección del 9% en las plantas tratadas con HMA, mientras que los testigos tuvieron un 97% de infección. A su vez los investigadores **Mariscal, et al., (1995)** mencionan que luego de dos meses de ser aplicada la micorriza en plantas de café a nivel de vivero, infestaron a cada una de ellas con 2000 nematodos de una población de *Meloidogyne sp.*, los resultados de los tratamientos micorrizados tuvieron una mejor nutrición de las plantas y mecanismos de tolerancia a pesar de los niveles de nematodos encontrados. Estos mismos resultados también fueron reflejados en otro cultivo a nivel de vivero donde **Carbajal (2009)**, hace referencia que plantas de *Hypericum* inoculadas con HMA nativos en respuesta al ataque por *Meloidogyne incognita*, obtuvo mejores resultados que los inoculados con la micorriza comercial, evitando la penetración masiva del nematodo en sus raíces y de esta manera una limitada formación de agallas. Por otro lado manera **Alban et al., (2013)** hacen mención que si los hongos *Glomeromycota* se inocularan antes que *M. exigua*, las plantas de café serían sanas y fuertes y podían resistir mejor a la infestación por nematodos, ya que los HMA ayudan a las plantas de café con la lignificación de la cutícula de la pared celular vegetal de las raíces, haciendo que

esta se vuelva más espesa y sea difícil para los nematodos penetrar, por lo que la tasa de infestación causada por estos organismos fitoparásitos, sería baja.

## **6.2. Variables Morfológicas**

### **6.2.1. Altura de planta**

El análisis de varianza (**cuadro 8**) para la altura de planta obtenido en los 11 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 29.2 cm, con un coeficiente de variabilidad de 4.02% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 87.9%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey (**Gráfico 4**) muestra que la mayor altura de plantas fue encontrado en los tratamientos T9, T8 y T7 con valores estadísticamente diferentes de 35.2 cm, 31.8 cm y 30.7 cm respectivamente, todos ellos inoculados con la fuente de inóculo de HMA nativos provenientes de la provincia El Dorado. Por otro lado los tratamientos que obtuvieron los menores valores de altura, fueron el T1 con 25.3 cm y ambos testigos, T0 y T10 con valores estadísticamente similares de 27.1 cm y 27.2 cm respectivamente, indicando que las fuentes de inóculo de HMA nativos actuaron de forma positiva en el desarrollo del cultivo de café. Los resultados reflejados en esta variable tienen cierta similitud con lo encontrado por **Carbajal, (2009)** quien obtuvo también buenos resultados en altura de planta (56.63 cm) a nivel de vivero, trabajando con HMA nativos en respuesta al nematodo nodulador de raíces (*Meloidogyne incognita*) en el cultivo de *Hypericum*, siendo en un principio inoculados con HMA y después de cuatro

meses infestadas con nematodos. De igual manera se encontraron extraordinarias respuestas al trabajar solo con HMA en vivero, tal como lo menciona **Trejo et al., (2000, citado por FENIAGRO, 2010)** quien comprobó que plantas inoculadas con HMA presentan mejor desarrollo que aquellas con adición de fertilizante, tanto inorgánico, como orgánico; así mismo en otra de sus investigaciones **Trejo et al., (2011)** trabajando con 7 consorcios de HMA nativos, obtuvo buenos resultados de altura de plantas de café (10 a 15 cm) en comparación con el testigo en un periodo de 130 DDI. Estos mismos resultados fueron reflejados en otros cultivos a nivel de vivero como: tomate (Oma, 2009), cacao (Ballesteros, Unigarro, Cadena y Cadena, 2004) caoba (Guerra, 2009), palmito (Paillacho, 2010), etc.

### 6.2.2. Área foliar

El análisis de varianza (**cuadro 9**) para el Área Foliar obtenido en los 11 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 1013.49 cm<sup>2</sup>, con un coeficiente de variabilidad de 6.88% y un coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de 87.2%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey (**Gráfico 5**) muestra que los tratamientos que más sobresalieron estadísticamente a diferencia de los testigos fueron el T9 con 1408.36 cm<sup>2</sup>, seguido de los tratamientos T2 y T8 con valores estadísticamente similares de 1108.67 cm<sup>2</sup> y 1065.93 cm<sup>2</sup> respectivamente. Contrario a esto, los menores valores lo obtuvieron los tratamientos T1 y T0 con valores estadísticamente similares de 836.12 cm<sup>2</sup> y 847.82 cm<sup>2</sup> respectivamente,

a diferencia del T10 con 940.68 cm<sup>2</sup>, estadísticamente con valores similares a los tratamientos T5, T7, T4, T6 y T3 respectivamente; indicando según **Barrer (2009)**, que el uso de HMA en la agricultura contribuye a mejorar el nivel nutricional de la planta, el cual se ve reflejado en el crecimiento y área foliar. Los tratamientos utilizados en este 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; siendo estos resultados semejantes a lo mencionado por **Hernández (1999, citado en FENIAGRO, 2010)** quien trabajando a nivel de vivero encontró una alta y consistente respuesta del cafeto a la inoculación con HMA en tres tipos de suelos en ausencia del nematodo agallador de raíces (*Meloidogyne* spp) , oscilando los incrementos en la producción de área foliar en un 10 y 263% con respecto a los testigos.

### **6.2.3. Peso seco de la biomasa aérea**

El análisis de varianza (**cuadro 10**) para el Peso seco de la biomasa aérea obtenido en los 11 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 7.90 g, con un coeficiente de variabilidad de 7.92% y un coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de 89.7%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey (**Gráfico 6**) muestra que los tratamientos que más sobresalieron estadísticamente a diferencia de los testigos fueron el T9 con 12.05 g, seguidamente del tratamiento T2, T8 y T3 con valores estadísticamente similares de 8.56 g, 8.51 g y 8.20 g, respectivamente. Contrario

a esto, los menores valores lo obtuvieron los tratamientos T1 y T0 con valores estadísticamente similares de 6.26 g y 6.35 g, respectivamente, a diferencia del T10 con 7.14 g, estadísticamente con valores similares a los tratamientos T5, T4, T7 y T6 respectivamente. Los resultados reflejados en esta variable tienen cierta similitud con lo encontrado por **Leguizamón (1995)** quien también obtuvo los mayores pesos secos de la biomasa aérea en plantones de café que se inocularon con HMA al momento del trasplante y a las cuales un mes después se les adicionó el nematodo *Meloidogyne incognita*.

#### **6.2.4. Peso seco del sistema radicular**

El análisis de varianza (**cuadro 11**) para el Peso seco del sistema radicular obtenido en los 11 tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas, mostrando una media de 1.73 g, con un coeficiente de variabilidad de 19.38% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 81%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según Calzada, 1982.

El análisis de comparación de medias de Tukey (**Gráfico 7**) muestra que el tratamiento que mejor respuesta tuvo estadísticamente a diferencia de los testigos fue el T9 con 3.24 g, siendo el resto de tratamientos (T5, T2, T8, T3, T4, T0, T7, T10, T6 y T1) estadísticamente similares. El mayor valor obtenido en esta variable (T9) estuvo estrechamente relacionado con las variables peso seco de la biomasa aérea y MER, es decir al incrementarse estas dos variables también hubo un aumento del peso seco del sistema radicular; así mismo mostró una relación inversamente proporcional con el porcentaje de infección radical causados por

*Meloidogyne* spp., obteniendo los mayores valores de pesos secos del sistema radicular a menores porcentajes de infección causados por *Meloidogyne* spp.

Los resultados obtenidos en esta variable muestran que los HMA nativos actuaron de forma positiva sobre la el peso seco del sistema radicular, contradiciendo a lo mencionado por **Alban et al., (2013)** quienes comprobando el efecto antagónico entre los HMA y nematodos (*Meloidogyne exigua*) en el cultivo de café, encontraron que los mayores valores de peso seco del sistema radicular no se dieron en plantas previamente inoculadas con HMA sino en plantas a las que solo se les aplicó el nematodo (Testigo infestado) como las que les combino simultáneamente con los hongos micorrizas arbusculares (HMA + Nematodos), obteniendo valores de 1.06 g y 1.05 g respectivamente, siendo esto producto de la excesiva formación de agallas por parte de los nematodos en el sistema radicular de las plantas de café. Según **Talavera et al., (2001, citado en Bañuelos, 2008)** esto se debe a la diferencia en la velocidad de infestación de cada organismo, siendo de 2-4 semanas para los HMA y solo de pocas horas para el nematodo.

## VII. CONCLUSIONES

- 7.1.** El tratamiento que mostró mejor respuesta a la variable porcentaje de colonización fue el T2 (29.3%); asimismo el tratamiento que presentó mayor valor sobre la variable Longitud de Micelio Extraradical fue el T9 (168.5 cm).
- 7.2.** Los tratamientos que mostraron mayor eficiencia en el control del nematodo agallador de raíces (*Meloidogyne* spp.) en el cultivo de cafeto fueron el T2 (4.75%) perteneciente a la provincia de Lamas, el T8 (4.71%) y T9 (5.14%) ambos pertenecientes a la provincia El Dorado.
- 7.3.** El T9 fue el que sobresalió estadísticamente en las variables que caracterizan la morfología de las plantas: altura (35.2 cm), área foliar (1408.36 cm<sup>2</sup>), peso seco de la biomasa aérea (7.90 g) y peso seco del sistema radicular (3.24 g).

## VIII. RECOMENDACIONES

- 8.1. Que los resultados obtenidos sirvan de punto de partida para futuras investigaciones relacionadas con las tecnologías de manejo de las asociaciones micorrízicas en el cultivo de café bajo condiciones de vivero.
- 8.2. Realizar ensayos con estos HMA nativos en otros cultivos de importancia en nuestra región, con la finalidad de evaluar su efectividad, tanto sobre el desarrollo de las plantas, como en su capacidad de controlar ciertas plagas y enfermedades.
- 8.3. Realizar la identificación a nivel de especie, de las micorrizas nativas para de esta manera determinar que especies son las que más influyen con la simbiosis del cultivo y así poder usarlos para la elaboración de un inoculante específico, el cual sirva como un biofertilizante de bajo costo y alta eficiencia en el cultivo de café.
- 8.4. Se recomienda utilizar los HMA de forma preventiva antes que curativa, para de esta manera asegurar que los plantones de café que vayan a ir a campo definitivo estén protegidas contra el ataque de ciertas plagas y enfermedades, así como también no sufran ante ningún cambio brusco originado por las condiciones ambientales.
- 8.5. Se recomienda el uso de los HMA como organismos favorecedores del crecimiento y área foliar de las plantas de café, además de actuar como controladores de algunos fitoparásitos del suelo (*Meloidogyne* spp).

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. (2005). Plant Pathology. 5th Edition. Elsevier Inc. All rights reserved. Printed in the United States of America. 948 pp.
- AGROBANCO. (2007). Área de Desarrollo: Cultivo del café. Perú. 17 pp.
- Alban, R., Guerrero, R. y Toro, M. (2013). Interactions between a Root Knot Nematode (*Meloidogyne exigua*) and Arbuscular Mycorrhizae in Coffee Plant Development (*Coffea arabica*). Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 5 pp.
- Alvarado, M. & Rojas, G. (2007). El cultivo y beneficio del café. Universidad Nacional a Distancia (EUNED). San José, Costa Rica, 184 pp.
- Álvarez, J. & Naranjo, E. (2003). Ecología del suelo en la selva tropical húmeda de México (1a Ed.). Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México. 89 pp.
- Ballesteros, W., Unigarro, A., Cadena, C. y Cadena, J. (2004). Evaluación de Hongos Formadores de Micorrizas Vesículo Arbusculares (Mva) en la Etapa de Almacigo de Cacao (*Theobroma Cacao* L.), en Tumaco, Nariño. 19 pp.
- Bañuelos, J. (2008). Decremento de la acumulación de prolina en plantas micorrizadas afectadas por nematodos. Universidad Veracruzana (UV). Xalapa, México. 66 pp.
- Barrer, S. (2009). El uso de Hongos Micorrízicos Arbusculares como una alternativa para la agricultura. Universidad Industrial de Santander (UIS). Bucaramanga, Colombia. 10 pp.

- Carbajal, J. (1984). Cafeto: cultivo y fertilización. Instituto internacional de la potasa (IPI). Berna, Suiza. 251 pp.
- 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.
- CATIE. (1993). Manejo integrado de plagas (Tomo III). Ministerio de agricultura y ganadería. Nicaragua. 106 pp.
- Charpantier, F. (1988). Aspectos agroclimáticos y zonificación del cultivo del café (*Coffea arabica*). Secretaria ejecutiva de planificación sectorial agropecuaria y de recursos naturales renovables (SEPSA). 30 pp.
- CICAFFE. (2011). Guía técnica para el cultivo de café. Instituto del café de Costa Rica (ICAFFE). Heredia, Costa Rica. 72 pp.
- Colozzi, A., Siqueira J., Saggin J., Gumaraes T. & Oliveira E. (1994). Efectividad de diferentes hongos micorrízicos arbusculares na formacao de mudas, crecimiento pós – transplante e producao do cafeeiro. Brasilia. 10 pp.
- Coral, L. (2015). "Estudio de la Diversidad de Hongos Micorrízicos Arbusculares Nativos y su Potencial Micorrízico en el Cultivo de Café (*Coffea Arabica* L.), en Diferentes Condiciones Agroecológicas de la Región San Martín". Universidad Nacional de San Martín (UNSM). Tarapoto, Perú. 67 pp.
- CORPOICA. (2004). La micorriza arbuscular: característica, producción y aplicaciones. Villavicencio, Colombia. 24 pp.
- Coyne, D.L., Nicol, J.M. & Claudius, C. (2010). Nematología práctica: una guía de campo y laboratorio. SP-IPM. Cotonou, Benin. 93 pp.

- Cruz, H. (2013). Identificación del nematodo agallador de la raíz del cafeto en la región centro de Veracruz. Universidad Veracruzana. Xalapa, México. 49 pp.
- Cuadros, G., Gómez, R. & Rodríguez, N. (2011). Asociación simbiótica entre hongos micorrízicos arbusculares y el sistema radicular de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.): efecto de la formononetina y la disponibilidad de fósforo en el suelo. Universidad Industrial de Santander (UIS). Bucaramanga, Colombia. 9 pp.
- DESCO. (2012). Producción de cafés especiales. Centro de estudios y promoción de desarrollo. 50 pp.
- Escobar, M. (2008). Poblaciones de nematodos fitoparásitos asociados a diferentes sistemas de manejo de café en el municipio de Masatepe, departamento de Masaya (Ciclo 2006-2007). Universidad Nacional Agraria (UNA). Managua, Nicaragua. 68 pp.
- Escobar, C., Zuluaga, J., Colorado, G. & Páez, D. (1998). Micorriza Vesícula Arbúscular (MVA) Recurso microbiológico para desarrollar una agricultura sostenible. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA). Bogotá, Colombia. 6 pp.
- Fasabi, N. (2012). "Los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) como alternativa para una agricultura sustentable". Universidad Nacional de San Martín (UNSM). Tarapoto, Perú. 59 pp.
- FENIAGRO. (2010). Biofertilizantes, bioprotectores y biorestauradores micorrízicos para la producción agroecológica en las fincas de los productores de café. Managua, Nicaragua. 87 pp.

- FUNDESYRAM. (2010). Guía para la innovación de la caficultura de lo convencional a lo orgánico. San Salvador, El Salvador. 142 pp.
- Gañán, L., Bolaños, M. & Asakawa, N. (2011). Efecto de la micorrización sobre el crecimiento de plántulas de plátano en sustrato con y sin la presencia de nematodos. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), Palmira, Colombia. 9 pp.
- Gelpud, C., Mora, E., Salazar, C. & Betancourth, C. (2011). Susceptibilidad de genotipos de *Solanum* spp. al nematodo causante del nudo radical *Meloidogyne* spp. Universidad Nacional de Colombia (UNAL). Bogotá, Colombia. 19 pp.
- Guachón, T., Prado, M. & Lucero, H. (2012). Evaluación del efecto del inóculo Micorrízico arbuscular en el crecimiento de *Cinchona pubescens* y *Cinchona officinalis* en condiciones de vivero. Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL). Loja, Ecuador. 86 pp.
- Guerra, J. (2009). Evaluación de cepas de micorriza vesículo arbuscular en plantas de caoba (*Swietenia* sp.) en etapa de vivero. Zamora, Honduras. 19 pp.
- Guzmán, O., Castaño, J. y Sánchez, M. (2013). Estudio Preliminar del Efecto de Microorganismos Benéficos Sobre el Tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) y el Nematodo del Nudo Radical (*Meloidogyne* Spp.). Caldas, Colombia. 14 pp.
- Leiva, J. (2009). "Evaluación del hongo nematófago *Pochonia Chlamydosporia*, en el control del nematodo del nudo *Meloidogyne* sp., en el cultivo de sachá inchi *Plukenetia Volubilis* bajo condiciones de vivero". Universidad Nacional de San Martín (UNSM). Tarapoto, Perú. 136 pp.

- Leguizamón C. (1995). Interacción de una mezcla de micorrizas y el complejo *Meloidogyne* spp., en almácigos de café. In: Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines. Medellín, Colombia.
- León, D. (2006). Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (*Manihot esculenta* sp.) en dos regiones de la Amazonía Colombiana. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 125 pp.
- López, R. (2006). Caracterización de tres variedades de café (*Coffea arabica*) en tres zonas ecológicas del país. Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC). Guatemala, Guatemala. 68 pp.
- Los Biofertilizantes (s.f.). Recuperado el 25 Mayo de 2014, de [http://agritech.tnau.ac.in/org\\_farm/orgfarm\\_biofertilizertechology.html](http://agritech.tnau.ac.in/org_farm/orgfarm_biofertilizertechology.html)
- Lucas, L. (2011). Fertilización fosfatada en Chile Guajillo (*Capsicum annuum* L.) y su Interacción con Hongos Micorrízicos Arbusculares. 155 pp.
- Mariscal, E., García, A., Anzueto, F. & Molina, A. (1995). Evaluación del efecto de las micorrizas en almácigos de café. Asociación nacional del café (ANACAFÉ). Guatemala. Recuperado de [www.anacafe.org/](http://www.anacafe.org/).
- Martín, J. (2013). Estudio del papel del Ácido Abscísico como señal reguladora del proceso de Micorrización. Universidad de Granada. Granada, España. 293 pp.
- Orma, A. (2009). Evaluación del efecto de la aplicación de micorrizas en la producción de tomate riñón (*Solanum lycopersicum*) bajo invernadero. Escuela superior politécnica de Chimborazo (ESPOCH). Riobamba, Ecuador. 67 pp.
- Paillacho, F. (2010). "Evaluación de la efectividad de las Micorrizas Arbusculares Nativas sobre el desarrollo y estado nutritivo del Palmito (*Bactris Gasipaes* HBK)

- en etapa de vivero”. Escuela Politécnica del Ejército. Santo Domingo de los Tsáchilas – Ecuador. 108 pp.
- Phillips, J. & Hayman, D. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular – arbuscular fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158 – 161.
- 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.
- Rodríguez, S. (2006). Efecto de las micorrizas arbusculares sobre la regulación de genes implicados en el metabolismo carbonado en plantas de tomate (*Solanum esculentum*). Universidad de Granada (URG). Granada, España. 246 pp.
- Rojas, M. & Salazar, L. (2013). Densidad crítica de *Meloidogyne exigua* en plantas de almácigo de café variedad caturra. 10 pp.
- Ruiz, P., Rojas, K. & Sieverding, E. (2011). La distribución geográfica de los hongos micorrízicos arbusculares: Una prioridad de investigación en la Amazonia peruana. Ucayali, Perú. 17 pp.
- Sánchez, I. (2009). Análisis de la estructura y diversidad de las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares asociados a plantas de especial interés ecológico en ambientes mediterráneos. Universidad de Granada (URG). Granada, España. 196 pp.

- Sánchez, J. (2010). Efecto de quitina y quitosano sobre huevos y juveniles de nematodos formadores de nódulos radiculares, *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne incognita*, bajo condiciones in vitro e in vivo. 130 pp.
- Siqueira, O., Colozzi-Filho, A., Oliveira, E., Fernandes, A. & Florence, E. (1987). Micorrizas Vesicular-Arbusculares em Mudras de Cafeeiro Produzidas no sul do Estado De Minas Gerais. Brasil. 8 pp.
- Sotomayor, I. & Duicela, L. (1988). Manual práctico de semilleros y viveros de café (2da ed.). Estación experimental tropical Pichilingue – INIAP. Quevedo, Ecuador. 44 pp.
- Talavera, M. (2003). Manual de nematología agrícola. 23 pp.
- Tena, A. (2002). Presencia de hongos micorrízicos arbusculares en plantas silvestres de suelos salinos en el estado de Colima. Universidad de Colima (UCOL). Colima, México. 124 pp.
- Trejo, D., Ferrera, R., García, R., Varela, L., Lara, L. & Alarcón, A. (2011). Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. Universidad Veracruzana. Xalapa, México. 23 pp.
- UNALM. (2014). Laboratorio de suelos y tejidos de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- Vega, M. (2011). Identificación de micorrizas vesículo – arbusculares en especies agrícolas y forestales en la zona de Tingo María. Universidad Nacional Agraria de La Selva (UNAS). Tingo María, Perú.
- Vergara, S. (2012). Reporte de Inteligencia de Mercados “Café peruano: Aroma y Sabor para Nosotros y el Mundo”. Perú. 92 pp.

## RESUMEN

En la actualidad el uso de microorganismos en la agricultura es una de las alternativas de solución frente al uso de productos químicos. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son organismos del suelo que viven simbióticamente con las raíces de la mayoría de plantas, entre ellas el cafeto, aportando excelentes beneficios. El objetivo de este trabajo de investigación fue determinar el efecto de las diferentes fuentes de inóculo de HMA nativos sobre el nematodo agallador de raíces (*Meloidogyne* spp.) en plantones de café (*Coffea arabica*) variedad caturra en la región San Martín. Se 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, se inoculó 1500 esporas por plantón de cada uno de las diferentes fuentes de inóculo empleando un sustrato estéril y luego de 140 días se realizó la infestación con *Meloidogyne* spp., a razón de 2000 Huevos+J2 por plantón. La altura de plantas se evaluó 15 días después de la infestación (DDI) y las demás variables 90 DDI. Durante el proceso, se 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.



## SUMMARY

Nowadays the use of microorganisms in agriculture is one of the alternative solutions to reduce the use of chemicals products. The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are soil fungi, which form mutualistic symbiosis with the roots of most plants, including the coffee, providing excellent benefits. The objective of this research was to determine the effect of different sources of inoculum of native AMF on root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in coffee seedlings (*Coffea arabica*) variety caturra in the region San Martin. It was used a completely randomized design (CRD) with 11 treatments (9 inoculum sources of native AMF + 2 witnesses) and 3 repetitions. To determine the antagonistic effect between these two organisms, 1500 spores were inoculated per plant of each one of the different sources of inoculum using a sterile substrate and after 140 days each plant were infested with 2000 eggs + J2 *Meloidogyne* spp. per plant. Plant height was assessed 15 days after infestation (DDI) and other variables were assessed 90 DDI. During the process, the analysis of variance and Tukey's test ( $\alpha = 0.05$ ) was performed for all variables studied. The treatments T2 (4.75%), T8 (4.71%) and T9 (5.14%) showed good results in controlling *Meloidogyne* spp. and the other study variables.