



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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



**Efecto de especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares en plántulas de
Coffea arabica L., variedad caturra en condiciones de vivero en la región
San Martín**

Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

AUTOR:

Gabriel Romero Cachique

ASESOR:

Ing. Agr. Eybis José Flores García

CO-ASESOR:

Ing. M. Sc. Mike Anderson Corazon Guivin

Tarapoto – Perú

2018

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



**Efecto de especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares en plántulas de
Coffea arabica L., variedad caturra en condiciones de vivero en la región
San Martín**

Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

AUTOR:

Gabriel Romero Cachique

Sustentada y aprobada el día 27 de diciembre del 2018, ante el honorable jurado.

.....
Dr. Agustín Cerna Mendoza
Presidente

.....
Ing. Agr. Marvin Barrera Lozano
Secretario

.....
Ing. Agr. Jorge Luis Peláez Rivera
Miembro

.....
Ing. Agr. Eybis José Flores García
Asesor

.....
Ing. M. Sc. Mike Anderson Corazon Guivin
Co-asesor

Declaración de Autenticidad


Yo, Gabriel Romero Cachique, egresado(a) de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Escuela Profesional de AGRONOMÍA, de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, identificado con DNI N° 70193239, con la tesis titulada: **“Efecto de especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares en plántulas de *Coffea arabica* L., variedad caturra en condiciones de vivero en la región San Martín”**.

Declaro bajo juramento que:

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

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

Tarapoto, 27 de diciembre del 2018


Gabriel Romero Cachique
DNI N° 70193239



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:	ROMERO CACHIQUE GABRIEL		
Código de alumno :	121132	Teléfono:	956 937034
Correo electrónico :	gabrielromeroc@gmail.com	DNI:	70193239

(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 de trabajo de investigación

Título:	EFFECTO DE ESPECIES DE HONGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES EN PLANTAS DE Coffea arabica L., VARIEDAD CATURRA EN CONDICIONES DE VIVERO EN LA RIOBON SAN MARTIN
Año de publicación:	2018

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 indiquen el sustento correspondiente:

6. Originalidad del archivo digital

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el Título Profesional o Grado Académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el jurado.

7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

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

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

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

Según el Inciso 12.2, del Artículo 12° del Reglamento Nacional de Trabajos de Investigaciones para optar Grados Académicos y Títulos Profesionales –RENATI “**Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA**”.


.....
Firma del Autor

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

Fecha de recepción del documento:

13,05,2019



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

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

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

Dedicatoria

*A mis queridos padres: **Teoberto Romero Valles** y **Elma Cachique Sangama**, quienes, con su infinito amor, sacrificio, perseverancia y sabiduría, me brindaron su confianza y apoyo incondicional en todo momento, dándome fuerzas para lograr una de mis metas propuestas.*

*A mi hermano **Deisler Romero Cachique** y familiares, que siempre me ofrecieron su cariño, sus ánimos y las ganas de seguir adelante.*

A los miembros del Laboratorio de Biología y Genética Molecular – FCA – UNSM – T, por la confianza, el apoyo que me brindaron y permitir ser parte de este equipo de investigación.

*Autor: **Bach. Gabriel Romero Cachique.***

Agradecimiento

A Dios, por permitir que exista; y a mis padres por sus consejos, enseñanzas, apoyo moral y económico durante toda mi vida que me formaron a ser una persona de bien con principios y valores para servir a la sociedad.

A la Universidad Nacional de San Martín – T, en especial a los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias, que contribuyeron a mi formación profesional en el campo de Agronomía.

Al Ing. Agr. Eybis José Flores García, por su asesoramiento en el proceso de desarrollo de mi trabajo de investigación.

Al Ing. M. Sc. Mike Anderson Corazon Guivin, por brindarme la oportunidad de poder realizar este trabajo de investigación y ser parte del equipo de investigación del Programa Nacional de Investigación Agraria.

A los miembros del equipo de investigación del Laboratorio de Biología y Genética Molecular, quienes siempre me brindaron su apoyo, amistad y las facilidades de sus instalaciones para poder realizar la presente tesis y comprometerse siempre por el desarrollo de nuevas tecnologías de innovación para la agricultura en la región.

A mis familiares y amigos, quienes siempre me apoyaron en mi formación profesional y a los que me apoyaron incondicionalmente en la realización de mi tesis, con gran espíritu y calidad humana.

Índice general

	Página
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1.1. Antecedentes de la investigación	3
1.2. Generalidades del cultivo de café	5
1.3. Las micorrizas	10
CAPÍTULO II: MATERIAL Y MÉTODOS	21
2.1. Tipo y nivel de investigación	21
2.2. Diseño de investigación	21
2.3. Población y muestra.....	21
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	21
2.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	22
2.6. Materiales y métodos	23
2.7. Variables evaluadas	35
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
3.1. Variables morfológicas	40
3.2. Variable fúngica.....	55
CONCLUSIONES	58
RECOMENDACIONES	59
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

Índice de tablas

	Página
Tabla 1. Clasificación taxonómica de los Glomeromycota.	12
Tabla 2. Descripción de los tratamientos en estudio.	22
Tabla 3. Composición de la Solución Stock.	35
Tabla 4. Análisis de varianza para la altura de planta (cm) en <i>C. arabica</i> L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.	40
Tabla 5. Análisis de varianza para el diámetro de tallo (mm) en <i>C. arabica</i> L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.	43
Tabla 6. Análisis de varianza para el número de hojas en <i>C. arabica</i> L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.	45
Tabla 7. Análisis de varianza para el contenido de hojas (SPAD) en <i>C. arabica</i> L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.	47
Tabla 8. Análisis de varianza para el área foliar (cm ²) en <i>C. arabica</i> L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.	49
Tabla 9. Análisis de varianza para la biomasa fresca total (g) en <i>C. arabica</i> L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.	51
Tabla 10. Análisis de varianza para la biomasa seca aérea (g) en <i>C. arabica</i> L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.	53
Tabla 11. Análisis de varianza para el porcentaje de colonización micorrízica en <i>C.</i> <i>arabica</i> L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.	55

Índice de figuras

	Página
Figura 1. Áreas de estudio utilizadas en la ejecución del experimento.....	24
Figura 2. Semillas despulpadas y seleccionadas de café variedad caturra.	25
Figura 3. Colecta de tierra negra para el estudio experimental.	26
Figura 4. Proceso de esterilización de tierra negra y arena.	26
Figura 5. Vivero de Multiplicación de Hongos Micorrízicos Arbusculares.	27
Figura 6. Proceso de aislamiento y cuantificación de esporas.	28
Figura 7. Obtención de suelo rizosférico para la inoculación.	29
Figura 8. Estimación de la viabilidad de las esporas de HMA.....	29
Figura 9. Proceso de tinción de raíces en plántulas de café	30
Figura 10. Preparación de sustrato estéril.....	31
Figura 11. Proceso de llenado de macetas negras	31
Figura 12. Siembra de semillas de café en camas almacigueras.	32
Figura 13. Selección de plántulas homogéneas de café (etapa fosforito) para el repique	33
Figura 14. Proceso de repique de plántulas de café e inoculación con HMA	34
Figura 15. Riego a plántulas de café en condiciones de vivero.....	34
Figura 16. Proceso de aplicación de la solución nutritiva a las plántulas de café.....	35
Figura 17. Medición de altura de planta (cm) en plántulas de café.....	36
Figura 18. Medición de diámetro de tallo (mm) en plántulas de café.....	36
Figura 19. Conteo visual de hojas de las plántulas de café.	36
Figura 20. Medición de contenido de clorofila (SPAD) en plántulas de café.....	37
Figura 21. Proceso de análisis del área foliar en plántulas de café.	37
Figura 22. Proceso de peso fresco de la biomasa de la plántula de café.	38
Figura 23. Biomasa seca aérea de plántulas de café.....	38
Figura 24. Proceso de determinación de porcentaje de colonización micorrízica en café.....	39
Figura 25. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la altura de planta (cm) en <i>Coffea</i> <i>arabica</i> L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.	40
Figura 26. Comparación de alturas de plántulas de café de los diferentes tratamientos estudiados (T0, T1, T2, T3).	42

Figura 27. Prueba de Tukey ($p<0,05$) para el diámetro de tallo (mm) en <i>Coffea arabica</i> L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.....	43
Figura 28. Prueba de Tukey ($p<0,05$) para el número de hojas en <i>Coffea arabica</i> L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.....	45
Figura 29. Comparación del número de hojas de los tratamientos en estudio.....	46
Figura 30. Prueba de Tukey ($p<0,05$) para el contenido de clorofila (SPAD) en <i>Coffea arabica</i> L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.	47
Figura 31. Prueba de Tukey ($p<0,05$) para el área foliar (cm ²) en <i>Coffea arabica</i> L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.....	49
Figura 32. Comparación del área foliar de los diferentes tratamientos estudiados (T0, T1, T2, T3).....	50
Figura 33. Prueba de Tukey ($p<0,05$) para la biomasa fresca total (g) en <i>Coffea arabica</i> L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.....	51
Figura 34. Plántula de café inoculada con HMA.	52
Figura 35. Prueba de Tukey ($p<0,05$) para la biomasa seca aérea (g) en <i>Coffea arabica</i> L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.....	53
Figura 36. Prueba de Tukey ($p<0,05$) para la colonización micorrízica (%) en <i>Coffea arabica</i> L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.....	55
Figura 37. Determinación de la colonización micorrízica en raíces de plántulas de café.....	57

Lista de siglas y abreviaturas

HMA	: Hongos Micorrízicos Arbusculares
DCA	: Diseño completamente al azar
DDS	: Días después de la siembra
DDE	: Días después de la emergencia
DDI	: Días después de la inoculación
sp.	: Varias especies del género
spp.	: Una especie del género
Rpm	: Revoluciones por minuto
Gss	: Gramos de suelo seco
°C	: Grados centígrados
NaCl	: Hipoclorito de sodio
ANVA	: Análisis de varianza
CV	: Coeficiente de variabilidad
R²	: Coeficiente de determinación
PVLG	: Polivinílico ácido-láctico-glicerol
KOH	: Hidróxido de potasio
VPPM	: Vivero de Producción de Plantas Micorrizadas
LBGM	: Laboratorio de Biología y Genética Molecular
FCA	: Facultad de Ciencias Agrarias
UNSM-T	: Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto

Resumen

El estudio se realizó en la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto (UNSM-T), cuyo objetivo fue determinar el efecto de especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) en plántulas de *C. arabica* L. variedad caturra en condiciones de vivero. Se evaluaron cuatro tratamientos: T₁ = *Rhizoglyphus intraradices*, T₂ = *Glomus* sp., T₃ = *R. intraradices* + *Glomus* sp. y T₀ = testigo (sin inoculación con HMA). Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con doce repeticiones, evaluándose a los 132 DDI las variables morfológicas y fúngicas. Se realizó el análisis de varianza y la prueba de Tukey con un nivel de significancia ($p < 0,05$), obteniéndose diferencias estadísticamente significativas. Los resultados obtenidos demostraron que todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron efectos positivos en las plántulas de café, siendo el T₁ y T₃ los más eficientes, lográndose mayores incrementos para: altura de planta (128%), diámetro de tallo (91,8%), contenido de clorofila (126,3%), área foliar (417,04%), biomasa fresca (557,3%), biomasa seca aérea (384,6%) respecto al testigo. Asimismo, se obtuvieron los mayores valores de porcentaje de colonización en el T₁ y T₃ con 88,61% y 85,41% respectivamente. De acuerdo a cada especie de HMA inoculada en las plántulas de café, estas mostraron diferencias en las variables, destacándose la especie *Rhizoglyphus intraradices* como la más efectiva en condiciones de vivero. En general, las especies de HMA inoculadas tuvieron un efecto beneficioso sobre el crecimiento y desarrollo vegetativo de las plántulas de café.

Palabras clave: Hongos, Inoculación, *C. arabica* L., *Rhizoglyphus intraradices*, *Glomus*.

Abstract

The study was carried out at the National University of San Martín - Tarapoto (UNSM-T), whose objective was to determine the effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) species on *C. arabica* L. seedlings in nursery conditions. Four treatments were evaluated: T₁ = *Rhizoglyphus intraradices*, T₂ = *Glomus* sp., T₃ = *R. intraradices* + *Glomus* sp. and T₀ = control (without inoculation with AMF). A Completely Randomized Design (DCA) with twelve repetitions was used, evaluating the morphological and fungal variables at 132 DDI. The analysis of variance and the Tukey test were performed with a level of significance ($p < 0,05$), obtaining statistically significant differences. The results obtained showed that all treatments inoculated with AMF showed positive effects in coffee seedlings, with T₁ and T₃ being the most efficient, achieving greater increases for: plant height (128%), stem diameter (91,8%), chlorophyll content (126,3%), foliar area (417,04%), fresh biomass (557,3%), aerial dry biomass (384,6%) with respect to the control. percentage of colonization in T₁ and T₃ with 88,61% and 85,41% respectively, according to each species of AMF inoculated in the coffee seedlings, these showed differences in the variables, highlighting *Rhizoglyphus intraradices* as the most effective species. In nursery conditions, in general, the inoculated AMF species had a beneficial effect on the growth and vegetative development of the coffee seedlings.

Keywords: Fungi, Inoculation, *C. arabica* L., *Rhizoglyphus intraradices*, *Glomus*.



Introducción

El café (*Coffea* spp.) presenta una importancia económica mundial, se cultiva en más de 70 países y representa uno de los productos más comercializados, solo superado por el petróleo. Durante el ciclo agrícola 2015-2016, el 72,1% de la producción mundial de café (*Coffea arabica*) se concentró en cinco países: Brasil (32,2%), Vietnam (19,1%), Colombia (8,9%), Indonesia (7,7%) y Etiopía (4,2%), y en menor escala en Honduras (3,7%), India (3,5%) y Perú con 2,3% (FIRA 2016). En el Perú, el café es uno de los cultivos más importantes, convirtiéndose en una fuente generadora de empleo e ingresos, y un gran demandante de insumos, bienes y servicios. A nivel nacional, es el principal producto de exportación agrícola, aportando el 25% de las divisas de origen agropecuario y generando anualmente más de 50 millones de jornales en su producción y comercialización. Así mismo, es el sustento económico de más de 223 mil familias de pequeños productores, contribuyendo de forma significativa a mejorar su calidad de vida. Más allá de su importancia económica, la producción cafetalera tiene una trascendencia social y ambiental para el país (MINAGRI, IV Censo Nacional Agropecuario, Junta Nacional del Café, 2017). Actualmente se cultivan 425 416 hectáreas de cafeto (IV CENAGRO, 2012), ubicándose el área cafetalera en los departamentos de Junín, San Martín, Cajamarca, Cusco y Amazonas representando todas ellas, el 89% del área productiva (MINAGRI, 2016). No obstante, su cultivo ha registrado problemas de bajos rendimientos debido a manejos inadecuados e insuficientes acciones de prevención al ataque de plagas y enfermedades, la cual ha originado que actualmente las plantaciones sean muy susceptibles, colocando en grave riesgo su rentabilidad.

En este sentido, numerosos estudios concluyen que los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son el componente clave más importante de la rizósfera del suelo, estando ampliamente distribuidos y asociándose simbióticamente con aproximadamente el 80 - 95% de las especies vegetales. La presencia natural de HMA en las plantas de café fue observada por primera vez por Janse (1897), quien encontró raíces de café altamente micorrízicas en la isla de Java; así mismo esta especie es considerada un cultivo micotrófico obligatorio (Sieverding, E., 1991), que presenta una alta dependencia micorrízica, especialmente durante la etapa de formación de plántulas (Habte y Bittenbender, 1999).

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo general: Determinar el efecto de especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) en plántulas de *Coffea arabica* L. variedad caturra en condiciones de vivero; cuyos objetivos específicos: Evaluar la influencia de las especies inoculadas de HMA en los parámetros morfológicos sobre el crecimiento y desarrollo de las plántulas de café variedad caturra y evaluar el porcentaje de colonización micorrízica en plántulas de *C. arabica* L. variedad caturra.

Para ello, se utilizó dos especies de HMA que fueron aislados de fincas cafetaleras y multiplicados en el vivero de producción de plantas micorrizadas del LBGGM de la Escuela Profesional de Agronomía - Universidad Nacional de San Martín, financiado por el Programa Nacional de Innovación Agraria (PNIA) en el marco del proyecto: “Identificación y validación de especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) nativos eficientes como Bioprotectores y Biofertilizantes en los cultivos de café (*Coffea arabica* L.) y sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en la región de San Martín”.

CAPÍTULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Antecedentes de la investigación

Chinchay-Rubio (2016), menciona en su tesis titulada: “Efecto de Hongos Micorrízicos Arbusculares Nativos sobre el nemátodo agallador de raíces (*Meloidogyne* spp.) en plántones de café (*Coffea arabica* L.) variedad caturra en la región San Martín”, utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con 11 tratamientos (9 fuentes de inóculo de HMA nativos + 2 testigos) y 3 repeticiones. Para determinar el efecto antagónico entre estos dos organismos, inoculó 1500 esporas por plantón de cada uno de las diferentes fuentes de inóculo empleando un sustrato estéril y luego de 140 días realizó la infestación con *Meloidogyne* spp., a razón de 2000 Huevos+J2 por plantón. La altura de plantas evaluó 15 días después de la infestación (DDI) y las demás variables 90 DDI. Durante el proceso, realizó un análisis de varianza y la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) para las variables estudiadas. Los tratamientos T2 (4,75%), T8 (4,71%) y T9 (5,14%) mostraron resultados eficientes en el control de *Meloidogyne* spp. y las demás variables de estudio.

Del Águila (2016), menciona en su tesis titulada: “Efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares a plántones de café (*Coffea arabica* L.), variedad caturra a nivel de vivero en la región san Martín”, determinó el efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares a plántones de café, (*Coffea arabica* L.) variedad caturra, a nivel de vivero. Para ello utilizó el diseño completamente al azar (DCA), con 9 tratamientos (inoculados con HMA-N), y un tratamiento testigo (sin HMA-N), con nivel de significancia de $\alpha = 0,05$, probabilidad de error para determinar la naturaleza de las diferencias entre tratamientos. En el estudio, realizó una inoculación con HMA-N en sustrato sólido, luego de que éstos fueran sometidos a un periodo de multiplicación durante 60 días en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). Para la obtención de nuestros resultados se evaluó las siguientes variables: multiplicación de HMA-N, porcentaje de colonización, longitud de micelio extrarradicular, altura de planta, área foliar, biomasa seca aérea y biomasa seca radicular. Posterior a ello realizó el análisis de correlación. Los resultados de este estudio mostraron que los consorcios más eficientes fueron los pertenecientes a los tratamientos T9, T5 y T8. Los cuales favorecieron

significativamente el crecimiento y desarrollo de las plantas de cafeto en la etapa de vivero.

Sánchez (2017), menciona en su tesis titulada: “Efecto de inóculos de Hongos Micorrízicos Arbusculares en plantas clonales de café (*Coffea arabica* L.) variedad caturra en condiciones de invernadero, Rodríguez de Mendoza, Región Amazonas”, cuyo objetivo fue evaluar el efecto de 12 inóculos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en las características morfológicas de plantas clonales de café (*Coffea arabica* L.). La instalación fue bajo un diseño completamente al azar DCA con 13 tratamientos, 3 repeticiones y 12 plantas por tratamiento, evaluándose variables morfológicas y fúngicas. Todos los consorcios de HMA presentaron efectos positivos en el cafeto, siendo los tratamientos T10, T1 y T11 los más eficientes en incrementos de altura, materia seca aérea, materia seca radicular y área foliar, todos mejores que el testigo. En las variables fúngicas se encontró que el porcentaje de colonización micorrízica fue bajo, los mejores tratamientos en intensidad micorrízica y frecuencia micorrízica fueron el T10, T1, T11 y T9, estos tratamientos también presentaron buena longitud de micelio extra-radical respectivamente. Los consorcios de HMA estudiados, presentaron efectos positivos en los parámetros morfológicos de plantas clonales de café, mostrando su efectividad cada uno según su procedencia, siendo dentro de ellos los más eficientes el T10, T1 y T11.

Hernández-Acosta *et al.* (2018), en su investigación denominada: “Hongos Micorrízicos Arbusculares en el crecimiento de café (*Coffea arabica* L.) variedades garnica, catimor, caturra y catuaí”, estudiaron el efecto de dos inóculos micorrízicos: uno Zac-19, formado por tres especies y otro monoespecífico (*Rhizoglosum aggregatus*), en cuatro variedades de café (Garnica, Catimor, Caturra y Catuaí). Las plantas permanecieron en vivero once meses, inocularon desde semilla para evaluar su efecto en las plantas. El inóculo Zac-19 fue más eficiente en promover el crecimiento y desarrollo de las plantas. Se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos e incrementos con respecto al testigo en altura (198%), área foliar (676%), volumen de la raíz (910%) y peso seco (1063%). Al considerar todas las variedades de café, observaron que *R. aggregatus* no fue tan eficiente como Zac-19, pero mostró incrementos significativos con respecto al tratamiento testigo en todas las variables, excepto en altura. La variedad Catuaí no respondió favorablemente a la inoculación micorrízica.

1.2. Generalidades del cultivo de café

1.2.1. Origen y distribución

El café arábico es originario de las tierras altas de más de 1000 m.s.n.m. de Etiopía y Sudán, África (Alvarado y Rojas, 2007). Durante el siglo XVII, el café se producía en áreas localizadas de Arabia y países vecinos para el consumo de los musulmanes. El café fue introducido a los mercados europeos del sur por los comerciantes árabes. Se establecieron en Holanda e Inglaterra y otros lugares del norte de Europa, hacia 1650 y posteriormente en las colonias americanas. Alrededor de 1720 se trajo el café a América, donde fueron establecidas las primeras plantaciones en las Guayanas Francesas y Holandesas (Morfin, Castillo y Vizcaíno, 2006).

El café es el género más importante de la familia de las Rubiáceas y tiene numerosas especies como *Coffea arabica* y *Coffea canephora* que representan el 70 y 30% de la producción mundial, respectivamente (CCI, 1992). Otra especie también importante *C. iberica* (Bustillo, 2002).

1.2.2. Clasificación taxonómica

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

Reino Plantae

División: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Gentianales

Familia: Rubiaceae

Subfamilia: Ixoroideae

Tribu: Coffeae

Género: *Coffea* L.

Especie: *Coffea arabica* L.

1.2.3. Morfología del cafeto

El café es una planta arbustiva que tiene un solo eje, en cuyo extremo hay una zona de crecimiento activo permanente, que va alargando el tallo, formando nudos y entrenudos (Delgado, 2007). Las ramas laterales se alargan y la parte superior del eje

vertical continúa creciendo, así se producen nuevas ramas en diversos ángulos, por lo que la planta adquiere una forma cónica. El eje central o ramas ortotrópicas que crecen verticalmente, solo producen yemas vegetativas. Las ramas laterales o plagiotropicas, llamadas bandolas, son las ramas primarias y dan origen a ramas secundarias o de segundo orden, de las que a su vez pueden salir ramillas terciarias. Las ramas secundarias y terciarias constituyen lo que se conoce como palmilla (Delgado, 2007). Si el punto de crecimiento del eje central es cortado, ciertas yemas laterales localizadas en el mismo producen nuevos ejes verticales (Christiansen, 2004).

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

a. Raíces

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

b. Tallo

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

que originan diferentes partes de la planta: el tallo, bandolas y hojas (Alvarado y Rojas, 2007).

c. Hojas

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

d. Inflorescencia

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

e. Fruto

Después de la fecundación, el óvulo se transforma en fruto y sus dos óvulos en semillas. El fruto maduro es una drupa elipsoidal en los cultivares comerciales, ligeramente aplanada, cuyos tres ejes principales miden 12 y 18 mm de longitud, 8 y 14 mm de ancho y 7 y 10 mm de espesor. El fruto es de superficie lisa y brillante y de pulpa delgada; está constituido de tres partes diferentes: el epicarpio o epidermis; el mesocarpio o pulpa y el endosperma o semilla. Cuando madura puede ser de color rojo o amarillo, dependiendo del cultivar (Alvarado y Rojas, 2007). El fruto es una baya drupácea con dos almendras con sus respectivos embriones, que constituyen la semilla (Marín, 2012).

f. Semilla

Las semillas del café son oblongas, planoconvexas, cubiertas por una película plateada o perisperma (vestigios del tegumento del óvulo). La semilla se constituye por el endospermo cuya coloración es verde oscuro amarillento, mide de 10 a 15 mm de largo por 5-10 mm de ancho, con un embrión pequeño basal de 1 a 2 mm. La semilla se

encuentra cubierta por un endocarpio fibroso, conocido como pergamino, el endospermo es córneo formado por hemicelulosa, proteínas, cafeína, aceite, azúcares, dextrina, celulosa, ácido clorogénico y otros compuestos. La madurez fisiológica de la semilla se alcanza alrededor de los 220 días después de la antesis y carece de periodo de latencia, siendo capaces de germinar en forma inmediata (Morfin *et al.*, 2006).

1.2.4. Características de la variedad caturra

Según Fischersworing y Robkamp (2001), nos mencionan que la variedad caturra es mutante de la variedad Bourbón, originario en Minas Gerais, Brasil. Se caracteriza por ser de porte bajo, tiene entrenudos cortos, tronco grueso, área con relación a las líneas comunes de Typica y Bourbón, y ramas laterales abundantes, cortas, con ramificación secundaria, lo que da a la planta un aspecto vigoroso y compacto (Fischersworing y Robkamp, 2001 y Heredia, 2011). En el mutante rojo de caturra los frutos adquieren un color rojo vinoso a la madurez, mientras que el mutante amarillo, un color amarillo. Este último ha mostrado algo más de productividad, pero menor retención de los frutos maduros con relación a la caturra roja. Su porte pequeño favorece altos rendimientos por unidad de superficie bajo un manejo intensivo, (Alvarado y Rojas, 2007). Esta variedad Caturra tiene una alta producción y buena calidad, pero requiere de una amplia atención y fertilización; ya que a mayor altitud aumenta la calidad, pero disminuye la producción (Vergara, 2012).

Según Heredia (2011), menciona que la variedad Caturra tiene las hojas más grandes, anchas y oscuras, los frutos son también de mayor tamaño, el sistema radical está muy bien desarrollado y es de mayor extensión y densidad. La adaptabilidad de esta variedad es muy amplia, particularmente en cuanto a altitud y el potencial productivo es muy sobresaliente; así mismo, la ramificación secundaria abundante, lo que posibilita su alta productividad. Se puede sembrar a una densidad de 5000 plantas por hectárea, aunque en condiciones muy favorables para el cultivo, la densidad puede ser un poco mayor.

1.2.5. Condiciones edafoclimáticas del cultivo

a. Altitud

La altitud donde se encuentran establecidas las plantaciones, está fuertemente ligada con la calidad de bebida del café. La altitud óptima para el cultivo de café se localiza

entre los 1000 y 2000 m.s.n.m.m. Por encima de este nivel altitudinal se presentan fuertes limitaciones en relación con el desarrollo de la planta, de donde se puede obtener un café de excelente calidad, por sus características organolépticas (sabor, aroma, cuerpo, y acidez). Sin embargo, existen algunas variedades nuevas de la especie *C. canephora* que a menor altura también producen café de buena calidad (Morfin *et al.*, 2006).

b. Humedad. Comprende dos factores:

- **Precipitación.** La precipitación media anual requerida por el cafeto es de 1800 a 2000 mm distribuidos a través del año con un periodo de sequía de dos a tres meses, el cual coincide con un periodo de reposo vegetativo, para dar inicio a la floración (Morfin *et al.*, 2006). Sin embargo, una precipitación de 1500 mm distribuida en forma uniforme puede ser suficiente, por debajo de ésta el crecimiento de la planta se ve limitado afectando la cosecha del año siguiente. Los periodos prolongados de sequía propician la caída de las hojas, limitan la actividad fotosintética y por consecuencia la cosecha disminuye y en algunos casos puede llegar hasta la muerte de los cafetales. Con precipitaciones superiores a 3000 mm la calidad física del café y la calidad de taza se deterioran (Morfin *et al.*, 2006).
- **Humedad Relativa.** Se ha determinado que la humedad del aire no es un factor determinante en el cultivo del café. No obstante, se señala que un promedio de humedad relativa, de 70 a 95%, es recomendable para *Coffea arabica* L. (Morfin *et al.*, 2006).

c. Temperatura

La temperatura media mensual óptima para el desarrollo del cafeto es de 19 a 22°C y con mínimas de 16°C y máximas de 25°C, valores superiores o inferiores a éstos causan daños severos a la planta (Morfin *et al.*, 2006). Las temperaturas que oscilan entre 17 y 23°C durante la noche y el día, respectivamente, son las más favorables para la iniciación floral, dado que a temperaturas altas se marchitan los botones florales; cuando la temperatura es inferior a 10°C, se produce clorosis por la muerte de los cloroplastos, lo cual detiene el crecimiento de la planta (Morfin *et al.*, 2006). Temperaturas de 34°C causan daños permanentes a la planta.

d. Luminosidad

Los cafetos requieren de 1500 a 2500 horas efectivas de luminosidad, siendo importante por su intensidad, duración diaria y distribución durante el año. La planta requiere de 200 a 280 horas luz durante los meses secos y de 100 a 150 en los meses húmedos (Morfin *et al.*, 2006).

e. Suelos

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

1.3. Las micorrizas

1.3.1. Generalidades

El término micorriza fue propuesto por primera vez en 1885, por Albert Bernard Frank, quien descubrió la asociación regular de tejidos fungosos, con el tejido radical de los árboles (Sánchez, 1999, citado en Molina, 2005). Sin embargo, los descubrimientos fósiles, en los que se han encontrado micorrizas conocidos como “fósiles endomicorrizales”, hacen pensar que este tipo de asociaciones han podido ser cruciales para permitir la colonización terrestre de las plantas y que su existencia data de hace mucho tiempo atrás (Sempere F., Santamarina, 2001, citado en Molina, 2005). Las micorrizas arbusculares son tan antiguas como las propias plantas y se conoce su existencia desde hace más de 400 millones de años (Remy *et al.*, 1994, citado en Pérez, Montes y Rojas, 2011); estimándose que aproximadamente el 95% de las especies vegetales conocidas establecen de forma natural y constante este tipo de simbiosis con hongos del suelo (Corwell *et al.*, 2001, Tang *et al.*, 2001, Strullu y Strullu, 2007, Miransari *et al.*, 2009, citado en Pérez *et al.*, 2011).

Las micorrizas (gr. Mykes: hongo; rhiza: raíz) son simbiosis mutualistas que se establecen entre ciertas especies de hongos (Basidiomycetes, Ascomycetes, Zygomycetes y Glomeromycetes) y las raíces de la mayor parte de las plantas (Álvarez

y Naranjo, 2003). Esta asociación de ambos simbioses trae beneficios de vivir en una estrecha relación de mutua dependencia. Los beneficios más conocidos es el intercambio nutricional, en el que la planta da al hongo carbohidratos y otras sustancias sintetizadas por la misma, y el hongo da a la planta, agua, nutrientes minerales y orgánicos del suelo y otros sintetizados por el hongo (Hernández 2001, citado por Montilla, 2010).

1.3.2. Tipos de micorrizas

Los tipos de micorrizas se dividen sobre la base de sus asociaciones fúngicas los cuales implica endófitos con estructuras fúngicas cenocíticas pertenecientes a la división Glomeromycota, y aquellos cuyas estructuras tienen septos pertenecientes a Basidiomycota y Ascomycota. Los tipos de micorriza son: Arbuscular, Ectomicorriza, Ectendomicorriza, Arbutoide, Monotropoide, Ericoide y Orquideoide. De esta clasificación sólo las micorrizas arbusculares pertenecen a la división Glomeromycota, lo que quiere decir que son las únicas que presentan estructuras fúngicas cenocíticas (Smith y Read, 2008).

1.3.3. Hongos micorrízicos arbusculares

La micorriza arbuscular (MA) es la simbiosis mutualista que se establece entre hongos del phylum Glomeromycota y la mayoría de plantas vasculares (Schübler *et al.*, 2001) es de gran importancia en los sistemas agrícolas y tiene capacidad de incrementar la absorción de nutrientes poco móviles, principalmente fósforo (P) (Sanders y Tinker 1971, Nakano *et al.*, 2001, citado en Pérez-Luna *et al.*, 2012). Se ha planteado que las plantas micorrizadas reciben todo el fósforo por la vía de esta simbiosis (Smith S., Smith F. y Jakobsen, 2003). Además, la MA confiere a la planta otros beneficios, tales como: estimulación del crecimiento, resistencia al ataque de plagas y enfermedades, tolerancia a estrés hídrico, y contribuye a mejorar la estructura del suelo (Bethlenfalvay y Linderman, 1992, citado en Pérez-Luna *et al.*, 2012).

Los HMA son considerados componentes clave de la microbiota del suelo, que llevan actividades cruciales para el establecimiento, nutrición, desarrollo y salud de las plantas (Azcón y Barea, 1997). Se considera que estos hongos son más importantes en los suelos de bosque tropicales pobres en fósforo disponible.

Dichos ecosistemas son reservorios potenciales muy ricos de especies no descritas. Lamentablemente estos hábitats han sido poco estudiados y son arrasados mundialmente a una velocidad alarmante (Ehrlich y Wilson, 1991).

1.3.3.1. Clasificación de hongos micorrízicos arbusculares

Tabla 1

Clasificación taxonómica de los Glomeromycota.

CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	
Glomeromicetos	Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i>	
			<i>Funneliformis</i>	
			<i>Simiglomus</i>	
			<i>Septoglomus</i>	
			<i>Claroideoglomus</i>	
	Diversisporales	Claroideoglomeraceae	<i>Viscospora</i>	
			<i>Diversispora</i>	
		Diversisporaceae	<i>Redeckera</i>	
			<i>Otospora</i>	
			<i>Entrophospora</i>	
		Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>	
			<i>Kuklospora</i>	
			<i>Pacispora</i>	
		Gigasporales	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>
				<i>Scutellospora</i>
Scutellosporaceae	<i>Orbispora</i>			
	<i>Racocetra</i>			
	<i>Cetraspora</i>			
Dentiscutataceae	<i>Dentiscutata</i>			
	<i>Fuscutata</i>			
	<i>Quatunica</i>			
Archaeosporomicetos	Archaeosporales	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>	
		Ambisporaceae	<i>Intrasporea</i>	
		Geosiphonaceae	<i>Ambispora</i>	
Paraglomeromicetos	Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Geosiphona</i>	
			<i>Paraglomus</i>	

Fuente: Oehl *et al.* (2011).

1.3.4. Proceso de colonización de los HMA

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

Primera etapa: La pre-colonización puede originarse a partir de esporas, fragmentos de raíz infectados o hifas (Smith y read, 1997). La red hifal y los fragmentos de raíz son dados a ser la fuente principal por la cual las plantas son

colonizadas (Smith y Walter, 1981; Jasper *et al.*, 1992; Hepper, 1981). La penetración se caracteriza por la formación de un abultamiento o apresorio en el punto de contacto sobre la superficie de la raíz. Cada espora genera un sólo punto de entrada, mientras que un segmento de raíz colonizado puede eventualmente originar más de uno. La colonización intra-radical ocurre dentro de la corteza, las hifas crecen longitudinalmente entre las células corticales y generan estructuras denominadas arbuscúlos y vesículas.

Los arbuscúlos son estructuras del tipo de los haustorios que se originan a partir de la ramificación de una hifa al interior de una célula vegetal sin entrar en contacto con el protoplasma. Éstos son de corta vida y su presencia indica actividad metabólica asociada al transporte de sustancias a través de la membrana. Después de la aparición de los arbuscúlos el micelio empieza a acumular reservas de carbono en forma de lípidos, lo cual se manifiesta mediante la aparición de ensanchamientos terminales de la hifa conocidos como vesículas. Los hongos de los géneros *Gigaspora* y *Scutellopora* no producen vesículas, razón por la cual éstas no pueden considerarse estructuras comunes a todos los hongos formadores de Micorriza Arbuscular, pero producen unas estructuras externas conocidas como células auxiliares extra-radicales, análogas a las vesículas intra-radicales.

Segunda etapa: Al mismo tiempo que la infección se esparce dentro de las células corticales de la raíz hospedera, un avance está acompañado por el desarrollo de micelio de hifas extra-radicales que crece afuera, hacia el suelo, actuando como un puente que conecta el suelo con el interior de la raíz. Las hifas extra-radicales tienen un papel importante en la adquisición de nutrientes y forman una fuente de colonización secundaria a lo largo de y entre las raíces (Harley y Smith, 1983; Smith y Gianiazzi-Pearson, 1988; Smith *et al.*, 1992). La relación micelio externo/micelio interno tiene importancia por cuanto es un indicador de actividad de la micorriza.

Tercera etapa: Algunas semanas después de iniciar la colonización el hongo está en condiciones de esporular, lo cual está regulado por las condiciones ambientales del suelo.

1.3.5. Importancia de los HMA en la agricultura

Los HMA forman parte de la mayoría de los ecosistemas terrestres y se acepta que su diversidad influye de forma determinante en las comunidades vegetales con las que viven asociados (Jeffries *et al.*, 2003). La planta cede al hongo compuestos carbonados procedentes de la fotosíntesis, mientras que éste cede a la planta nutrientes minerales, en virtud de la mayor accesibilidad del micelio externo del hongo a recursos del suelo más distantes de la capacidad de acceso del sistema radical (Barea *et al.*, 2008; Smith y Read, 2008; Ferrol y Pérez-Tienda, 2009, citado en Sánchez, 2009).

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

- Aumentan la capacidad de absorción de fósforo y nutrientes de lenta difusión en el suelo reduciendo su dependencia a fertilizantes.
- Aumentan la tolerancia a periodos de sequía y al déficit hídrico.
- Aumentan la tolerancia al aluminio, a la toxicidad por metales pesados y contaminantes orgánicos.
- Potencialmente incrementan el crecimiento de la planta y la uniformidad en cultivos.
- Actúan sinérgicamente con bacterias fijadoras de nitrógeno y microorganismos solubilizadores de fósforo.
- Aumentan la tolerancia de las raíces a patógenos del suelo (nemátodos, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y otros).
- Aumentan la agregación del suelo mejorando su estructura mediante la producción de glomalina, glicoproteína que actúa como un pegante natural de las partículas del suelo. Además, la glomalina constituye un componente importante de la materia orgánica del suelo y es clave para el almacenamiento de carbono en el suelo.
- Funcionan como un mecanismo de restauración ecológica de los suelos. Aumentan la biodiversidad vegetal en el ecosistema como producto de la biodiversidad de especies de HMA.

Así mismo, las asociaciones micorrízicas desarrollan otras funciones importantes para el hospedero, de las que se pueden destacar las siguientes: favorecen el crecimiento, desarrollo y nutrición vegetal, mejoran su tolerancia frente al estrés hídrico y a agentes patógenos, facilitan la adaptación a suelos salinos y contribuyen a disminuir el proceso de erosión (Brundrett *et al.*, 1996; Molina *et al.*, 2005; Rivera, Fernández, Hernández y Martín, 2003).

De acuerdo con Alarcón y Ferrera-Cerrato (1999), las funciones micorrízicas están determinadas por la actividad del micelio externo del hongo, ya que éste posee una alta capacidad de absorción de los nutrientes del suelo mediante la extensa red de hifas que pueda generar; de este modo, la actividad del micelio ayuda a la raíz en situaciones de estrés. Es por ello, la función clave radica en su abundante micelio intra y extra-radical, constituye un enlace o puente entre las plantas y el suelo. Gracias a ella, la planta es capaz de explorar más volumen de suelo del que alcanza con sus raíces, al sumársele en esta labor las hifas del hongo; también capta con mayor facilidad ciertos elementos (fósforo, nitrógeno, calcio y potasio) y agua del suelo. En este sentido, la micorriza influye y conecta los componentes bióticos del suelo entre sí y con los abióticos. La protección brindada por el hongo hace que, además, la planta sea más resistente a los cambios de temperatura y la acidificación del suelo derivada de la presencia de azufre, magnesio y aluminio. Por si todo esto fuera poco, algunas reacciones fisiológicas del hongo inducen a la raíz a mantenerse activa durante más tiempo que si no estuviese micorrizada. El beneficio no sólo se debe al establecimiento de los hongos en el sistema radical, sino también a factores edáficos y ambientales (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1999; Oliveira y Oliveira, 2005).

Se ha observado que la estimulación del crecimiento de las plantas por los hongos micorrízicos está acompañada generalmente por un incremento en el contenido y la concentración de algunos nutrientes en los tejidos vegetales. La absorción de los nutrientes por las raíces va a depender fundamentalmente de la llegada de los mismos a la superficie de la raíz y de su ritmo de translocación por el sistema radical. Por otro lado, la llegada de los nutrientes hasta la zona de influencia de la raíz va a estar condicionada por su concentración en la solución del suelo, la capacidad de tamponamiento de éste para amortiguar las variaciones que se produzcan en dicha

concentración y del ritmo de desplazamiento hacia la superficie de la raíz (Gianinazzi-Pearson y Azcón-Aguilar, 1991).

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

1.3.6. Simbiosis planta – hongo

Los arbuscúlos representan la característica fundamental de la simbiosis micorrízica arbuscular dado que expresan una forma extrema de intimidad y compatibilidad. La formación de los arbuscúlos dentro de las células hospedantes está asociada con cambios morfológicos y fisiológicos en ambos simbiosistas. El hongo invagina las células corticales internas, donde produce una ramificación extensa convirtiéndose en una estructura que llena enteramente las células corticales (Paszkowski, 2006).

En consecuencia, la arquitectura de la célula hospedante cambia: el núcleo se mueve de una posición periférica a una central, la vacuola comienza a fragmentarse y una extensa membrana periarbuscular se sintetiza de forma continua a la membrana plasmática (Harrison, 1999).

Se ha demostrado que durante el establecimiento de la simbiosis las señales moleculares que se intercambian entre la planta y el HMA permiten la germinación, penetración y el desarrollo intraradical de estos hongos (Gao, Wang, Milgrom y Shen, 2004), sin embargo, la planta responde con un aumento transigente de los niveles de proteínas dado que en un inicio reconocen a estos HMA como patógenos.

Cuando las plantas son invadidas por microorganismos del suelo, se inician una serie de cambios fisiológicos y bioquímicos que no ocurren cuando un HMA coloniza la planta, esto soporta la hipótesis de que el hongo emite señales que reconoce la planta para que esta no inicie una reacción de defensa. Adicionalmente, la planta también libera compuestos de naturaleza volátil o difusible (exudados) que estimulan el crecimiento de la hifa en diferentes puntos de control mientras se da la colonización fúngica (Gadkar, David-Schwartz y Kunik, Kapulnik, 2001).

1.3.7. La simbiosis de los HMA con la rizósfera del cafeto

El cafeto es un cultivo que de forma natural establece simbiosis con los HMA, necesitando de éstos para su establecimiento, por lo que es considerado un cultivo micotrófico obligatorio (Sieverding y Barea, 1991), que presenta una alta dependencia micorrízica (Siqueira y Franco, 1988). Para los cultivos que inicialmente se propagan en viveros, como el cafeto, ésta es una fase adecuada para efectuar la inoculación con hongos micorrízicos, donde se combinan cantidades bajas de cepas eficientes y altamente competitivas (Rivera *et al.*, 2003).

El establecimiento de la simbiosis requiere de un desarrollo coordinado que involucra la diferenciación de ambos simbioses para crear una nueva interfase dentro de las células de la raíz, que influyen sobre su desarrollo (Harrison, 2005). Esta asociación simbiótica entre el hongo y la planta, actúa como un complemento de la raíz de la planta en la toma de nutrientes (Colozzi-Filho y Cardoso, 2000) especialmente en la absorción de fósforo (P), aumento de la tolerancia a condiciones de estrés abiótico, mejoramiento de la calidad del suelo, fijación de nitrógeno (N) (Barea, 2005), y aumento en la diversidad y productividad de las plantas.

Desde el punto de vista nutricional, el crecimiento de la planta debido al aumento en la absorción de P es el principal beneficio que obtiene de los HMA, por la baja disponibilidad de este elemento, característico en los suelos tropicales (Blanco y Salas, E, 1997). Sin embargo, si el P no es un elemento limitante en el suelo, la simbiosis puede llegar a ser reducida o hasta inhibida si se encuentran altos niveles en el suelo en un ecosistema determinado (Azcón-Aguilar y Barea, 1997).

1.3.8. Efectos de la simbiosis de los HMA en el cafeto

Según Sieverding (1991), los posibles determinantes de la eficiencia simbiótica están relacionados con el tipo de hongo micorrízico (tasa de crecimiento, translocación de nutrientes y metabolismo del P en el micelio externo, capacidad infectiva, tasa de crecimiento del endófito arbuscular y la producción de arbusculos en el micelio interno), con la planta hospedera (morfología de la raíz, tasa de crecimiento de las raíces, requerimientos nutricionales de las plantas, tasa fotosintética y tolerancia a las situaciones de estrés) y la interfase simbiótica (área de contacto entre los simbioses, tasa de toma de nutrientes y tasa de eflujo de carbohidratos).

Existe una elevada dependencia micorrízica del café en suelos de baja fertilidad y muy compactos, ejerciendo efectos benéficos en la nutrición, crecimiento y en la producción de granos de este cultivo, a pesar de esto, el uso de los HMA no es común entre los viveristas (Siqueira, Saggin-Junior, Guimaraes y Oliveira, 1993; Rivera *et al.*, 1997; citados por Escalona, 2002).

En contraste, la aplicación de dosis crecientes de fósforo inorgánico disminuye la colonización micorrízica, y las plantas inoculadas presentan un mejor crecimiento y desarrollo que aquellas que son fertilizadas. Con el uso de los hongos micorrízicos puede sustituirse la adición de fertilizante durante la fase vivero, lo cual resulta en un beneficio para la economía de los viveristas, además de que la planta al salir a campo cuenta con un sistema biológico que le permite una mejor adaptación en el nuevo hábitat (Trejo, 1997).

Siqueira, Saggin-Junior, Colozzi-Filho y Oliveira (1995), encontraron que la inoculación con HMA de plantas de café influye positivamente en su crecimiento en vivero y en la sobrevivencia y tolerancia al estrés al momento del trasplante. Así mismo Alarcón y Ferrera-Cerrato (1996), mencionan que inocular los HMA a las plantas en su estado vegetativo es el mejor momento para establecer la simbiosis, porque habrá un mejor aprovechamiento de nutrientes, un ahorro en fertilizantes químicos y una manera de asegurar el mayor número de plantas vigorosas para el trasplante a campo definitivo.

Jiménez (1989), encontró que en viveros de café donde se inocularon varias especies de hongos, se registró un mayor crecimiento de plantas, como es en el caso de ensayos realizados con *Gigaspora margarita* en los que se obtuvieron crecimientos superiores a 200% con relación a las plantas no inoculadas y Trejo *et al.* (2011) encontraron que, en condiciones controladas de invernadero, los consorcio micorrízicos arbusculares incrementaron la altura de plantas de cafeto en 91% con respecto a plantas no inoculadas y a plantas fertilizadas con fósforo. Así mismo Siqueira *et al.* (1993), afirmaron que en numerosas investigaciones se encontraron respuestas positivas a la inoculación tanto en la fase vegetativa como en la fase productiva por los buenos rendimientos obtenidos en las primeras cosechas de café. El área foliar (según Soto, 1994; Rivera *et al.*, 1997; Valencia, 1998; Fernández, 1999), es un índice que expresa adecuadamente la respuesta del crecimiento integrado de los plantones.

La Federación de Cooperativas Agroindustriales de Nicaragua - FENIAGRO (2010), afirma que con la aplicación de micorrizas arbusculares la producción de área foliar de café en vivero se incrementa entre 10 y 263% con respecto a los tratamientos no inoculados. Fernández-Martín, Rivera-Espinosa, Hernández-Jiménez, Herrera-Peraza y Fernández-Suárez (2005), en sus investigaciones realizadas en café variedad Catuaí en etapa de vivero, obtuvieron resultados con incrementos entre 6 y 140% de área foliar con respecto a plantas no inoculadas con Hongos Micorrízicos Arbusculares.

En cuanto a la producción de biomasa radicular, existen varios estudios realizados en invernadero que demostraron que la asociación simbiótica de los hongos micorrízicos en las raíces de las plantas producen diversos cambios y/o modificaciones a nivel fisiológico, como los incrementos en la actividad fotosintética, ello debido a la mayor capacidad de fijación de dióxido de carbono (CO₂) y, lo que trae como consecuencia el incremento de las tasas de crecimiento y biomasa producida, que las plantas micorrizadas presentan en comparación con plantas no micorrizadas (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1996; Alarcón, Ferrera-Cerrato, Almaraz-Suárez y Villegas-Monter, 1997; Olalde, 1997), además de cambios en la morfología de la raíz por la producción de hormonas (Hetrick, 1991). Así mismo Berta, Fusconi y Trotta (1993); Aguín, Mansilla, Vilariño y Sainz (2004), reconocen también que plantas micorrizadas incrementan la biomasa y el volumen radicular.

Si bien es cierto que los HMA son beneficiosos para el cultivo de café, debemos tener en cuenta que la inoculación ya sea de una o varias especies pueden producir distintos efectos sobre el crecimiento de la planta, dependiendo de la compatibilidad funcional y de la especificidad ecológica entre ambos simbioses (Molina, Massicote y Trappe, 1992).

1.3.9. Micorrizas en el suelo

Resulta importante considerar que en la Amazonía peruana alrededor del 65% de los suelos están clasificados como Ultisoles, los que se caracterizan por ser extremadamente ácidos y deficientes en fósforo disponible. Es precisamente en estos suelos donde los hongos de micorriza arbuscular abundan y tienen un rol relevante, ya que muchas especies de plantas dependen de estos hongos para tomar en forma eficiente el fósforo del suelo y sobrevivir (Ruíz *et al.*, 2011).

1.3.10. Micorriza y nutrición vegetal

Los iones más móviles de la solución de suelo, como NO_3 , son más fácilmente accesibles para las raíces absorbentes que los poco móviles como los de P, Zn, Cu y Mo, y en menor grado K y S (Blanco y Salas, 1997). La absorción de los iones menos móviles depende del volumen de suelo explorado por el sistema de raíces absorbentes. En este caso, la micorriza tiene ventaja sobre la raíz no micorrizada porque el micelio externo se extiende a mayor distancia que los pelos radicales.

La respuesta de la planta a la inoculación micorrízica depende del nivel de fertilidad del suelo, de la planta hospedera y del HMA. Plantas micótrofas obligadas pueden presentar una respuesta alta (yuca) o leve; plantas micótrofas facultativas podrían presentar una respuesta a la micorriza alta (maíz) o baja (sorgo) (Blanco y Salas, 1997). Además, las especies de micorrizas arbusculares también presentan diferencias inter-específicas de efectividad para absorber P y otros nutrientes y traslocarlos a la planta. Del mismo modo, morfotipos de la misma especie de micorrizas arbusculares, colectados de diferentes sitios confieren diferente beneficio fisiológico a la misma especie de planta (Blanco y Salas, 1997).

CAPÍTULO II

MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Tipo y nivel de investigación

2.1.1. Tipo de investigación

Según la orientación o nivel, el estudio es investigación aplicada, porque se pretende comparar con otros estudios realizados para dar solución a problemas.

2.1.2. Nivel de investigación

El nivel de investigación es Descriptiva-Explicativa, ya que se pretende describir y explicar el efecto de 02 especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) y su interacción sobre el crecimiento y desarrollo de las plántulas de café (*C. arabica* L.) en condiciones de vivero.

2.2. Diseño de investigación

El diseño de la investigación es experimental, porque se demostró el efecto de las variaciones de las especies de HMA inoculadas en las variables dependientes (morfológicas y fúngica) sobre el crecimiento y desarrollo de la plántula de café.

2.3. Población y muestra

2.3.1. Población

Diversidad de especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) aisladas de fincas cafetaleras de la región San Martín.

2.3.2. Muestra

En el experimento, se utilizó dos especies de cultivos puros: *Rhizoglosum intraradices* y *Glomus* sp., multiplicadas en condiciones de vivero.

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Los datos fueron obtenidos de fuentes primarias y para conseguirlos se utilizaron las siguientes técnicas e instrumentos:

a) Técnicas

- Análisis documental
- Observacional

b) Instrumentos

- Ficha de análisis documental
- Cuaderno de notas
- Archivo de datos

2.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (D.C.A) simple. El experimento tuvo 4 tratamientos y 12 repeticiones, siendo cada repetición una unidad experimental, resultando un total de 48 unidades. Cada maceta representó una unidad experimental.

2.5.1. Tratamientos en estudio

Se consideró un testigo absoluto T_0 ; el T_1 inoculado con la especie *Rhizoglomus intraradices*; T_2 inoculado con la especie *Glomus sp.*, mientras que el T_3 fue inoculado con ambas especies *Rhizoglomus intraradices* y *Glomus sp.*, respectivamente como se observa en la Tabla 2. Para todos los tratamientos se utilizó sustrato estéril y semilla botánica de café (*C. arabica* L.) variedad caturra.

Tabla 2

Descripción de los tratamientos en estudio.

Tratamientos	Especies de HMA	Nº de esporas inoculadas
T_0	Testigo	0
T_1	<i>Rhizoglomus intraradices</i> (SP1)	1500
T_2	<i>Glomus sp.</i> (SP2)	1500
T_3	<i>Rhizoglomus intraradices</i> (SP1) + <i>Glomus sp.</i> (SP2)	1500

La toma de datos de los parámetros morfológicos se realizó al término del experimento mediante observación visual y registrados en una ficha de evaluación y luego transferidos a una base digital en una hoja de cálculo Excel. Los datos de área foliar y biomasa fresca total, así como biomasa seca aérea fueron transformados a \bar{x} y $\frac{\bar{x}}{\bar{x} + 1}$ respectivamente (Padrón, 1996), mientras que para los datos de la variable porcentaje de colonización se utilizó la transformación de Bliss o transformación angular arcsen $\frac{\bar{x}}{100}$ (Box y Hunter, 1989).

Para el procesamiento del análisis de datos, se utilizó el programa estadístico INFOSTAT versión 2015. Los datos fueron sometidos al Análisis de Varianza (ANVA) y para la comparación de las medias se utilizó la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0,05$, para determinar la naturaleza de las diferencias entre tratamientos. Así mismo, se calculó el Coeficiente de Variabilidad (C.V), Coeficiente de determinación (R^2) y el promedio general (\bar{x}).

2.6. Materiales y métodos

2.6.1. Materiales

a. Materiales de vivero

- Semilla botánica seleccionada de café (*C. arabica* L.)
- Fuente de inóculo de especies de HMA
- Suelo agrícola esterilizado
- Arena de río esterilizada
- Macetas 500 cc
- Regadora
- Etiquetas de plástico
- Zaranda
- Carretilla
- Palana
- Manguera
- Plástico polietileno negro
- Malla plástica
- Balde

b. Materiales de laboratorio

- Tamiz de 250 μm
- Tamiz de 38 μm
- Pipetas automáticas
- Pissetas
- Matraz de Erlenmeyer 250 ml
- Vaso de precipitado 500 ml
- Láminas porta y cubre objetos
- Placas Petri
- Tubos de ensayo de 50 ml
- Gradilla
- Espátula
- Contómetro
- Cronómetro
- Hipoclorito de sodio
- Alcohol 96%
- Algodón
- Azúcar
- Agua oxigenada
- Tubo de falcon
- Papel toalla
- Papel aluminio
- Pinzas, punzones
- Bisturí
- Plumón indeleble
- Tijeras
- Guantes quirúrgicos
- Cinta masking
- Regla milimetrada de 30 cm

c. Equipos

- Vernier digital
- Luxómetro
- Medidor de clorofila SPAD
- Balanza analítica

- Centrifuga
- Baño maría
- Autoclave
- Microscopio electrónico
- Estereoscopio
- Refrigeradora

d. Reactivos

- PVLG
- PVLG + Melzer
- Tinta Parker 5,7%
- Agua destilada estéril
- Lactoglicerol
- Solución KOH

2.6.2. Métodos

2.6.2.1. Ubicación del área de estudio

El trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del Vivero de Producción de Plantas Micorrizadas y en el Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM) - Facultad de Ciencias Agrarias, ubicado en el campus de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, la cual presenta las siguientes características:



Figura 1. Áreas de estudio utilizadas en la ejecución del experimento. **A:** Vivero de Producción de Plantas Micorrizadas, **B:** Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM).

a. Ubicación política

Departamento : San Martín
 Provincia : San Martín
 Distrito : Morales

b. Ubicación geográfica

Latitud sur : 06°35'28"
 Longitud oeste : 76°18'47"
 Altitud : 230 m.s.n.m.m.
 Zona de vida : bs- T

El experimento se desarrolló en vivero bajo condiciones controladas con datos meteorológicos: temperatura (T° max: 38,2°C, T° med: 29°C y T° min: 21,4°C), humedad (H° max: de 73,8%, H° med: 64% y H° min: 47,9%). En la noche la temperatura oscilaba entre 18°C y 21°C y la humedad 75%, durante los meses de Abril – Julio del 2018.

2.6.2.2. Actividades realizadas

– Colecta de semillas de café

Las semillas de café se colectaron en el sector “Naranjal” del distrito de Pardo Miguel Naranjos, provincia de Rioja en la parcela de don Pelayo Barón Díaz, colectando un aproximado de 2 kg de granos café (*C. arabica* L.) variedad caturra. Para la colecta se tuvo en cuenta algunas características propuestas por Sotomayor y Duicela (1988) como: selección de plantas jóvenes, sanas, libres de plagas y enfermedades, para garantizar semillas en buenas condiciones. Posteriormente, los granos fueron despulpados manualmente, seleccionados (descartando semillas brocadas, malogradas, pequeñas, etc.), lavados con agua corriente y secados bajo sombra, obteniéndose semillas homogéneas en buenas condiciones y aptas para la siembra en camas almacigueras.



Figura 2. Semillas despulpadas y seleccionadas de café variedad caturra.

– Colecta de suelo agrícola y arena

Se colectó aproximadamente 500 kg de tierra negra, procedente del sector Aucaloma, distrito de San Roque de Cumbaza, provincia de Lamas, la cual fue tamizado para eliminar raíces, ramas, hojas secas. Así mismo, se colectó arena de río, la cual fue zarandeada por un tamiz para eliminar piedras y rastrojos.



Figura 3. Colecta de tierra negra para el estudio experimental. **A y B:** Recojo y llenado de tierra negra a los sacos, **C:** Enlazado de sacos contenidos de tierra negra.

– Esterilización de suelo agrícola (tierra negra) y arena de río

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

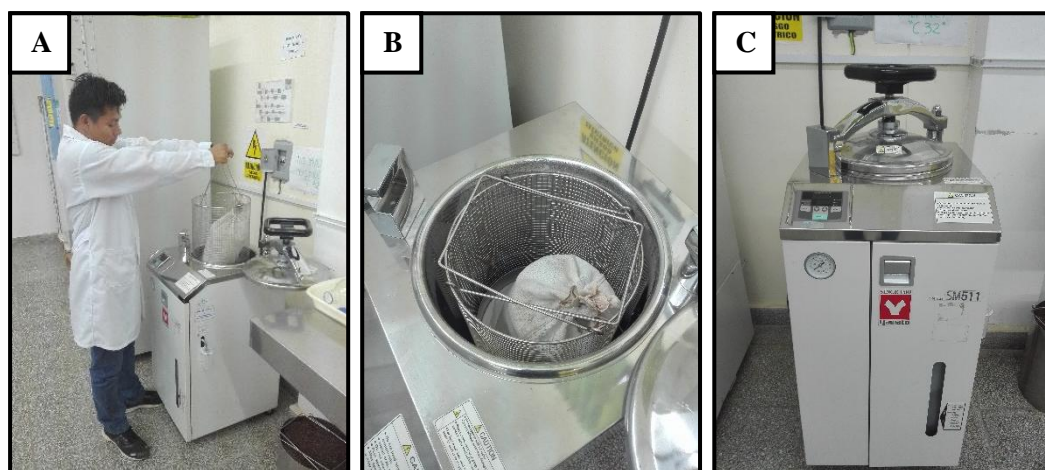


Figura 4. Proceso de esterilización de tierra negra y arena. **A y B:** Ubicación del material a la olla autoclave, **C:** Autoclavado de suelo agrícola y arena a 121 °C durante 30 minutos.

– Obtención de la fuente de inóculo de especies de HMA

Las fuentes de inóculo con cultivos puros de *Rhizoglyphus intraradices* y *Glomus* sp. fueron proporcionados por el Banco de Germoplasma de Cultivos Puros de Hongos Micorrízicos Arbusculares del Laboratorio de Biología y Genética Molecular. Los

cultivos puros utilizados fueron aislados de suelo rizosférico de 12 fincas cafetales de la región San Martín. Para esto, cada cultivo puro antes de su uso como inoculante fueron multiplicados utilizando plantas trampa (sorgo, alfalfa, maíz y brachiaria) durante varios ciclos continuos en condiciones *ex sito* durante 12 meses a partir de un cultivo monospórico.



Figura 5. Vivero de Multiplicación de Hongos Micorrízicos Arbusculares.

– **Cuantificación y aislamiento de esporas de HMA para la inoculación**

Se utilizó el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963) con modificaciones, seguido por una centrifugación en sacarosa 20% y 60% Sieverding (1984), para estimar la densidad de esporas en 10 g de suelo seco, ya que para la inoculación se necesitó 1500 esporas/maceta. El procedimiento fue la siguiente:

- Se pesó 10 g de suelo y se realizó una suspensión en dos litros de agua.
- La suspensión se agitó mecánicamente durante 10 segundos y se dejó reposar 20 segundos, para eliminar partículas grandes por sedimentación.
- Seguidamente, la suspensión se pasó por una serie de tamices de 250 y 38 micras, lavando con abundante agua.
- Después, se agregó agua al decantado y se repitió 4 veces más siguiendo los pasos anteriores.
- Posteriormente, el tamizado obtenido de la malla de 38 micras que contiene esporas fue transferido a un tubo falcon de 50 ml, la cual contiene una gradiente de sacarosa al 20% y 60% (20 ml y 10 ml respectivamente),

donde se observó que la mayor concentración se acumuló en la parte inferior del tubo.

- Inmediatamente, los tubos falcon (50 ml) se colocaron en la centrifuga (los pares de tubos de manera opuesta para el equilibrio del rotor) llevando a 3500 rpm por 5 minutos para precipitar partículas de suelo y suspender las esporas hasta la interface entre los dos azúcares.
- Finalmente, el tubo falcon fue retirado cuidadosamente de la centrifuga, vaciando el sobrenadante sobre el tamiz de 38 micras, para proceder a lavar con agua y eliminar la sacarosa, dejando solamente las esporas, el cual fue colocado el sobrenadante en una placa Petri y observado al estereoscopio para su respectivo conteo.

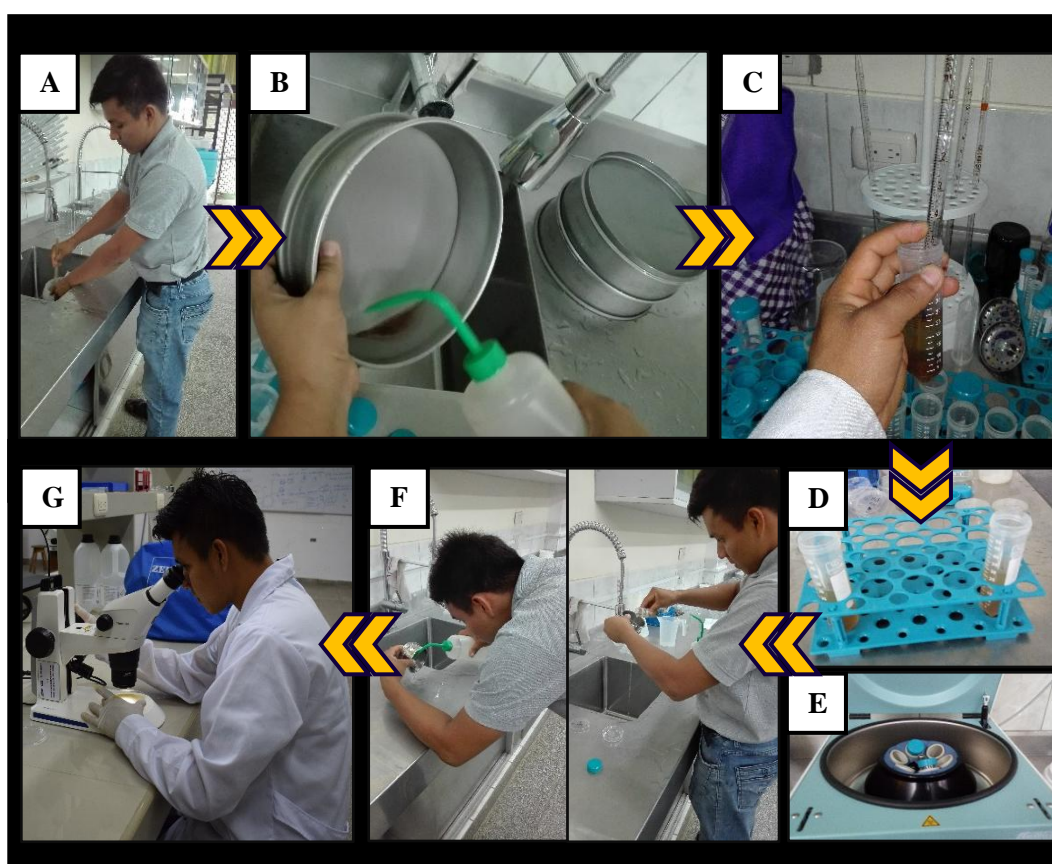


Figura 6. Proceso de aislamiento y cuantificación de esporas. **A:** Suspensión de la muestra de suelo en agua, **B:** Tamizado de la suspensión, **C** y **D:** Adición de la sacarosa en tubos falcon, **E:** Centrifugación de muestras con sacarosa, **F:** Tamizado de muestras centrifuga en tamiz de 38 micras, **G:** Aislamiento, observación y cuantificación de esporas de HMA.

Después de estimar el número de esporas/g de suelo para cada especie, se procedió a alicotar los inóculos por cada especie donde se pesó cantidades de suelo rizosférico (para 1500 esporas) en pequeñas bolsas independientes etiquetadas para su posterior inoculación en macetas con sustrato.



Figura 7. Obtención de suelo rizosférico para la inoculación. **A:** Mezcla homogénea de suelo rizosférico, **B:** Peso de suelo rizosférico, **C, D y E:** Muestras de fuente de inóculo por especie de HMA.

– Montaje de esporas de cultivo puro de especies de HMA

Las esporas encontradas en las muestras de los cultivos puros de HMA: *Rhizoglyphus intraradices*, *Glomus* sp., fueron aisladas y montadas en una placa porta objeto utilizando alcohol polivinílico ácido-láctico-glicerol (PVLG) y PVLG con reactivo de Melzer, con la finalidad de observar la estructura interna y la viabilidad de dichas esporas de HMA. Las tomas fotográficas de las esporas se realizaron en un microscopio trinocular con el software “ToupView 3,7 for digital camera” y se ejecutaron con los objetivos de 40x y 100x.



Figura 8. Estimación de la viabilidad de las esporas de HMA. **A:** Observación microscópica de esporas, **B y C:** Esporas de *Rhizoglyphus intraradices* y *Glomus* sp.

– Tinción de raíces

La tinción se realizó en raíces jóvenes (secundarias y terciarias) de cafeto, siguiendo la técnica descrita por Phillips y Hayman (1970) con modificaciones. El procedimiento de tinción fue la siguiente:

- Las raíces se cortaron en segmentos de 1 cm de longitud y se colocaron en tubos de ensayo de 50 ml, dentro de una solución de Hidróxido de Potasio (KOH) al 10% de concentración en peso/volumen, hasta cubrir la muestra.

- Después, se ubicaron las raíces en baño María a 90 °C durante 60 minutos, con la finalidad de remover el contenido citoplasmático y clarificar el tejido cortical. Al cabo del tiempo, estas se sacaron y se añadieron agua oxigenada de 20 volúmenes proporcionalmente a la misma cantidad de KOH, durante un minuto a temperatura ambiente, para aclarar los pigmentos de la raíz.
- Luego, las raíces se lavaron tres veces con agua corriente y se dejaron en reposo hasta eliminar el contenido líquido.
- Seguidamente, se sumergieron en tinta Parker al 5,7% durante 10 minutos a temperatura ambiente.
- Paralelamente, se llevaron las muestras al baño María a 90 °C durante 10 minutos.
- Finalmente, se enjuagaron tres veces con agua corriente y se añadió lactoglicerol para conservar las muestras.

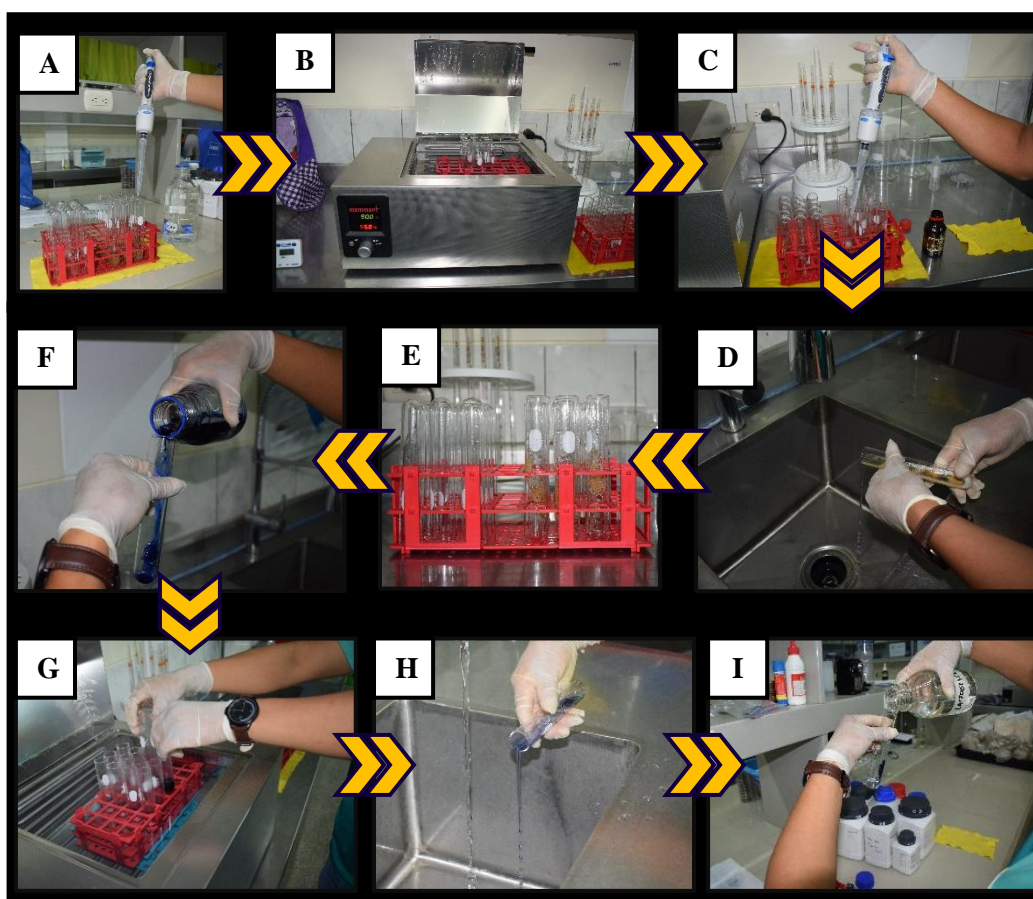


Figura 9. Proceso de tinción de raíces en plántulas de café. **A:** Adición de KOH al 10%, **B:** Muestras colocadas en baño maría a 90 °C, **C:** Agregación de agua oxigenada de 20 volúmenes, **D:** Lavado y enjuague con agua corriente, **E:** Reposo para eliminar el contenido líquido, **F:** Adición de tinta Parker 5,7% a las muestras de raíces, **G:** Muestras colocadas en baño maría a 90 °C por 10 minutos, **H:** Lavado y enjuague con agua corriente, **I:** Adición de lactoglicerol a las muestras de raíces teñidas.

– Preparación de sustrato

Para el experimento se utilizó como sustrato: tierra negra y arena gruesa de río ambos previamente esterilizados y mezclados en una proporción de 2:1 respectivamente. Para su preparación, se homogenizó con el fin de mejorar la textura del sustrato para el buen desarrollo de la planta.



Figura 10. Preparación de sustrato estéril. **A:** Mezcla de tierra negra estéril + arena de río estéril proporción 2:1, **B:** Sustrato estéril homogenizado.

– Llenado de macetas

Se llenó macetas de 3 kg con sustrato estéril para el repique de plántulas de café. Para el experimento, se adicionó 48 macetas con sustrato debidamente etiquetadas. Finalmente, se regó a capacidad de campo.



Figura 11. Proceso de llenado de macetas negras. **A:** Llenado de macetas con sustrato estéril, **B:** Maceta negras de 3 kg llenas.

– Germinación de semillas de café

Se construyó una cama almaciguera de madera con las siguientes dimensiones: 1 m de largo, 1 m de ancho y 15 cm de altura, la cual se colocó arena lavada de río previamente esterilizada.

La siembra de semillas de café se realizó colocando el corte central de los granos en contacto con la arena poniéndolos en forma ordenada a una distancia de 1 cm entre semillas. Luego, se cubrió con una fina capa de arena (1 cm de espesor). Seguidamente, se realizó un riego hasta su capacidad de campo y finalmente, se cubrió la cama germinadora con malla raschel para estimular el proceso de germinación. Al cabo de 35 días después de la siembra (DDS), se logró observar la germinación y se esperó a la etapa de fosforito para realizar el repique a macetas negras.

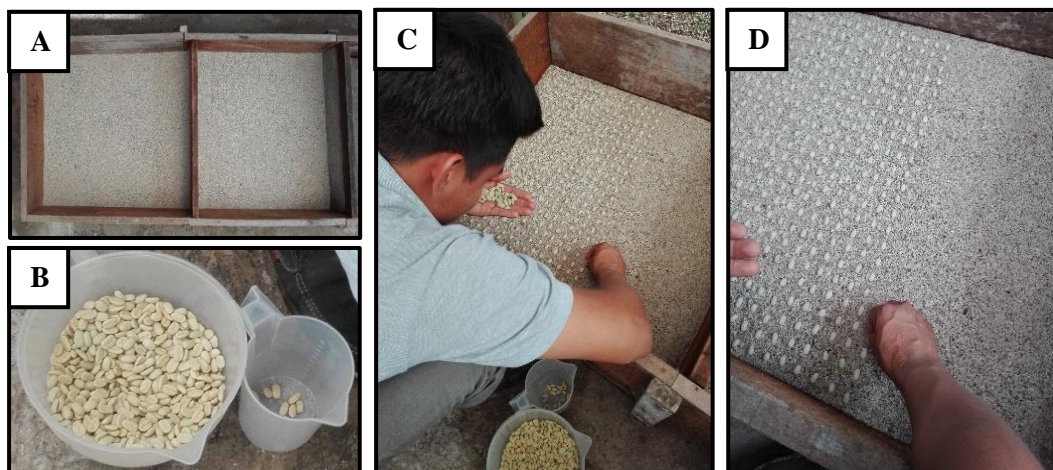
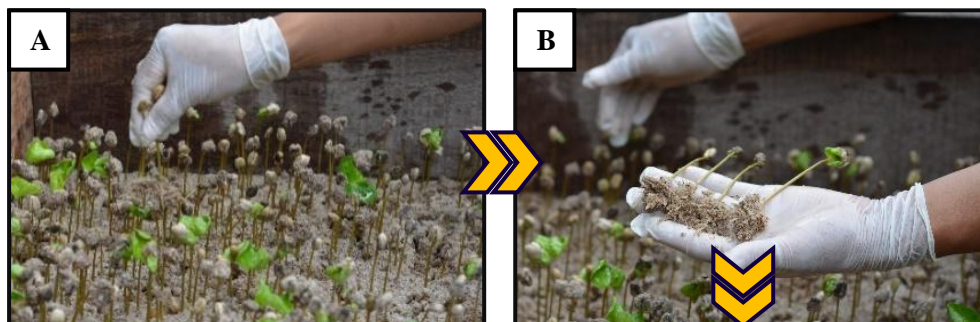


Figura 12. Siembra de semillas de café en camas almacigueras. **A:** Preparación de camas almacigueras con arena estéril, **B:** Semillas de café variedad caturra, **C** y **D:** Modo de situar las semillas en contacto con la arena dentro de la cama almaciguera.

– Repique de plántulas de café (fosforito) e inoculación con fuente de inóculo de especies de HMA

A los 20 días después de la emergencia (DDE), se extrajeron y se seleccionaron plántulas de café (etapa fosforito) que presentaron un desarrollo homogéneo, eliminando aquellas que presentan raíces atrofiadas o deformes. Las plántulas seleccionadas fueron colocadas en envases con agua estéril a fin de evitar su deshidratación. Posteriormente, se realizó el repique e inoculación, esta actividad se hizo simultáneamente para reducir el estrés de las plántulas y poner en contacto directo el inóculo con las raíces.



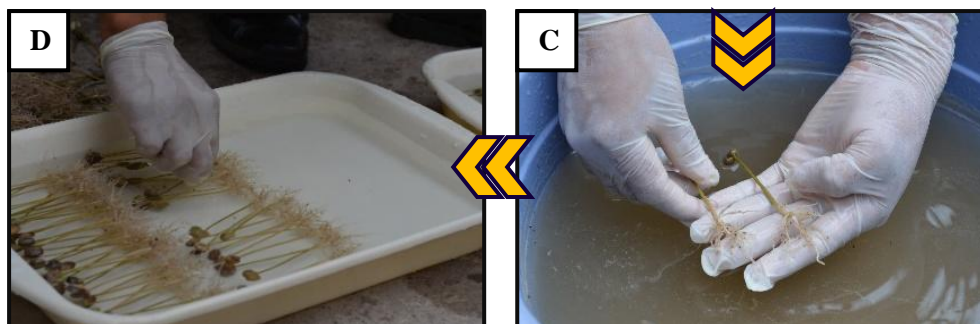


Figura 13. Selección de plántulas homogéneas de café (etapa fosforito) para el repique. **A** y **B**: Extracción y selección de plántulas, **C**: Lavado de plántulas de café, **D**: Conservación de plántulas en agua estéril.

Para el repique de las plántulas de café (etapa fosforito), inicialmente, se aplicó un riego pesado a las macetas con sustrato y con un sacabocado, se realizó hoyos en el centro de las macetas de 10 cm de profundidad aproximadamente. Luego, se colocó las plántulas de café (fosforitos) teniendo en cuenta que la raíz no esté doblada y que el cuello de la plántula coincida al ras del sustrato de la maceta. Después, se agregó la fuente de inóculo (cantidad de suelo estimado para 1500 esporas/maceta/especie). Seguidamente, se añadió sustrato seco para rellenar y finalmente, se realizó un riego fino, a fin de no causar estrés a las plántulas.





Figura 14. Proceso de repique de plántulas de café e inoculación con HMA. **A:** Riego pesado a macetas con sustrato, **B:** Realización de hoyos con un sacabocado, **C:** Colocación de la plántula en el hoyo, **D:** Adición de la fuente de inoculo en el hoyo, **E:** Llenado del hoyo con sustrato estéril, **F:** Riego fino a fin de no causar estrés en las plántulas.

– Riego

Se realizaron riegos interdiarios a plántulas de café en forma de lluvia muy fina con ayuda de un aspersor manual, con el fin de mantener la humedad del sustrato a capacidad de campo.



Figura 15. Riego a plántulas de café en condiciones de vivero.

– Aplicación de solución nutritiva

Se aplicó una solución nutritiva “Long Ashton” deficiente en fósforo, a una cantidad de 75 ml/planta. La primera aplicación fue a los 30 días del repique (DDR), luego la frecuencia de aplicación se hizo cada 15 días. La solución fue proporcionada por el LBG. La solución está compuesta por los siguientes nutrientes como se detalla en la Tabla 3.

Tabla 3
Composición de la Solución Stock.

Solución stock	Cantidad de solución stock para preparar 1 l (1000 ml)
Nitrato de potasio	5 ml
Sulfato de magnesio	5 ml
Nitrato de calcio	5 ml
Elementos traza	1 ml
Solución de citratos	5 ml

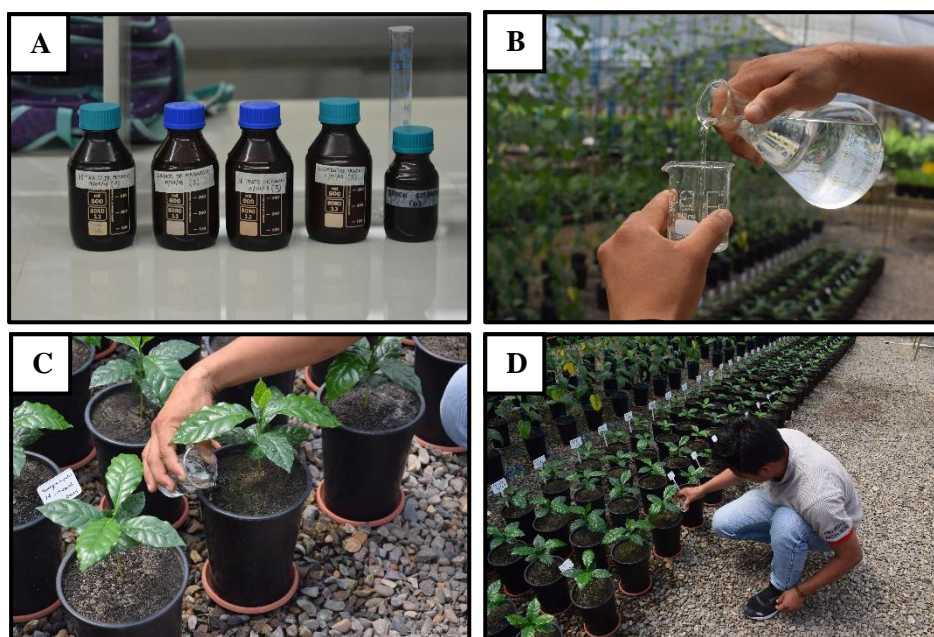


Figura 16. Proceso de aplicación de la solución nutritiva a las plántulas de café. **A:** Nutrientes para la preparación de la Solución Stock, **B:** Cantidad de la solución a aplicar, **C y D:** Modo de empleo de la Solución a las plántulas.

2.7. Variables evaluadas

2.7.1. Variables morfológicas.

a. Altura de planta (cm).

Se tomó la medida desde la base del tallo hasta el meristemo apical o yema terminal, con ayuda de una regla milimetrada de 30 cm. Para ello, el instrumento de medición fue desinfectada con alcohol 90° para evitar la contaminación entre los tratamientos al momento de la evaluación. La evaluación se realizó a los 132 días después de la inoculación (DDI) de HMA en plántulas de café.

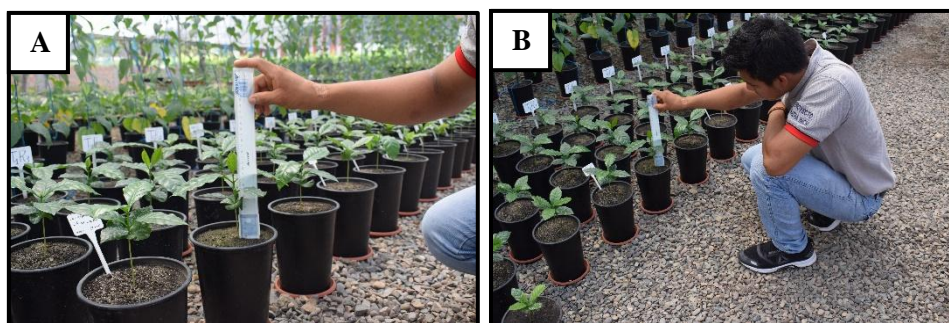


Figura 17. Medición de altura de planta (cm) en plántulas de café. **A y B:** Toma de medidas de alturas de las plántulas de café.

b. Diámetro del tallo (mm).

La medición de diámetro de tallo se realizó tomando como punto de referencia a 1 cm de la base del tallo con ayuda de un vernier digital. La evaluación fue a los 132 DDI de HMA en plántulas de café en condiciones de vivero.



Figura 18. Medición de diámetro de tallo (mm) en plántulas de café. **A y B:** Toma de medidas de diámetro de tallo en plántulas de café con el vernier digital.

c. Número de hojas (unid.).

Se realizó el conteo de forma visual a todas las hojas/planta hasta el meristemo apical de la planta. La evaluación fue a los 132 DDI de HMA en plántulas de café en condiciones de vivero.



Figura 19. Conteo visual de hojas de las plántulas de café.

d. Contenido de clorofila (SPAD).

La determinación de clorofila en las hojas de las plántulas de café, se evaluó a los 132 DDI en condiciones de vivero; en la cual, se seleccionaron cuatro hojas (parte media y superior) de cada plántula de café, con la finalidad de estimar la concentración de clorofila en las hojas a través de un equipo especializado denominado: medidor de clorofila *in situ* (SPAD-502 Plus).

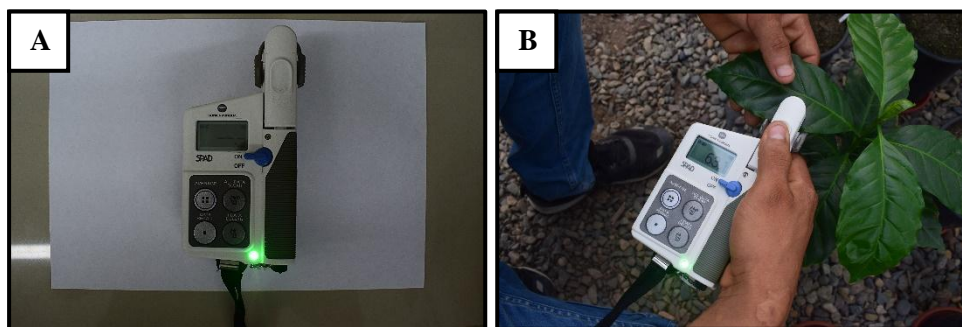


Figura 20. Medición de contenido de clorofila (SPAD) en plántulas de café. **A:** Medidor de clorofila (SPAD-502 Plus), **B:** Modo de toma de datos con el medidor de clorofila en hojas de plántulas de café.

e. Área foliar (cm²).

El cálculo del área foliar de las plántulas de café fueron evaluadas a los 132 DDI en condiciones de vivero; en la cual, se extrajo todas las hojas verdaderas de cada plántula de café; luego estas fueron escaneadas y analizadas a través de un programa FIJI (Fiji Is Just ImageJ) para determinar el área foliar (cm²).

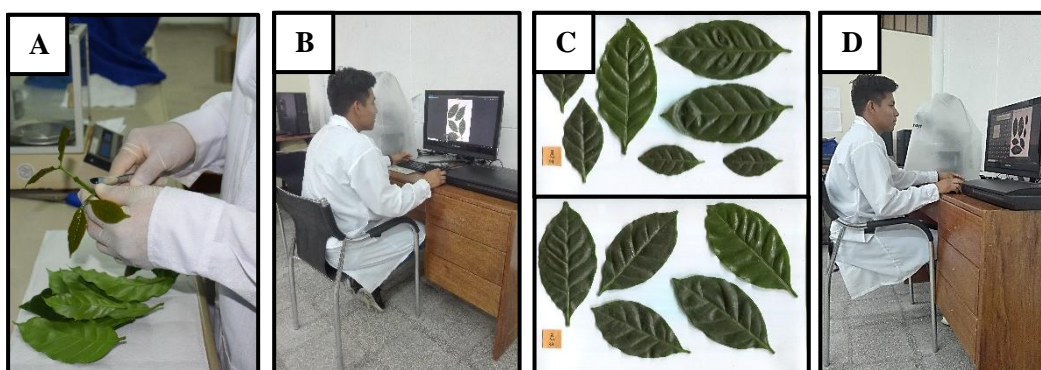


Figura 21. Proceso de análisis del área foliar en plántulas de café. **A:** Corte de hojas de café, **B:** Escaneo de hojas de café, **C:** Hojas escaneadas de café, **D:** Análisis de hojas escaneadas de café por el programa Fiji.

f. Peso fresco de la biomasa total (g).

Los pesos frescos de la biomasa fueron evaluados a los 132 DDI. Se sacaron cuidadosamente las plántulas de las macetas con el fin de no causar daños al sistema

radicular. Luego, estas fueron lavadas, limpiadas, cortadas y pesadas (parte aérea y radicular) con ayuda de la balanza analítica (Ohaus). Finalmente, fueron puestos en sobres etiquetados y llevados a la estufa a una temperatura de 60° C durante 72 horas.

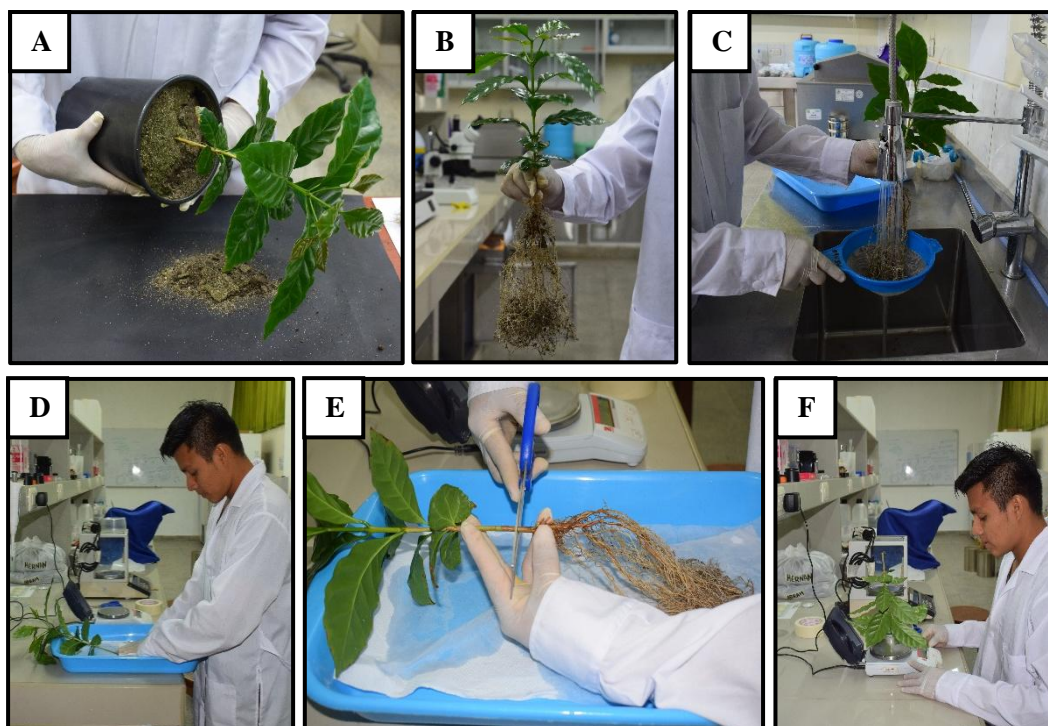


Figura 22. Proceso de peso fresco de la biomasa de la plántula de café. **A y B:** Extracción de la plántula de café de la maceta, **C:** Lavado de la plántula de café, **D:** Limpiado y secado de la plántula de café, **E:** Corte de la plántula de café, **F:** Peso fresco total de la plántula en la balanza analítica.

g. Peso seco de la biomasa aérea (g)

La evaluación de biomasa seca aérea de plántulas de café, comenzó al finalizar el experimento (132 días). Al cabo de las 72 horas dentro de la estufa a 60 °C, se sacó las muestras y se pesó con una balanza analítica (Ohaus) para estimar el volumen seco de la biomasa total.

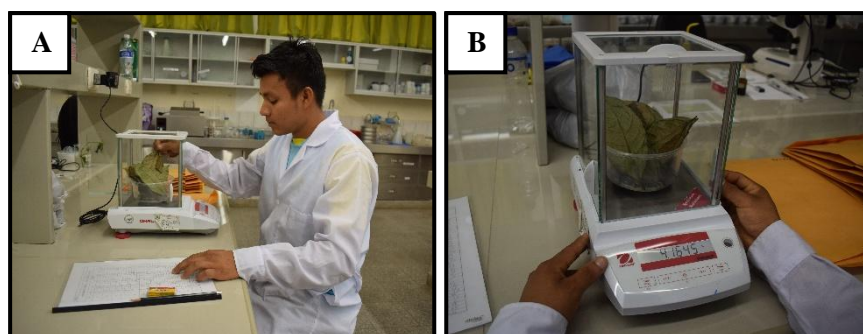


Figura 23. Biomasa seca aérea de plántulas de café. **A y B:** Peso seco de muestras aéreas de plántulas de café.

2.7.2. Variable fúngica

a. Porcentaje de colonización micorrízica

Se determinó mediante el método de Brundrett *et al.*, (1996) con modificaciones, donde se montaron 20 raíces teñidas sobre una lámina portaobjeto ubicadas en forma vertical (paralelo una de otra), en el que se adicionó gotas de lactoglicerol a las raíces con la finalidad de facilitar la observación del tejido interno y cubiertas con láminas cubreobjetos, posteriormente fueron observadas bajo un microscopio trinocular con el software “ToupView 3,7 for digital camera” para cuantificar el número de raíces colonizadas.

Este proceso consistió iniciando por el extremo superior izquierdo de la raíz, moviendo la platina del microscopio de manera horizontal hacia las demás raíces. Al llegar a la última raíz, se movió la platina verticalmente y se repitió el mismo procedimiento anterior. Por cada laminilla, se dio 3 pasadas horizontales, teniendo 20 enfoques por recorrido. Si al encontrarse cualquier estructura fúngica en cada campo ya sea hifas, vesículas, arbuscúlos, ovillos (o enrollamientos) o esporas, se anotaba un signo positivo (+); y si no, un signo negativo (-). Para transformar a % de colonización se estimó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de colonización} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de raíces colonizadas}}{\text{N}^\circ \text{ total de raíces observadas}} \times 100$$

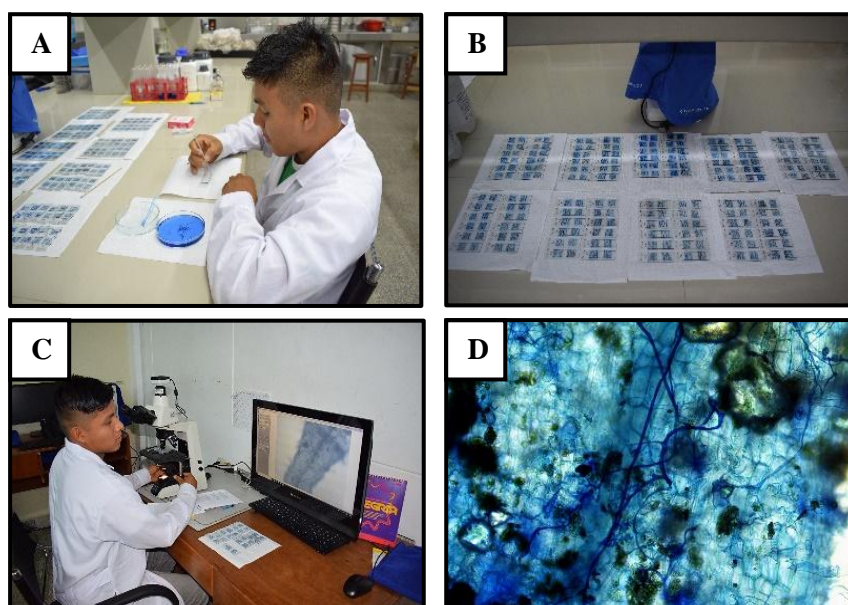


Figura 24. Proceso de determinación de porcentaje de colonización micorrízica en café. **A y B:** Montaje de raíces teñidas en láminas portaobjetos, **C:** Observación de estructuras internas de raíces, **D:** Presencia de hifas y vesículas en raíces teñidas.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Variables morfológicas

3.1.1. Altura de planta (cm)

La Tabla 4 y la Figura 25 muestran el Análisis de Varianza y la Prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para la altura de planta (cm) de *C. arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

Tabla 4

Análisis de varianza para la altura de planta (cm) en C. arabica L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sign.
TRATAMIENTOS	1098,65	3	366,22	225,30	<0,0001	**
REPETICIONES	26,23	11	2,38	1,47	0,1911	
Error	53,64	33	1,63			
Total	1178,52	47				

**= Altamente significativo

$R^2 = 95 \%$

C.V = 7,70 %

$\bar{x} = 16,55$ cm

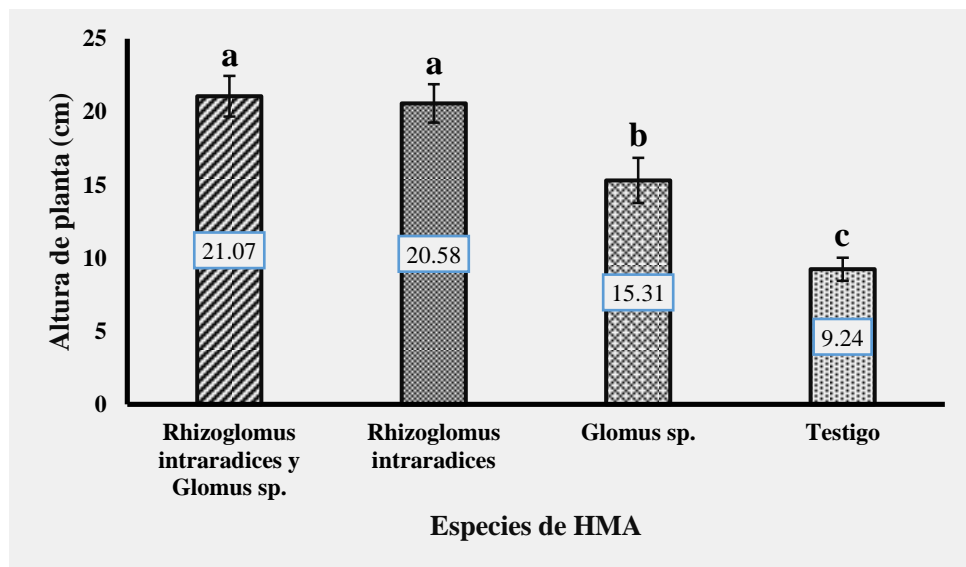


Figura 25. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la altura de planta (cm) en *Coffea arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

El análisis de varianza (Tabla 4) para altura de planta (cm) en *C. arabica* L., indica que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, mostrando una media de 16,55 cm con un Coeficiente de Variabilidad (C.V) de 7,70% y un Coeficiente

de Determinación (R^2) de 95%, resultados que se encuentran dentro del rango de dispersión aceptable para trabajos realizados en vivero según Calzada (1982).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (Figura 25) correspondiente al índice morfológico, altura de planta, muestra que el T₃ (*Rhizoglyphus intraradices* + *Glomus* sp.) y el T₁ (*Rhizoglyphus intraradices*), obtuvieron la mayor altura de planta con 21,07 cm y 20,58 cm respectivamente; seguido del T₂ (*Glomus* sp.) con 15,31 cm de altura. Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron mayor altura de planta que el testigo T₀ (sin inoculación con HMA) con 9,24 cm de altura.

Estos resultados muestran que los HMA tienen un potencial benéfico, favoreciendo el crecimiento y desarrollo de las plántulas de café en condiciones de vivero, observándose un mayor crecimiento longitudinal, de aproximadamente 128%, 122,7% y 65,7% más que el testigo, respectivamente. El aumento significativo en la altura al meristemo apical estaría directamente relacionado con la asociación simbiótica establecida entre el sistema radicular del café y los HMA; debido a que este cultivo es considerado micotrófico obligatorio (Sieverding y Barea, 1991), presentando una alta dependencia micorrízica (Siqueira y Franco, 1988), principalmente en la etapa de plántula, constituyendo la etapa más adecuada para su inoculación (Sieverding, 1991; Trejo *et al.*, 1998, Habte y Bittenbender, 1999). En un estudio realizado por Moisés, Tamayo y Barraza (2015), en plantas de café utilizando inóculos puros de *Glomus cubense* y *Rhizoglyphus intraradices*, se reportaron mayores alturas de plántulas en comparación con el testigo sin inocular; con un aumento de entre 5,5 y 15,6%, respectivamente. Al comparar nuestros resultados con los obtenidos por Moisés *et al.*, (2015), observamos un mayor efecto benéfico de *Rhizoglyphus intraradices* en nuestros resultados (122,7% vs 15,6%). Estos resultados probablemente estén relacionados con la diversidad intra-específica de los HMA (Koch, Antunes, Maherli, Hart y Klironomos, 2017), en tal sentido, Mathieu *et al.*, (2018) encontraron que la mayoría de las variaciones en la respuesta de la planta se produce como resultado del uso de diferentes aislados de la misma especie, en lugar de diferentes especies. Koch y sus colegas (Koch *et al.*, 2017) confirmaron además que la variación dentro de las especies es un determinante importante del crecimiento de las plantas, independientemente de la especie de HMA.

Así mismo, numerosas investigaciones han demostrado una respuesta positiva a la inoculación, no solo en la fase inicial de su desarrollo, sino también sobre el rendimiento del café en las primeras cosechas (Siqueira *et al.*, 1993). Del Águila (2016), en un estudio realizado en vivero, concluye que plántulas de café inoculadas con consorcios de HMA favorecieron significativamente el crecimiento de la plántula, en aproximadamente 35% a 40% más que el testigo (sin HMA). De igual manera Sánchez (2017), reportó que diferentes consorcios de HMA mostraron efectos benéficos en la altura de plántulas clonales de café a nivel de invernadero, con fluctuaciones de 6 a 25% de incremento con relación al testigo. Similares resultados obtenidos por Hernández-Acosta *et al.* (2018), quienes encontraron incrementos máximos de 198% de altura en plantas micorrizadas de café con respecto al tratamiento testigo. Resultados semejantes fueron observados por Trejo *et al.* (2011), en un estudio conducido bajo condiciones de vivero, aplicaron consorcios micorrízicos con efectos significativos que incrementaron la altura de las plántulas de café en 91% con respecto a plantas no inoculadas. Además, Fernández-Martín *et al.* (2005), en sus investigaciones realizadas en café variedad Catuaí en etapa de vivero, demostraron que la inoculación con HMA resultó provechosa, lográndose incrementos en la altura con relación a las plantas no inoculadas.

Las diferencias estadísticas observadas en los resultados, se debe a que determinadas especies fúngicas, e incluso de una misma especie, pueden producir distintos efectos sobre el crecimiento de la planta, dependiendo de la compatibilidad funcional y de la especificidad ecológica entre ambos simbioses (Molina *et al.*, 1992).



Figura 26. Comparación de alturas de plántulas de café de los diferentes tratamientos estudiados (T₀, T₁, T₂, T₃).

3.1.2. Diámetro de tallo (mm)

La Tabla 5 y la Figura 27 muestran el Análisis de Varianza y la Prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el diámetro de tallo (mm) de *C. arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

Tabla 5

Análisis de varianza para el diámetro de tallo (mm) en C. arabica L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sign.
TRATAMIENTOS	25,24	3	8,41	460,24	<0,0001	**
REPETICIONES	0,32	11	0,03	1,61	0,1431	
Error	0,60	33	0,02			
Total	26,17	47				

**= Altamente significativo

$R^2 = 98 \%$

C.V = 4,31 %

$\bar{x} = 3,13$ mm

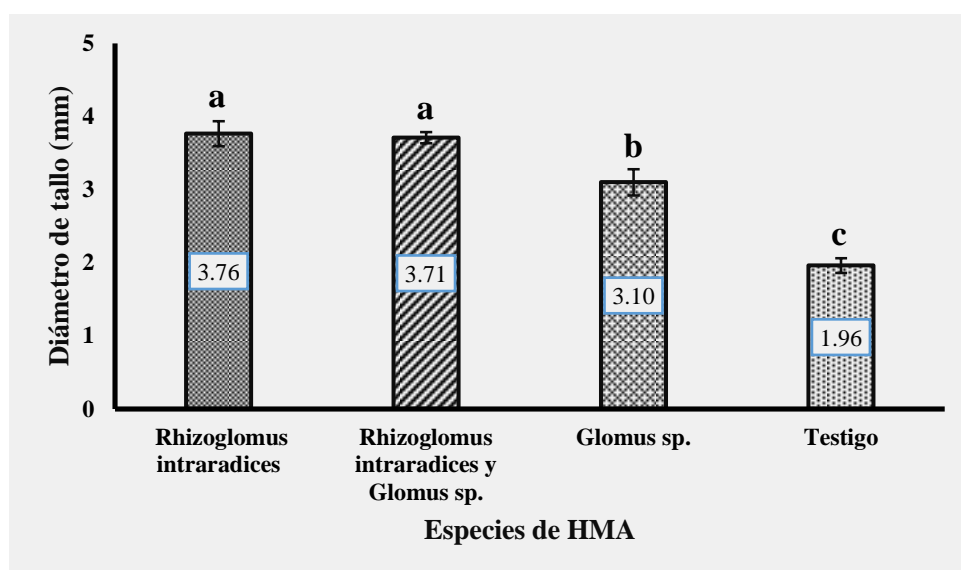


Figura 27. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el diámetro de tallo (mm) en *Coffea arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

El análisis de varianza (Tabla 5) para el diámetro de tallo (mm) en *C. arabica* L., indica que existen diferencias altamente significativas entre tratamientos, mostrando una media de 3,13 mm con un Coeficiente de variabilidad (C.V) de 4,31% y un Coeficiente de determinación (R^2) de 98%, resultados que se encuentra dentro del rango de dispersión aceptable para trabajos realizados en vivero según Calzada (1982).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (Figura 27) correspondiente al índice morfológico, diámetro de tallo, muestra que el T_1

(*Rhizoglyphus intraradices*) y el T₃ (*Rhizoglyphus intraradices* + *Glomus* sp.), obtuvieron el mayor diámetro de tallo con 3,76 mm y 3,71 mm respectivamente; seguido del T₂ (*Glomus* sp.) con 3,10 mm de diámetro, superando en gran medida al testigo. Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron mayor diámetro de tallo que el testigo T₀ (sin inoculación con HMA) con 1,96 cm de diámetro.

Estos resultados obtenidos, muestran una influencia positiva de las micorrizas sobre el diámetro de tallo en las plántulas de café con un desarrollo estable y variaciones según la especie de HMA, observándose mayores engrosamientos de tallo, de aproximadamente 91,8%, 89,3% y 58,2% más que el testigo, debido a las ventajas que proporciona la simbiosis micorrízica, está determinado por el micelio externo del hongo, ya que el simbiote tiene mayor capacidad de absorción de los nutrientes del suelo mediante la extensa red de hifas que penetra sitios donde el sistema radicular no llega, de este modo, la actividad del micelio contribuye en la función de la raíz.

Estos resultados, además pueden estar dados por la influencia que ejercen los diferentes nutrientes, como es el caso del nitrógeno, elemento que favorece los distintos procesos fisiológicos que realizan las plantas para su crecimiento y desarrollo (Rodríguez *et al.*, 2016). Al respecto Mosse (1984), afirma que el mejoramiento en el crecimiento, se da debido a la micorrización dependiendo de la cantidad de fósforo aprovechable en el suelo y de la especie de la planta.

Estos resultados obtenidos se corroboran con los alcanzados por Salamanca y Cano (2005), en investigaciones realizadas en condiciones vivero, mencionan los efectos benéficos de las micorrizas en el crecimiento y nutrición de las plantas, mostraron diferencias significativas, obteniendo un mayor incremento relativo de 75% en el diámetro del tallo en plantas de mandarina cleopatra (*Citrus reshni*) con respecto al testigo. Resultados similares también fueron encontrados en trabajos realizados por Cruz (2017), donde evidencia el potencial benéfico de las micorrizas, mostrando significancia en el crecimiento de *Theobroma cacao* L. y *Tectona grandis* L. F., en la etapa de vivero. Así mismo Sánchez *et al.* (2000), en estudios realizados, muestran el comportamiento de cepas de HMA sobre el crecimiento y desarrollo en plantas de café.

3.1.3. Número de hojas (unid.)

La Tabla 6 y la Figura 28 muestran el Análisis de Varianza y la Prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente para el número de hojas de *C. arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

Tabla 6

Análisis de varianza para el número de hojas en *C. arabica* L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sign.
TRATAMIENTOS	81,67	3	27,22	72,84	<0,0001	**
REPETICIONES	7,00	11	0,64	1,70	0,1163	
Error	12,33	33	0,37			
Total	101,00	47				

**= Altamente significativo

$R^2 = 88 \%$

C.V = 5.43 %

$\bar{x} = 12$ hojas

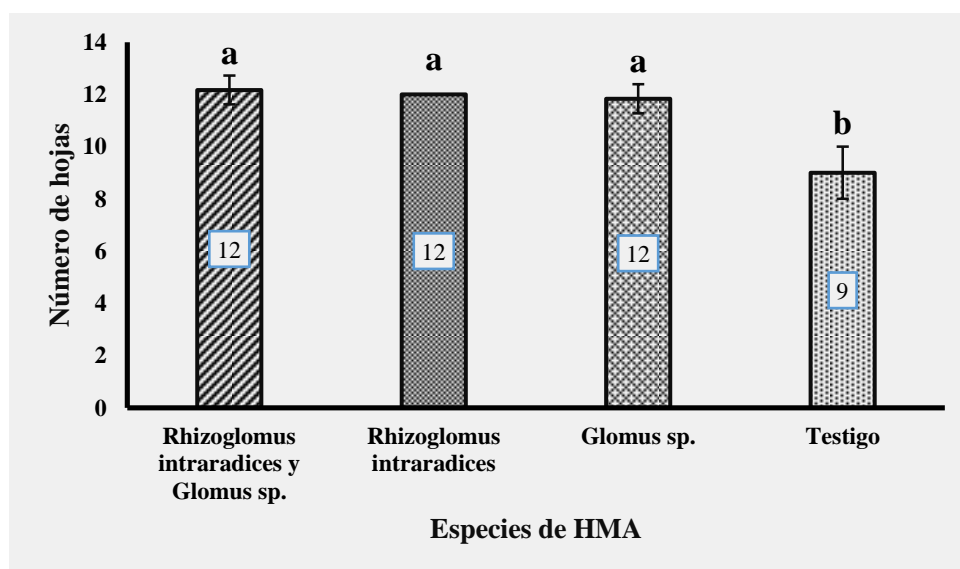


Figura 28. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el número de hojas en *Coffea arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

El análisis de varianza (Tabla 6) para el número de hojas en *C. arabica* L., indica que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, mostrando una media de 12 hojas con un Coeficiente de Variabilidad (C.V) de 5,43% y un Coeficiente de Determinación (R^2) de 88%, resultados que se encuentra dentro del rango de dispersión aceptable para trabajos realizados en vivero según Calzada (1982).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (Figura 28) correspondiente al índice morfológico, número de hojas, muestra que el T₁

(*Rhizoglosum intraradices*), T₂ (*Glomus* sp.) y T₃ (*Rhizoglosum intraradices* + *Glomus* sp.), obtuvieron el mismo número de hojas con 12 unidades. Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron mayor número de hojas que el testigo T₀ (sin inoculación con HMA) con 9 unidades; observándose, mayor biomasa aérea en plántulas micorrizadas con relación al testigo.

Este efecto es debido a que las plantas micorrizadas necesitan mayor cantidad de fotosintatos para satisfacer su demanda y la del micosimbionte; de tal forma, que permita sin afectaciones el crecimiento y desarrollo estable de ambos organismos (Sánchez de Prager, 2007). En cuanto al testigo, no es de esperar este rápido incremento del área foliar, pues la planta solo debe satisfacer sus propias demandas. Es notable que la micorrización incrementa los niveles de fitohormonas en los tejidos de las plantas y su transporte de unas zonas a otras (Allen, 1982). Aunque tales incrementos pueden ser debidos a que las micorrizas mejoran el estado nutricional de la planta y por tanto sus capacidades biosintéticas, es de señalar que se ha puesto de manifiesto que el propio hongo exuda al medio sustancias con actividad auxínica, giberelínica y citoquinínica (Barea, 1986). En un estudio realizado por Cruz (2017), donde evidencian que la micorrización favoreció el crecimiento de las plantas de *Theobroma cacao* L. en la etapa de vivero, promoviendo formación de hojas verdaderas que a su vez incrementó el área foliar y por ende el peso seco aéreo; consecuentemente al aumento de la biomasa. Así mismo, los resultados concuerdan por Gonzáles y Rodríguez (2004), donde comprobaron la factibilidad de emplear la inoculación micorrízica para incrementar la calidad morfofisiológica de las vitroplantas de café, alcanzándose mayor número de pares de hojas respecto al tratamiento control (testigo).

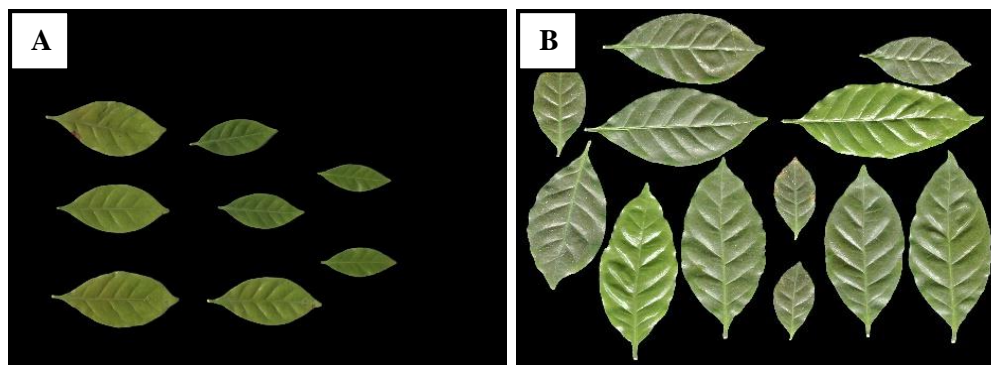


Figura 29. Comparación del número de hojas de los tratamientos en estudio. **A:** Número de hojas del testigo, **B:** Número de hojas de un tratamiento inoculado con HMA.

3.1.4. Contenido de clorofila (SPAD)

La Tabla 7 y la Figura 30 muestran el Análisis de Varianza y la Prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para el contenido de clorofila (SPAD) de *C. arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

Tabla 7

Análisis de varianza para el contenido de hojas (SPAD) en *C. arabica* L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sig.
TRATAMIENTOS	9073,93	3	3024,64	424,85	<0,0001	**
REPETICIONES	47,75	11	4,34	0,61	0,8070	
Error	234,94	33	7,12			
Total	9356,61	47				

**= Altamente significativo

$R^2 = 97 \%$

C.V = 5,44 %

$\bar{x} = 49,03$ SPAD

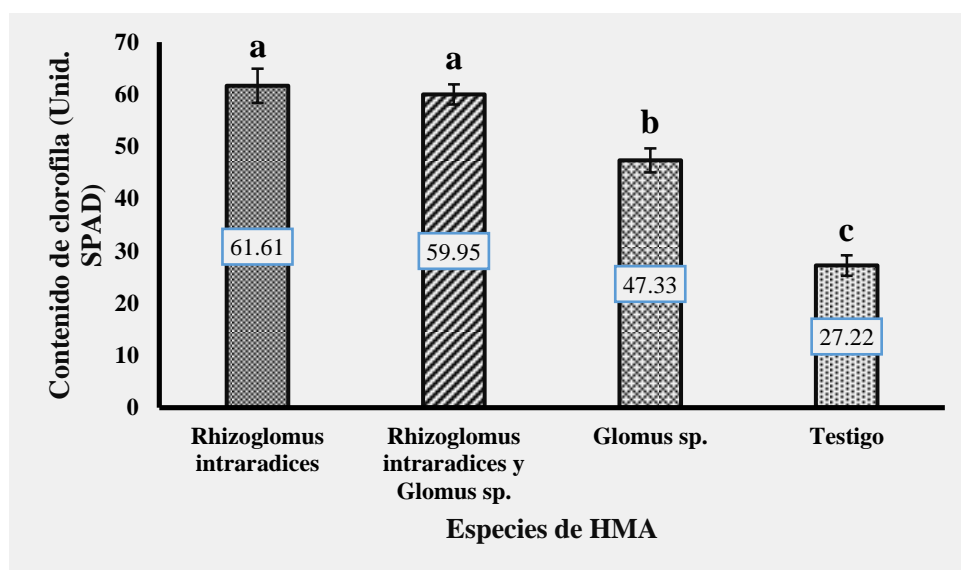


Figura 30. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el contenido de clorofila (SPAD) en *Coffea arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

El análisis de varianza (Tabla 7) para el contenido de clorofila (SPAD) en *C. arabica* L., indica que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, mostrando una media de 49,03 unid. SPAD con un Coeficiente de Variabilidad (C.V) de 5,44% y un Coeficiente de Determinación (R^2) de 97%, resultados que se encuentra dentro del rango de dispersión aceptable para trabajos realizados en vivero según Calzada (1982).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (Figura 30) correspondiente al contenido de clorofila, muestra que el T₁ (*Rhizogloium intraradices*) y el T₃ (*Rhizogloium intraradices* + *Glomus* sp.), obtuvieron la mayor cantidad de clorofila con 61,61 unid. SPAD y 59,95 unid. SPAD respectivamente; seguido del T₂ (*Glomus* sp.) con 47,33 unidades SPAD. Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron mayor contenido de clorofila que el testigo T₀ (sin inoculación con HMA) con 27,22 unidades SPAD. Los resultados muestran que los tratamientos inoculados con HMA tienen un efecto potencial sobre la cantidad de clorofila en plantas de café en condiciones de vivero; observándose incrementos de aproximadamente 73,9% hasta 126,3% más que el testigo. A mayor contenido de clorofila en las hojas, mayor es la absorción de luz en longitudes de onda diferentes, por ende, se incrementa la fotosíntesis y el crecimiento de la planta.

La síntesis de clorofila requiere de la presencia de luz, y el tipo de ésta, a su vez, afecta el desarrollo de los HMA (Cruz, 2016). Wu y Zou (2010) señalan que entre los efectos benéficos de los HMA se les atribuye mayor cantidad de clorofila y alta actividad fotosintética en las plantas. Así mismo, la micorrización genera incrementos de las tasas fotosintéticas (Smith y Read, 1997; Augé, 2001).

Los contenidos de clorofila encontrados tienen similitud con los señalados en otros trabajos. Díaz *et al.* (2013), encontraron que el pimentón inoculado con *Glomus intraradices* mostró incrementos en el índice de clorofila comparado con las plantas no inoculadas. Los resultados obtenidos concuerdan con lo indicado por Çekiç *et al.* (2012) para pimentón micorrizado con *Glomus intraradices*, el cual presentó las mayores cantidades de clorofila total y carotenoides al compararlo con las plantas no micorrizadas. Por su parte, Tanwar *et al.* (2013) reportaron un incremento del contenido de clorofila y la tasa de fotosíntesis en *Capsicum annuum* inoculado con el HMA *Glomus mosseae*.

3.1.5. Área foliar (cm²)

La Tabla 8 y la Figura 31 muestran el Análisis de Varianza y la Prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente para el área foliar (cm²) de *C. arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero. Datos transformados \bar{X} .

Tabla 8

Análisis de varianza para el área foliar (cm^2) en *C. arabica* L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sign.
TRATAMIENTOS	1808,82	3	602,94	240,93	<0,0001	**
REPETICIONES	21,63	11	1,97	0,79	0,6522	
Error	82,58	33	2,50			
Total	1913,03	47				

**= Altamente significativo

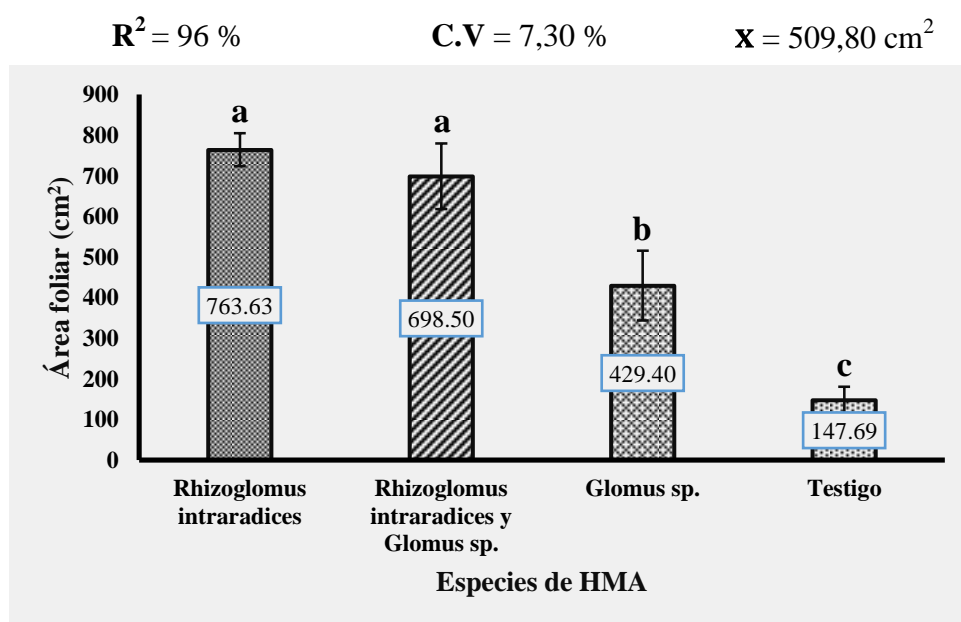


Figura 31. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el área foliar (cm^2) en *Coffea arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

El análisis de varianza (Tabla 8) para el área foliar (cm^2) en *C. arabica* L., indica que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, mostrando una media de $509,80 \text{ cm}^2$ con un Coeficiente de Variabilidad (C.V) de 7,30% y un Coeficiente de Determinación (R^2) de 96%, resultados que se encuentra dentro del rango de dispersión aceptable para trabajos realizados en vivero según Calzada (1982).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (Figura 31) correspondiente al índice morfológico, área foliar; muestra que el T₁ (*Rhizogloium intraradices*) y el T₃ (*Rhizogloium intraradices* + *Glomus* sp.), obtuvieron la mayor área foliar con $763,63 \text{ cm}^2$ y $698,50 \text{ cm}^2$ respectivamente; seguido del T₂ (*Glomus* sp.) con $429,40 \text{ cm}^2$ de área foliar. Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron mayor área foliar que el testigo T₀ (sin inoculación con HMA) con $147,69 \text{ cm}^2$. Estos resultados muestran que los HMA tienen un potencial benéfico,

observándose mayores incrementos en el área foliar oscilando entre 190,7% y 417,04% más respecto al testigo. En un estudio realizado por Moisés *et al.*, (2015), en plantas de café utilizando inóculos puros de *Glomus cubense* y *Rhizogloium intraradices*, se reportaron mayores áreas foliares de plántulas en comparación con el testigo sin inocular; con un aumento de entre 36,84% y 52,56%, respectivamente. Resultados similares encontrados por Del Águila (2016), demuestra que la inoculación con HMA-N, resultó provechosa, lográndose incrementos en el área foliar que fluctuaron entre 77,45% y 239,31% más con relación a las plantas no inoculadas. Así mismo, los resultados concuerdan por Sánchez (2017), encontrados en área foliar de las plantas clonales de café, que todas las plantas inoculadas con consorcios de HMA mostraron mejores resultados respecto al testigo. De la misma manera, estos resultados son semejantes por Fernández-Martín *et al.* (2005), en sus investigaciones realizadas en café variedad Catuaí inoculadas con HMA (*Glomus clarum*, *Glomus spurgum*, *Glomus fasciculatum*) en etapa de vivero, alcanzaron incrementos entre 6% y 140% de área foliar con respecto a plantas no inoculadas. Hernández-Acosta *et al.* (2018), en sus estudios realizados en café con diferentes variedades inoculados con HMA (un zac-19 formado por tres especies y *Rhizogloium aggregatus*) bajo condiciones de vivero, obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos e incrementos de 676% de área foliar con respecto al testigo. FINEAGRO (2010) reporta que el área foliar con la aplicación de las micorrizas se incrementa entre 10 y 263% con respecto a los testigos.

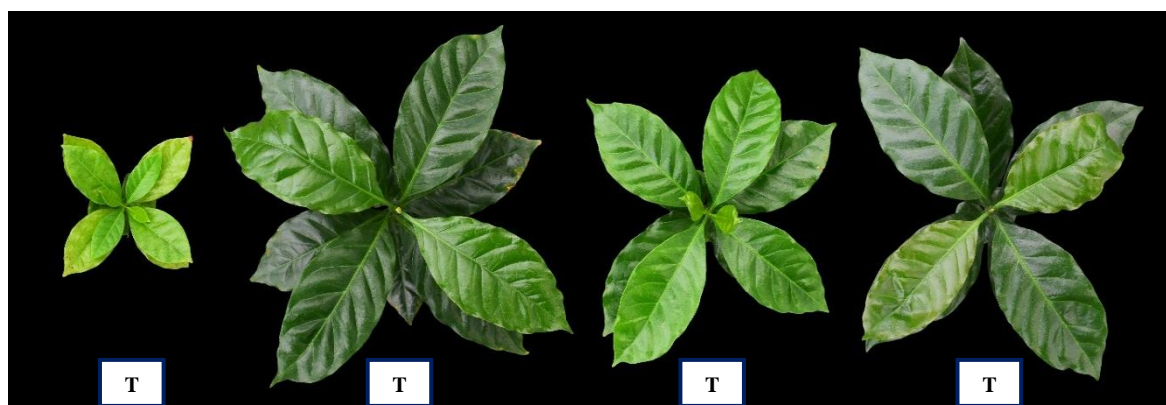


Figura 32. Comparación del área foliar de los diferentes tratamientos estudiados (T₀, T₁, T₂, T₃).

3.1.6. Biomasa fresca total (g)

La Tabla 9 y la Figura 33 muestran el Análisis de Varianza y la Prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente para la biomasa fresca total (g) en *C. arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero. Datos transformados $\overline{X + 1}$.

Tabla 9

Análisis de varianza para la biomasa fresca total (g) en *C. arabica* L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sign.
TRATAMIENTOS	61,37	3	20,46	197,61	<0,0001	**
REPETICIONES	0,77	11	0,07	0,67	0,7520	
Error	3,42	33	0,10			
Total	65,55	47				

**= Altamente significativo

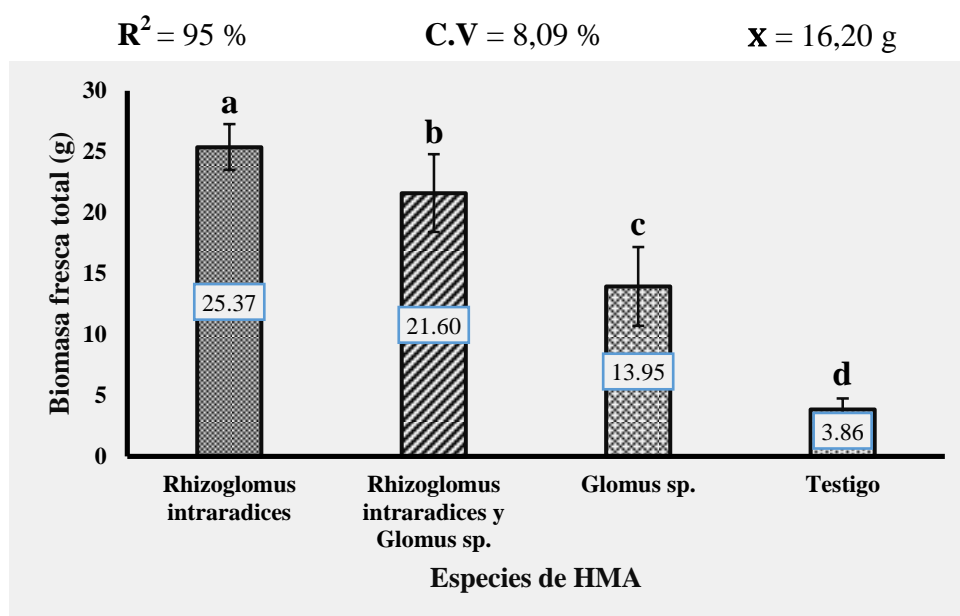


Figura 33. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la biomasa fresca total (g) en *Coffea arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

El análisis de varianza (Tabla 9) para la biomasa fresca total (g) en *C. arabica* L., indica que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, mostrando una media de 16,20 g con un Coeficiente de Variabilidad (C.V) de 8,09% y un Coeficiente de Determinación (R^2) de 95%, resultados que se encuentra dentro del rango de dispersión aceptable para trabajos realizados en condiciones de vivero según lo expuesto por Calzada (1982).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (Figura 33) correspondiente al índice morfológico, biomasa fresca total; muestra que el T₁ (*Rhizogloium intraradices*) obtuvo la mayor cantidad de biomasa fresca con 25,37 g; mientras que el T₃ (*Rhizogloium intraradices* + *Glomus* sp.) alcanzó una cantidad de 21,60 g; seguido del T₂ (*Glomus* sp.) con 13,95 g de biomasa fresca, Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron mayor biomasa fresca total que el testigo T₀ (sin inoculación con HMA) con 3,86 g. Estos resultados muestran que los HMA tienen un efecto muy positivo en la producción de biomasa, observándose mayores incrementos que oscilan entre 261,4% y 557,3% más respecto al testigo.

Los resultados obtenidos, a la incorporación de HMA en plántulas de café en condiciones de vivero, demuestran que la asociación simbiótica produce efectos benéficos o cambios a nivel morfológico y fisiológico, destacándose incrementos en la actividad fotosintética por efecto de la mayor capacidad de fijación de CO₂, incrementando la tasa de crecimiento y producción de biomasa. Smith y Read (1997) y Augé (2001), mencionan que la micorrización genera incrementos de las tasas fotosintéticas, potencial osmótico, conductancia estomática, reproducción y la transpiración, lo que conlleva a la obtención de plantas más vigorosas. Para Koch *et al.*, (1997), en su investigación demuestra que la inoculación con HMA en plantas eleva notablemente la tasa de fotosíntesis comparada con las plantas no inoculadas, y puede atribuirse el incremento en el crecimiento de las plantas micorrizadas a ese aumento de la actividad fotosintética favoreciendo a la vigorosidad de las plantas aumentando la biomasa fresca.



Figura 34. Plántula de café inoculada con HMA.

3.1.7. Biomasa seca aérea (g)

La Tabla 10 y la Figura 35 muestran el Análisis de Varianza y la Prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente para la biomasa seca aérea (g) en *C. arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero. Datos transformados $\overline{X + 1}$.

Tabla 10

Análisis de varianza para la biomasa seca aérea (g) en *C. arabica* L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sign.
TRATAMIENTOS	5,56	3	1,85	1109,23	<0,0001	**
REPETICIONES	0,02	11	0,0019	1,15	0,3551	
Error	0,06	33	0,0017			
Total	5,64	47				

**= Altamente significativo

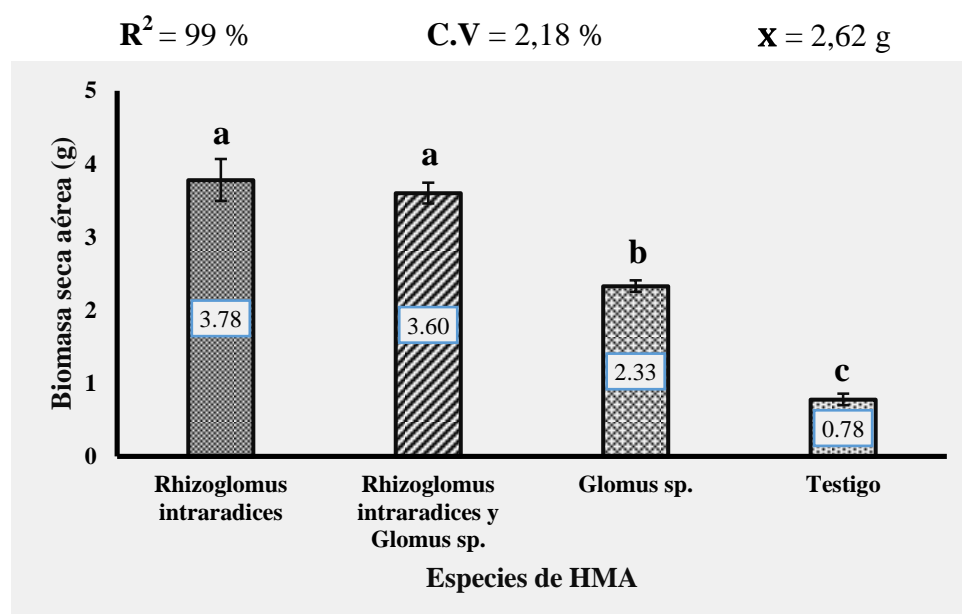


Figura 35. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la biomasa seca aérea (g) en *Coffea arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

El análisis de varianza (Tabla 10) para la biomasa seca aérea (g) en *C. arabica* L., muestra que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, mostrando una media de 2,62 g con un Coeficiente de Variabilidad (C.V) de 2,18% y un Coeficiente de Determinación (R^2) de 99%, resultados que se encuentran dentro del rango de dispersión aceptable para trabajos realizados en condiciones de vivero según lo expuesto por Calzada (1982).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (Figura 35) correspondiente al índice morfológico, biomasa seca aérea, muestra que el T₁ (*Rhizogloium intraradices*) y el T₃ (*Rhizogloium intraradices* + *Glomus* sp.), obtuvieron la mayor cantidad de biomasa seca aérea con 3,78 g y 3,70 g respectivamente; seguido del T₂ (*Glomus* sp.) con 2,33 g de área foliar. Todos los tratamientos inoculados con HMA, presentaron mayor área foliar que el testigo T₀ (sin inoculación con HMA) con 0,78 g de biomasa seca aérea. Estos resultados obtenidos, muestran claramente que la inoculación con HMA tienen efecto sobre la biomasa seca aérea en plántulas de café en condiciones de vivero, obteniéndose incrementos que fluctúan entre 198,7% a 384,6% más que el testigo. Los resultados obtenidos de biomasa seca aérea tienen cierta similitud con los resultados por Del Águila (2016), donde observó incrementos de la biomasa seca área de los tratamientos inoculados con HMA-N en plantas de café que fluctuaron entre 86,52 % y 203,37 % más que las plantas no inoculadas. Este resultado también coincide con la investigación de Sánchez (2017), donde encontró que los consorcios de HMA estudiados presentaron buena acumulación de biomasa seca aérea, en las plantas clonales de café, observándose incrementos que fluctuaron entre 27,3% y 137,3% respecto al testigo. En un estudio realizado por Moisés *et al.*, (2015), en Brasil utilizando inóculos puros de *Glomus cubense* y *Rhizogloium intraradices*, se reportaron mayores biomazas secas aéreas de plántulas en comparación con el testigo; con un aumento entre 30,7% y 34,7%, respectivamente. Así mismo, Chinchay (2016) obtuvo incrementos de peso seco entre sus tratamientos micorrizados con 89,8% más que el testigo. Además, los resultados concuerdan por Salamanca y Cano (2005), en investigaciones realizadas con micorrizas en condiciones vivero, mostraron diferencias significativas, obteniendo un mayor incremento relativo de 176% en biomasa seca aérea en plantas de mandarina cleopatra (*Citrus reshni*) con respecto al testigo.

Asimismo, Ortas (1996), señala que al incrementar la tasa de crecimiento vegetal influyen en la distribución de los nutrimentos a los tallos, los cuales aumentan la utilización de fotosintatos en la parte aérea; por ende, su aumento de biomasa. Si bien es cierto los incrementos de biomasa seca son mayores, estos resultados no son extraños dado que autores como Smith y Read (1997), quienes afirmaron que la presencia de HMA en las raíces del hospedante incrementan su tasa de crecimiento y producción de biomasa.

3.2. Variable fúngica

3.2.1. Porcentaje de colonización micorrízica

La Tabla 11 y la Figura 36 muestran el Análisis de Varianza y la Prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente para el porcentaje de colonización micorrízica (%) en *C. arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero. Datos transformados Arcseno \bar{X} .

Tabla 11

Análisis de varianza para el porcentaje de colonización micorrízica en *C. arabica* L., evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sign.
TRATAMIENTOS	39109,06	3	13036,35	10185,04	<0,0001	**
REPETICIONES	14,37	11	1,31	1,02	0,4508	
Error	42,24	33	1,28			
Total	39165,66	47				

**= Altamente significativo

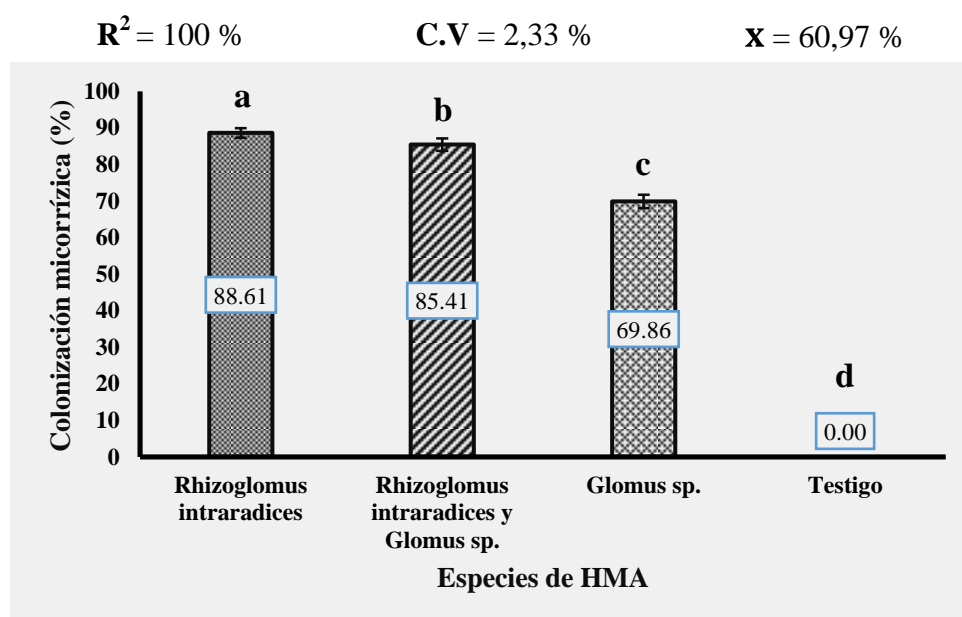


Figura 36. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la colonización micorrízica (%) en *Coffea arabica* L. evaluados a los 132 DDI en condiciones de vivero.

El análisis de varianza (Tabla 11) para la colonización micorrízica (%) en *C. arabica* L., muestra que existen diferencias altamente significativas entre las especies inoculadas, mostrando una media de 60,97% con un Coeficiente de Variabilidad (C.V) de 2,33% y un Coeficiente de Determinación (R^2) de 100%, resultados que se

encuentran dentro del rango de dispersión aceptable para trabajos realizados en condiciones de vivero según lo expuesto por Calzada (1982).

El análisis de comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$) (Figura 36) correspondiente al índice fúngico, muestra que el T₁ (*Rhizoglyphus intraradices*) obtuvo la mayor colonización micorrízica de 88,61%; seguido del T₃ (*Rhizoglyphus intraradices* + *Glomus* sp.) que mostró un 85,41% de colonización; por otro lado, el T₂ (*Glomus* sp.) alcanzó una colonización micorrízica de 69,86%, mostrando diferencias significativas entre los tratamientos micorrizados con respecto al tratamiento testigo (sin HMA) que mostró el menor valor en esta variable (cero).

El porcentaje de colonización en plantas de café de la variedad caturra inoculadas con HMA de los diferentes tratamientos micorrizados oscilan entre 69,86% a 88,61%, resultados superiores a lo encontrado por Del Águila (2016), reporta que el porcentaje de colonización de las plantas inoculadas con HMA-N en los diferentes tratamientos fluctuó entre 13,83% y 30%. Así mismo, Sánchez (2017) muestra que la colonización de los consorcios de HMA en las raíces de plantas clonales de café caturra, encontró bajas colonizaciones que oscilan entre 4,17% a 36,94%. Gonzáles y Rodríguez (2004), encontraron resultados similares al analizar la colonización micorrízica en café, bajo condiciones de vivero, donde incrementó para todos los tratamientos estudiados, alcanzando cifras entre 43,27% y 69,71 %. En tanto, Trejo *et al.* (2011) observaron 90,2% de colonización micorrízica en plantas de café de la variedad Garnica inoculados con HMA. Además, Hernández- Acosta *et al.* (2018) mostraron una colonización más alta con la cepa *Rhizoglyphus aggregatus* con 23,5% en la variedad Catimor en condiciones de vivero.

Como el nivel de colonización de las especies de HMA en plántulas de café son diferentes para un mismo hospedero, se puede inferir que existe un cierto grado de especificidad en la simbiosis (Barea *et al.*, 1991).

Según Chavarría (1999), la temperatura ha mostrado tener una influencia en la colonización de las micorrizas, a temperaturas cercanas a los 30°C existe su máximo desarrollo arbuscular. El experimento estuvo monitoreado por parámetros meteorológicos desde la inoculación con HMA hasta el final del experimento, mostrando temperaturas promedio (T° máx: 38,2°C, T° med: 29°C, T° mín: 21,4°C), humedades promedio (H° máx: 73,8%, H° med: 64% y H° mín: 47,9%) correspondiente

al periodo (Abril – Julio del 2018) que, si bien pudieron afectar positivamente en la colonización de los HMA. Además, niveles adecuados de humedad en el suelo generan altos índices de colonización. La luminosidad puede afectar la colonización de las micorrizas. Sin embargo, el efecto de la luz en las micorrizas arbusculares parece depender de la fotosensibilidad de la planta (Sieverding, 1991).

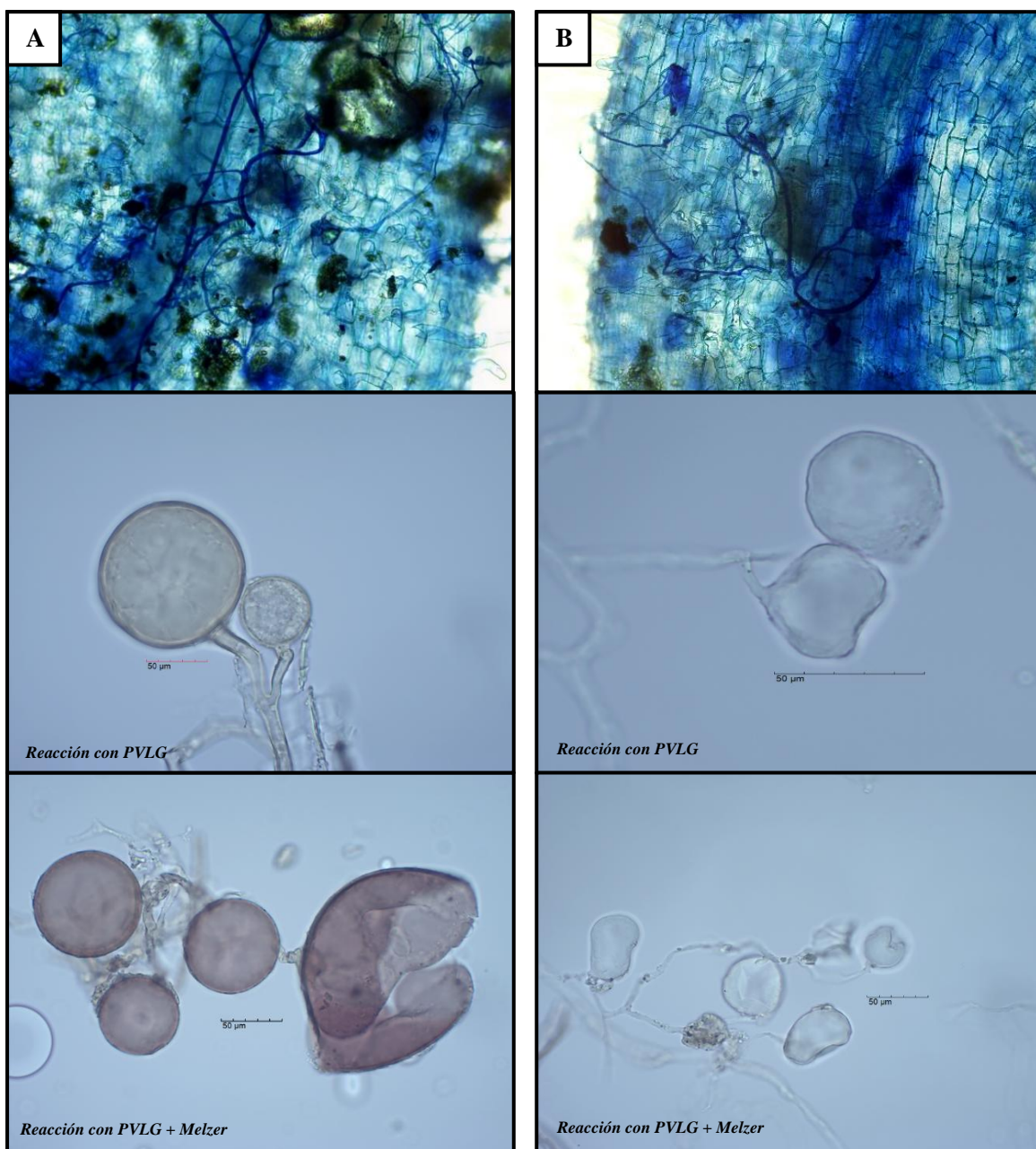


Figura 37. Determinación de la colonización micorrízica en raíces de plántulas de café. **A:** Colonización micorrízica, esporas de *Rhizoglyphus intraradices*, **B:** Colonización micorrízica, esporas de *Glomus* sp.

Conclusiones

- La inoculación con especies de HMA en plántulas de café, influyeron positivamente en la asociación simbiótica, favoreciendo el crecimiento y desarrollo de las plántulas de café en condiciones de vivero. Siendo el tratamiento $T_1 = Rhizoglo\text{mus intraradices}$, el más eficiente en comparación a los tratamientos micorrizados (T_2 , T_3), lográndose incrementos significativos en las variables morfológicas evaluadas.
- Todos los tratamientos inoculados con HMA, demostraron eficiencia en la colonización micorrízica en plántulas de café, destacándose los tratamientos T_1 y T_3 con 88,61% y 85,41% respectivamente, quienes presentaron los mayores valores promedios en porcentaje de colonización micorrízica.

Recomendaciones

- Realizar ensayos con las especies de HMA inoculadas: T₁ (*Rhizoglyphus intraradices*) y T₂ (*Glomus* sp.), en plántulas de café con diferentes variedades bajo condiciones de vivero.
- Realizar ensayos con otras especies de HMA e inocularlas en plántulas de café variedad caturra en condiciones de vivero.
- A partir de los datos obtenidos, se recomienda inocular los HMA al momento del repique, conservándolo en condiciones de vivero aproximadamente 132 días para asegurar una mayor colonización al momento de llevar a campo definitivo.
- Realizar estudios con plantas inoculadas con HMA establecidas en campo definitivo, para determinar el efecto que podría tener frente a condiciones ambientales y los beneficios de estos microorganismos en la productividad de las plantas de café.
- Realizar un análisis nutricional a las plántulas de café para determinar el contenido nutricional.

Referencias bibliográficas

- Aguín, O.; Mansilla, J. P.; Vilariño, A. y Sainz, M. J. (2004). *Effects of mycorrhizal inoculation on root morphology and nursery production of three grapevine rootstocks*. Am. J. Enol. Vitic. 51:108-111.
- Alarcón, A. y Ferrera-Cerrato, R. (1996). *Dinámica de colonización y efecto de hongos endomicorrízicos sobre el crecimiento de Casuarina equisetifolia L.* pp. 298-302. Montecillo, México.
- Alarcón, A.; Ferrera-Cerrato, R.; Almaraz-Suárez J.J. y Villegas-Monter A. (1997). *Distribución de carbohidratos y fósforo en la simbiosis Citrus volkameriana-Glomus spp.* Memorias del XXVIII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Villahermosa, Tabasco. pp. 131.
- Alarcón, A. y Ferrera-Cerrato, R. (1999). *Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas*. Terra. 17: 179-191.
- Allen, M. (1982). *Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on water movement through Bouteloua gracilis (H.B.K.) Lax ex steud.* New Phytol, 91: 191-196.
- Álvarez, J. y Naranjo, E. (2003). *Ecología del suelo en la selva tropical húmeda de México* (1 a Ed.). Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México. 89 pp.
- Alvarado, M. y Rojas, G. (2007). *El cultivo y beneficio del café*. Editorial Universidad Nacional a Distancia. San José, Costa Rica, 184 pp.
- Augé, R. (2001). *Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis*. Mycorrhiza. 11:3-42.
- Azcón-Aguilar, Concepción y Barea, J. (1997). *Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials*. Scientia Horticulturae.
- Barea, J. M. (1986). *Importance of hormones and root exudates in mycorrhizal phenomea*. INRA, París. P. 177-187.
- Barea, J. M.; Azcón-Aguilar, C.; Ocampo, J. A., y Azcón, R. (1991). *Morfología, anatomía y citología de las micorrizas vesículo-arbusculares*. Madrid.

- Barea, J. M. (2005). *Microbial co-operation in the rhizosphere*. Journal of Experimental Botany.
- Berta, G.; Fusconi, A. y Trotta, A. (1993). *Vesicular-Arbuscular mycorrhizal infection and the morphology and function of root systems*. Environ. Exp. Bot. 33:159-173.
- Blanco, F. y Salas, E. (1997). *Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica*. Agronomía Costarricense, 21(1): 55-67.
- Brundrett, M.; Bougher, N.; Dell, B.; Grove, T. y Malajczuk, N. (1996). *Working with mycorrhizas in forestry and agriculture*. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra, Australia. 347 pp.
- Box, G. y Hunter, W. (1989). *Estadística para investigadores. Introducción al diseño de experimentos, análisis de los datos y construcción de modelos*. U.S.A. Ed. Reverté S.A. 675 p.
- Bustillo, A. (2002). *El manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia*. Cenicafé. Boletín Técnico Cenicafé N°. 24: 1-40.
- Calzada, B. J. (1982). *Métodos estadísticos para la investigación*. Quinta edición. Lima-Perú.
- Çekiç, F.; Ünyayar, S. y Ortaş, I. (2012). *Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on biochemical parameters in Capsicum annuum grown under long term salt stress*. Turkish Journal of Botany. 36: 63-72.
- Centro de Comercio Internacional [CCI] (1992). *Café Guía del exportador*. Ginebra, Suiza. Pp: 15,16.
- Chinchay-Rubio, D. (2016). *Efecto de Hongos Micorrízicos Arbusculares Nativos sobre el nematodo agallador de raíces (Meloidogyne spp.) en plántones de café (Coffea arabica) variedad caturra en la región San Martín*. Universidad Nacional de San Martín. Tarapoto, Perú.
- Colozzi-Filho, A. y Cardoso, E. (2000). *Detecção de fungos micorrizicos arbusculares em raízes de cafeeiro e de crotolária cultivada na entrelinha*. Pesquisa Agropecuária Brasileira.

- Chavarría, M. (1999). *Usos de las micorrizas en la agricultura*. Curso de Biología de Suelos, CIA-UCR. p. 29-59.
- Christiansen, J. (2004). *Café orgánico diversificación*. Primera edición. Editorial Ideas litográficas. Teguligalpa. Honduras. pág. 135.
- Cruz, A. F. (2016). *Effect of light-emitting diodes on arbuscular mycorrhizal fungi associated with bahiagrass (*Paspalum notatum* Flüggé) and millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br]*. Bioagro 28(3): 163-170.
- Cruz, C. J. (2017). *Respuesta de Cacao (*Theobroma cacao* L.) y Teca (*Tectona grandis* L.f) a la micorrización durante la etapa de vivero, Kukra Hill, RACCN*. Universidad Nacional Agraria, Nicaragua. 60 pp.
- Del Águila, K. M. (2016). *Efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares a plantones de café (*Coffea arabica*), variedad caturra a nivel de vivero en la región san Martín*. Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, Perú.
- Delgado, L. (2007). *Agrocadena de café sostenible*. Ministerio de Agricultura y Ganadería DRCS. Puriscal. Costa Rica. Pág. 8.
- Díaz, A.; Alvarado, M.; F. Ortiz y Grageda, O. (2013). *Nutrición de la planta y calidad de fruto de pimentón asociado con micorriza arbuscular en invernadero*. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 4(2): 52-63.
- Ehrlich, P. R. y Wilson, E. O. (1991). *Biodiversity studies: Science and Policy*. Science 253:758-762
- Escalona, A. M. (2002). *Interacción de plantas de café fertilizadas con fósforo e inoculadas con hongos micorrizicos arbusculares y *Phoma costarricensis* Echandi*. Tecmán, México.
- Federación de Cooperativas Agroindustriales de Nicaragua [FENIAGRO] (2010). *Micorrízicos para la producción agroecológica en las fincas de los Productores de café*. Nicaragua. 87 Pág.
- Fernández, F. (1999). *Manejo de las asociaciones micorrízicas arbusculares sobre la producción de posturas de cafeto (*Coffea arabica* L. Var. Catuai) en algunos tipos*

de suelos. 102 pp., Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Inst. Nac. Cienc. Agrícolas, La Habana, MES.

Fernández-Martín, F.; Rivera-Espinosa, R. A.; Hernández-Jiménez, A.; Herrera- Peraza, R. A. y Fernández-Suárez, K. (2005). *Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares y diferentes relaciones suelo: humus de lombriz sobre el crecimiento del cafeto (Coffea arabica L.) cv. Catuaí bajo la etapa de vivero*. Revista Chapingo serie horticultura-México.

Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura [FIRA] (2016). *Panorama agroalimentario: Informe del mercado de café*. Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial. 37 pp.

Fischersworing, H. B. y Robkamp, R. R. (2001). *Guía para la agricultura ecológica*. Pág. 14 y 15. Editorial López – Alemania.

Frank, A. B. (1885). *On the cultivation of certain trees by subsurface mushrooms, based on root symbiosis*. Reports of the German Botanical Society 3: 128-145.

Fundación para el Desarrollo Socioeconómico y Restauración Ambiental [FUNDESYRAM] (2010). *Guía para la innovación de la caficultura de lo Convencional a lo orgánico*. San Salvador, El Salvador. 142 pp.

Gadkar, V.; David-Schwartz, R.; Kunik, T.; Kapulnik, Y. (2001). *Arbuscular mycorrhizal fungal colonization. factors involved in host recognition*. Plant Physiology, 27: 1493-1499.

Gao Chen; Wang Luming; Milgrom Elena y Shen Winston (2004). *On the mechanism of constitutive Pdr1 activator-mediated PDR5 transcription in Saccharomyces cerevisiae: evidence for enhanced recruitment of coactivators and altered nucleosome structures*. J Biol Chem 279(41):42677-86.

Gerdemann, J. W. y Nicolson, T. H. (1963). *Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting*. Transactions of the British mycological Society, vol. 46, 235 pp.

Gianinazzi-Pearson, V. y Azcón-Aguilar, C. (1991). *Fisiología de las micorrizas vesículoarbusculares*. En: Olivares J. y Barea J. M. (eds). Fijación y Movilización

Biológica de nutrientes. Volumen II. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid. pp. 175- 202.

González, María E. y Rodríguez, Yojana (2004). *Respuesta de plantas de Coffea canephora a la inoculación con hongos micorrizógenos arbusculares durante la fase de aclimatización*. Cultivos Tropicales, vol. 25, pp. 13-16. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas La Habana, Cuba.

Habte M. y Bittenbender H. C. (1999). *Reactions of coffee to soil solution P concentration and arbuscular mycorrhizal colonization*. Journal of South Pacific Agriculture, 6: 29–34.

Harley, J. y Smith, S. (1983). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press. London.

Harrison, M. J. (1999). *Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis*. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 50:361-389.

Harrison, M. J. (2005). *Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis*. Annual Review of Microbiology.

Hepper, C. M. (1981). *Techniques for studying the infection of plants by vesiculararbuscular mycorrhizal fungi under axenic conditions*. New Phytologist 88, 641-647.

Hetrick, B. A. D. (1991). *Mycorrhizas and root architecture*. Experientia. 47: 355-362.

Hernández-Acosta, E.; Trejo-Aguilar, D.; Ferrera-Cerrato, R.; Rivera-Fernández, A. y González-Chávez, M. C. (2018). *Hongos Micorrízicos Arbusculares en el Crecimiento de Café (Coffea arabica L.) variedades Garnica, Catimor, Caturra y Catuaí*. Agroproductividad: Vol. 11, Núm. 4. pp: 61-67.

Heredia (2011). *Guía técnica para el cultivo de café*. Instituto del Café de Costa Rica. Centro de Investigaciones en Café (CICAPE). Primera edición. Costa Rica. Pág. 72.

Integrated Taxonomic Information System [ITIS] (2017). Recuperado de <https://www.itis.gov/>.

- Janse, J. M. (1897). *Les endophytes radicaux de quelques plantes javanaises*. Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg 14:53–20.
- Jasper, D. A.; Abbott, L. K. y Robson, A. D. (1992). *Soil disturbance in native ecosystems the decline and recovery of infectivity of VA mycorrhizal fungi*. In "Mycorrhizas in Ecosystems", pp. 151-155. CAB International, Wallingford.
- Jeffries, J., S. Gianinazzi, S. Perotto, K. Turnau y Barea, J. M. (2003). *The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in the sustainable maintenance of plant health and soil fertility*. Biol. Fertil. Soil. 37:1-16.
- Jiménez, J. L. (1989). *Las micorrizas. Asociación Nacional de Caficultores (ANACAFE)* 305. Guatemala, C.A. 25 – 28 p.
- Koch, M.; Tanami, Z.; Bodani, H.; Wininger, S. y Kapulnik, Y. (1997). *Field application of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi improved garlic yield in disinfected soil*. *Mycorrhiza*, 7, 47-50 p.
- Koch A. M.; Antunes P. M.; Maherali H.; Hart M. M.; Klironomos J. N. (2017). *Evolutionary asymmetry in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: conservatism in fungal morphology does not predict host plant growth*. New Phytologist 214: 1330–1337.
- Marín, G. (2012). *Producción de café especial*. Manual técnico. Programa Selva Central - Desco. Lima, Perú. 46 pg.
- Mathieu, S., Cusant, L.; Roux, C. y Corradi, N. (2018). *Arbuscular mycorrhizal fungi: intraspecific diversity and pangenomes*. Tansley insight. New Phytologist 220: 1129–1134.
- Ministerio de Agricultura y Riego [MINAGRI] (2016). *Estrategia de Mediano Plazo de Agricultura y Riego, para el Desarrollo del Sector Cafetalero en el Perú 2016-2018*. Recuperado de: <http://www.minagri.gob.pe/portal/download/pdf/marcolegal/normaslegales/resolucionesministeriales/2016/junio/rm244-2016-minagri.pdf>
- Ministerio de Agricultura y Riego [MINAGRI], IV Censo Nacional Agropecuario [IV CENAGRO], Junta Nacional del Café [JNC] (2017). *Boletín: Café Peruano, motor*

de desarrollo. Recuperado de: http://www.undp.org/content/dam/gp-commodities/docs/UNDP_GC_infographic_Peru_cafe_ESP_Junio%202017.pdf?download

- Moisés M. Luis Gustavo, Tamayo A. Yonger, Barraza A. Fernando Vicente (2015). *Ecological and economical alternative for Coffea arabica L. seedling obtainment*. Universidad de Nariño. Revista de Ciencias Agrícolas, 32 (1): 65 – 74. doi: <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.153201.25>
- Morfin, V. A.; Castillo, P. y Vizcaíno G. (2006). *El cultivo de café (Coffea arábica L.) en colima*. Instituto de investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Folleto Técnico Núm. 1. Campo Experimental Ticomán. 85 pp.
- Molina, R.; Massicote, H. y Trappe, J. M. (1992). *Specificity phenomena in mycorrhizal symbiosis: community-ecological consequences and practical implications*. In: Allen, M. F. (ed.). *Mycorrhizal Functioning*. Chapman and Hall, London. pp. 357-423.
- Molina, L. M.; Mahecha, L. y Medina, M. (2005). *Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles*. Universidad de Antioquia. Rev Col Cienc Pec Vol. 18:2.
- Mosse, B. (1982). *Vesicular – arbuscular Mycorrhiza research for tropical Agriculture and Human Resources*. University of Hawaii. Research Bull: pp. 82
- Montilla, E. (2010). *Caracterización de la micorrización “nativa” en plantaciones de cafeto en diferentes condiciones edafoclimáticas*. Recuperado de www.inca.edu.cu/redmicorrizas/docs/posgrados/resultados/15.pdf
- Newman, E. I. (1966). *A method of estimating the total length of root in a sample*. Department of Botany, University of Bristol, England. J. Appl. Ecol. 3:139-45.
- Oehl, F.; Alves da Silva, G.; Goto, B. T. y Sieverding, E. (2011). *Glomeromycota: three new genera and glomoid species reorganized*. Mycotaxon, 116, 75-120.
- Olalde, P. V. (1997). *Fisiología de plantas micorrizadas*. p. 51. In: Memorias del VI Congreso Nacional de Micología/IX Jornadas Científicas. Tapachula, Chiapas.

- Oliveira, N. A. y Olivera, L. (2005). *Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in plantas of Theobroma grandiflorum schum and Pullinia cupana Mart. of an agroforestry system in Central Amazonia, Amazonas State, Brazil. Brazilian J. Microb.* 36: 262-270.
- Ortas, I. (1996). *The influence of use of different rates of mycorrhizal inoculum on root infection, plant growth and phosphorus uptake.* Soil Science, 18-20.
- Padrón, E. (1996). *Diseños experimentales con aplicación a la agricultura y la ganadería.* Ed. Trillas. México. 215 p.
- Pérez, C. A.; Montes, V. D. y Rojas, S. J. (2011). *Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el Caribe Colombiano.* Rev. Colombiana cienc. Anim. 3(2).
- Pérez-Luna, Yolanda del Carmen, Álvarez-Solís, J. D.; Mendoza-Vega, J.; Pat-Fernández, J. M.; Gómez-Álvarez, R. y Cuevas, L. (2012). *Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México.* Gayana Bot. 69(1): 46-56.
- Paszkowski, U. (2006). *A journey through signaling in arbuscularmycorrhizal symbioses.* New Phytologist, 172(1): 35 – 46.
- Phyllips, D. M. y Hayman, D. S. (1970). *Improved procedures for clearing roots and staining parasites and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection.* Trans British Mycol. Soc., vol. 55, pp. 101- 188.
- Rivera, R. E.; Fernández, F. y Sánchez, C. (1997). *Efecto de la inoculación con hongos micorrizógenos vesículo-arbusculares y bacterias rizosféricas sobre el crecimiento de las posturas de cafeto.* Cultivos Tropicales 18(3): 15-23.
- Rivera, R. E.; Fernández, M. F.; Hernández, J. A. y Martín, T. R. (2003). *El manejo eficiente de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible.* Estudio de caso: El Caribe. INCA.
- Rivillas C. A. (1996). *Las Micorrizas Arbusculares en el cultivo del Café.* CENICAFE. Colombia. pp. 64-74. Recuperado de

<http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/993/10/8.%20Micorrizas%20arbusculares%20en%20el%20cultivo.pdf>

- Rodríguez, M. Y.; Segurado, G. Y.; Orta, P. S.; Sánchez, S. A. (2016). *Efectos de FitoMas-E en los parámetros morfológicos de Pinus cubensis Griseb en condiciones de vivero*. Revista Hombre, Ciencia y Tecnología, 20 (3), 8-15. ISSN: 1028-0871
- Ruíz, P.; Rojas, K. y Sieverding, E. (2011). *La distribución geográfica de los hongos micorrízicos arbusculares: Una prioridad de investigación en la Amazonia peruana*. Ucayali, Perú. 17 pp.
- Salamanca, C. R. y Cano, C.A. (2005). *Efecto de las micorrizas y el sustrato en el crecimiento vegetativo y nutrición de cuatro especies frutales y una forestal, en la fase de vivero, en el municipio de Restrepo-Meta, Colombia*. Memorias del Encuentro Nacional de la Ciencia del Suelo: Materia orgánica y Microorganismos en la Agricultura Colombiana. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. Medellín. 8 pp.
- Sánchez, C.; Rivera, R.; González, C.; Cupull, R.; Herrera, R. y Varela, M. (2000). *Efecto de la inoculación de hongos micorrizógenos (HMA) sobre la producción de posturas de cafetos en tres tipos de suelos del macizo montañoso Guamuhaya*. Cultivos Tropicales. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas La Habana, Cuba. vol. 21, núm. 3, pp. 5-13.
- Sánchez de Prager, M. (2007). *Las Endomicorrizas: Expresión bioedáfica de importancia en el trópico*. Palmira. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 352 p.
- Sánchez, L. (2009). *Análisis de la estructura y diversidad de las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares asociados a plantas de especial interés ecológico en ambientes mediterráneos*. Universidad de Granada (URG). Granada, España. 196 pp.
- Sánchez, S.T. (2017). *Efecto de inóculos de Hongos Micorrízicos Arbusculares en plantas clonales de café (Coffea arabica L.) variedad caturra en condiciones de*

invernadero, Rodríguez de Mendoza, Región Amazonas. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

Schübler, A.; Schwarzott, D. y Walker, C., (2001). *A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution.* Mycological Research 102(12): 1413-1421.

Sieverding, E. (1984). *Aspectos básicos de la investigación de la micorriza vesículo arbuscular.* Investigaciones sobre micorrizas en Colombia-Palmira, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional, 1-14.

Sieverding, E. (1991). *Vesicular Arbuscular Mycorrhiza in Tropical Agrosystem.* Deutsche Gesellschaft für technische Zusammenarbeit (GTZ) GMBH, federal Republic of Germany. 371 pp.

Sieverding, E. y Barea, J. M. (1991). *Perspectivas de la inoculación de sistema de producción vegetal con hongos formadores de micorrizas vesículas arbusculares, en Fijación y movilización de nutrientes.* Fijación de N y micorrizas, pp. 221-245.

Siqueira, J. O. y Franco, A. (1988). *Bioteecnología do solo, fundamentos e perspectivas.* Ciências nos Tropicós Brasileiros. Serie Agronomía, 235 pp.

Siqueira, J. O.; Saggin-Junior, O.; Collozzi-Filho, A.; Guimaraes, P.T.G. (1993). *Crecimiento de mudas e producao de cafeeiro sob influencia de fungos micorrízicos e superfosfato.* R. Bras. Biología do solo. Ciencia do Solo, vol. 17, no. 1, pp. 53-60.

Siqueira J. O.; Saggin-Junior, O.; Colozzi-Filho, A. y Oliveira, E. (1995). *Influencia do substrato de formacao e da micorriza no crescimento de mudas de cafeeiro trasplantadas.* Pesquisas Agropecuarias do Brasil. 1417-1425.

Silva, M. C.; Várzea, V.; Guerra, G. L.; Gil, A. H.; Fernández, D.; Petitot, A. S.; Bertrand, B.; Lashermes, F. y Nicole, M. (2006). *Coffee resistance to the main diseases: leaf rust and coffee Berry disease.* Braz. Journal Plant. Physiol. 18(1): 119-147.

Soto, F. (1994). *Crecimiento de posturas de cafetos (Coffea arabica L.) influido por diferentes condiciones de vivero.* Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Inst. Nac. Cienc. Agrícolas (INCA), La Habana, MES. 174 pp.

- Sotomayor, I. y Duicela, L. (1988). *Manual práctico de semilleros y viveros de café* (2da ed.). Estación experimental tropical Pichilingue – INIAP. Quevedo, Ecuador. 44 pp.
- Smith, S. E., y Walker, N. A. (1981). *A quantitative study of mycorrhizal infection in Trifolium: separate determination of the rates of infection and of micelial growth*. *New Phytologist* 89, 225-240.
- Smith, S. E., y Gianinazzi-Pearson, V. (1988). *Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants*. *Annual Review Plant Physiology. Plant Molecular Biology* 39, 221-244.
- Smith, S. E.; Robson, A.D. y Abbott, L. K. (1992). *The involvement of mycorrhizas in assessment of genetically dependent efficiency of nutrient uptake and use*. *Plant and Soil* 146, 169-179.
- Smith, S. E. y Read, J. (1997) *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, San Diego, CA.
- Smith, S. E.; Smith, F. A., y Jakobsen, I. (2003). *Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses*. *Plant Physiol.*
- Smith, S.E. y Read, J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. 3ra Edition, Academic Press, London.
- Tanwar, A.; Aggarwal, A.; Kadian, N. y Gupta, A. (2013). *Arbuscular mycorrhizal inoculation and super phosphate application influence plant growth and yield of Capsicum annum*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13(1): 55-66.
- Trejo, D. A. (1997). *Ecología y comportamiento de la micorriza arbuscular en el cultivo de café (Coffea arabica L.)*. Tesis de maestría en ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 131 pp.
- Trejo, D.; Ferrera-Cerrato, R.; García, R.; Varela, L.; Lara, L. y Alarcón, A. (2011). *Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo*. Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 84: 23-31 pp.

- Valencia, G. (1998). *Factores que afectan la productividad del cafeto, en Manual de nutrición y fertilización del café*. Instituto de la potasa y el fósforo (INPOFOS), Quito. 61 pp.
- Vergara, S. (2012). *Reporte de Inteligencia de Mercados "Café peruano: Aroma y Sabor para Nosotros y el Mundo"*. Perú. 92 pp.
- Wu, Q. y Zou, Y. (2010). *Beneficiales roles of arbuscular mycorrhizas in citrus seedlings at temperature stress*. *Scientia Horticulturae* 125: 289-293.