

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-
TARAPOTO**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**



TESIS

**“SELECCIÓN DE MORFOTIPOS DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES
NATIVOS PREDOMINANTES DE SUELOS DEGRADADOS ASOCIADOS A PLANTAS
DE COBERTURA DE LA SUB CUENCA DEL CUMBAZA”**

TESIS PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO

Nombres y apellidos del autor:

LLENY BARRIOS LÓPEZ

ASESOR:

Biólogo Dr. M. Sc. Winston Franz Ríos Ruiz

TARAPOTO – PERÚ
2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA
AREA DE MEJORAMIENTO Y PROTECCIÓN DE CULTIVOS

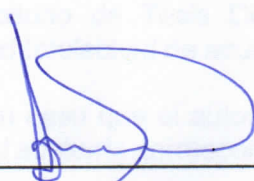
TESIS:

**“SELECCIÓN DE MORFOTIPOS DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES NATIVOS PREDOMINANTES DE SUELOS
DEGRADADOS ASOCIADOS A PLANTAS DE COBERTURA
DE LA SUB CUENCA DEL CUMBAZA”**


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

**PRESENTADO POR LA BACHILLER:
LLENY BARRIOS LÓPEZ**

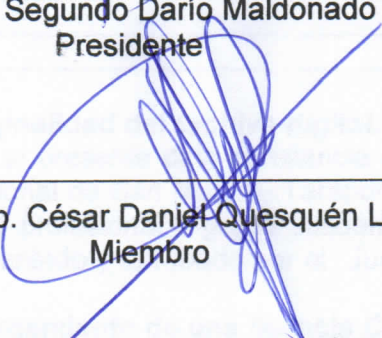
COMITÉ DE TESIS



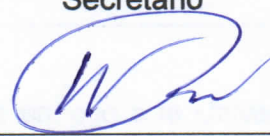
M.Sc. Segundo Darío Maldonado Vázquez
Presidente



Ing. Eybis José Flores García
Secretario



Mblgo. César Daniel Quesquén López
Miembro



Dr. Winston Franz Ríos Ruiz
Asesor

TARAPOTO – PERÚ

2017

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

1. Datos del autor:

Apellidos y nombres:	BARRIOS LÓPEZ LLENY	
Código de alumno :	101136	Teléfono: 972830285
Correo electrónico:	lley-21@gmail.com	DNI: 46928187

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

2. Datos Académicos

Facultad de:	CIENCIAS AGRARIAS
Escuela Profesional de:	AGRONOMÍA

3. Tipo de trabajo de investigación

Tesis	(X)	Trabajo de investigación	()
Trabajo de suficiencia profesional	()		

4. Datos del Trabajo de investigación

Título :	"SELECCION DE MORFOTIPOS DE HONGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES NATIVOS PREDOMINANTES DE SUELOS DEGRADADOS ASOCIADOS A PLANTAS DE COBERTURA DE LA SUB CUENCA DEL CUMBAZA"
Año de publicación:	

5. Tipo de Acceso al documento

Acceso público *	(X)	Embargo	()
Acceso restringido **	()		

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

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

6. Originalidad del archivo digital.

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

7. Otorgamiento de una licencia CREATIVE COMMONS

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

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

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

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



Firma del Autor

8. Para ser llenado por la Biblioteca central

Fecha de recepción del documento por el Sistema de Bibliotecas:

22 / 12 / 2017



Firma de Unid. de Biblioteca

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

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

DEDICATORIA

A Dios, quien ha sido mi fortaleza, y mi compañía en los momentos más difíciles y así lograr mis objetivos, y permitirme escalar un peldaño más en la vida.

A mis hermanos:

Ronald, Cristian y Natalia, a quienes amo mucho, por estar siempre apoyándome y dándome el aliento necesario para seguir adelante.

A mis padres:

Eduardo Barrios Reyes y Aurelia López Fernández, por todo el esfuerzo y sacrificio que hacen por mí, de los cuales estoy muy orgullosa y que representan mi inspiración y motivo para seguir adelante.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Martín-T, en especial a los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias quienes me formaron con mucha dedicación y esmero, contribuyendo a mi formación profesional.

Al fondo Nacional de Ciencia y Tecnología – FONDECYT por financiar el presente trabajo de investigación en el marco del proyecto “Restauración de suelos degradados por agricultura migratoria usando microorganismos benéficos asociados a plantas de cobertura en la zona de protección de la sub cuenca del Cumbaza, en San Martín”

A mi asesor Dr. Winston Franz Ríos Ruiz (UNSM-T), Coordinador General del proyecto, por su apoyo y supervisión en la elaboración de la presente tesis.

Al ing. M. Sc. José Carlos Rojas García y al Blgo. Mblgo. M. Sc. Renzo Alfredo Valdez Núñez, Co-investigadores del proyecto, por compartir sus conocimientos, tiempo, dedicación y su amistad, y guiarme en el desarrollo de técnicas y procedimientos que hicieron posible este trabajo de investigación.

A Eduardo Bernal López, por el apoyo en las buenas y malas, por la confianza y los aportes realizados a mi trabajo y por todo el cariño que siempre me ha brindado.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	
SUMMARY	
I. INTRODUCCIÓN.....	01
II. OBJETIVOS.....	03
2.1. Objetivo General.....	03
2.2. Objetivos Específicos.....	03
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	04
3.1. Degradación de suelos.	04
3.2. Hongos Micorrízicos Arbusculares.....	07
3.2.1. Características morfológicas de los principales géneros de HMA.....	11
3.3. Plantas de cobertura asociadas con HMA.....	14
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
4.1. Ubicación y caracterización del área de estudio.....	18
4.2. Colecta de muestras de suelos de campo.....	20
4.3. Propiedades físico - químico y biológicos del suelo:.....	22
4.4. Implementación y conducción del experimento.....	23
4.4.1. Vivero.....	23
4.4.2. Laboratorio.....	23
4.4.3. Generalidades del lugar.....	24
4.5. Instalación de plantas de cobertura como plantas trampa para la multiplicación de HMA.....	25
4.5.1. Selección de suelo y raíces de macetas con plantas trampa.....	26
4.6. Análisis.....	27

4.6.1. Densidad de esporas.....	27
4.6.2. Porcentaje de colonización micorrízica.....	29
4.6.3. Separación e identificación de morfotipos de HMA nativos predominantes.....	31
4.7. Diseño experimental.....	32
4.8. Variables evaluadas.....	34
4.8.1. Determinación de la colonización micorrízica.....	34
4.8.2. Densidad de esporas de HMA.....	34
4.8.3. Selección de morfotipos de HMA nativos predominantes.....	35
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
5.1. Colonización micorrízica por HMA.....	36
5.2. Número de esporas de HMA nativos.....	40
5.3. Identificación de morfotipos de HMA nativos predominantes.....	43
VI. CONCLUSIONES.....	51
VII. RECOMENDACIONES.....	52
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
ANEXOS.....	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

Figura 01. Mapa de la subcuenca del Cumbaza indicando la localización de las seis localidades de muestreo de suelo.....	18
Figura 02. Vista panorámica de parcelas seleccionadas de la subcuenca del Cumbaza.....	19
Figura 03. Procedimiento de colecta de suelo.....	21
Figura 04. Vista panorámica del vivero de multiplicación de HMA.....	24
Figura 05. Instalaciones del laboratorio de microbiología agrícola.....	24
Figura 06. Procedimiento para la instalación de plantas de cobertura.....	26
Figura 07. Procedimiento para la selección de suelo y raíces.....	27
Figura 08. Procedimientos para el aislamiento de esporas.....	28
Figura 09. Procedimiento para el conteo de esporas de HMA - Nativos.....	29
Figura 10. Procedimiento para tinción en raíces de leguminosas.....	29
Figura 11. Etapas para determinar el porcentaje de colonización micorrízica.....	30
Figura 12. Procedimiento para selección de morfotipos predominantes.....	31
Figura 13. Estructuras de HMA en raíces de leguminosas observadas al microscopio binocular.....	39

ÍNDICE DE TABLAS

Página

Tabla 01. Características edafoclimáticas de zonas de la subcuenca del Cumbaza.....	19
Tabla 02. Caracterización físico-químico de suelos de las zonas de colecta.....	22
Tabla 03. Análisis microbiológicos de suelos de las zonas de colecta.....	23
Tabla 04. Tratamientos en estudio.....	33
Tabla 05. Análisis de varianza para el experimento.....	33
Tabla 06. Escala de clasificación del porcentaje de colonización.....	34
Tabla 07. Análisis de varianza para colonización (%) en raíces de leguminosas de cobertura en 6 zonas de la cuenca del Cumbaza y 4 leguminosas de cobertura.....	36
Tabla 08. Análisis de varianza del número de esporas de HMA nativos (10 g de suelo seco) de los 6 suelos de la subcuenca del Cumbaza y 4 plantas de leguminosas de cobertura.....	40
Tabla 09. Identificación de morfotipos nativos predominantes.....	43
Tabla 10. Distribución de los morfotipos según zona y leguminosa.....	47

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 01. Distribución de la precipitación durante el periodo y localización de las colectas.....	21
Gráfico 02. Prueba de Tukey ($p < 0.05$) para el efecto principal de los niveles del Factor A: Zonas de la sub cuenca en relación al porcentaje de colonización micorrízica.....	37
Gráfico 03. Prueba de Tukey para efecto principal de los niveles del Factor B: Leguminosas de cobertura, en relación al porcentaje de colonización micorrízica.....	39
Gráfico 04. Prueba de Tukey para el efecto principal de zonas de la subcuenca del Cumbaza para el número de esporas.....	41
Gráfico 05. Prueba de Tukey para promedios de los niveles del Factor B: Leguminosas de cobertura, en relación al número de esporas.....	42

RESUMEN

Con el objetivo de seleccionar e identificar los diferentes morfotipos de hongos micorrizicos arbusculares (HMA) nativos predominantes y determinar el porcentaje de colonización y densidad de esporas en suelos de la Subcuenca del Cumbaza asociados a plantas de cobertura, se seleccionaron suelos degradados de las localidades de Chirikyacu, Vista Alegre, El Chontal, San Antonio, Aucaloma, y Shapumba; donde se tomaron muestras de suelos y se asociaron a cuatro leguminosas de cobertura *Cajanus cajan*, *Canavalia ensiformis*, *Crotalaria juncea* y *Vigna unguiculata*. Se utilizó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial de 6Ax4B, con tres repeticiones y a nivel de significancia de $p < 0,05$, considerando el factor A (zona) y el factor B (leguminosa). Los resultados mostraron que las leguminosas tuvieron mayor influencia en cuanto al porcentaje de colonización micorrízica en comparación con las zonas en estudio, siendo *Vigna unguiculata* la que presentó mayor porcentaje de colonización con 75 %. El mayor número de esporas fue influenciada principalmente por las zonas, donde Aucaloma presentó el mayor número con 332 esporas/10 g. Finalmente se identificaron 11 morfotipos de HMA nativos predominantes, siendo los morfotipos del género *Acaulospora* los de mayor predominancia.

Palabras claves: Suelo degradado; Hongos micorrízicos arbusculares; Leguminosa

SUMMARY

In order to select and identify the different morphotypes of predominant native arbuscular mycorrhizal fungi (AMH) and determine the percentage of colonization and spore density in soils of the Cumbaza subbasin associated to cover plants, degraded soils were selected from the localities of Chirikyacu, Vista Alegre, El Chontal, San Antonio, Aocaloma, and Shapumba; where soil samples were collected and associated with four legumes covering *Cajanus cajan*, *Canavalia ensiformis*, *Crotalaria juncea* and *Vigna unguiculata*. A completely randomized design with factorial arrangement of 6A x 4B was used, with three replications and at significance level of $p < 0.05$, considering factor A (zone) and factor B (legume). The results showed that the legumes had a greater influence on the percentage of mycorrhizal colonization compared to the areas under study, with *Vigna unguiculata* having the highest percentage of colonization with 75%. The highest number of spores was influenced mainly by the zones, where Aocaloma presented the largest number with 332 spores / 10 g. Finally, 11 predominant native HMA morphotypes were identified, with the morphotypes of the genus *Acaulospora* being the most predominant.

Keywords: Soil degraded; Arbuscular mycorrhizal fungi; Leguminous.

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente el 40% de los suelos a nivel mundial están degradados, mientras que el 24% del área de los suelos productivos siguen siendo objeto de continua degradación (Rashied *et al.*, 2016). En el Perú el 54% de los suelos se encuentran en nivel de degradación moderada, severa y muy severa, por encima de otros países (Ministerio de Agricultura, 2013). En la región San Martín, la subcuenca del Cumbaza presenta 57 120 has., de las cuales el 80% de los suelos están degradados, la causa de la degradación de los suelos de esta zona es la combinación de deforestación, uso de terrenos con elevada pendiente y agricultura migratoria. La degradación de suelos consiste en que al degradarse pierden su diversidad biológica, sus recursos naturales y minerales que alberga en sus ecosistemas (Reinders *et al.*, 2003).

En la actualidad las propiedades biológicas de los suelos se han convertido en criterios importantes para valorar su uso y manejo, buscando nuevas tecnologías fundamentadas para la recuperación de suelos degradados que favorezcan la biodiversidad de los microorganismos del suelo (Vallejo, 2013). Estos se consideran una herramienta nueva y emergente para el mantenimiento y restauración de suelos degradados, ya que actúan como un índice de fertilidad del suelo y sus interacciones simbióticas con plantas contribuyen como una de las principales fuentes de nutrientes disponibles para el establecimiento de agroecosistemas en estos suelos degradados (Singh, 2015). Dentro de la diversidad de microorganismos en el suelo, los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) contribuyen a la recuperación de suelos degradados (Colodete *et al.*, 2014), estos forman una simbiosis mutualista con aproximadamente el 80 – 90 % de las plantas terrestres (Kivlin *et al.*, 2011) y tienen la capacidad de incrementar

la absorción de nutrientes poco móviles, principalmente fósforo (P) (Pérez *et al.*, 2012). La formación de una glicoproteína llamada glomalina, producida por estos hongos genera la agregación de las partículas del suelo, mejorando su estructura y aumentando sus reservas de carbono y nitrógeno (Fokom, *et al.*, 2012).

A esto se suma también el uso de plantas de cobertura, principalmente leguminosas, que viene siendo promovido como una estrategia para mejorar la calidad de suelos degradados (Peña y Arias, 2009). Las leguminosas de cobertura asociadas a HMA mejoran las características físicas (descompactación de suelos), químicas (acumulación de materia orgánica y mayor viabilidad de nutrientes) y biológicas del suelo (mayor actividad y diversidad microbiana), además de reducir el índice de mortalidad en plantas (Duval *et al.*, 2015).

Sin embargo, poco se conoce sobre la actividad y diversidad de los HMA en suelos de la subcuenca del Cumbaza, ya que no se ha realizado ningún estudio para evaluar en forma integral la presencia de HMA como componentes biológicos del suelo y su posible rol como uno de los indicadores que determinen la calidad y recuperación de los suelos en esta zona. A pesar de la importancia de estos microorganismos para la producción y sostenibilidad de dichos ecosistemas, existen pocos estudios sobre la presencia de estos simbioses y su relación con especies de leguminosas de cobertura. En tal sentido resultó primordial e importante la selección de morfotipos predominantes de HMA de suelos de la subcuenca del Cumbaza asociados con leguminosas de cobertura, como un estudio básico y una estrategia para restaurar suelos degradados.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

2.1.1. Seleccionar diferentes morfotipos de hongos micorrízicos arbusculares nativos predominantes en suelos degradados de la subcuenca del Cumbaza y su potencial micorrízico asociados a plantas de cobertura.

2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Determinar la densidad de esporas de hongos micorrízicos arbusculares nativos, provenientes de suelos degradados de la subcuenca del Cumbaza asociadas a cuatro plantas de cobertura.

2.2.2. Determinar el porcentaje de colonización micorrízica en raíces de plantas de cobertura, inoculados con hongos micorrízicos arbusculares nativos provenientes de suelos degradados de la subcuenca del Cumbaza.

2.2.3. Identificar morfotipos predominantes de hongos micorrízicos arbusculares nativos, provenientes de suelos degradados de la subcuenca del Cumbaza asociadas a cuatro plantas de cobertura.

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. DEGRADACIÓN DE SUELOS

Para la mayoría de ecosistemas terrestres, el suelo es el escenario o el medio físico, químico y biológico en el que se desarrolla la vida, constituido por un sistema trifásico; sólido, líquido y gaseoso (Mataix, 2000 citado por Quiñonez, 2012). El suelo es un componente clave importante de los ecosistemas terrestres (Maya, 2011). Aunque el suelo cumple muchas funciones, una fundamental es ayudar a reincorporar a los ciclos biogeoquímicos de la naturaleza los elementos químicos que se hallan en la atmósfera como el nitrógeno, indispensable en la nutrición de plantas y animales, o aquellos que quedan en los restos de plantas y animales, como el carbono y el fósforo, por ello es que los suelos funcionan como almacenes de carbono (Orjuela, 2010). El ser humano utiliza este recurso natural para producir el 95% de sus alimentos (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura - FAO, 2015), por ello, tanto el uso inadecuado como el cambio de uso de suelo y la sobreexplotación por actividades de diversas índoles, pueden contribuir a la degradación a corto plazo de este recurso natural no renovable (Mataix, 2000). La degradación de suelo se define como un proceso que disminuye la capacidad y potencial para producir cuantitativamente y cualitativamente bienes y servicios, estos procesos de degradación se clasifican en función de su naturaleza y del tipo de consecuencias (Orozco *et al.*, 2012). Estas pérdidas o tipos de degradación pueden ser físicas, químicas y biológicas, dentro de la degradación Física, se encuentran la erosión hídrica y eólica, y el deterioro de la estructura, con fenómenos como sellado, encostrado y la formación de pisos de arado. En la degradación química se incluyen la pérdida de nutrientes o de fertilidad, acidificación, alcalinización y

salinización, en cuanto al del tipo biológico se considera la pérdida de materia orgánica, alteración en flora y fauna del suelo (Michelena, 2011).

Este fenómeno de degradación de suelo puede obedecer tanto a causas naturales como a causas antrópicas (Pretty *et al.*, 2010). Las causas naturales que se consideran decisivas en la degradación son las fuertes lluvias, intensos vientos, temperaturas extremas, ascenso de capas freáticas salinas e inundaciones cuyas consecuencias son la pérdida de suelo por lluvia y/o viento, acumulación de sales y elementos tóxicos para las plantas, lixiviación de bases, mineralización intensa, óxido-reducción. Estos procesos son relativamente lentos, y recurrentes a lo largo de los años (Silenzi *et al.*, 2011). Entre las principales causas de la degradación de los suelos de origen antrópico esta la agricultura y ganadería, principalmente por el cambio de uso del suelo que se destina a estas actividades, la deforestación es la tercera causa y sigue la urbanización (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales - SEMARNAT, 2006).

La agricultura tradicional ha causado una importante disminución de la materia orgánica y de la calidad de suelo (Orjuela, 2010). La materia orgánica involucrada en la retención de agua en el suelo, lo que ayuda a aminorar la compactación. Cuando se mantiene la cantidad adecuada de materia orgánica en forma de abono verde, se estabiliza la estructura del suelo, ya que este se hace más resistente a la degradación y a su compactación (Hamza y Anderson, 2005).

En América Latina, el sobrepastoreo, la agricultura mecanizada y la expansión urbana son las actividades con mayor responsabilidad sobre la degradación del suelo (FAO, 2015). En las zonas de la subcuenca del Cumbaza las características topográficas, como las pendientes elevadas que fluctúan entre 50% y 70%, influye mucho en los riesgos de la erosión hídrica, por eso en las

zonas con mayor inclinación se encuentran la mayor cantidad de suelos degradados. La acidez (pH) del suelo de estas zonas fluctúan entre extremadamente ácida (pH 4) a moderadamente alcalina (pH 7.4). En los suelos ácidos la saturación de aluminio puede ser un problema para la fertilidad del suelo (Centro de Desarrollo e Investigación de la Selva Alta - CEDISA, 2003).

Pero la agricultura migratoria es el principal causante de la degradación del suelo de estas zonas, que se caracteriza por la práctica de roza, tumba y quema de un terreno para cultivar después arroz seco, maíz, frijol o plátano para el autoconsumo. Por las intensas lluvias que se presentan en la zona y las pendientes de los terrenos, la ceniza y el suelo fértil que queda después de la quema se erosiona fácilmente y van hacia el río. Por la erosión y la extracción de la cosecha, el terreno pierde su fertilidad en un periodo de 3 a 4 años y especies vegetales invasoras se presentan con agresividad siendo necesario migrar a otro terreno para rozar y tumbar de nuevo, dejando el terreno anterior en barbecho, el período de barbecho debe durar por lo menos 15 años. La sucesión de un bosque secundario permite la recuperación de la fertilidad de sus suelos, acumulando de nuevo los nutrientes, para tener otra vez un terreno disponible para el rozo, tumba, quema y la producción agrícola (CEDISA, 2003). Todos ellos hacen que el agricultor ingrese en un círculo vicioso de ir cada vez más lejos para encontrar nuevos terrenos que les sirve para la agricultura, con las consecuencias de cortar más bosque, originando en una deforestación masiva (CEDISA, 2003).

En la amazonia peruana, los indicadores de áreas degradadas son la presencia de vegetación predominante herbácea: gramíneas como "Cashaucsha" (*Imperata brasiliensis*) "torourco" (*Paspalum homolepsis*), "rabo de zorro" (*Andropogon bicornis* L.), o helechos del género *Pteridium*, conocidos en la región como

“shapumba” “macorilla” o “gara gara” (*Pteridium aquilinum L.*), (Meza, *et al.*, 2006).

En un sentido más amplio, la degradación de los suelos es uno de los principales problemas con que se enfrenta el mundo en este momento. Considerando que la población mundial aumenta considerablemente, en el año 2000 había alrededor de 6000 millones de habitantes (Michelena, 2011), se estima que para el año 2050, el aumento de la población exigirá de un 70% más de alimentos que en los niveles actuales (FAO, 2015).

Por ello el suelo se debe considerar como un recurso natural no renovable y, en consecuencia como un bien que debemos proteger. Si a lo anterior se suma que el suelo es un recursos limitado (Orjuela, 2010). De acuerdo con estimaciones hechas por la FAO, debido a la desertificación, cada año dejan de ser productivas de seis a siete millones de hectáreas de suelo en el mundo, y a ese ritmo, en menos de 200 años el hombre habrá agotado todos los suelos productivos del planeta.

3.2. HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

La evidencia fósil indica que estos microorganismos forman asociaciones micorrízicas con las plantas desde hace 400 millones de años, y que tales asociaciones pudieron haber tenido influencia durante las etapas de colonización de las plantas sobre la corteza terrestre (Salmerón *et al.*, 2015), datos moleculares realizados por Simon *et al.*, (1993) corroboraron estos resultados, estableciendo el origen de los HMA entre el periodo Ordovícico y el Devónico (Stürmer, 2012). De igual manera, se ha brindado evidencia clara para suponer que las especies de HMA divergieron desde el Devónico temprano, al encontrar fósiles con estructuras morfológicas similares a las que se observan en

las especies existentes en la actualidad (Dotzler *et al.*, 2009). Otros análisis fósiles describen la presencia de estructuras similares a las descritas para Glomeromicetos en estratos provenientes del Ordovícico, con una antigüedad de 460 millones de años (Morton y Redecker, 2001), el vocablo micorriza fue empleado por primera vez y con un interés puramente sistemático, por el botánico alemán Albert Bernard Franck en el año 1885, para designar “la asociación que se producía entre las hifas de algunos hongos del suelo con las raíces de la gran mayoría de las plantas superiores” (Fernández, 2003). Se estima que estos forman asociaciones simbióticas mutualistas con raíces de aproximadamente el 80 - 90 % de plantas superiores, y en todos los hábitats de la tierra (Kivlin *et al.*, 2011). Esta y otras evidencias similares nos indican que estos hongos estaban presentes desde los primeros estadios de la evolución de las plantas (Pérez *et al.*, 2012).

La interacción entre el simbiote (hongo) y su hospedante (planta) consiste en la transferencia de nutrientes; la planta proporciona al hongo compuestos de carbono y el hongo suministra nutrientes, como fósforo, a la planta (Cano, 2011). Los HMA mejoran el crecimiento de plantas mediante el aumento de la absorción de fósforo disponible y otros nutrientes minerales esenciales no lábiles para el crecimiento vegetal como el fósforo y el zinc, entre otros (Velázquez y Cabello, 2011). Además pueden aumentar la resistencia de las plantas frente al estrés abiótico o biótico (Islas *et al.*, 2016), ejercen el control sobre patógenos y tienen influencia en la agregación del suelo (Peng *et al.*, 2013). Gracias a su extenso micelio extra radical, favorece el vínculo existente entre la planta y el suelo, debido a que al darse la asociación planta–hongo, se incrementan la absorción de nutrientes, factor determinante que no ocurre en las plantas no micorrizadas

(Mego *et al.*, 2014). Las hifas crean una red subterránea generalizada de que constituye una conexión directa entre raíces de las plantas, el suelo y la microflora asociada y cuya área de la superficie de las hifas es aproximadamente 100 veces mayor que el área de la superficie de la raíz y su longitud puede ser mayor que la del sistema de raíces de las plantas, y por lo tanto puede explorar un mayor volumen de suelo que las raíces (Rajtor y Piotrowska, 2016).

Se ha revelado el importante papel de los HMA en la estructura y conservación del suelo, mediante el efecto aglutinante de las hifas externas, estas hifas crecen a través de la matriz de suelo, constituyendo una estructura que a modo de red, sostiene las partículas, favoreciendo la formación de agregados (Pérez *et al.*, 2012). Además, se sabe que las hifas de los HMA pueden producir grandes cantidades de glomalina, una glicoproteína no soluble en agua, que actúa a modo de pegamento natural, como estabilizante de los agregados. Esta glicoproteína, también se destaca como un importante medio de almacenamiento de carbono y nitrógeno del suelo (Fokom *et al.*, 2012). La glomalina incrementa la productividad del agroecosistema, mejora la aireación del suelo, facilita el drenaje y la actividad microbiana (Pérez *et al.*, 2012).

La afinidad de las hifas de los hongos micorrízicos hacia los agregados de suelo, es función de las características de la raíz, de la intensidad de la colonización del hongo y de la cantidad de micelio asociado al sistema radical. La abundancia de estos agregados posibilita, entre otras cosas, una serie de micro-hábitas para otros microorganismos benéficos de la rizosfera y unas estructuras capaces de acelerar el almacenaje de nutrientes y carbono (Pérez *et al.*, 2012). Por lo tanto, los HMA pueden desempeñar papeles importantes en las interacciones

ecológicas y mantenimiento de la diversidad de la comunidad vegetal en los ecosistemas inter o intra-específica (Shi, *et al.*, 2016).

La clasificación de los HMA, antes del uso de herramientas de biología molecular, estaba sujeta principalmente al análisis de las características morfológicas y subcelulares de las esporas, que por las características propias de estos hongos (Schüßler *et al.*, 2001). En la actualidad los análisis morfológicos y moleculares concomitantes en base a la secuencia ribosomal combinada han dado lugar a grandes avances en la reorganización taxonómica del phylum Glomeromycota, dando lugar a una nueva clasificación de los HMA, por lo que actualmente el grupo Glomerales incluye 3 clases (Archaeosporomycetes, Glomeromycetes y Paraglomeromycetes), 5 órdenes (Archaeosporales, Diversisporales, Gigasporales, Glomerales y Paraglomerales), 14 familias y 29 géneros (Oehl *et al.*, 2011). La identificación de las especies de HMA está basada en el análisis de estructuras subcelulares de las esporas asexuales. La morfología del micelio interno y externo durante la asociación micorrízica es prácticamente indistinguible entre las especies del mismo género y entre géneros. En contraste, las estructuras subcelulares de las esporas están altamente conservadas y fenotípicamente estables independientemente del ambiente y la planta huésped (Morton *et al.*, 1995). De esta manera, las esporas son la única parte del organismo del hongo que se puede utilizar para delimitar las especies.

La abundancia de los hongos micorrízicos arbusculares en el suelo es dependiente de sus características físico-químicas. En este aspecto, la supervivencia de estos hongos, está limitada por la profundidad del suelo ya que en los primeros 20 ó 30 cm del perfil del suelo son más abundantes; es decir el

número de esporas y el grado de colonización radicular es menor conforme la profundidad es mayor (Tapia, 2003).

La evaluación de la diversidad de los HMA en condiciones de campo se lleva a cabo mediante el método de estudio cuantitativo y cualitativo de las esporas y la asociación de micorrizas. Sin embargo, la información a la abundancia o el número de esporas en el suelo no pueden ser tomados como el único indicador de la asociación de micorrizas. La escasa presencia de esporas en el suelo no indica necesariamente que no existe una asociación en el área de estudio, sino un espacio de tiempo entre la asociación y la esporulación (Moreira y Siqueira, 2006).

La selección de microorganismos nativos de una región para la producción de biofertilizantes, da mayores posibilidades de adaptación y multiplicación de los mismos en el suelo, debido a que, entre éstos, la diversidad funcional de los hongos micorrízicos arbusculares puede depender de la procedencia de los aislamientos, más que de la especie fúngica (López, 2015).

3.2.1. Características morfológicas de los principales géneros de HMA

La identificación de los hongos micorrízicos arbusculares está basada en la observación de sus características morfológicas (Vega, 2011). A seguir se detalla los principales géneros:

a) Género Acaulospora

Espora, es globosa, de 60 - 400 μm de diámetro, de color blanco, café rojizo oscuro, al estereoscopio, y blanca o amarilla oliva al microscopio. La hifa adherida a la espora es de forma ahusada con el ápice inflado y globoso llamado vesícula, a medida que la espora va llegando a su madurez en la vesícula se produce un

colapso celular, por tanto la espora adopta una posición amorfa sin ningún signo de origen a excepción de un pequeño poro.

Paredes de la espora, son formadas por dos grupos de paredes fácilmente distinguibles: La primera unidad, la más externa, está formada por una pared hialina remanente del sáculo la cual no ha sido observada. Seguidamente aparece una pared laminada, que le confiere el color a la espora, una segunda pared aparece debajo de la pared laminada, muy pegada a esta. Es de color más claro, delgada, flexible, no mayor a 2 μm de espesor. El segundo grupo de paredes está formado por dos paredes denominadas germinales, de las cuales la que fácilmente se evidencia es una transparente, de 2 μm de espesor, la cual posee una superficie rugosa o "beaded", seguida por una pared interna, membranosa, transparente, que contiene el citoplasma de la espora. Las paredes de la espora son de color hialino, amarillo, marrón, verde grisáceo que se encuentran en todo hospedero de micorriza versículo arbuscular.

Cicatriz, es difícil de observar por la ornamentación de la espora. Pero cuando se observa aparece como una marca ovoide de 9 - 16 μm de diámetro, que aparece en una de las zonas donde no hay ornamentación.

Reacción Melzer, la pared más interna reacciona tornándose roja o rosada

b) Género Gigaspora,

Espora, es globosa, grande, de 200 a 400 μm de diámetro, opaca, de color amarillo pálido a amarillo. La forma de las esporas es globosa y sub globosas.

Paredes de la espora, se distinguen dos paredes que forman un único grupo: una externa, laminada, con corona de 5 μm de espesor, y una pared interna más clara, rígida de 2 μm de espesor.

Reacción Melzer, presenta pared externa que se torna rojo intenso a vino tinto.

c) Género **Glomus**

Esporas, generalmente son globosas, algunas irregulares, pequeñas, de 40 - 70 μm en diámetro, de color hialino, amarillo, negro, de marrón amarillento a rojizo o anaranjado al estereoscopio. Se organizan en esporocarpos laxos de uno a más de esporas. Aun cuando se reporta que forman grupos de más de 100 esporas, las esporas se unen frágilmente entre sí, a través de conexiones hifales múltiples. Las esporas cuando están maduras contienen un líquido aceitoso a manera de gotas de tamaños variable. La germinación ocurre ya sea por hifa subtendiente y pocas veces por la pared de la espora.

Paredes de la espora, forman un solo grupo grueso de paredes, la pared más externa es laminada de 4 μm de espesor que le da el color a la espora. Generalmente con restos de hifas en la superficie o conexiones hifales. La forma es globosa, elipsoides o reniformes; de superficie lisa o áspera deslucido, escamoso o sin escama, verrugoso con espinas delgadas.

Conexión hifal, de las esporas pueden presentar más de una conexión hifal, esta puede ser sencilla o doble. La conexión hifal es gruesa, de 5 - 6 μm de ancho, estrecha hacia la base de la espora, puede o no formar sepa, la que es formada por engrosamiento e la pared interna.

Reacción Melzer, ninguna en la mayoría de especies, sin embargo, en algunos puede reaccionar formando un color púrpura claro.

d) Género **Entrophospora**

Espora, es de forma globosa, opaca, de superficie lisa, entre 90 - 120 μm de diámetro, de color oliva pálida al estereoscopio, y amarillo-oliva al microscopio.

Paredes de la espora, posee tres grupos de paredes: la más externa es membranosa, transparente, de menos de 1 μm de espesor. Se continúa con el

sáculo, por lo que es más evidente verla cuando se aísla la espora con este. La segunda pared es laminada, de 2 a 4 μm de espesor, de color amarillo. La pared más interna es transparente, delgada y se aprecia cuando se desprende de la laminada al escachar la espora. Esta pared se observa como una pared flexible. El grupo de paredes más internas de tipo germinal está compuesto por una pared de aproximadamente 2 μm de espesor, rugosa en la superficie o "beaded", y una más interna, membranosa que contendría el citoplasma.

Cicatrices: Se distinguen claramente dos cicatrices. Una ovoide de 15 - 30 μm de diámetro y otra ubicada en el lado opuesto de la anterior, más pequeña, circular, de 5 a 10 μm de diámetro.

Reacción Melzer: La pared más interna reacciona tornándose de color púrpura intenso.

3.3. PLANTAS DE COBERTURA ASOCIADAS CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

Las plantas y sus hongos micorrízicos han co-evolucionado hasta nuestros días constituyendo la asociación simbiótica hongo – planta más extendida. La importancia de los hongos micorrízicos no estima solo en que pueden representar la fracción mayor de biomasa del suelo, alcanzando hasta 20% del total y masa seca de la micorriza. Su función clave radica en que su abundante micelio intra y extraradical, constituye un enlace o puente entre las plantas y el suelo. Como lo reporta García *et al.*, (2016) al evaluar el efecto de cultivos de cobertura sobre la longitud del micelio, mostrando un porcentaje de hasta 80% de longitud de micelio (200 cm).

El uso de cultivos de cobertura se sugiere como un método clave para mantener y aumentar el contenido de materia orgánica en el suelo, mantener o mejorar la

salud física, química y biológica (Pereira *et al.*, 2013). Así como lo reportado por Souza, *et al.*, (2013) que evaluaron las propiedades químicas y la actividad microbiana en suelos asociados a leguminosas de cobertura, mostrando un aumentando en la producción de materia seca de 10.000 kg/ha.

El uso de leguminosas ha sido sugerido y promovido en diversos países y cultivos, como una alternativa que contribuye a mejorar la disponibilidad de nutrientes en los suelos, dada su capacidad natural de fijar nitrógeno simbióticamente y reciclar nutrientes (Peña y Arias, 2009).

Estos pueden mejorar la actividad microbiana y el crecimiento, la mejora de ciclos biogeoquímicos de los nutrientes (Madejón, 2016). Recientes investigaciones indican que estas características de las leguminosas de cobertura se deben en gran parte a la simbiosis benéfica con hongos micorrízicos arbusculares, los cuales incrementan la toma de nutrientes, la absorción del agua y la resistencia a condiciones de estrés (Gil *et al.*, 2013), al evaluar el efecto de cultivos de cobertura en el contenido de agua se mostró un aumento de 174 mm a 288 mm (García *et al.*, 2016). Otro efecto de los cultivos de cobertura es la mejora del nivel de inóculo de los hongos micorrízicos arbusculares que puede promover la salud del cultivo posterior, la nutrición mineral, y la tolerancia al estrés abiótico, así como proporcionar protección contra los agentes patógenos y los procesos de agregación del suelo (García *et al.*, 2016).

En tanto es obvio que una de las mejores formas de favorecer el desarrollo de hongos micorrízicos arbusculares en el suelo será implantar cultivos de alta compatibilidad o susceptibilidad. Dentro de una especie vegetal puede haber cultivares más susceptibles que otros. Generalmente, las plantas con alta demanda de fósforo (leguminosas) responden mejor a la micorrización. Es el caso

de combinaciones entre plantas de alta micotrofia y aquellas a las cuales se asocian a bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre, las cuales pueden estimular la infectividad y la formación de micorrizas efectivas. Por ello la asociación de leguminosas con HMA es un aspecto muy relevante, pues puede provocar modificaciones cualitativas y cuantitativas en la población de estos hongos del suelo. Algunas especies de leguminosas micrógrafas como la *Canavalia ensiformis* y *Crotalaria juncea* pueden aumentar el contenido potencial de inóculos micorrízicos en el suelo, mejorar la absorción de P y los rendimientos del cultivo posterior (Martín *et al.*, 2010).

Así mismo el manejo adecuado de rotaciones de cultivos micotróficos afecta positivamente la colonización y la producción de esporas (Bethlenfalvay *et al.*, 1991). El efecto positivo de las leguminosas de cobertura sobre la riqueza de especies de HMA y el índice de diversidad, se debe principalmente a que éstos mejoran la actividad biológica del suelo (Crews y Peoples, 2004). Se ha reportado que el uso de leguminosas de cobertura, incrementa la población nativa de HMA de dos a tres veces (Deguchi *et al.*, 2007) influyendo en la riqueza de especies y en su diversidad (Blanco y Gutiérrez, 1998). como lo muestra Pérez *et al.*, (2012) que reportó un efecto positivo en la diversidad de especies de HMA y en la colonización micorrízica, con 27 morfotipos siendo los géneros de *Glomus* y *Acaulospora* los más abundantes con 11 y 8 morfotipos respectivamente, la densidad de esporas de HMA varió de 45 a 181 en promedio por 50 g de suelo, el porcentaje de colonización fue de 80.3 %.

En la inoculación de HMA en leguminosas, se ha observado que esta relación simbiótica proporciona un mayor intercambio entre los simbioses y efectos superiores a las plantas, en comparación de las relaciones basadas en

asociaciones no simbióticas. Así las micorrizas incrementan la absorción de nutrientes como el fósforo, muy importante para garantizar una adecuada fijación biológica de nitrógeno y crecimiento de la planta (Rivera y Fernández, 2003). La colonización de las raíces de leguminosas por los HMA puede afectar a las comunidades bacterianas asociadas a la rizósfera en forma directa o indirecta. Las interacciones directas incluyen el suministro de energía mediante compuestos ricos en carbono, que son transportados desde la planta hospedera hacia la micorrizosfera mediante las hifas del hongo. Las interacciones indirectas se refieren a los efectos de las micorrizas en el crecimiento de la planta hospedera, la exudación de sustancias estimuladoras del crecimiento y la mejora de la estructura del suelo (Martín *et al.*, 2015).

Un ejemplo claro es la *Canavalia ensiformis*, especie vegetal que entre otras ventajas, para ser empleada como abono verde, tiene la peculiaridad de multiplicar los propágulos de HMA en el suelo (de 100 a 400-800 esporas/50 g de suelo) sean nativos o inoculados, así mismo aumentan los porcentajes de 18 a 44% para materia seca, extracción de nutrientes y funcionamiento fúngico, propiciando de esta manera la colonización micorrízica del cultivo posterior, todo lo cual le otorga a esta especie un valor agregado como abono verde en los sistemas agrícolas (Martín *et al.*, 2012).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación y caracterización del área de estudio

Para el estudio se identificaron seis zonas correspondientes a la subcuenca del Cumbaza, considerando la parte alta, las zonas de (Chirikyacu, Vista Alegre y El Chontal) y parte media (Aucaloma, Shapumba y San Antonio) de la subcuenca del Cumbaza, ubicada en las provincias de Lamas y San Martín, Departamento de San Martín (Figura 1 y 2); la subcuenca del Cumbaza se caracteriza por presentar zonas de altitud entre los 410 a 1160 m.s.n.m. En general, los suelos en la parte alta están ubicados en las laderas de las colinas, son generalmente poco profundas, ácidos y de menor fertilidad (Tabla 1). En cada localidad se seleccionaron parcelas de 2500 m² que presentan suelos degradados, donde predominan plantas de Shapumba (*Pteridium aquilinum*) y Cashaucsha (*Imperata brasiliensis*) (Figura 2).

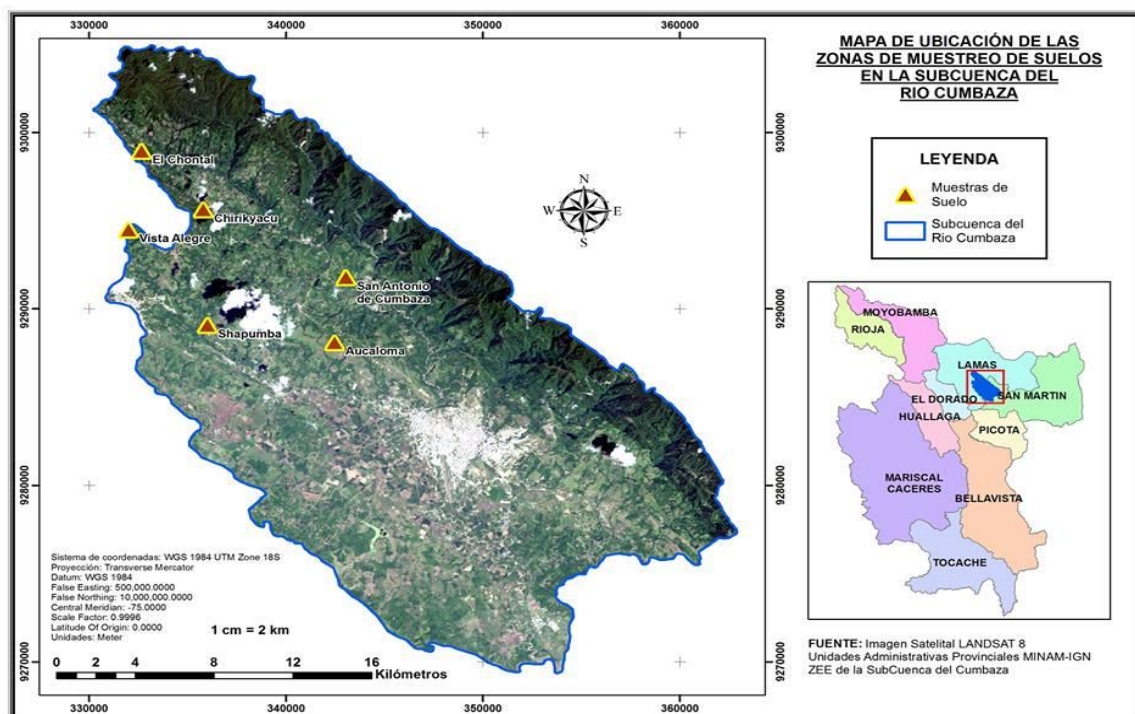


Figura.1. Mapa de la subcuenca del Cumbaza indicando la localización de las seis localidades de muestreo de suelo.

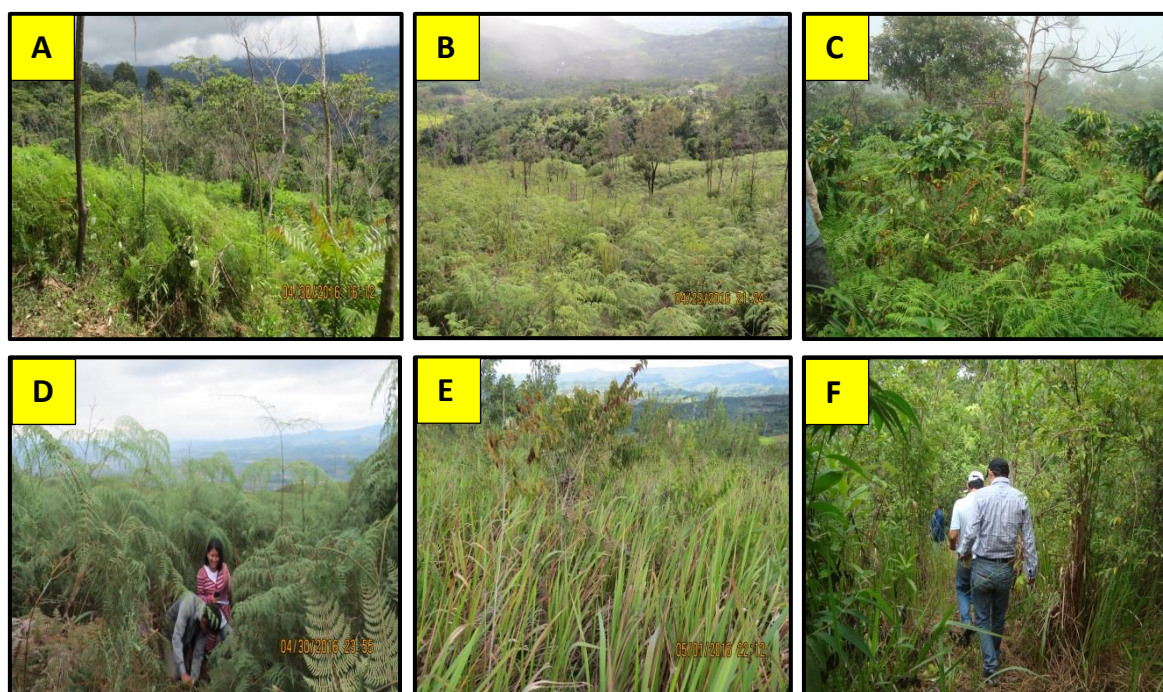


Figura.2. Vista panorámica de parcelas seleccionadas de la subcuenca del Cumbaza: A) Chirikyacu. B) Vista Alegre. C) Chontal. D) Aucaloma. E) Shapumba y F) San Antonio.

Tabla 1

Características edafoclimáticas de zonas de la subcuenca del Cumbaza

	Chirikyacu	Chontal	Vista Alegre	Aucaloma	Shapumba	San Antonio
Altitud (m.s.n.m)	1143	1199	780	714	623	559
Precipitación (mm) anual	1853	1646	1647	1519	1280	1519
Clasificación de suelo	inceptisoles	inceptisoles	entisoles	inceptisoles	inceptisoles	alfisoles
Textura	Franco	Franco arenoso	Franco arenoso	Franco arcilloso	Franco arenoso	Arcilla
Pendiente (%)	19.85	14.56	44.38	14.42	18.11	12.00
Composición vegetal	Shapumba, ,Café, Plátano	Shapumba, Café,Piña	Shapumba, Yuca, Plátano	Shapumba	Cashaucsha	Shapumba

Fuente: Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú – SENAMHI

(2016)

4.2. Colecta de muestras de suelos de campo

Las muestras de suelo se colectaron de áreas degradadas en seis zonas de la subcuenca del Cumbaza, las zonas fueron Chirikyacu (S6° 29.065' W76° 22.038'; 1087 m.s.n.m.m), Vista Alegre (S6° 22.830' W76° 31.132'; 785 m.s.n.m.m), El Chontal (S6° 20.435' W76° 30.769'; 1190 m.s.n.m.m), San Antonio (S6° 24.286' W76° 25.181'; 539 m.s.n.m.m), Aucaloma (S6° 26.296' W76° 25.440'; 738 m.s.n.m) y Shapumba (S6° 25.747' W76° 28.977'; 593 m.s.n.m.m). Colectadas en el mes de abril y la primera semana de mayo del 2016. En las zonas se realizó un muestreo aleatorio en forma de zig-zag, tomando 1kg de suelo en 10 puntos equidistantes (10mts. aprox.), haciendo un total de 10 sub muestras por cada zona, a una profundidad de 0 – 20 cm. Las muestras fueron homogenizadas y depositadas en bolsas plásticas de polietileno y rotuladas con el nombre de la zona y fecha de recolección (Figura 3). Dos fracciones fueron separadas de cada muestra, una para los análisis microbiológicos que fueron puestas en refrigeración a 4 °C hasta su posterior análisis en el laboratorio de microbiología Agrícola y para los análisis físico-químicos en el Laboratorio de suelos, aguas y foliares de la Facultad de Ciencias Agrarias – UNSM, y la parte restante para la instalación de leguminosas de cobertura como plantas trampa. Las muestras de suelos fueron colectadas en el año 2016, en los meses de abril y mayo siendo considerada una época lluviosa (Gráfico 1).



Figura.3. Procedimiento de colecta de suelo: A) Limpieza de la superficie del suelo. B) Colecta de muestras de suelo. C) Homogenización de las muestras. D) Muestra de suelos para análisis microbiológicos y físico-químicos. E) Transporte de muestras de suelo al laboratorio y para la siembra de leguminosas.

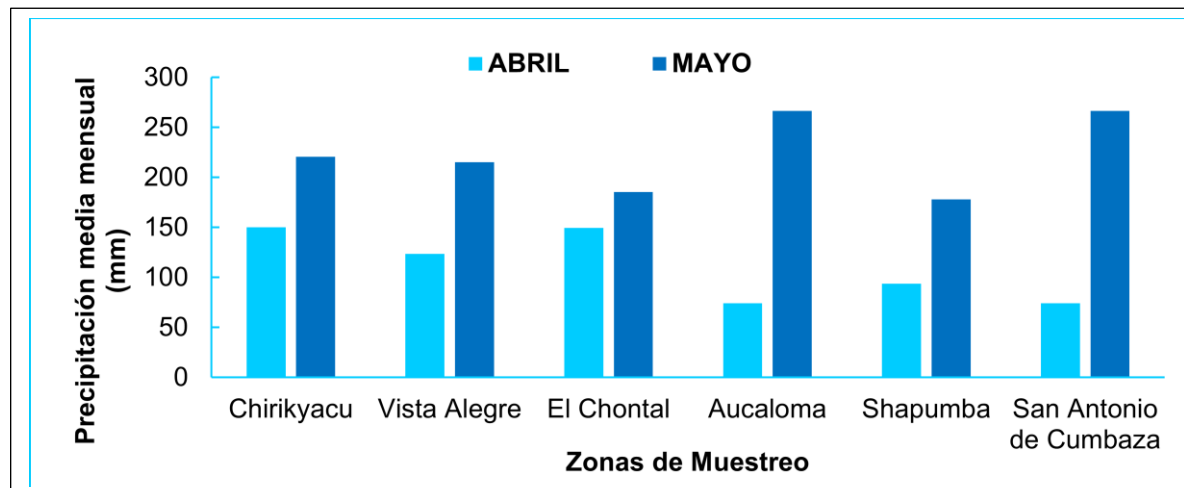


Gráfico. 1. Distribución de la precipitación durante el periodo y localización de las colectas (Fuente: Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú – SENAMHI-2016)

4.3. Propiedades físico - químico y biológicos del suelo recolectado:

El análisis físico-químico de las muestras de suelo colectadas en las seis zonas de la subcuenca del Cumbaza fue realizado por el laboratorio de Suelos, Aguas y Foliare (Tabla 2) y los análisis microbiológicos (Tabla 3) se realizaron en el laboratorio de Microbiología Agrícola, ambos de la Facultad de Ciencias Agrarias – UNSM, Tarapoto, en el mes de mayo del año 2016. Donde se obtuvieron los siguientes datos.

Tabla 2

*Caracterización físico – químico de suelos de las zonas de colecta **

Localidad	pH (1:1)	C.E (1:1) ds/m	N %	M.O %	P ppm	K ppm	Análisis mecánico			Clase textural
							Arena	Limo	Arcilla	
							%	%	%	
Chirikyacu	3.78	171.3	0.247	4.47	3.48	110.76	42	36	22	Franco
Vista Alegre	4.89	68.3	0.136	2.71	5.81	41.33	53	30	17	Franco arenoso
Chontal	3.99	156.7	0.228	4.56	4.68	52.63	38	33	25	Franco arenoso
Aucaloma	4.62	88.8	0.184	3.67	4.62	50.74	35	33	33	Franco arcilloso
Shapumba	4.47	57.8	0.129	2.57	4.18	28.61	54	28	18	Franco arenoso
San Antonio	6.40	275.2	0.264	5.22	7.94	233.8	32	24	45	Arcilla

* Metodologías de análisis: Textura: (Hidrómetro Bouyoucos), pH (Potenciómetro suspensión suelo-agua 1:2.5), MO=materia orgánica (Walkley y Black), P=fósforo extraíble (Olsen), K=Potasio, N=Nitrógeno y Mg= Magnesio (extracción NaHCO₃ 0.5 M; 8.5 Fotómetro)

Fuente: Laboratorio de Análisis de Suelos y Aguas- UNSM-T. Mayo, 2016.

Tabla 3*Análisis microbiológico de suelos de las zonas de colecta **

	Bacterias totales (UFC/g)	Bacterias esporuladas (UFC/g)	Hongos totales (UFC/g)	Actino bacterias (UFC/g)	Bacterias solubilizadora de fosfato (UFC/g)	Esporas HMA/10g
Chirikyacu	5.85	4.04	3.51	5.59	4.64	25
Chontal	5.28	4.32	2.84	4.82	3.00	13
Aucaloma	5.35	4.05	3.45	5.14	4.32	13
Vista Alegre	5.73	4.83	3.81	4.87	4.32	20
Shapumba	5.37	4.36	3.27	5.52	4.21	28
San Antonio	6.60	5.99	3.61	5.91	3.67	17

Valores convertidos a escala logarítmica base 10.

* Metodologías de análisis: Bacterias totales, B. esporuladas, B. solubilizadoras de fosfato y Actino bacterias (Recuento en placa por siembra en superficie), Esporas de HMA (tamizado en húmedo y decantación).

Fuente: Laboratorio de Microbiología Agrícola – UNSM -T. Mayo, 2016.

4.4. Implementación y conducción del experimento

El trabajo de investigación se realizó en dos fases: Vivero y laboratorio.

4.4.1. Vivero

La primera fase consistió en la multiplicación de HMA con leguminosas de cobertura que se instaló en el vivero del laboratorio de Microbiología Agrícola-Facultad de Ciencias Agrarias – UNSM, Tarapoto (Figura 4).



Figura. 4. Vista panorámica del vivero de multiplicación de HMA.

4.4.2. Laboratorio

La siguiente fase fue de selección, aislamiento de esporas y evaluación de la colonización micorrízica de HMA, que se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología Agrícola (Figura 5).



Figura. 5. Instalaciones del laboratorio de microbiología agrícola.

4.4.3. Generalidades del lugar

a) Ubicación Política

Sector : Ciudad Universitaria

Distrito : Morales

Provincia : San Martín

Departamento : San Martín

b) Ubicación Geográfica

Latitud Sur : 06° 35' 00"

Longitud Oeste : 76° 05' 00"

Altitud : 290 m.s.n.m.m

c) Condiciones climáticas:

Ecosistema : bosque seco pre montano tropical

Precipitación : 1200 mm. / Año.

Temperatura : Max = 32° C, Min = 22°C, Prom = 26°C

Altitud : 290 m.s.n.m.m

Humedad relativa: 70%

4.5. Instalación de plantas de cobertura como plantas trampa para la multiplicación de HMA

Los suelos recolectados de las seis zonas de estudio se secaron bajo sombra a temperatura ambiente, para luego ser triturados, tamizados y mezclados con vermiculita (lavada y esterilizada) a razón de 1:1 para la siembra en macetas. Estas se instalaron en el vivero del laboratorio de Microbiología Agrícola, utilizando cuatro plantas de cobertura adaptadas a climas tropicales y a condiciones de suelos infértiles como son: Puspino (*Cajanus cajan*), Canavalia (*Canavalia ensiformes*), Crotalaria (*Crotalaria juncea*) y Caupi (*Vigna unguiculata*).

Se sembraron semillas desinfectadas de las cuatro leguminosas, en macetas de 3.5 kg de sustrato (suelo de la zona de estudio y vermiculita en proporción 1:1). Las leguminosas de cobertura se mantuvieron en condiciones de invernadero durante 3 meses, las cuales fueron regadas según necesidad de las plantas, y a los 60 días se suspendió el riego para someterlo a un estrés hídrico, esto para estimular la multiplicación de esporas de HMA (Figura 6).

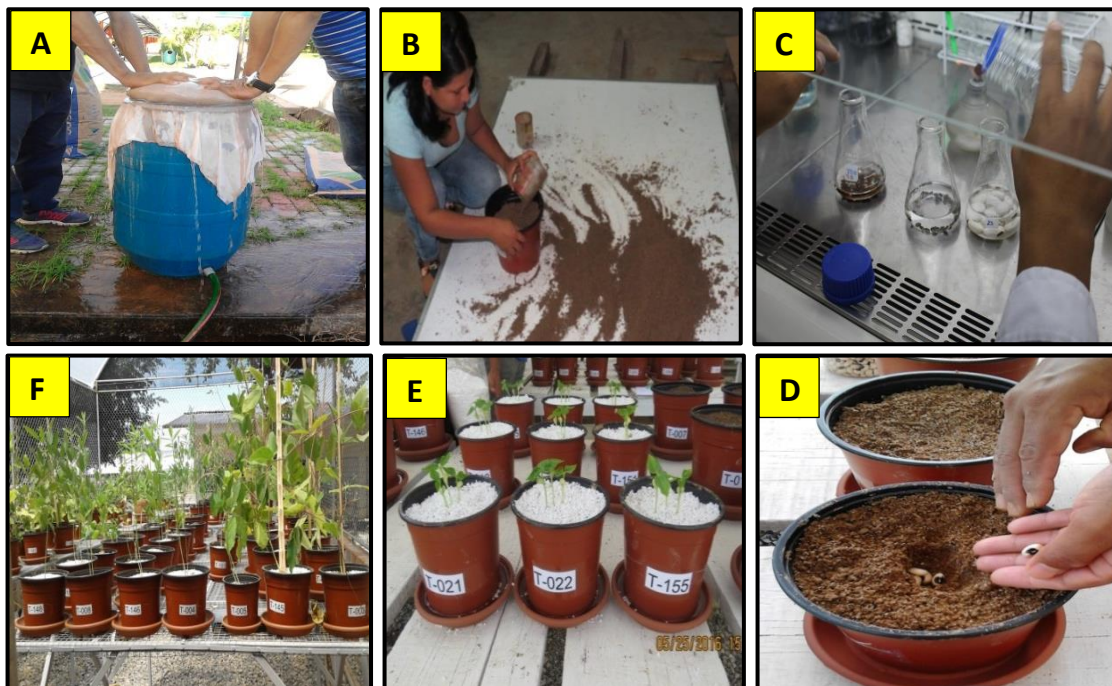


Figura. 6. Procedimiento para la instalación de plantas de cobertura: A) Lavado y esterilización de perlita. B) Preparación de sustrato. C) Desinfección de semillas. D) siembra de leguminosas. E) Aplicación de perlita. F) Leguminosas de cobertura a los 90 dds.

4.5.1. Selección de suelo y raíces de macetas con plantas trampa

Las muestras biológicas que se tomaron de cada tratamiento fueron biomasa radicular y suelo rizosférico. Las muestras de suelo fueron puestas a secar bajo sombra y tamizadas logrando eliminar restos de perlita. Se tomaron 500 g de debidamente codificado.

Por otro lado las raíces fueron lavadas con abundante agua para poder desprender partículas de suelo. Posteriormente se seleccionaron raíces más finas (secundarias y terciarias) las cuales fueron cortadas en segmentos de 2cm de longitud aproximadamente y colocadas en tubos falcón de centrífuga (50ml) con alcohol (70%) y puestas a temperatura ambiente por dos días, hasta su posterior evaluación (Figura 7).



Figura. 7. Procedimiento para la selección de suelo y raíces: A) Eliminación de parte aérea. B) Tamizado de suelo. C) Codificación de suelo. D) Lavado de raíces. E) Selección de raíces. F) Conservación de raíces.

4.6. Análisis

4.6.1. Densidad de esporas

El aislamiento de esporas se realizó según el método de tamizado en húmedo y decantación propuesta por Gerdemann y Nicholson (1963) con modificaciones. Que consiste en la extracción de una muestra de 10 g de suelo, pasando a través

del tamiz de 710 μm y 53 μm en secuencia para aislar esporas de diversos tamaños, y después éstas se centrifugaron en tubos falcón de 50 ml con agua destilada a 3500 rpm durante 5 minutos, seguido de centrifugación en solución acuosa a 70 % de sacarosa a 3500 rpm durante cinco minutos. Esta etapa se repitió dos veces (Figura 8).

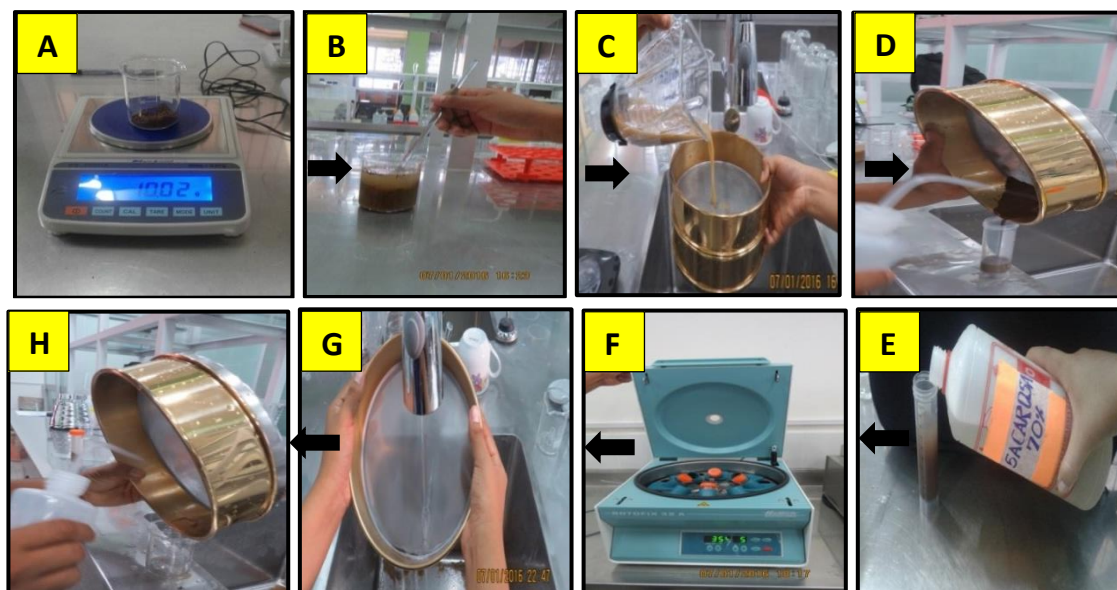


Figura. 8. A, B, C, D, E, F,G y H :Procedimientos para el aislamiento de esporas.

Para la cuantificación de esporas se realizó de acuerdo a Schenck y Pérez (1990), de cada muestra procesada por la técnica de tamizado y decantación se tomaron 10 ml de cada uno de ellas, estas se depositaron en una placa concéntrica para facilitar el conteo de esporas. Las esporas se contaron con la ayuda de un contómetro y vistas al estereoscopio con aumento de 40 veces. Por cada muestra se realizaron tres conteos, para tener un estimado total de número de esporas/g de suelo (Figura 9).

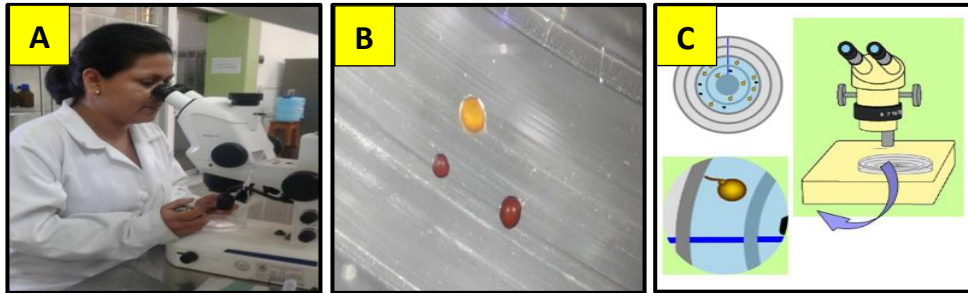


Figura. 9. Procedimiento para el conteo de esporas de HMA-Nativos: A) Observación en estereoscopio binocular. B) Esporas viables observadas. C) Conteo de esporas en placa concéntrica.

4.6.2. Porcentaje de colonización micorrízica

La tinción de raíces de leguminosas de cobertura, se realizó de acuerdo a la metodología de Viertheilig *et al.*, 1998 modificado, las muestras de raíces que estuvieron conservadas en alcohol al 70% se lavaron con agua corriente, posteriormente se calentaron en baño maría a 90° con KOH al 10 % durante 40 minutos. Luego se añadió H₂O₂ al 10% a las raíces, hasta lograr aclararlas. Seguidamente se añadió tinta azul parker durante 60 segundos a 90°C en baño maría. Por último las raíces teñidas fueron conservadas en lagtoglicerol, hasta su posterior evaluación (Figura 10)

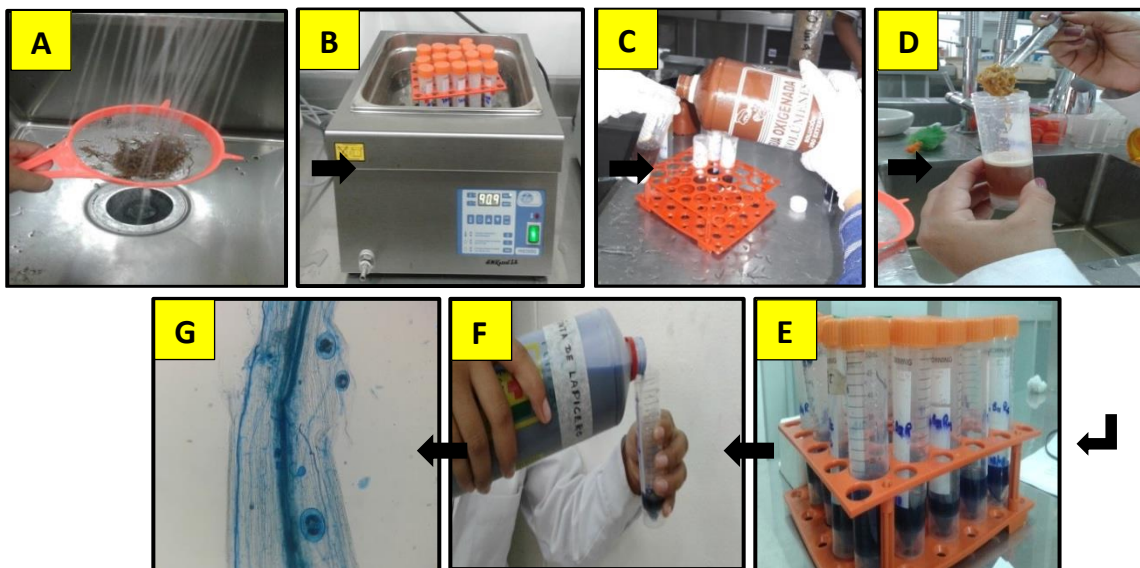


Figura. 10. A, B, C, D, E, F, y G: Procedimientos para tinción en raíces.

Para determinar el porcentaje de colonización micorrízica por HMA se realizó según la metodología de Giovannetti y Mosse (1980). Las raicillas se distribuyeron en forma aleatoria en una placa Petri cuadriculada (1.27 x 1.27cm) en solución de Iagtoglicerol, donde fueron evaluados los fragmentos de raíces conteniendo estructuras fúngicas de los HMA (hifas, vesículas, arbuscúlos, esporas) vistas en un estereoscopio binocular, para determinar el porcentaje de colonización. Se observó cada campo visual, la intersección de las raíces con la línea horizontal, anotando la presencia o ausencia de colonización micorrízica del segmento de la raíz que está en contacto con la línea de la cuadrícula (Figura 11).

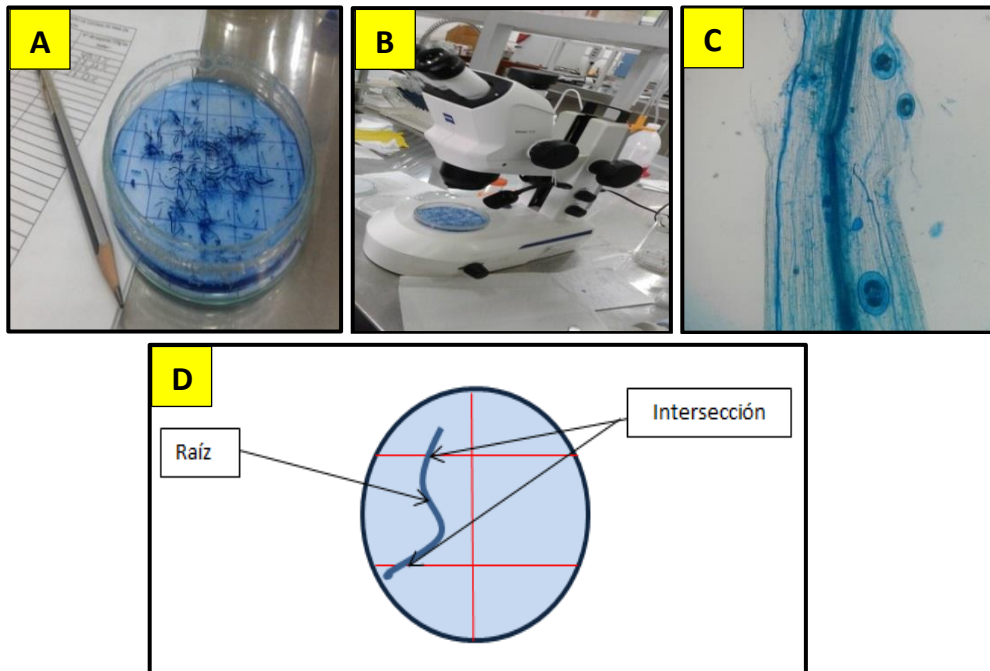


Figura. 11. Etapas para determinar el porcentaje de colonización micorrízica: A) Segmentos de raíces en placa cuadriculada. B) Observación en estereoscopio. C) Estructuras de HMA en raíces. D) Forma de evaluación de cada segmento de raíz.

4.6.3. Separación e identificación de morfotipos de HMA nativos predominantes

Para el desarrollo de esta actividad se colocaron las esporas en una placa reloj y se observaron al estereoscopio. Con la ayuda de una aguja de disección las esporas se agruparon y separaron según los morfotipos, considerando las características morfológicas como forma, color y diámetro, para posteriormente extraerlas con la ayuda de una micropipeta (Figura 12). Las esporas de los morfotipos predominantes de cada zona por leguminosas se montaron en portaobjetos utilizando como líquidos de montaje alcohol polivinílico y ácido láctico glicerol (PVLG) y PVLG con reactivo Melzer (1:1 v/v), se aplicó una ligera presión sobre cada uno de los cubreobjetos, para romper levemente las esporas y se secó cada preparación a temperatura ambiente durante 72 horas. Después de ese tiempo se procedió a analizar las preparaciones al microscopio binocular en 100X y 400X y con la ayuda del sistema Axio Vision de Carl Zeiss se evaluaron todas sus características morfológicas de acuerdo a los parámetros usados en el catálogo ilustrado de Micorriza arbuscular de la Amazonía colombiana (Peña *et al.*, 2006). Las características de las esporas de los morfotipos predominantes fueron evaluadas según la ficha de evaluación del Anexo 3.

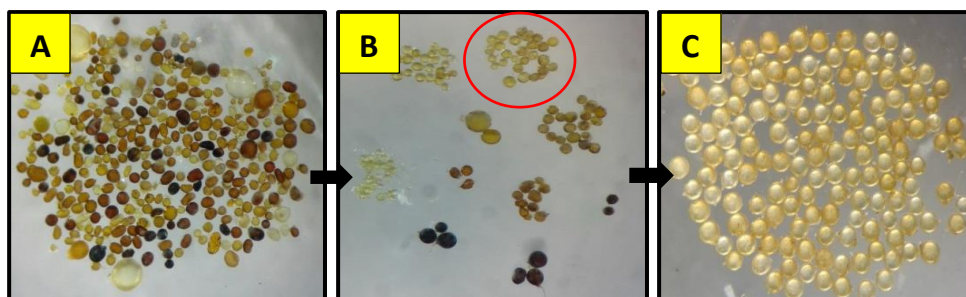


Figura. 12. Procedimiento para selección de morfotipos predominantes: A) Aislamiento de esporas. B) Separación por morfotipos. C) Morfotipo predominante.

4.7. Diseño Experimental

El trabajo de investigación se desarrolló utilizando el diseño completo al azar (DCA), con arreglo factorial de 6A x 4B, considerando el factor A (zonas de la subcuenca del Cumbaza) y el factor B (leguminosas de cobertura).

Factor A: zona

A1 = Chirikyacu

A2 = Chontal

A3 = Vista Alegre

A4 = Aucaloma

A5 = Shapumba

A6 = San Antonio de Cumbaza

Factor B: Plantas de cobertura

B1 = *Canavalia ensiformis*

B2 = *Crotalaria juncea*

B3 = *Vigna unguiculata*

B4 = *Cajanus cajan*

La interacción de cada uno de los factores dio origen a un total de 24 tratamientos (Tabla 4), con 3 repeticiones, haciendo un total de 72 unidades experimentales, con un nivel de significancia de $p < 0,05$ y probabilidad de error para determinar la naturaleza de las diferencias entre tratamientos. Todos los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza. Una vez comprobada la homogeneidad de las varianzas y la distribución normal de los datos. Las medias se compararon mediante la prueba de rango múltiple de Tukey. Para todos los casos se utilizó un nivel de significancia $p < 0,05$; con $n=3$. Los datos fueron analizados con el programa SAS 9.2 (SAS INSTITUTE, 2008).

Tabla 4

Tratamientos en estudio. T= Tratamiento, Chi= Chirikyacu, Cho=Chontal, Va= Vista Alegre, Au= Aucaloma, Sh=Shapumba, Sn= San Antonio, Ca= Canavalia ensiformis, Cr=Crotalaria juncea, Vi=Vigna unguiculata, Cj= Cajanus cajan.

TRATAMIENTOS					
Chirikyacu	Chontal	Vista Alegre	Aucaloma	Shapumba	San Antonio
T1 = Chi-Ca	T5 = Cho-Ca	T9 = Va-Ca	T13 = Au-Ca	T17 = Sh-Ca	T21 = Sn-Ca
T2 = Chi-Cr	T6 = Cho-Cr	T10 = Va-Cr	T14 = Au-Cr	T18 = Sh-Cr	T22 = Sn-Cr
T3 = Chi-Vi	T7 = Cho-Vi	T11 = Va-Vi	T15 = Au-Vi	T19 = Sh-Vi	T23 = Sn-Vi
T4 = Chi-Cj	T8 = Cho-Cj	T12 = Va-Cj	T16 = Au-Cj	T20 = Sh-Cj	T24 = Sn-Cj

Tabla 5

Análisis de varianza para el experimento

F. de V.	G.L
A	$p - 1 = 5$
B	$q - 1 = 3$
A B	$(p - 1) (q - 1) = 15$
Error	$(p \times q \times r) - 1 = 71$

Para realizar el análisis de varianza, los datos expresados en porcentaje (colonización micorrízica) y datos cuantificable (número de esporas) fueron transformados a arcoseno \sqrt{x} y $\log(x)$ respectivamente.

4.8. Variables Evaluadas

4.8.1. Determinación de la colonización micorrízica

Con la finalidad de determinar la colonización de hongos micorrízicos arbusculares en raíces de leguminosas de cobertura se realizó el siguiente análisis al tercer mes del experimento:

Porcentaje de colonización

El porcentaje de colonización en raíces se calculó según la metodología propuesta por Giovannetti y Mosse (1980).utilizando la siguiente formula:

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

Tabla 6

Escala de clasificación del porcentaje de colonización según Zangaro, et al., 2002

ESCALA	PORCENTAJE (%)
Muy bajo	1 – 19
Bajo	20 – 39
Intermedio	40 – 59
Alto	60 – 79
Muy alto	> 80

4.8.2. Densidad de esporas nativas de HMA

La densidad de esporas, es la abundancia o el número de esporas que se encuentran en una determinada muestra evaluada (Robles, *et al.*, 2013). La cuantificación de esporas se realizó al tercer mes del experimento, donde se contaron las esporas viables que se encontraron en 10 g de suelo.

4.8.3. Selección de morfotipos de HMA nativos predominantes

Para la selección de los morfotipos predominantes encontrados en cada muestra de suelo se realizó a los tres meses del experimento, donde se seleccionaron los morfotipos predominantes de cada muestra de suelo. Se consideraron morfotipos predominantes los que tuvieron el mayor número de individuos (esporas) en una muestra de suelo.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Colonización Micorrízica por HMA

La colonización micorrízica en raíces de leguminosas de coberturas por los hongos micorrízicos arbusculares no presentó interacción entre las zonas y las leguminosas, solo las leguminosas influenciaron significativamente en la colonización micorrízica, lo que nos indica que las leguminosas influyen en la colonización ($p \leq 0.05$). Así mismo el coeficiente de variabilidad fue 15,80 % y el coeficiente de determinación R^2 fue de 61 %, mostrando heterogeneidad entre los tratamientos evaluados. Se observa también que no existen diferencias significativas entre los factores de las seis zonas de la subcuenca del Cumbaza (Tabla 7).

Tabla 7

Análisis de varianza para el grado de colonización (%) en raíces de leguminosas de cobertura en seis zonas de la subcuenca del Cumbaza. Datos transformados $\arcsen \sqrt{\%}$

Fuente de variabilidad	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F.C	P-valor Sig.
Zona	5	0.00079144	0.00015829	1.4	0.2412 N.S
Leguminosa	3	0.00566477	0.00188826	16.7	0.0001 *
Zona x Leguminosa	15	0.00194941	0.00012996	1.15	0.342 N.S.
Error	48	0.01383301	0.00011307		
Total	71	0.01383301			

* : significativo a 5%; N.S: no significativo

C.V. = 15.80 %

Promedio: 67%

$R^2 = 61 \%$

En el análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$) (Gráfico 2), para el efecto principal de las zonas de la subcuenca para la colonización (%), se puede observar que los resultados de cada zona no presentan diferencia significativa entre sí. Sin embargo la zona de Chirikyacu (70.32 %) mostró la mayor colonización en las raíces de leguminosas, con respecto a las demás zonas y la menor colonización lo presentó la zona de Aucaloma (64.27 %). Estos resultados según la escala de clasificación de porcentaje de colonización (Tabla 6) muestran altos niveles de colonización y pueden estar estrechamente ligados al pH de los suelos, según Corpoica (1998) ha encontrado valores de micorrización de 50% a 84%) en pH bajos (3.5 a 4.2). Dicho estudio concuerda con los resultados en este trabajo (Gráfico 2)

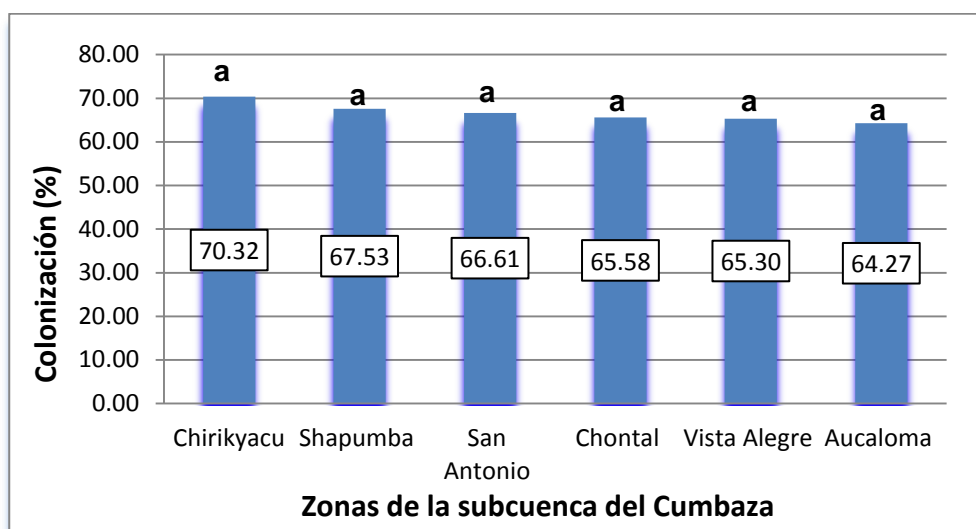


Gráfico. 2. Prueba de Tukey ($p < 0.05$) para el efecto principal de los niveles del Factor A: Zonas de la subcuenca en relación al porcentaje de colonización.

Se observó diferencias significativas entre las leguminosas donde las plantas de *Vigna unguiculata* (75 %), *Crotalaria juncea* (73.73 %) y *Canavalia ensiformis* (67.66 %), fueron las más colonizadas por los hongos micorrízicos arbusculares

Estos resultados según la escala de clasificación de porcentaje de colonización (Tabla 6) son valores altos, en relación a *Cajanus cajan* (52.68 %) que presentó la más baja colonización micorrízica (Gráfico 3) con un nivel intermedio de colonización según la escala (Tabla 6). Se puede apreciar que *Vigna unguiculata* presenta mayor colonización (75%) en comparación con la leguminosa de cobertura *Cajanus cajan* (52.68%) que presenta menor colonización, esto concuerda con lo reportado por otros autores como Martín *et al.*, (2007) donde encontraron una colonización de 62.69% de colonización micorrízica en raíces de *Canavalia ensiformis*. Al igual que Pérez *et al.*, (2012) que reportaron un porcentaje de colonización en leguminosas de 80.3 %. Así mismo Higo *et al.*, (2015) compararon en un experimento de macetas el rendimiento de cuatro cultivos de cobertura potenciales entre gramíneas y leguminosas, encontrando mayores valores de colonización de HMA en las raíces de leguminosas. Atribuyeron estas diferencias a la selectividad del huésped.

Miranda, (2005) indica que algunas plantas de leguminosas de interés agronómico son altamente micotróficas y de esta manera pueden contribuir para un alto índice de colonización micorrízica en este grupo de plantas. Así mismo García *et al.*, (2016) señala que la planta huésped proporciona alojamiento y carbohidratos para la formación, el mantenimiento y la función de las estructuras micorrízicas, como las esporas (estructuras esféricas asexuales, cuya función es la de supervivencia y propagación), hifas (estructura intra y extraradical cuya función es de infección, absorción y reproducción, invaden y exploran el suelo, absorbiendo nutrientes minerales y traslocarlo a la planta hospedera), vesículas (órgano de reserva importante en el almacenamiento de lípidos y glucógeno) y arbusculos (órganos de transferencia de nutrientes, donde se realizan el

intercambio metabólico del carbono y fósforo y otros nutrientes minerales entre la planta y el hongo) (Figura 13).

La colonización micorrízica puede estar relacionada con la morfología de las raíces o con ciertas reacciones bioquímicas. Scheublin *et al.*, (2004), menciona que puede ocurrir un reconocimiento mutuo debido a los mecanismos bioquímicos, afectando directamente a la colonización micorrízica.

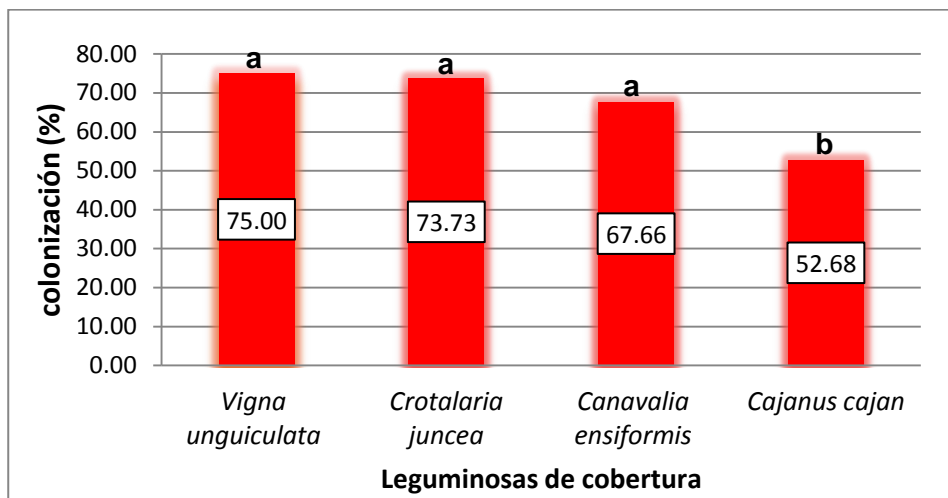


Gráfico. 3. Prueba de Tukey ($p < 0.05$) para efecto principal de los niveles del Factor B: Leguminosas de cobertura, en relación al porcentaje de colonización

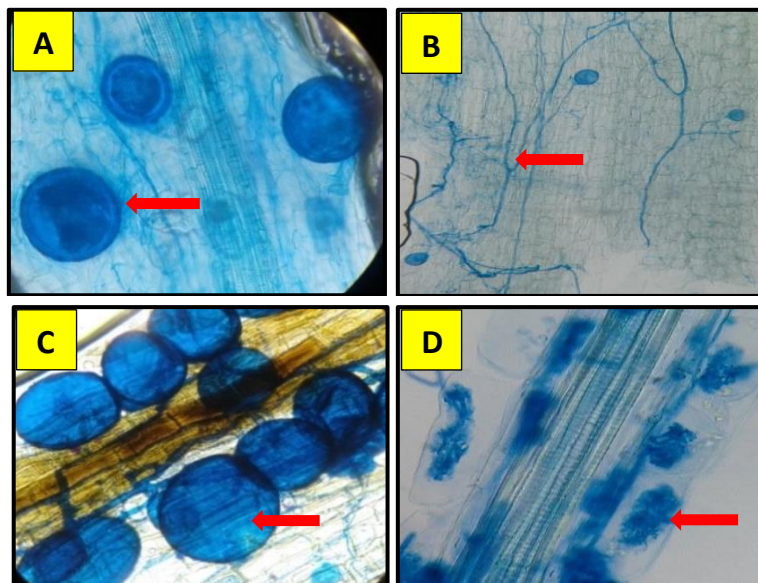


Figura. 13. Estructuras de HMA en raíces de leguminosas observadas al microscopio binocular. A) Esporas. B) Hifas intraradical. C) Vesícula. D) Arbúsculo.

5.2. Número de esporas de HMA - Nativos

Para el análisis de varianza no fue observado efecto significativo en la interacción entre los factores de zona y leguminosas para el número de esporas de los hongos micorrizicos arbusculares, mostrando efectos independientes. El factor zonas resultaron ser altamente significativo, mientras el factor leguminosas fue significativo, lo cual nos indica que existe diferencia significativa entre los niveles de ambos factores (Tabla 8). El coeficiente de determinación (R^2) fue de 54% y el coeficiente de variabilidad (C.V) de 10,16 %.

Tabla 8

Análisis de varianza del número de esporas de HMA nativos (10 g de suelo seco) de los seis suelos de la sub cuenca del Cumbaza y cuatro plantas de leguminosas de cobertura. Datos transformados. Log (x)

Fuente de variabilidad	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F.C	P-valor Sig.
Zona	5	5.39249514	1.07849903	20.02	0.0001 **
Leguminosa	3	0.92607431	0.30869144	5.73	0.0011 *
Zona X Leguminosa	15	1.27447986	0.08496532	1.58	0.0900 N.S.
Error	120	6.46435	0.05386958		
Total	143	14.05739931			

** : altamente significativo; * : significativo con $P < 0.05$; N.S: no significativo

C.V. = 10.16 %

Promedio: 2.28

$R^2 = 54$

En el análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$), se verificó que el sector Aocaloma con 332 esporas/10 g de suelo seco, presentó mayor número de

esporas en promedio, seguido por Vista Alegre con 265 esporas/10 g de suelo seco, así mismo Shapumba con 210 esporas/10 g de suelos seco, Chontal con 199 esporas/10 g de suelos seco, y San Antonio con 168 esporas/10 g de suelos seco son estadísticamente iguales y por último tenemos el sector Chirikyacu con 77 esporas/10 g de suelo seco, presentando el número de esporas más bajos en promedio (Gráfico 4), Esto puede deberse a las características físicas y químicas de los suelos de cada zona, como el pH, el nivel de fertilidad en fósforo y nitrógeno, textura y estructura (Tabla 2). Los diferentes suelos entre los estudios pueden generar estas variaciones en los resultados (García *et al.*, 2016).

Según Vega *et al.*, (2011) muchos de los HMA no esporulan o la producción de esporas está condicionada a los cambios edáficos del suelo, la época y las condiciones del muestreo (Figura 3). La época del año en que se realizaron los muestreos fue la misma para las seis zonas, Así las muestras de suelos se colectaron en la época lluviosa (Gráfico 1).

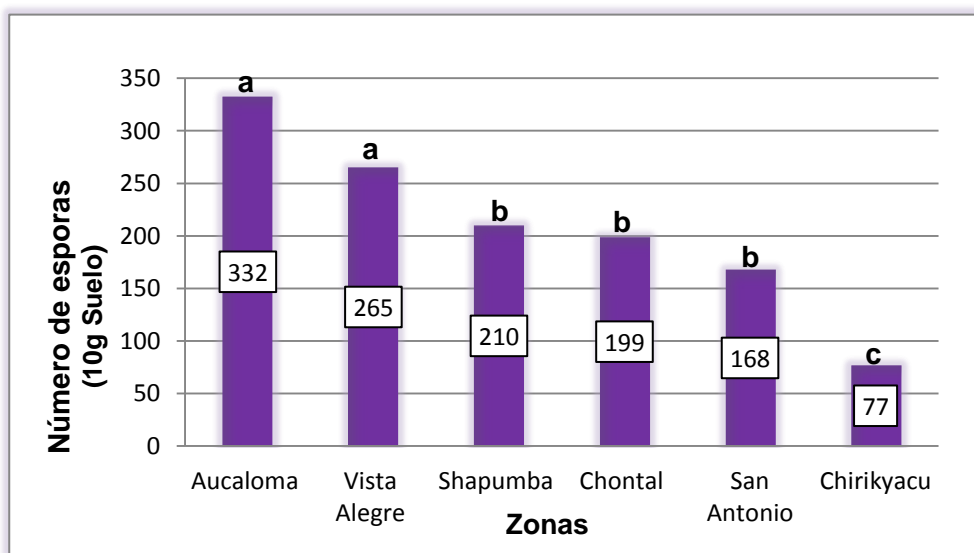


Gráfico. 4. Prueba de Tukey ($p > 0.05$) para el efecto principal de zonas de la subcuenca del Cumbaza para el número de esporas (10 g de suelo seco). Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

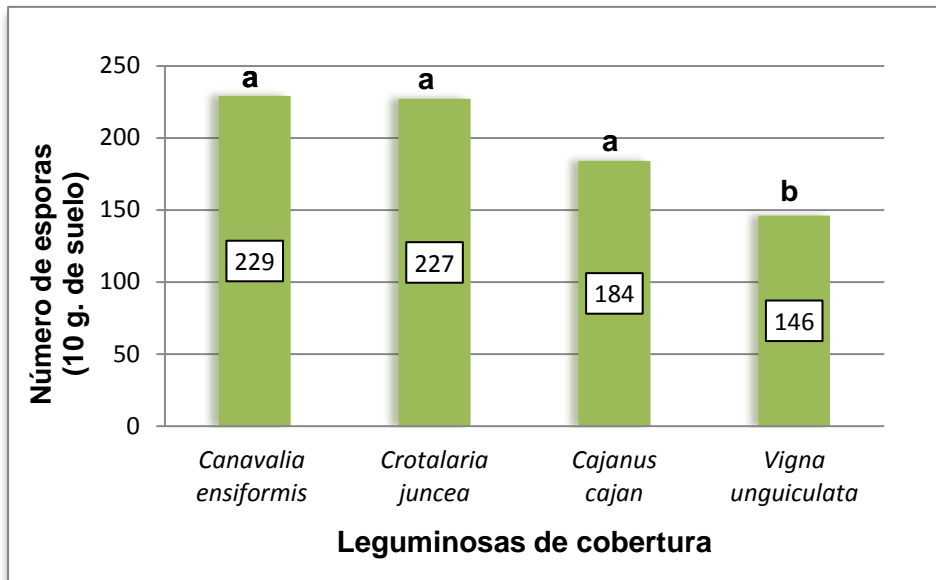


Gráfico. 05. Prueba de Tukey ($p < 0.05$) para promedios de los niveles del Factor B: Leguminosas de cobertura, en relación al número de esporas (10 g de suelo seco). Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

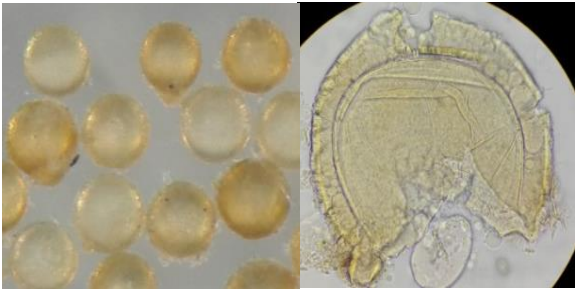
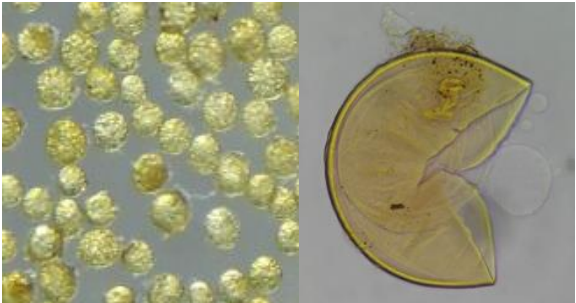
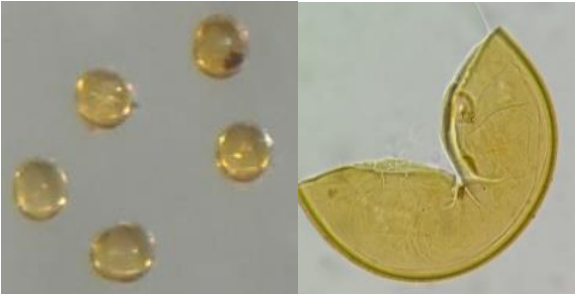
De acuerdo a Plenchette *et al.*, (1983) la dependencia del cultivo de micorrizas influyen en la esporulación y la germinación de esporas. Así mismo Collozzi-Filho y Balota (1994), indican que algunas plantas son capaces de liberar exudados radiculares, capaces de ayudar a incrementar la germinación de esporas y el crecimiento de HMA. Según Oliveira y Oliveira (2005) señalan que el número de esporas de HMA varía espacial y temporalmente.

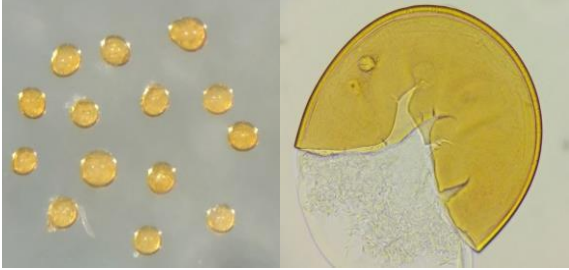
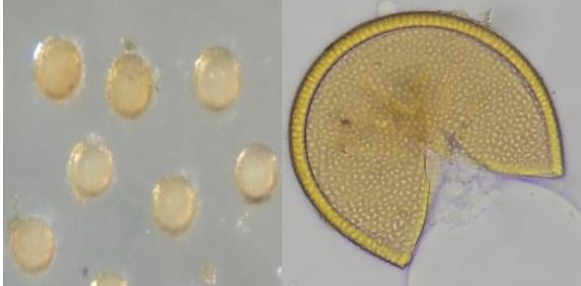
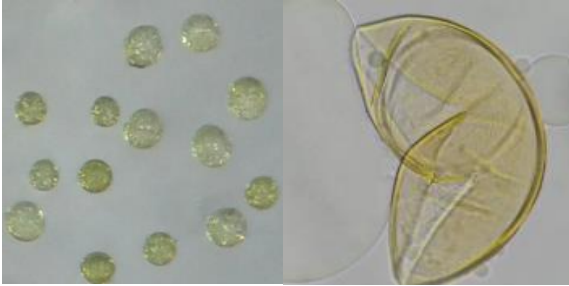
Cabe indicar que las poblaciones de esporas no reflejan como es la colonización de raíces de las plantas; incluso algunos HMA nativos no son detectados porque no están esporulando o aparecen de forma ocasional (Oehl *et al.*, 2004). Las diferencias en el número de esporas pueden deberse a la dependencia del cultivo de micorrizas que influyen en la esporulación y germinación de esporas (García *et al.*, 2016).

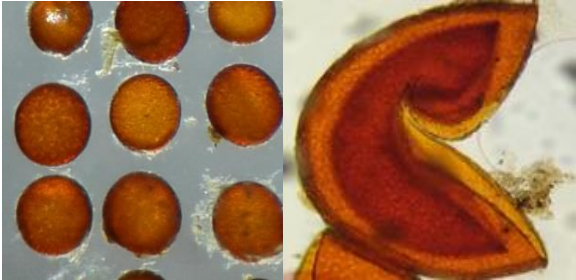
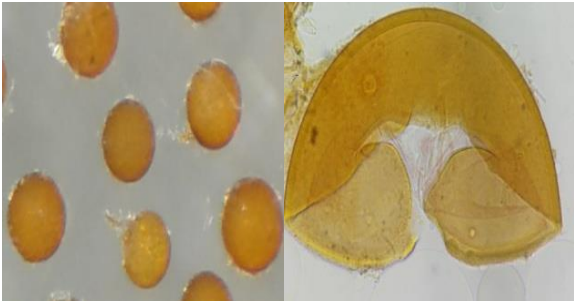

5.3. Identificación de morfotipos de HMA nativos Predominantes

Tabla 9

Identificación de morfotipos nativos predominates de las seis zonas de la subcuena y las cuatro leguminosas de cobertura.

CÓDIGO	MORFOTIPO	CARACTERÍSTICAS
M1		<ul style="list-style-type: none"> • Número de esporas: 430 • Color: amarillo • Forma: globosa • Diámetro: 170-390um • Número de paredes: 03 • Ornamentación: si • Cicatriz: si • Hifa de suspensión: no • Placa germinativa: no • Reacción en melzer: si • Género: <i>Ambispora</i>
M2		<ul style="list-style-type: none"> • Número de esporas: 923 • Color: amarillo claro • Forma: Globosa • Diámetro: 80-110um • Número de paredes: 03 • Ornamentación: no • Cicatriz: si • Hifa de suspensión: no • Placa germinativa: no • Reacción en melzer: si • Género: <i>Acaulospora</i>
M3		<ul style="list-style-type: none"> • Número de esporas: 122 • Color: amarillo claro • Forma: Globosa • Número de paredes: 03 • Ornamentación: no • Cicatriz: si • Hifa de suspensión: no • Placa germinativa: no • Reacción en melzer: si • Género: <i>Acaulospora</i>

CÓDIGO	MORFOTIPOS	CARACTERÍSTICAS
M4		<ul style="list-style-type: none"> • Número de esporas: 91 • Color: amarillo claro • Forma: esferica • Número de paredes: 03 • Ornamentación: si • Cicatriz: si • Hifa de suspensión: no • Placa germinativa: no • Reacción en melzer: si • Género: Acaulospora
M5		<ul style="list-style-type: none"> • Número de esporas: 85 • Color: amarillo claro • Forma: esferica • Diámetro: 70-112um • Número de paredes: 03 • Ornamentación: si • Cicatriz: si • Hifa de suspensión: no • Placa germinativa: no • Presenta pergoraciones • Reacción en melzer: si • Género: Acaulospora
M6		<ul style="list-style-type: none"> • Número de esporas: 76 • Color: amarillo claro • Forma: esferica • Diámetro: 75-100um • Número de paredes: 03 • Ornamentación: no • Hifa de suspensión: no • Placa germinativa: no • Reacción en melzer: si • Género: Acaulospora

CÓDIGO	MORFOTIPOS	CARACTERÍSTICAS
M7		<ul style="list-style-type: none"> • Número de esporas:20 • Color: café rojizo • Forma: esférica • Diámetro:300 a 400um • Numero de paredes: 03 • Ornamentación: si • Cicatriz: si • Hifa de suspensión: no • Placa germinativa: no • Reacción en melzer: si • Género: Acaulospora
M8		<ul style="list-style-type: none"> • Número de esporas: 18 • Color: amarillo oscuro • Forma: esférica • Diámetro: 255-340um • Numero de paredes: 03 • Ornamentación: si • Cicatriz: si • Hifa de suspensión: no • Placa germinativa: no • Reacción en melzer: si • Género: Acaulospora
M9		<ul style="list-style-type: none"> • Número de esporas: 14 • Color: amarillo claro • Forma: esferica • Número de paredes: 03 • Ornamentación: no • Hifa de suspensión: no • Placa germinativa: no • Reacción en melzer: si • Género: Acaulospora

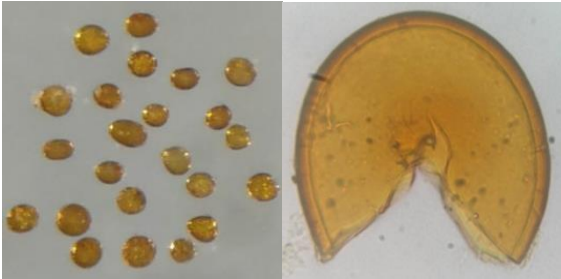
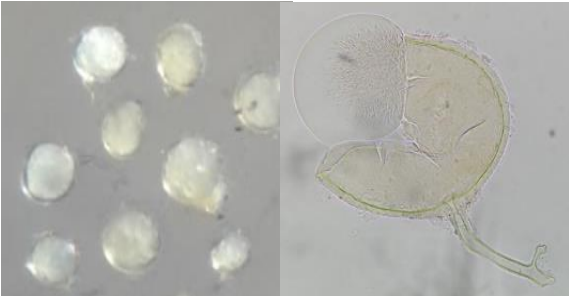
CÓDIGO	MORFOTIPOS	CARACTERÍSTICAS
M10		<ul style="list-style-type: none"> • Número de esporas: 110 • Color: marrón claro • Forma: esférica • Numero de paredes: 01 • Ornamentación: no • Hifa de suspensión: no • Placa germinativa: no • Reacción en melzer: no • Género: Glomus
M11		<ul style="list-style-type: none"> • Número de esporas: 28 • Color: hialino • Forma: globosa • Diámetro: 75-100um • Numero de paredes: 02 • Ornamentación: no • Hifa de suspensión: si • Placa germinativa: no • Reacción en melzer: no • Género: Rhizoglomus

Tabla 10

Distribución de morfotipos de HMA según zona y leguminosa

Zonas de la Sub Cuenca del Cumbaza	Leguminosas de Cobertura	Morfotipos nativos predominantes de HMA										
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11
Chirikyacu	<i>Canavalia ensiformis</i>	10										
	<i>Crotalaria juncea</i>	80										
	<i>Vigna unguiculata</i>	54										28
	<i>Cajanus cajan</i>	5										
Chontal	<i>Canavalia ensiformis</i>	25				20						24
	<i>Crotalaria juncea</i>					37						
	<i>Vigna unguiculata</i>	55										18
	<i>Cajanus cajan</i>	140				28			18			
Vista Alegre	<i>Canavalia ensiformis</i>											28
	<i>Crotalaria juncea</i>	23								14		
	<i>Vigna unguiculata</i>											15
	<i>Cajanus cajan</i>	21		43								
Aucaloma	<i>Canavalia ensiformis</i>		231	14				20				
	<i>Crotalaria juncea</i>		305									
	<i>Vigna unguiculata</i>		84									
	<i>Cajanus cajan</i>		285									
Shapumba	<i>Canavalia ensiformis</i>			25								
	<i>Crotalaria juncea</i>			23	14							
	<i>Vigna unguiculata</i>		17	17	29							
	<i>Cajanus cajan</i>	17			18							
San Antonio	<i>Canavalia ensiformis</i>				30		14					15
	<i>Crotalaria juncea</i>						32					10
	<i>Vigna unguiculata</i>											
	<i>Cajanus cajan</i>						30					
N° total de esporas		430	923	122	91	85	76	20	18	14	110	28

Según las características morfológicas observadas en las esporas de HMA provenientes de suelos de la subcuenca del Cumbaza asociados a cuatro leguminosas de cobertura, se logró la identificación y selección de 11 morfotipos nativos predominantes pertenecientes a 4 Géneros (*Ambispora*, *Acaulospora*, *Glomus* y *Rhizoglumus*) siendo el más predominante el Género *Acaulospora*. (Tabla 9 y 10). Debe asumirse que los cuatro géneros encontrados en este estudio no son sólo los únicos presentes en nuestro estudio puesto que como lo afirma Schenck y Pèrez (1990), no todas las especies de los HMA tienen la misma capacidad de formar esporas. Y también porque solo se tomaron los morfotipos de mayor predominancia.

Este reporte asemeja a lo encontrado por Lopes *et al.*, (2016) en suelos con pH ácidos y multiplicados en cultivo trampa como *Brachiaria decumbens* donde encontraron un total de 15 morfotipos de HMA donde la mayoría de morfotipos pertenecían a los géneros de *Glomus* y *Acaulospora* que fueron los hongos micorrízicos más comunes. Mientras que Pérez *et al.*, (2012), Reportó 23 morfotipos en suelos ácidos en México, en parcelas de maíz asociados con cultivos de cobertura, siendo también los géneros *Glomus* y *Acaulospora* los más abundantes con 11 y 8 morfotipos respectivamente, mientras que *Entrophospora*, *Gigaspora* e *Intraspora* fueron menos comunes con sólo una especie cada uno.

Algunos reportes hechos en Perú, en otras zonas de la subcuenca del Cumbaza en suelos ácidos, son en parcelas cafetaleras. Medina, (2016) en la localidad de Aviación (Lamas) a una altitud de 1200 - 1400 m.s.n.m.m, en suelos franco arenosos con pH de 3 a 4 y Materia Orgánica de 4 a 5, reportó especies del géneros de *Acaulospora* y *Glomus* que fueron los que obtuvieron mayor número de especies (6 y 4 respectivamente). Banni y Faituri (2013) señalan que algunas

especies de géneros como *Acaulospora* y *Glomus* se adaptan mejor a las condiciones estresantes de estos tipos de suelos.

Estos resultados guardan relación a los señalado por Siqueira *et al.*, (1984) donde indican que especies del género *Acaulospora* prefieren suelos con pH bajos, y encuentran un nicho ecológico en suelos áridos relacionado con el bajo nivel de P disponible en esos suelos. Rojas, (2009) señala que el género *Acaulospora* es uno de los géneros más abundantes en las zonas del trópico, son esporas altamente resistentes a los cambios de pH del suelo y a las bajas concentraciones de fósforo.

Así mismo, se ha observado que en cultivos trampa bajo luz natural y temperatura ambiente se presenta una estacionalidad y/o patrón de sucesión en la esporulación de los HMA, así las especies de *Glomus* son las primeras en esporular, mientras que especies de *Acaulospora* lo hacen después del periodo invernal (Oehl *et al.*, 2004). No obstante, varios autores sugieren que el método de cultivo trampa podría seleccionar para las especies que esporulan fácilmente, y podría omitir los que colonizan las raíces, aunque no esporulan (Souza *et al.*, 2008).

La amplia distribución del género *Acaulospora* encontrados en este estudio coincide con los reportes de la mayoría de investigaciones que se hacen en suelos degradados.

La Tabla 10 nos muestra que el morfotipo M2 perteneciente al género *Acaulospora* presentó la mayor abundancia de esporas con 923 individuos, siendo el más representativo en este estudio. Esta predominancia del morfotipo M2 en la zona de Aucaloma, donde se registra el mayor número de esporas puede deberse a que este morfotipo prefiera suelos franco arcilloso (Tabla 2) para

su multiplicación. Seguidamente tenemos al morfotipo M1 con un total de 430 individuos y el morfotipo M3 con 122 individuos. Los morfotipos M4, M5, M6, M7, M8 y M9 pertenecientes al género *Acaulospora* solo se encontró predominancia en una zona por morfotipo y asociada a una leguminosa de cobertura. Con un total de 91, 85, 76, 20,18 y 14 esporas respectivamente y los morfotipos M10 y M11 pertenecientes a los géneros de *Glomus* y *Rhizoglomus* fueron los de menor distribución y predominancia, encontrados en solo una zona y una leguminosa con 110 y 28 respectivamente (Tabla 10). Por otro lado León, (2006) señala que no todas las especies de HMA tienen la misma capacidad de formar esporas, muchos de ellos no esporulan o la producción de esporas está relacionada con cambios edáficos, por lo que el estudio de esporas puede traer resultados diferentes al comportamiento “real” de la comunidad de estos hongos.

Como se ha podido demostrar en este estudio los HMA son un componente común e importante en estas zonas degradadas, y su impresionante adaptación de estos a estas zonas, merece una gran atención, en especial aquellos que buscan métodos para la recuperación de suelos degradados. El empleo de los HMA nativas es de suma importancia para mejorar el desarrollo y disponibilidad de Fósforo (P) para los posteriores cultivos agrícolas. Estos morfotipos seleccionados permitirían que los HMA-nativos de estas zonas degradadas pudieran ser utilizados como inoculantes potenciales para usarse en el establecimiento de leguminosas de cobertura en los procesos de recuperación de zonas degradadas, lo cual es una de los proyectos a futuro que se llevarán después de este estudio.

VI. CONCLUSIONES

- 6.1. En este estudio se puede concluir que los factores zonas y leguminosas en estudio independientemente influenciaron significativamente en el aumento de esporas, donde Aucaloma presentó mayor número de esporas con 332 esporas/ 10 g se suelo seco, con respecto a Chirikyacu (77 esporas/10 g se suelo seco). Así como también *Canavalia ensiformis* presentó el mayor número de esporas con 229 esporas con respecto a *vigna unguiculata* con 146 esporas.
- 6.2. Respecto a la colonización micorrízica fue más influenciada por las leguminosas de cobertura que por las zonas en estudio. encontrando valores altos de colonización. Donde *Vigna unguiculata* presentó el mayor porcentaje de colonización con 75 %, seguido de *Crotalaria juncea* y *Canavalia ensiformis* que no difieren entre sí. En comparación con *cajanus cajan* quien presentó la más baja colonización (52.68 %)
- 6.3. En este estudio se logró seleccionar 11 morfotipos predominantes pertenecientes a los géneros de *Acaulospora*, *Ambispora*, *Rhizoglofus* y *Glomus*, siendo el género *Acaulospora* el más predominante y frecuente, encontrándose asociada a las cuatro leguminosas de cobertura y presentes en las 6 zonas de estudio. El género *Ambispora* ocupa el segundo lugar en distribución, mientras que los morfotipos de géneros de *Rhizoglofus* y *Glomus* fueron los de menor distribución.

VII. RECOMENDACIONES

- 7.1. Realizar identificaciones taxonómicas de HMA a nivel de especie en un amplio rango de especies de leguminosas y en otras zonas degradadas teniendo en cuenta factores como compatibilidad funcional, especificidad, efectividad e infectividad, factores que afectan a los HMA y protocolos para la producción de inóculo.
- 7.2. El considerable potencial micorrízico y la riqueza de especies registradas gracias a la asociación con leguminosas, da la necesidad de proteger la diversidad de estos hongos ya que en el futuro nos servirán para mejorar y mantener nuestros suelos.
- 7.3. Realizar análisis microbiológicos antes y después de las siembras de leguminosas de cobertura en invernadero.

VIII. REFERENCIA BIBIOGRÁFICAS

- Banni, A. S., y Faituri, M. Y. (2013). *The role of arbuscular mycorrhizae Glomusspp (mixed) and Glomus fasciculatum in growth and copper uptake of maize grown in soil contaminated with copper*. Middle-East. J Sci Res, 17, 77-83.
- Bethlenfalvai, G. J., Reyes, M. G., Camel, S. B. y Ferrera, R. (1991). *Nutrient transfer between the root zones of soybean and maize plants connected by a common mycorrhizal mycelium*. Physiologia Plantarum, 82(3), 423-432.
- Blanco, F. y Gutierrez, R. (1998). *Efecto de la Mucuna sp. en la composición de la comunidad de HMA del suelo y en la respuesta del maíz a la inoculación con HMA*. Agronomía Costarricense, 22(2), 153-161.
- Cano, M. A. (2011). *A review of interaction of beneficial microorganisms in plants: Mycorrhizae, Trichoderma spp. and Pseudomonas spp.* Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica, 14(2), 15-31.
- Centro de Desarrollo e Investigación de la Selva Alta – CEDISA (2003). Proyecto: *Conservación, Manejo y Recuperación de Los Recursos Naturales y Desarrollo Productivo En La Cuenca Del Río Cumbaza*.
- Collozzi-Filho, A. y Balota, E. L. (1994). *Potencial de inóculo de hongos micorrizicos arbusculares em solo cultivado com cafeeiro e leguminosas de verão*. Reunião Brasileira Sobre Micorrizas, 5, 17.
- Colodete, C. M.; Dobbss, L. B. y Ramos, A. C. (2014). *Aplicação das Micorrizas arbusculares na recuperação de áreas impactadas*. Natureza on line, 12(1), 31-37.

- Corpoica (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Regional) (1998), *Las micorrizas como alternativa al manejo sostenible de los agroecosistemas tropicales*. Colombia. Meta, Villavicencio, 6-27 pp.
- Crews, T. E. y Peoples, M. B. (2004). *Legume versus fertilizer sources of nitrogen: ecological tradeoffs and human needs*. Agriculture, Ecosystems & Environment, 102(3), 279-297.
- De Souza FA, da Silva ICL, Barbara RLL. (2008). *Fungos micorrízicos arbusculares: muito mais diversos do que se imaginava*. In: Moreira FMS, Siqueira JO, Brussard L, eds. Biodiversidade do Solo em Ecossistemas Brasileiros, Lavras, Brazil: UFLA: 483-536.
- Deguchi, S.; Shimazaki, Y., Uozumi, S., Tawaraya, K., Kawamoto, H. y Tanaka, O. (2007). *White clover living mulch increases the yield of silage corn via arbuscular mycorrhizal fungus colonization*. Plant and Soil, 291(1-2).
- Dotzler, N., Walker, C., Krings, M., Hass, H., Kerp, H., Taylor, T. N., y Agerer, R. (2009). *Acaulosporoid glomeromycotan spores with a germination shield from the 400-million-year-old Rhynie chert*. Mycological Progress, 8, 9,18.
- Duval, M. E., Capurro, J. E., Galantini J. A. y Andriani, J. M. (2015). *Utilización de cultivos de cobertura en monocultivo de soja: efectos sobre el balance hídrico y orgánico*. Ciencia del suelo 33(2): 247-261
- Fernández, F. (2003). *Avances en la producción de inoculantes micorrízicos arbusculares*.
- Fokom, R., Adamou, S., Teugwa, M. C., Boyogueno, A. B., Nana, W. L., Ngonkeu, M. E. L., y Zollo, P. A. (2012). *Glomalin related soil protein, carbon, nitrogen and soil aggregate stability as affected by land use variation in the humid forest zone of south Cameroon*. Soil and Tillage Research, 120, 69-75.

- García, I.; Quemada, M.; Gabriel, J. L. & Hontoria, C. (2016). *Arbuscular mycorrhizal fungal activity responses to winter cover crops in a sunflower and maize cropping system*. *Applied Soil Ecology*, 102, 10-18.
- Gerdemann, J., Nicolson, T., (1963). *Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting*. *T. Brit Mycol. Soc.* 46 (2), 235-244.
- Gil, J. G. R., Bedoya, L. O., Vega, N. W. O., y Osorio, J. G. M. (2013). *Alternativas microbiológicas para mejorar el crecimiento del caupí*. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*, 66(2), 7035-7044.
- Giovannetti, M.; Mosse, B. (1980). *An evaluation of measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots*. *New Phytologist*, Oxford, v. 84, p. 489-500.
- Hamza, M. A. y Anderson, W. K. (2005). *Soil compaction in cropping systems: A review of the nature, causes and possible solutions*. *Soil and tillage research*, 82(2), 121-145.
- Higo, M., Isobe, K., Matsuda, Y., Ichida, M. y Torigoe, Y. (2015). *Influence of sowing season and host crop identity on the community structure of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing roots of two diferente gramineoous and leguminous crop species*. *Adv. Microbiol.* 5, 107.
- Islas, A. T.; Guijarro, K. H.; Eyherabide, M.; Rozas, H. S.; Echeverría, H. E. y Covacevich, F. (2016). *Can soil properties and agricultural land use affect arbuscular mycorrhizal fungal communities indigenous from the Argentinean Pampas soils?*. *Applied Soil Ecology*, 101, 47-56.

- Kivlin, S. N., Hawkes, C. V. y Treseder, K. K. (2011). *Global diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi*. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(11), 2294-2303.
- León, D. (2006). *Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (manihot esculenta sp.) en dos regiones de la Amazonía colombiana*. Trabajo de grado, microbiología Agrícola y Veterinaria. Universidad Pontificia Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Lopes Leal, P., Varón-López, M., Gonçalves de Oliveira Prado, I., Valentim dos Santos, J., Fonsêca Sousa Soares, C. R., Siqueira, J. O., y de Souza Moreira, F. M. (2016). *Enrichment of arbuscular mycorrhizal fungi in a contaminated soil after rehabilitation*. *brazilian journal of microbiology*, 47(4), 853-862.
- López, B. F.; Alarcón, A.; Quintero, R. y Lara, A. (2015). *Selección de cepas de hongos micorrízicos arbusculares en dos sistemas de producción de chile*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(6), 1203-1214.
- Madejón, P., Alaejos, J., García J., Fernández, M. y Madejón, E. (2016). *Three-year study of fast-growing trees in degraded soils amended with composts: Effects on soil fertility and productivity*. *Journal of environmental management*, 169, 18-26.
- Martín, G. M., Rouws, J. R. C., Urquiaga, S., y Rivera, R. A. (2007). *Rotación del abono verde *Canavalia ensiformis* con maíz y micorrizas arbusculares en un suelo nitisol ródico éutrico de Cuba*. *Agronomía trop*, 57(4), 313-321.
- Martín, G. M., Arias, L. y Rivera, R. (2010). *Selección de las cepas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) más efectivas para la *Canavalia ensiformis* cultivada en suelo Ferralítico Rojo*. *Cultivos Tropicales*, 31(1).

- Martín, G. M., Reyes, R. y Ramírez, J. F. (2015). *Coinoculación de Canavalia ensiformis (L.) DC con Rhizobium y Hongos micorrízicos arbusculares en dos tipos de suelos de Cuba*. Cultivos Tropicales, 36(2), 22-29.
- Martín, G. M., Rivera, R., Arias Pérez, L. y Pérez, A. (2012). *Respuesta de la Canavalia ensiformis a la inoculación micorrízica con Glomus cubense (cepa INCAM-4), su efecto de permanencia en el cultivo del maíz*. Cultivos Tropicales, 33(2), 20-28.
- Mataix, J. (2000). *Alteraciones físicas, químicas y biológicas en suelos afectados por incendios forestales: contribución a su conservación y regeneración*.
- Maya, Y. (2011). *Diagnóstico ambiental de suelos erosionados*. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 13(2), 169-179.
- Medina, V. (2016). *“Biogeografía de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el cultivo de café (Coffea arábica L.) en la región San Martín, Perú”*
- Mego, K. C., Melgar, C. E., Díaz, M. H., Montejo, D. A.; Cubillas, P. R. y Sieverding, E. (2014). *hongos de micorriza arbuscular en tres agroecosistemas de cacao (theobroma cacao l.) en la Amazonía peruana*. Folia Amazónica, 23(2), 149-156.
- Meza, A.; Sabogal, C. & De Jong, W. (2006). *Rehabilitación de áreas degradadas en la Amazonia peruana: revision de experiencias y lecciones aprendidas* (No. Review of Forest Rehabilitation: Lessons from the Past, p. 90p). Center for International Forestry Research (CIFOR), Bogor, Indonesia.
- Michelena, R. O. (2011). *Degradación de tierras en la Argentina*.
- Ministerio de agricultura - MINAGRI (2013). Programa presupuestas multisectorial 2013 – *Reducción de la degradación de los suelos agrarios*.

- Miranda, J. C. C., Vilela, L. y de Miranda, L. N. (2005). *Dinâmica e contribuição da micorriza arbuscular em sistemas de produção com rotação de culturas*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 40(10), 1005-1014.
- Moreira, F. M.; Siqueira, J. O.; y Brussaard, L. (Eds.). (2006). *Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems*. CABI.
- Morton, J. B. y Redecker, D. (2001). *Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera Archaeospora and Paraglomus, based on concordant molecular and morphological characters*. Mycologia, 181-195.
- Morton, J. B.; Bentivenga, S. P. y Bever, J. D. (1995). *Discovery, measurement, and interpretation of diversity in arbuscular endomycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes)*. Canadian Journal of Botany, 73(S1), 25-32.
- Oehl, F., Sieverding, E., Palenzuela, J., y Ineichen, K. (2011). *Advances in Glomeromycota taxonomy and classification*. IMA fungus, 2(2), 191-199.
- Oehl, F., Sieverding, P., Mader, D., Dubois, K., Ineichen, T. Boller y Wiemken, (2004). *Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe*. Applied and Environmental Microbiology 69:2816-2824
- Oliveira, N. A y Oliveira, L. (2005). *Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in plantas of Teobroma grandiflorum schum and Pullina cupana Mart. Of an agroforestry system in Central Amazonía. Amazonas State, Brazil, Brazilian J. Microb. 36: 262-270.*
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura - FAO, I. (2015). WFP. 2015. The state of food insecurity in the world.

- Orjuela, H. B. (2010). *El suelo al servicio de la sociedad y su rol en el contexto de los cambios globales*. Tendencias, 11(2), 53-62.
- Orozco, A. G., Gutiérrez, G. C., Pérez, I. J. y Plata, Á. B. (2012). *Procesos de cambio en el uso del suelo de una microcuenca en el altiplano mexicano. El caso del río San José en el Estado de México*. Papeles de Geografía, (55-56), 63-73.
- Peña, C. P. y Arias, J. C. (2009). *Las leguminosas amazónicas y su importancia en la recuperación de suelos*. Revista colombiana.
- Peña, V.; Cardona, G.; Mazorra, A.; Arguellez, J. y Arcos, A. (2006). *Micorrizas arbusculares de la amazonia colombiana*. Catalogo Ilustrado. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI. Colombia. 90 p.
- Peng, S.; Guo, T. y Liu, G. (2013). *The effects of arbuscular mycorrhizal hyphal networks on soil aggregations of purple soil in southwest China*. Soil Biology and Biochemistry, 57, 411-417.
- Pereira, E.; Galantini, J. y Quiroga, A. (2013). *Sistemas de cultivos de cobertura de suelo de otoño-invierno: sus efectos sobre la disponibilidad de agua*. cultivos de cobertura, 76.
- Pérez, D. C., Álvarez, J. D., Mendoza, J., Pat, J. M.; Gómez, R. y Cuevas, L. (2012). *Diversidad de hongos micorrícicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México*. Gayana. Botánica, 69(1), 46-56.
- Plenchette, C., Fortin, J. y Furlan, V. (1983). *Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility*, Plant Soil 70,199-209

- Pretty, J., Sutherland, W. J., Ashby, J., Auburn, J., Baulcombe, D., Bell, M. y Campbell, H. (2010). *The top 100 questions of importance to the future of global agriculture. International journal of agricultural sustainability*, 8(4), 219-236.
- Quiñonez G. O. (2012). *La degradación del suelo por erosión hídrica en cultivos de granos básicos y café en la microcuenca Torjá, cuenca del río Grande de Zacapa, Guatemala.*
- Rajtor, M., y Piotrowska-Seget, Z. (2016). *Prospects for arbuscular mycorrhizal fungi (HMA) to assist in phytoremediation of soil hydrocarbon contaminants.* Chemosphere, 162, 105-116.
- Rashid, M. I., Mujawar, L. H., Shahzad, T., Almeelbi, T., Ismail, I. M. y Oves, M. (2016). *Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils.* Microbiological research, 183, 26.
- Reinders, H. P., Linares, R., Briones, A. y Mendoza, J. (2003). *Experiencias agroforestales en el Cumbaza, San Martín* (No. F08 R45). Centro de Desarrollo e Investigación de la Selva Alta, Tarapoto (Peru).
- Rivera, R. y Fernández, K. (2003). *Bases científico-técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente.*
- Robles, M. D.; Robles, C.; Rivera-Becerril, F., Ortega-Larrocea, M. D. y Pliego-Marín, L. (2013). *Inoculación con consorcios nativos de hongos de micorriza arbuscular en Agave angustifolia Haw.* Revista mexicana de ciencias agrícolas, 4(SPE6), 1231-1240.
- Rojas, C. (2009). *Restauración, rehabilitación y/o recuperación ecológica de áreas alteradas en el Distrito Capital y La Región.*

- Salmerón, I. A., Pedraza, M. E., Mendoza, L. S., y Chávez, A. T. (2015). *Cronología de la taxonomía y cladística de los glomeromicetos*. Revista fitotecnia mexicana, 38(2), 153-163.
- Schenck, N. C., Pérez, Y. (1990). *Manual for the Identification of VA Mycorrhizal Fungi*. Synergistic Publications, USA.
- Scheublin, T. R., Ridgway, K. P., Young, J. P. W., y Van Der Heijden, M. G. (2004). *Nonlegumes, legumes, and root nodules harbor different arbuscular mycorrhizal fungal communities*. Applied and Environmental Microbiology, 70(10), 6240-6246.
- Schüßler, A., Schwarzott, D., y Walker, C. (2001). *A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution*. Mycological research, 105(12), 1413-1421.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales - SEMARNAT (2006) Dirección general de estadística e información ambiental, 2006, con base en: Semarnat, Colegio de ´Postgraduados, *Evaluación de la degradación del suelo causada por el hombre en la República Mexicana escala 1: 25000*. México 2001- 2002
- Shenck, N. C. y Pérez, Y. (1988). *Manual for the Identification of VA Mycorrhizal Fungi*. Second Ed. University of Florida. Gainesville, USA. 241 p.
- Shi, N. N.; Gao, C.; Zheng, Y. y Guo, L. D. (2016). *Arbuscular mycorrhizal fungus identity and diversity influence subtropical tree competition*. Fungal Ecology, 20, 115-123.
- Silenzi, J. C., Echeverría, N. E., Bouza, M. E. y De Lucía, M. P. (2011). *Degradación de suelos del SO Bonaerense y su recuperación*. In Jornada sobre" Evolución y Futuro del Desarrollo de Producciones Agrícola-

Ganaderas en el SO Bonaerense"(24 de noviembre de 2011, Bahía Blanca, Argentina).

Simon, L.; Bousquet, J. y Lévesque, R. C. (1993). *Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and. Nature*, 363, 6.

Singh, J. S. (2015). *Microbes: the chief ecological engineers in reinstating equilibrium in degraded ecosystems*. Agriculture, Ecosystems & Environment, 203, 80-82.

Siqueira, J.; Hubbel, D, y Mahmud, A. (1984). *Effects of lemming on spore germination, germ tube growthh and root colonization by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi*. Plant and Soil 76:115-124.

Souza, M. F. P., Silva, M. P. D., Arf, O., y Cassiolato, A. M. R. (2013). *Chemical and biological properties of phosphorus-fertilized soil under legume and grass cover (Cerrado region, Brazil)*. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 37(6), 1492-1501.

Stürmer, S. L. (2012). *A history of the taxonomy and systematics of arbuscular mycorrhizal fungi belonging to the phylum Glomeromycota*. Mycorrhiza, 22(4), 247-258.

Tapia,G. J. (2003). *Identificación de hongos micorrízicos arbusculares aisladps de suelos salinos y su efiencia en plantas de Lechuga*. Tesis de doctorado en biotecnología. Tecoman, Colima-Colombia.10-39 p.

Vallejo, V. (2013). *Importancia y utilidad de la evaluación de la calidad de suelos mediante el componente microbiano: experiencias en sistemas silvopastoriles*. Colombia Forestal, 16(1), 83-99.

Vega, M.V.M. (2011). *“identificación de micorrizas vesícula- arbusculares en especies agrícolas y forestales en la zona de Tingo María”* Tesis UNAS.

- Velázquez, S. y Cabello, M. (2011). *Occurrence and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in trap cultures from El Palmar National Park soils*. European Journal of Soil Biology, 47(4), 230-235.
- Vierheiling, H.; Coughlan, A.P., Wyss, U., y Piché, Y. (1998). *Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi*. Applied & Environmental Microbiology, Baltimore, v. 64, p. 5004-5007.
- Zangaro, W. Nizisaki, SMA., Domingos, JCB., Nakano, EM. (2002). *Arbuscular mycorrhizal in native woody species of Tibagi River Basin, Paraná*

ANEXO 1

Zonas de muestreo Geo referenciado

Las coordenadas geográficas de las zonas de muestreo son las siguientes:

Subcuenca	Zona de muestreo	Altitud (m.s.n.m)	Coordenadas
Alta	Chirikyacu	1131	S: 06° 22.225' W: 76° 29.080'
	Vista alegre	780	S: 06° 22.840' W: 76° 31.140'
	El chontal	1199	S: 06°20.423' W: 76° 30.772'
Media	Aucaloma	692	S: 06° 26.321' W: 76° 25.472'
	Shapumba	596	S: 06° 25.781' W: 76° 28.975'
	San Antonio de Cumbaza.	560	S: 06° 24.319' W: 76° 25.158'

ANEXO 2

Protocolos para análisis de muestras

Aislamiento de esporas

Método de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963)

1. Pesar 10 g de suelo y colocarlo en un vaso de precipitación de 100 ml, añadir 50 ml de agua y agitar con un bastón de vidrio hasta homogenizar la muestra.
2. Proceder a licuar la muestra de suelo por 10 segundos, y dispensar la solución en el juego de tamices, debidamente colocados de mayor a menor abertura de las mallas, 710 y 53 μm .
3. Con la ayuda de una pizeta con agua colocar el material retenido en el tamiz de 53 μm para los tubos falcón de centrifuga de 50 ml, debidamente identificados, completar el volumen hasta 20 ml y completar con sacarosa al 70% hasta 40 ml (relación 1:1) y centrifugar, por 5 minutos a 3500 RPM. Esta etapa se repetirá dos veces.
4. Dispensar el sobrenadante de cada tubo centrifugado en el tamiz de 53 μm , lavar el material para retirar el exceso de sacarosa y guardar las esporas en tubo falcón y almacenar a 4 °C para su conteo posterior.

Conteo de esporas

Método de conteo de esporas (Schenck y Perez 1990)

De cada muestra procesada por la técnica anterior, se tomará 2 ml de cada uno de ellas, estas se depositarán en una placa concéntrica rayada en cuadrículas 1m^2 para realizar y facilitar el conteo respectivo. Cada conteo se realizará tres veces para obtener un estimativo del número total de esporas/g de suelo. Las esporas se cuentan con la ayuda de un estereoscopio de aumento de 40 veces.

Tinción de raíces

Método de clareo y coloración de raíces (Viertheiling *et al.*, 1998)

1. Cortar y seleccionar las raíces más finas.
2. Lavar las raíces con agua corriente y colocarlo en alcohol al 70%, hasta proceder con la tinción de raíces.
3. Colocar las raíces en tubos falcón de 50 ml y agregar solución de KOH al 10% (p/v) donde las raíces permanecerán inmersas por un tiempo 24 horas para clarearlas y eliminar la pigmentación. El tiempo depende de la pigmentación de las raíces.
4. Colocar los tubos falcón en rejillas y poner en baño maría por 40 min a 90 °C constante. El tiempo de calentamiento y de permanencia en KOH al 10% puede variar entre las especies de plantas, en función de las características de las raíces.
5. Añadir peróxido de hidrogeno 20 volúmenes dentro de los tubos falcón. No mantener por mucho tiempo ya que pueden dañar las raíces, mantener hasta un color amarillo palo.
6. Para la coloración las muestras deben estar inmersas en una solución conteniendo coloración de tinta de lapicero al 5%.
7. En seguida, para teñir las raíces colocar en baño maría por 60 segundos a 90 °C
8. Luego, descartar el tinte y agregar la solución de lactoglicerina para eliminar el exceso del tinte y dejar por 3 horas. Las estructuras de los HMA (hifas, vesículas, arbusculos, esporas, células auxiliares, deben quedar teñidas en azul.

9. Distribuir las raicillas en forma aleatoria en una placa Petri, serán evaluadas los fragmentos de raíces conteniendo estructuras fúngicas con la ayuda de un estereoscopio.

Cálculo de porcentaje de colonización de HMA en raíces.

Método de intersección de líneas en placa cuadrículada (Giovannetti y Mosse 1980)

Este método puede ser utilizado tanto para estimar la proporción de la longitud de raíces colonizadas, como el total de la longitud de la raíces de la muestra.

1. Las raíces se colocan y se extienden sobre una placa de Petri, que poseen líneas cuadrículadas de 1.27 cm, esta muestra se observa en el estereoscopio de 4x de aumento, observándose la presencia y ausencia de colonización en las líneas verticales y horizontales, exactamente en el punto donde las raíces cruzan las líneas. La observación debe darse en el mínimo de 100 intersecciones de raíces con la línea de la cuadrícula para evaluar una muestra y tener seguro los resultados de porcentaje de colonización. Algunas muestras se pueden montar en placas porta cubre objetos para observar con mayor detalle las estructuras del hongo y obtener fotografías. Se empleará la siguiente fórmula.

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

ANEXO 3

Ficha para la evaluación de características morfológicas de esporas HMA

Tratamiento	Morfotipo	foto	Número de esporas	Color	Forma	Diámetro (um)	número de paredes	Ornamentación	Hifa de suspensión	Reacción al melzer

