

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Arquitectura e Ingenierías Civil y del Ambiente

Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental



**Potencial de los hongos micorrícicos arbusculares como biofertilizantes
en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.), San Martín- Perú 2025**

Tesis presentada por la Bachiller:

Aguilar Moron, Maryeli Yubiry

ORCID: 0009-0005-5069-6338

para optar el Título Profesional de Ingeniera Ambiental

Asesor (a):

Dr. Arenaza Rodríguez, Armando Jacinto

ORCID: 0000-0002-0940-2204

Arequipa - Perú

2025

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA AMBIENTAL

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 17 de Septiembre del 2025

Dictamen: 014735-C-EPIA-2025

Visto el borrador del expediente 014735, presentado por:

2019176022 - AGUILAR MORON MARYELI YUBIRY

Titulado:

**POTENCIAL DE LOS HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES COMO BIOFERTILIZANTES EN
EL CULTIVO DE CACAO (THEOBROMA CACAO L.), SAN MARTIN- PERÚ 2025**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Título Profesional/Título de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

INGENIERO AMBIENTAL

**46769238 - CHANOVE MANRIQUE ANDREA MARIETA
DICTAMINADOR**



**43238145 - BENEGAS LLANOS ROSARIO CAROLINA
DICTAMINADOR**



**43606549 - CARDENAS PILLCO BERLY EDINSSON
DICTAMINADOR**



Potencial de los hongos micorrícicos arbusculares como biofertilizantes en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.), San Martín- Perú 2025

INFORME DE ORIGINALIDAD

2%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

www.somas.org.mx

Fuente de Internet

1%

2

helvia.uco.es

Fuente de Internet

1%

3

hdl.handle.net

Fuente de Internet

1%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Apagado

DEDICATORIA

Este trabajo fue financiado por el Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados, PROCIENCIA - CONCYTEC en el marco de la convocatoria Proyectos de Investigación Aplicada 2024-01 [Contrato N° PE501086326-2024 PROCIENCIA].

Dedico este trabajo de investigación a Dios, por darme la fortaleza para continuar incluso en los momentos más difíciles, por abrirme la oportunidad de realizarlo este proyecto en otra ciudad y por acompañarme siempre.

A mi padre, Arlington, por su confianza, amor incondicional y constante apoyo, por creer siempre en mí y acompañar con alegría incluso mis locuras.

A mi madre, Guizela, por inculcarme valores que me han permitido luchar por mis sueños y por alentarme en los momentos más desafiantes de mi vida.

A mi hermana, Brigitte, quien con sus consejos me guía y motiva a seguir adelante con mis metas personales y profesionales.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a mi padre, por su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida y por la confianza depositada en mí durante toda mi formación universitaria.

De manera especial, expreso mi sincero agradecimiento al Dr. Armando Arenazas, cuyo valioso acompañamiento y guía fueron fundamentales para la culminación de esta investigación. A pesar de la distancia, siempre me brindó su apoyo y aliento constantes.

Asimismo, manifiesto mi profunda gratitud al Dr. Mike Corazón, por darme la oportunidad de ampliar mis conocimientos, compartir conmigo nuevas perspectivas, abrirme las puertas de su laboratorio y permitirme desarrollar esta investigación, además de integrarme activamente en el proyecto.

Extiendo también mi agradecimiento al Ing. Berly, a la Ing. Andrea y a la Ing. Rosario, por el tiempo y apoyo brindados, que contribuyeron de manera significativa a la conclusión de este trabajo.

Del mismo modo, agradezco haber compartido esta etapa con personas maravillosas en el Laboratorio de Biología y Genética Molecular - UNSM, quienes me brindaron su ayuda y compañía; en especial a Grecia, Nelly y Alexandra, por su colaboración y amistad.

Finalmente, deseo expresar un agradecimiento muy especial a Santiago C., por acompañarme en esta etapa del proyecto con comprensión y paciencia. Gracias por motivarme en los momentos de cansancio, escucharme siempre y ser una fuente constante de inspiración para seguir creciendo personal y profesionalmente.

RESUMEN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) constituye un cultivo de gran relevancia económica y social tanto en el Perú como a nivel mundial. Sin embargo, su productividad se ve limitada por la dependencia del uso intensivo de fertilizantes químicos. En este contexto, los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) representan una alternativa sostenible, al favorecer la absorción de nutrientes, estimular el crecimiento vegetal y mejorar la estructura del suelo.

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el potencial biofertilizante de siete inóculos de HMA (cinco especies puras y dos consorcios) aplicados en plántulas de cacao bajo condiciones de vivero. Los tratamientos fueron codificados del M1 al M7 y se analizaron sus efectos sobre parámetros morfológicos, fisiológicos, nutricionales (NPK) y edáficos (glomalina y micelio extrarradical), con énfasis en la simbiosis establecida entre hongo y planta. Para ello, se empleó un diseño completamente al azar, y la inoculación se determinó mediante la técnica del Número Más Probable (NMP).

Los resultados mostraron que los tratamientos M2 (*Diversispora* sp., *Rhizoglyphus intraradices*, *Nanoglyphus plukenetiae*, *Glomus microcarpum*), M3 (*Rhizoglyphus variabile*) y M5 (*Acaulospora* sp., *Paraglyphus occultum*, *Nanoglyphus* sp.) promovieron significativamente el crecimiento en altura, la biomasa aérea y el área foliar. En particular, M3 alcanzó los mayores valores de clorofila (46 SPAD) y de concentración foliar de NPK (170.94 mg/kg de N; 5.96 mg/kg de P; 94.62 mg/kg de K). En cuanto a la dinámica del suelo, M2 y M3 registraron las concentraciones más elevadas de glomalina (2.75 mg/g) y de longitud de micelio extrarradical (14 y 12 m/g, respectivamente). Además, el análisis de NMP reveló que M6 presentó la mayor densidad de propágulos infectivos (1600 NMP/mL).

En conclusión, la inoculación con *Rhizoglofus variable* (M3) estableció una simbiosis más efectiva, lo que favoreció el desarrollo morfológico, fisiológico y nutricional de las plántulas de cacao, además de incrementar la producción de glomalina y micelio extrarradical, consolidándose como un inóculo con alto potencial biofertilizante.

Palabras claves: Hongos micorrícicos arbusculares, cacao, biofertilizante.



ABSTRACT

Cocoa (*Theobroma cacao* L.) is a crop of great economic and social importance both in Peru and worldwide. However, its productivity is constrained by the intensive use of chemical fertilizers. In this context, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) represent a sustainable alternative, enhancing nutrient uptake, stimulating plant growth, and improving soil structure.

This study aimed to evaluate the biofertilization potential of seven AMF inocula—five pure species and two consortia—applied to cocoa seedlings under nursery conditions. Treatments were coded from M1 to M7, and their effects were analyzed on morphological, physiological, nutritional (NPK), and edaphic (glomalin and extraradical mycelium) parameters, with special emphasis on the symbiotic interaction between fungus and plant. A completely randomized design was employed, and inoculation was determined using the Most Probable Number (MPN) method.

The results showed that treatments M2 (*Diversispora* sp., *Rhizoglyphus intraradices*, *Nanoglyphus plukenetiae*, *Glomus microcarpum*), M3 (*Rhizoglyphus variabile*), and M5 (*Acaulospora* sp., *Paraglyphus occultum*, *Nanoglyphus* sp.) significantly promoted height growth, aerial biomass, and leaf area. In particular, M3 recorded the highest values of chlorophyll (46 SPAD) and foliar NPK concentrations (170.94 mg/kg N; 5.96 mg/kg P; 94.62 mg/kg K). Regarding soil dynamics, M2 and M3 exhibited the highest glomalin concentrations (2.75 mg/g) and extraradical mycelium length (14 and 12 m/g, respectively). Moreover, the MPN analysis revealed that M6 presented the highest density of infective propagules (1600 MPN/mL).

In conclusion, inoculation with *Rhizoglyphus variabile* (M3) established the most effective symbiosis, enhancing morphological, physiological, and nutritional

development of cocoa seedlings, while also increasing glomalin production and extraradical mycelium, thus consolidating its potential as a highly effective biofertilizer.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi, cocoa, biofertilizer.



ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I	3
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.1 Problemática de la investigación	4
1.2 Justificación	7
1.2.1 Ambiental.....	7
1.2.2 Económica.....	8
1.2.3 Social.....	9
1.2.4 Técnico- Científica.....	10
1.3 Objetivos	12
1.3.1 Objetivo General	12
1.3.2 Objetivos Específicos.....	12
1.4 Hipótesis	12
CAPITULO II	15
2. FUNDAMENTO TEÓRICO	16
2.1 Antecedentes de la investigación	16
2.2 Marco teórico	22
2.2.1 El Cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	22
2.2.2 Generalidades del cultivo de cacao	22
2.2.3 Distribución.....	23
2.2.4 Hongos micorrícicos arbusculares	24
2.2.5 Hongos micorrícicos y cacao	28

2.2.6 Fertilizantes	29
2.2.7 Biofertilizantes	29
2.2.8 Suelo.....	30
2.2. Relación de HMA con el suelo	32
2.3 Marco legal.....	34
CAPITULO III	35
3. METODOLOGÍA.....	36
3.1 Tipo de investigación.....	36
3.2 Nivel de investigación.....	36
3.3 Diseño de la investigación	36
3.4 Métodos de la investigación	37
3.4.1 Área de estudio	37
3.5 Materiales y equipos.....	38
3.5.1. Materiales	38
3.5.2 Materiales de campo	38
3.5.3. Materiales del laboratorio	38
3.5.4 Equipos.....	39
3.5.5 Insumos y Reactivos.....	39
3.5.6 Software	40
3.6. Técnicas observacionales	40
3.7 Métodos de la investigación	41
3.7.1 Determinar los propágulos infectivos de los inóculos de hongo micorrízico arbusculares	41
3.7.2 Evaluar el desarrollo morfológico, fisiológico y enzimático de las plántulas de cacao.	46
3.7.3 Evaluar la absorción de nutrientes (N, P, K) en las hojas de la plántula de cacao.	54
3.7.4 Determinar la colonización de hongos micorrízicos en plántulas de cacao ...	54

3.7.5 Evaluación de micelio Extraradical (MER) y glomalina producidas por inóculos de micorrizas en plántulas de cacao	56
CAPITULO IV.....	59
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	60
4.1 Determinación de los propágulos infectivos de los inóculos de hongo micorrízico arbusculares	60
4.1.1 Evaluación del Número Mas probable	60
4.1.2 Evaluación del desarrollo morfológico, fisiológico y enzimático de las plántulas de cacao.	61
4.1.3. Evaluar la absorción de nutrientes (N, P, K) en las hojas de la plántula de cacao.	73
4.1.4. Determinación de la colonización de hongos micorrízicos en plántulas de cacao	77
4.1.5 Evaluación de micelio extraradical (MER) y glomalina producidas por inóculos de micorrizas en plántulas de cacao	79
CAPITULO V	85
5. CONCLUSIÓN.....	86
6. RECOMENDACIONES.....	87
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
ANEXOS.....	98

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables e indicadores de la investigación.....	13
Tabla 2. Clasificación de los hongos micorrícicos arbusculares	25
Tabla 3. Normativa correspondiente a la investigación.....	34
Tabla 4. Composición de Inoculos Micorrícicos.....	41
Tabla 5. Ubicación geográfica de la zona de recolección de suelo	46
Tabla 6. Ubicación política de la zona de recolección de suelo	47
Tabla 7. Resultados del Número Mas Probable (NMP/ml).....	60
Tabla 8. Biomasa fresca y seca (g) en las plántulas de cacao.....	68
Tabla 9. Contenido foliar de macronutrientes (N, P, K) en plántulas de cacao.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diluciones de la metodología Número Mas Probable	43
Figura 2. Procedimiento experimental para determinar el Número Más Probable (NMP) de las diluciones	44
Figura 3. Evaluación del sorgo (<i>Sorghum spp.</i>) para hallar el NMP.....	45
Figura 4. Germinación de semillas de cacao CCN-51	48
Figura 5. Inoculación con hongos micorrícicos arbusculares	49
Figura 6. Evaluaciones morfológicas de las plántulas de cacao.....	50
Figura 7. Determinación del peso de biomasa.....	51
Figura 8. Evaluación y observación enzimática	53
Figura 9. Tinción y evaluación microscópica de raíces de cacao.....	55
Figura 10. Altura de la plántula de cacao (cm) posterior al tratamiento	63
Figura 11. Diámetro de las plántulas de cacao (mm) posterior al tratamiento.....	64
Figura 12. Número de hojas en plántulas de cacao posterior al tratamiento	66
Figura 13. Área Foliar (cm ²) en plántulas de cacao.....	69
Figura 14. Contenido de clorofila en las hojas de la plántula de cacao.....	71
Figura 15. Contenido de peróxido de hidrogeno en hojas.....	72
Figura 16. Porcentaje de colonización en raíces de las plántulas de cacao	78
Figura 17. Contenido de glomalina fácilmente extraíble (mg/g) en el sustrato de las plántulas de cacao	79
Figura 18. Longitud de micelio Extrarradical (m/g) en sustrato de plántulas de cacao	81

INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) constituye uno de los cultivos más relevantes a nivel global, tanto por su significativo valor en el mercado económico como por su crucial papel social, al sustentar el sustento de miles de agricultores en zonas tropicales (ICCO, 2025).

En el Perú, la región de San Martín se posiciona como la principal zona productora de cacao, además de ostentar el liderazgo en volúmenes de exportación. Sin embargo, el manejo agrícola convencional de este cultivo se caracteriza por su alto potencial en la degradación del suelo debido a la utilización excesiva de fertilizantes químicos, tales como la urea y nitrato de amonio, los cuales afectan directamente a la estructura del suelo representando un riesgo para la sostenibilidad del cultivo y consecuentemente la rentabilidad económica a largo plazo (Li et al., 2020).

Como medida preventiva de dicha dificultad, hoy en día se apuesta por las prácticas agrícolas sostenibles alineadas con el cumplimiento de metas delimitadas en los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) descritas en la Agenda 2030 (CEPAL, 2018). De esta forma, la agricultura sostenible propone usar alternativas que reduzcan la dependencia de insumos químicos y que fortalezcan la resiliencia de los agroecosistemas. En este contexto, la investigación de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) asociados al cultivo de cacao representa una contribución sustancial tanto para el ámbito científico como para el económico, al ofrecer una estrategia dual para incrementar la productividad agrícola y simultáneamente promover la conservación de los recursos naturales.

Por tanto, los hongos micorrícicos arbusculares ofrecen una alternativa sostenible para el cultivo del cacao, ya que estos microorganismos establecen una simbiosis mutualista con las raíces de las plantas optimizando la absorción de nutrientes esenciales (Aggangan et al., 2019). Asimismo, esta interacción incrementa la resistencia frente a condiciones de estrés ambiental mediante la contribución a la estabilidad de agregados del suelo mediante la producción de glomalina, glicoproteína clave para la conservación de la estructura edáfica, mejorando así las condiciones favorables del suelo (Van Kooni, 2006).

La presente investigación tiene como objetivo evaluar el potencial biofertilizante de los hongos micorrícicos arbusculares en el cultivo de cacao en San Martín, Perú al año 2025, analizando su efecto en el desarrollo morfológico, fisiológico, enzimático, contenido de nutrientes, nitrógeno, fósforo y potasio en las hojas del cultivo. Además, se evaluó la producción de glomalina y micelio extraradical resultante de los hongos micorrícicos arbusculares.



CAPITULO I

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Problemática de la investigación

A nivel mundial, el cacao (*Theobroma cacao* L.) representa una actividad agrícola de alta relevancia tanto para el factor económico como social al constituir una fuente fundamental de ingresos para miles de pequeños y medianos productores. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), se proyecta que para el año 2025 la producción mundial de cacao experimentará un incremento del 7,8 %, alcanzando aproximadamente 4,84 millones de toneladas (ICCO, 2025). No obstante, esta alza de productividad se enfrenta a desafíos entre los que destaca la disminución progresiva de la fertilidad del suelo, atribuida principalmente al uso intensivo de fertilizantes químicos. Dicha problemática compromete la sostenibilidad de los sistemas de producción agrícola y evidencia la urgencia de implementar prácticas agroecológicas que promuevan un manejo más sostenible de los recursos naturales (Daymond et al., 2022).

En América Latina, la economía registró un crecimiento estimado del 2 %; sin embargo, este se encuentra condicionado principalmente por factores climáticos, en particular por el Fenómeno del Niño (ENSO), que ha impactado de manera negativa en la producción agrícola (CEPAL, 2024). Dichos eventos climáticos provocaron un incremento de la temperatura y una intensificación de las precipitaciones, afectando directamente a los sistemas de producción agrícola (Huamán & Sánchez, 2023) . En el sector cacaotero, las condiciones extremas derivadas del ENSO ocasionaron una reducción en los niveles de producción, con una caída del 18.5% en Brasil y del 5.3% en Perú. No obstante, a pesar de estos desafíos, los países latinoamericanos han demostrado resiliencia y continúan identificando oportunidades de crecimiento en el mercado del cacao (MIDAGRI, 2024; Rodríguez, 2024).

La región de San Martín se ha consolidado como la principal zona productora de cacao en el Perú, ocupando el primer lugar a nivel nacional y aportando el 1,3 % de la producción total del país (MINCETUR, 2024). Sin embargo, el manejo agrícola convencional, caracterizado por el uso intensivo de fertilizantes químicos, ha generado efectos negativos tanto en la salud del suelo como en la productividad de los cultivos. En particular, los fertilizantes nitrogenados, como la urea y el nitrato de amonio, contribuyen sustancialmente a la acidificación del suelo disminuyendo el pH, alterando la comunidad microbiana edáfica y modificando sus propiedades físicoquímicas (Li et al., 2020). Cabe señalar que los suelos con menos de cinco años de actividad agrícola suelen presentar niveles más elevados de materia orgánica y de nutrientes esenciales, como calcio y magnesio, lo que favorece su fertilidad natural y capacidad productiva.

No obstante, la adopción de prácticas agrícolas convencionales, caracterizadas por la aplicación continua de fertilizantes sintéticos y la ausencia de un manejo sostenible, conduce a una degradación progresiva de la calidad del suelo. Esta degradación se manifiesta en la reducción de la materia orgánica, la acidificación del pH y la pérdida de biodiversidad microbiana; siendo esta última un componente esencial para el mantenimiento de un agroecosistema funcional y resiliente (Armas Vega, 2024). Tales efectos adversos son especialmente evidentes en los cultivos de cacao, donde la pérdida de fertilidad del suelo repercute de manera directa en la productividad y en la sostenibilidad de los sistemas agrícolas.

Las prácticas agroecológicas constituyen una alternativa sostenible fundamental para la conservación del suelo, al reducir la dependencia de insumos químicos sintéticos y favorecer el desarrollo de sistemas agrícolas más resilientes. Dentro de este enfoque destacan estrategias como la biofertilización, el manejo

integrado de plagas (MIP) y la agroforestería, que contribuyen a minimizar los impactos ambientales, restaurar la estructura del suelo y fortalecer la salud de los cultivos (Guerrero, 2019). Sin embargo, la implementación de estas prácticas enfrenta múltiples desafíos, entre ellos la desigualdad económica, la ausencia de políticas públicas eficaces y la resistencia al cambio por parte de productores que mantienen modelos agrícolas convencionales. A estas limitaciones se suman factores estructurales como la insuficiente disponibilidad de información técnica, la falta de programas de capacitación y el acceso restringido a financiamiento, lo que dificulta la adopción de tecnologías sostenibles en comunidades cacaoteras (El Comercio, 2022).

Dado este panorama, surge una necesidad concreta para investigar más el potencial de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), ya que ofrecen una alternativa sostenible para reducir el uso de fertilizantes químicos mejorando el crecimiento de las plantas, optimizando la absorción de nutrientes esenciales y disminuyendo así la dependencia de insumos sintéticos (Aggangan et al., 2019). Por otro lado, son considerados biofertilizantes naturales, lo que promueve a la protección de la planta frente a patógenos mediante una relación simbiótica mutualista mediante la colonización de las raíces (Berruti et al., 2016).

1.2 Justificación

1.2.1 Ambiental

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un árbol agroforestal que aporta diversos servicios ecosistémicos, entre ellos el almacenamiento de carbono en la biomasa y el reciclaje de nutrientes a través de la hojarasca. Se ha reportado que esta deposita periódicamente entre 4 y 6 mg ha⁻¹ al año, lo que contribuye a generar una reserva de carbono de hasta 8 mg C (Leiva-Rojas & Ramírez-Pisco, 2021). Asimismo, la comunidad microbiana asociada a la rizosfera del cacao desempeña un papel fundamental en las interacciones microbianas del suelo, favoreciendo procesos de aprovisionamiento y regulación esenciales para la sostenibilidad del agroecosistema (Schmidt et al., 2022).

Actualmente, un gran porcentaje de los productores de cacao en San Martín recurren al uso intensivo de fertilizantes químicos, lo que ha provocado la pérdida de nutrientes en el suelo y ha generado impactos negativos en el medio ambiente (Lessmann et al., 2024). Por lo expuesto, se buscan activamente nuevas alternativas sostenibles y amigables con el entorno, entre las cuales destaca el uso de hongos micorrícicos arbusculares (HMA); los cuales, de acuerdo con la literatura científica (Wang et al., 2017), favorecen el crecimiento vegetal mediante su actividad simbiótica, la cual promueve un modelo de agricultura sostenible al reducir la dependencia de fertilizantes químicos y pesticidas, mejorando simultáneamente el rendimiento de los cultivos de cacao.

En este contexto, la aplicación de hongos micorrícicos arbusculares se plantea como una estrategia sostenible para reducir el uso de fertilizantes químicos, en concordancia con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). En particular, contribuye al ODS 12 “Producción y consumo responsables”, al promover sistemas

agrícolas con menor impacto ambiental mediante una gestión más eficiente de los nutrientes del suelo; así como al ODS 13 “Acción por el clima”, al fortalecer prácticas que favorecen la resiliencia y la sostenibilidad en ecosistemas como los bosques de la Amazonía peruana, reconocidos como importantes reservorios de carbono (Naciones Unidas, 2018).

De acuerdo con el Decreto Supremo N° 017-2022-MIDAGRI, el cultivo de cacao es considerado de alta prioridad debido a su creciente demanda tanto a nivel nacional como internacional. En este marco, se fomenta su desarrollo en sistemas agroforestales dentro de paisajes productivos sostenibles, contribuyendo significativamente a la mitigación del cambio climático (MIDAGRI, 2022).

Esta investigación tiene como propósito evaluar el potencial de biofertilizante de los hongos micorrícicos arbusculares en el cultivo de cacao y ver el efecto sobre la estructura del suelo, ya que es clave en la sostenibilidad de los agroecosistemas. Por lo que este estudio busca contribuir prácticas agrícolas más sostenibles, mejorando la productividad de cacao y fomentar el uso racional de los recursos naturales, con los principios de la agroecología y conservación de suelo.

1.2.2 Económica

De acuerdo con los registros del Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI), la agricultura familiar en el Perú reúne aproximadamente 120 mil productores distribuidos en 16 regiones. En el sector cacaotero, se promueve la implementación de prácticas ambientales sostenibles con el propósito de mejorar la competitividad y garantizar la permanencia de esta actividad en los mercados internacionales. Solo en 2023, este sector generó ingresos por 429 millones de dólares, exportando cacao a más de 20 países. Una de las estrategias más relevantes para fortalecer la sostenibilidad y rentabilidad del cultivo de cacao es la incorporación de HMA. Estos

establecen una relación simbiótica con las raíces de la planta, mejorando significativamente la absorción de nutrientes esenciales, como fósforo, nitrógeno y micronutrientes. Este mecanismo contribuye directamente al incremento de la productividad y a la reducción en la dependencia de fertilizantes químicos sintéticos, lo que a su vez disminuye los costos de producción asociados a estos insumos (Díaz Franco et al., 2014).

En este marco, el Estado peruano en coordinación con el Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado (SERNANP), viene diseñando estrategias orientadas a fomentar una gestión participativa y efectiva del cultivo de cacao en la región de San Martín. Estas iniciativas no solo buscan potenciar la actividad económica, sino también mejorar la calidad de vida de los productores, fortaleciendo la agricultura legal y sostenible en comunidades vinculadas a este cultivo (MINAM & SERNANP, 2023).

1.2.3 Social

Los productores de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el Perú enfrentan limitaciones derivadas de un conocimiento insuficiente sobre técnicas de cultivo adecuadas, lo que repercute en la sostenibilidad y en la calidad de la producción; por lo que la incorporación de hongos micorrízicos arbusculares representa una alternativa estratégica para promover prácticas agrícolas sostenibles y mejorar la calidad de vida de los productores que dependen de esta actividad económica. Asimismo, la escasa capacitación en técnicas de control biológico constituye un obstáculo adicional, ya que muchos productores recurren al uso indiscriminado de fertilizantes químicos sin comprender plenamente sus impactos ecológicos. Esta situación no solo genera daños en los ecosistemas, sino que también conlleva a la pérdida de interés en la actividad productiva debido a los efectos negativos asociados (Fernández & PNUD, 2022).

Los productores de cacao deberían evitar las prácticas que involucren la inclusión de monocultivos, debido a que, al ser sistemas caracterizados por una baja diversidad de especies, estos limitan la resiliencia de los sistemas agrícolas. Por el contrario, los sistemas de cultivo rústicos o agroforestales pueden albergar una mayor biodiversidad, lo que promueve el establecimiento de ecosistemas más equilibrados y sostenibles (Andres et al., 2016). En este sentido, la capacitación de los cacaoteros resulta fundamental para avanzar hacia el cumplimiento de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). En particular, el ODS 2 “Hambre cero” enfocando en el punto 2.3 resalta la necesidad de que los productores a pequeña escala, incluidos los pueblos indígenas y agricultores familiares, incrementen significativamente su productividad a través del acceso a conocimiento y oportunidades adecuadas. De manera complementaria, el ODS 2.4 enfatiza la importancia de alcanzar una producción agrícola sostenible y resiliente, que permita aumentar la productividad al mismo tiempo que se conservan los ecosistemas y se fortalece la capacidad de adaptación frente al cambio climático (Naciones Unidas, 2018).

1.2.4 Técnico- Científica

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una especie botánica de gran relevancia, con una amplia historia de domesticación y adaptación a distintos climas, lo que ha dado lugar a diversas variedades y ecotipos. En la actualidad, su mayor concentración de cultivo se encuentra en la Amazonía peruana (Richardson et al., 2015). Si bien la demanda de cacao continúa en aumento, muchos productores recurren al uso intensivo de fertilizantes químicos como estrategia para incrementar la productividad. No obstante, el empleo excesivo de estos insumos genera efectos adversos tanto en la fertilidad del suelo como en el clima global, comprometiendo los rendimientos agrícolas a largo plazo (Asante et al., 2021). Asimismo, el uso indiscriminado de fertilizantes y las prácticas de manejo

convencionales en el cultivo de cacao han contribuido al incremento de las emisiones de gases de efecto invernadero, intensificando la huella de carbono asociada a esta actividad (Anokye et al., 2024).

En esta investigación se plantea el uso de hongos micorrícicos arbusculares como potenciales biofertilizantes en el cultivo de cacao. Estos microorganismos establecen relaciones simbióticas con aproximadamente el 70 % al 90 % de las plantas terrestres, favoreciendo la absorción de agua y nutrientes esenciales, como nitrógeno (N) y potasio (K) (Smith & Read, 2008). Asimismo, actúan como biofertilizantes al contribuir a la fijación de nitrógeno, la solubilización de fósforo, la producción de fitohormonas y la generación de resistencia frente a diversas enfermedades (Chauhan et al., 2015). De este modo, la integración de hongos micorrícicos arbusculares en combinación con fertilizantes en dosis controladas permite mejorar la calidad del suelo, promover un enfoque agrícola más sostenible y conservar la biodiversidad local. Este equilibrio, además, fortalece el conocimiento de los productores y abre oportunidades para el desarrollo de futuras investigaciones en la materia.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Evaluar el potencial biofertilizante de hongos micorrícicos arbusculares en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.), San Martín – Perú

1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar los propágulos infectivos de los inóculos de hongo micorrícicos arbusculares.
- Evaluar el desarrollo morfológico, fisiológico y enzimático de las plántulas de cacao.
- Evaluar la absorción de nutrientes (N, P, K) en las hojas de la plántula de cacao.
- Determinar la colonización de hongos micorrícicos en plántulas de cacao
- Evaluar el desarrollo del micelio extrarradical (MER) y glomalina producidos por inóculos de micorrizas en plántulas de cacao

1.4 Hipótesis

Dado que los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) actúan como biofertilizantes mediante su interacción simbiótica, se espera que su inoculación en cultivos de cacao (*Theobroma cacao* L.) resultará en un alto potencial para el rendimiento del cultivo.

Tabla.1

Variables e indicadores de la investigación.

Contextualización	Dimensiones (variables)	Indicadores	Instrumento de medida	Unidad de medida
Variable Independiente	Inoculación con HMA	Tipo de HMA	Consortios y cultivos puros	Número de esporas
		Dosis del inóculo	Metodología del NMP	Número de propágulos infectivos /g de suelo
Variable dependiente	Evaluación morfológica	Altura de cacao	Cinta métrica	cm
		Diámetro de tallo	Vernier	mm
		Número de hojas	Manual	Número
	Evaluación fisiológica de las hojas	Peso seco de la zona radicular	Balanza de presión	g
		Peso fresco de la zona aérea	Balanza de presión	g
	Evaluación enzimática de plantas de cacao	Contenido de Clorofila	Medidor de clorofila SPAD	Índice de SPAD
			Área foliar	Programa FIJI
		Tipo de enzima	Diaminobenzina (DAB)	%H ₂ O ₂

Evaluación de nutrientes en las hojas	Análisis foliar (NPK)	Metodología por el Instituto de Cultivo Tropicales	mg/kg
	Glomalina	Espectrofotometría UV -visible	mg / g de suelo
Evaluación de micelio Extrarradical y glomalina	Longitud del micelio fúngico extraradical	Retícula cuadrículada en el estereoscopio	cm/g suelo
Colonización de hongos micorrícicos	Porcentaje de raíces colonizadas	Microscopio a 200x	% de colonización



2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

Según la investigación de Hnini et al. (2024a), titulada “Morfo diversidad y abundancia de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en suelos rizosféricos de dos plantas endémicas del sur de Marruecos”, se analizó la interacción entre los HMA, las plantas hospedantes y el suelo, destacando su influencia en el crecimiento vegetal. Los autores utilizaron especies endémicas en combinación con una planta trampa, el maíz (*Zea mays*), con el propósito de evaluar la asociación micorrícica en ecosistemas áridos y caracterizar las estructuras endomicorrícicas presentes. Los resultados evidenciaron la existencia de diversas familias de HMA, siendo el género *Glomus*, perteneciente a las familias *Gigasporaceae* y *Glomeraceae*, el más representativo. A partir de estos hallazgos, se concluyó que los hongos micorrízicos arbusculares desempeñan un papel fundamental en el desarrollo morfológico de las plantas, al mejorar su resiliencia y optimizar la adquisición de recursos.

Según la investigación de Firdu & Dida (2024) titulada “Extracción, identificación y producción masiva de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) de suelos rizosfera de haba (*Vicia faba L.*) utilizando maíz (*Zea mays L.*) como planta hospedante” tuvo como objetivo principal; extraer, identificar y producir masivamente los hongos micorrízicos arbusculares de suelos rizosfera de haba utilizando maíz como planta hospedante. Como muestra de estudio usaron dieciséis suelos rizosféricos de cultivo de habas, aislaron e identificaron los hongos micorrízicos arbusculares. La metodología utilizada para extraer las esporas fue el tamizado y decantación. Para la evaluación desarrollaron tres tratamientos para la multiplicación masiva donde encontraron que no hubo diferencias

significativas entre una y otra. Los géneros identificados fueron *Glomus*, *Acaulospora* y *Gigaspora*.

En la investigación de Dorado et al. (2024) que fue realizado en Ecuador evaluó el efecto de diferentes complejos micorrícicos arbusculares (Ecofungi, Micobacter, Glumix, Ancupa y Faciag) en plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) bajo un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones. Se aplicaron dosis de 3 g de inóculo por planta y se midieron variables de crecimiento, colonización y esporulación. Los resultados mostraron que la cepa Ecofungi promovió los mayores incrementos en altura, diámetro de tallo, área foliar y biomasa radical, además de registrar la mayor población de esporas de *Glomus* spp. (1324/g de suelo seco), mientras que Faciag destacó por la mayor longitud radicular (15,4 cm) y Ancupa en la longitud de hojas. En términos de colonización, Ecofungi y Faciag alcanzaron los valores más altos (54 % y 49 %, respectivamente). El estudio concluyó que la aplicación de HMA influye significativamente en el crecimiento y desarrollo de plántulas de cacao, consolidándose como una alternativa biotecnológica eficaz para fortalecer la fase inicial del cultivo y contribuir a sistemas agrícolas más sostenibles.

A nivel nacional, estudios similares realizados en la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas realizado por Llanos Gómez et al. (2023) titulado “Identificación morfológica de hongos micorrícicos arbusculares en plantaciones de cacao en la región Amazonas, Perú” donde desarrollaron como objetivo identificar morfológicamente hongos micorrícicos arbusculares en plantaciones de cacao en la región Amazonas. Para la metodología trabajaron con cuarenta y cuatro muestras de suelo rizosféricos oriundas de dos provincias principales de producción de cacao del Perú. En esta investigación aislaron cincuenta y siete morfotipos de esporas de hongos micorrícicos arbusculares según tamaño, color y forma que presentaban. Del género que identificaron

fueron *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Funneliformis*, *Scutellospora*, *Rhizophagus*, *Diversispora*, *Sclerocystis* y *Rhizoglosum*. *Glomus* y *Acaulospora*.

Según en el estudio de Kwashie et al. (2023) titulado “El efecto sinérgico de los hongos micorrízicos arbusculares y el fertilizante de potasio mejora las características relacionadas con la biomasa de las plántulas de cacao para aumentar su resiliencia a la sequía y su supervivencia en el campo” donde evaluó la sinergia de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y la aplicación de fertilizantes potásicos con el fin de ver el crecimiento, biomasa de las plántulas de cacao bajo condiciones de estrés hídrico. Se utilizó el *Rhizophagus irregularis* el cual fue aislado de la rizosfera del árbol de cacao y prolongado mediante cultivo trampa. Los resultados obtenidos fueron la diferencia significativa en el desarrollo morfológico y acumulación de biomasa aérea y radicular en vivero, en comparación con los tratamientos sin HMA o con potasio aplicado de manera individual. El estudio concluye que la integración de HMA con fertilización potásica representa una estrategia eficaz y sostenible para aumentar la tolerancia del cacao al déficit hídrico y que ayuda al desarrollo morfológico.

En la investigación de Pérez-Díaz et al. (2023) titulada “Indicadores de calidad para posturas micro injertadas de *Theobroma cacao* inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares” evaluaron las respuestas morfológicas y fisiológicas frente a la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares trabajando con (*Glomus cubense* y *Rhizoglosum irregularis*) en la región de las amazonas peruano. El objetivo del estudio fue determinar si el consorcio micorrízico influía en el desarrollo del cacao. La metodología consistió en un ensayo en vivero, donde las plántulas fueron inoculadas con esporas colectadas y propagadas previamente, evaluándose variables como altura, número de hojas, diámetro del tallo y biomasa seca aérea y radicular. Los resultados fueron favorables las plantas inoculadas teniendo un desarrollo morfológico satisfactorio obteniendo un 39% de

incremento significativo en la masa seca, el área foliar un 20% gracias al incremento de la inoculación del N, P y K. En conclusión, es que las plántulas de cacao tuvieron un gran éxito en su desarrollo morfológico debido a la inoculación de HMA ya la masa seca total, área foliar se mostró en la influencia en el crecimiento de las plántulas teniendo una buena simbiosis.

Según el estudio de Vallejos-Torres et al. (2021) titulado “Una alta diversidad de hongos micorrícicos arbusculares influye en la absorción de Cadmio y crecimiento vegetativo del cacao” tuvo como objetivo evaluar el efecto de la diversidad de los hongos micorrícicos provenientes de las amazonas. El cual se inocularon semillas germinadas con especies de HMA con sustrato contaminado de cadmio. Asimismo, realizaron evaluaciones como altura de planta, área foliar, colonización y micelio de HMA. Obteniendo un resultado significativo ya que hubo una reducción de cadmio en el suelo y tallos por lo que se considera un potencial de los hongos micorrícicos relacionado al crecimiento en plantas de cacao.

En la investigación de Fernandes, Oliveira, Silva, Junior, Fontes, Fernandes, et al. (2021) evaluó la capacidad de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) nativos para promover el crecimiento de *Plukenetia volubilis* y reducir la infección por *Meloidogyne incógnita*. La investigación se desarrolló bajo condiciones controladas en invernadero, utilizando plántulas inoculadas con consorcios de HMA nativos y sometidas posteriormente a infestación con el nematodo. Los resultados demostraron que la inoculación con HMA no solo incrementó significativamente el crecimiento y biomasa de las plantas, sino que también disminuyó los niveles de infección por el parásito en comparación con los controles. Estos hallazgos permitieron concluir que los HMA nativos representan una herramienta biotecnológica prometedora tanto para el manejo

sostenible de cultivos como para la reducción de daños ocasionados por patógenos en ecosistemas agrícolas.

En la Universidad Nacional de San Martín se realizó un estudio de Acosta et al. (2021) recolectaron muestras de suelo en diversas zonas de la región San Martín, incluyendo Palmiche (Lamas), Bello Horizonte (San Martín), Dos de Mayo y Barranca. De estas localidades, Dos de Mayo y Barranca destacaron por presentar la mayor abundancia de esporas y una notable diversidad de especies de hongos micorrícicos, además de una colonización más eficiente en las raíces. Estas características favorecieron significativamente el desarrollo del cultivo evaluado en campo, arrojando resultados prometedores. En estas localidades, se cuantificó un alto número de esporas en 10 g de suelo, con valores de 211 y 204 esporas de diferentes tipos. Este hallazgo sugiere que la riqueza y diversidad de los hongos micorrícicos arbusculares están influenciadas por factores como las condiciones ambientales, las prácticas de manejo agronómico y el clima.

Otro estudio nacional realizado por Flores et al. (2019) en la región de San Martín sobre los efectos de los hongos micorrícicos arbusculares en la planta de café (*Coffea arabica* L.). En este estudio evaluaron cuatro tratamientos utilizando inóculos de hongos micorrícicos arbusculares como *Rhizoglyphus intraradices*, *Glomus* sp. y una combinación de *R. intraradices* + *Glomus* sp. Se analizaron variables morfológicas y fúngicas, obteniendo resultados significativos. Las plántulas de café tratadas con los inóculos, incremento la altura a un (128%), diámetro del tallo (91,28%), área foliar (417,04%), clorofila (126,3%), biomasa seca y biomasa aérea comparando con las plantas no inoculadas. En cuanto a la colonización micorrícica, los valores oscilaron entre 85,41% y 88,61%, siendo *Rhizoglyphus intraradices* el inóculo más efectivo, logrando un impacto positivo en el crecimiento de las plantas.

Según el estudio de Douds et al. (2016) inoculo con hongos micorrícicos en maíz dulce (*Zea mays*. L.), utilizando las siguientes especies (*Rhizophagus intraradices*, *Funneliformis mosseae*, *Claroideoglossum claroideum*, y *Glomus* spp.). Donde evaluó de las unidades formadoras fue por el Número más Probable del inoculo obteniendo 183 NMP/mL, 400 NMP/mL y 717 NMP/mL esto hizo que en el invernadero aumente significativamente la colonización micorrícica logrando entre 2 a 5 veces la longitud de su raíz colonizadas en comparación a sustratos que no fueron inoculados. En conclusión, la preincubación del sustrato inoculado durante una semana a temperatura de invernadero antes de la siembra es una estrategia efectiva para mejorar la colonización micorrícica inicial en plántulas de maíz dulce, incluso usando bajas dosis de inóculo.

2.2 Marco teórico

2.2.1 *El Cacao (Theobroma cacao L.)*

El cacao (*Theobroma cacao* L.), un cultivo perteneciente a la familia Malvácea, se produce principalmente en América del Sur, África y Asia. Sus granos son exportados principalmente a América del Norte y Europa para su procesamiento industrial. A nivel global, la producción de cacao sustenta los medios de vida de más de 5 millones de agricultores (Bermúdez & Voora, 2022).

➤ TAXONOMIA

Reino: Plantae

Tipo: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malvales

Familia: Sterculiaceae

Género: *Theobroma*

Especie: *cacao* L.

2.2.2 *Generalidades del cultivo de cacao*

El cacao se desarrolla en zonas tropicales que cumplan con algunos requerimientos climáticos y edafológicos tales como:

- **Temperatura:** la temperatura promedio anualmente para el buen desarrollo del cacao es de 23°C a 30°C con un rango óptimo de 25°C (MINAGRI, 2016).relativa anualmente debe estar entre un 70% a 80% (MINAGRI, 2016).
- **Precipitación:** la precipitación esta entre un rango mínimo de 1400 y 3000 mm pero su rango optimo es de 1500 a 2500 mm con una buena distribución.

Además, el déficit de agua que sean menos de 100mm puede generar un déficit hídrico afectando a la floración y brote de hojas (MINAGRI, 2016)

- **Luminosidad:** la luminosidad va a depender del ciclo productivo ya que se requiere en la etapa de crecimiento entre un (40 – 50) % durante los 4 primeros años. Asimismo, para la plantación mayor de 4 años se requiere entre un 60% a 75% (MINAGRI, 2016).
- **Suelo:** las propiedades físicas del suelo tales como la profundidad que debe establecerse entre 0.60 – 1.50 m para que desarrolle de manera adecuada las raíces. Además, tiene que ser un suelo franco, franco-arcilloso o franco-arenoso ya que si se tiene un suelo fino o muy grueso puede afectar al crecimiento de la planta debido a su aireación y filtración del agua.
- Por último, se debe tener una porosidad de suelo entre (20 – 60) % para la retención de humedad y haya un buen drenaje(MINAGRI, 2016).

2.2.2 Distribución

- Mundial

La distribución del cacao (*Theobroma cacao* L.) se cultiva principalmente en regiones tropicales tales como América del sur, África Occidental y Asia Sudoriental. Asimismo, según los registros de la Organización Internacional del cacao ha estimado que la producción anual ha incrementado 4,9 millones de toneladas, esto es debido a las condiciones climáticas que recibe el cacao para la buena producción (Dostert et al., 2011).

- Perú

El cultivo de cacao *Theobroma cacao* L. en el Perú posee casi un 60% de producción, cultivándose en 16 departamentos del país que cumple las condiciones adecuadas para el crecimiento que esta entre 0-500 msnm, además que hay departamentos que tengas las condiciones adecuadas tal como Ayacucho, Pasco y Ucayali (Dostert et al., 2011). La producción de cacao se basa en tres variedades como trinitario que crece en Junín, forastero amazónico en Cuzco y Ayacucho y el criollo da en la zona norte de la selva peruana (Huaman, 2023).

2.2.4 Hongos micorrízicos arbusculares

Los hongos micorrízicos arbusculares pertenecientes al Glomeromycota, tienen una correlación simbiótica con la planta terrestre, esto se debe por la captación de nutrientes en las plantas ayudando a tener una mejor tolerancia frente a patógenos y favorecen a la producción agrícola (Ma et al., 2024).

Estos tienen una gran diversidad a nivel morfológico y molecular de acuerdo con su funcionalidad. Asimismo, diferentes estudios se han enfocado en los hongos micorrízicos relacionado a las plantas ya que se ha demostrado una gran diversidad fisiológica en condiciones ambientales-edáficas (Herrera et al., 2023).

- Taxonomía

Se encuentran diferentes tipos de micorrizas el cual se pueden clasificar por dos grupos principales como las que forman manto fúngico y las que no forman manto fúngico como se puede observar en la Tabla 2. Además, estas especies fúngicas son establecidas como un valor nutricional para las plantas (Herrera et al., 2023).

Tabla 2.

Clasificación de los hongos micorrícicos arbusculares

Filo: Glomeromycota			
Clase	Orden	Familia	Género
Glomeromycetes		Glomeraceae	<i>Glomus</i>
			<i>Funneliformis</i>
			<i>Dominikia</i>
			<i>Funneliglomus</i>
			<i>Kamienskia</i>
			<i>Septoglomus</i>
			<i>Microdominikia</i>
			<i>Microkamienskia</i>
			<i>Nanoglomus</i>
			<i>Oehlia</i>
			<i>Orientoglomus</i>
			<i>Septoglomus</i>
			<i>Simiglomus</i>
			<i>Sclerocarpum</i>
			<i>Rhizophagus</i>
			<i>Sclerocystis</i>
		<i>Bulbospora</i>	
	Gigasporales	Scutellosporaceae	<i>Scutellospora</i>
			<i>Orbispora</i>

	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>
		<i>Dentiscutata</i>
	Dentiscutataceae	<i>Fuscutata</i>
		<i>Quatunica</i>
Gigasporales		<i>Intraornatospora</i>
	Intraornatosporaceae	<i>Paradentiscutata</i>
		<i>Racocetra</i>
	Racocetraceae	<i>Cetraspora</i>
		<i>Acaulospora</i>
	Acaulosporaceae	<i>Kuklospora</i>
		<i>Entrophospora</i>
		<i>Viscospora</i>
	Entrophosporaceae	<i>Albahypha</i>
		<i>Claroideoglopus</i>
	Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>
Diversisporales		<i>Sacculospora</i>
	Sacculosporaceae	<i>Corymbiglopus</i>
		<i>Redeckera</i>
		<i>Tricispora</i>
	Diversisporaceae	<i>Otospora</i>
		<i>Desertispora</i>
		<i>Diversispora</i>
		<i>Paraglopus</i>
Paraglomeromycetes	Paraglomerales	Paraglomeraceae
		<i>Innospora</i>

	Pervetustaceae	<i>Pervetustus</i>
	Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>
	Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>
Archaeosporomycete Archaeosporales		<i>Intraspora</i>
	Archaeosporaceae	<i>Palaeospora</i>
		<i>Archaeospora</i>

Nota: La tabla describe la clasificación de hongos micorrícicos, la cual se reportó en la investigación de (Baltruschat et al., 2019; Ramos & Guadarrama, 2004; Raya Montaña et al., 2019)

- **Glomeromycota**

Las Glomeromycota se reproducen de forma asexual mediante simbiontes biótrofos obligados, formando micorrizas arbusculares. Una de sus principales características es que la colonización de los hospedantes se facilita a través de esporas de resistencia, micelio extraradical y fragmentos de raíces colonizadas, los cuales pueden permanecer en el suelo durante largos períodos de tiempo. La taxonomía de las Glomeromycota se basa en características morfológicas específicas, como la cantidad y tipo de paredes celulares, la coloración, la forma, el tamaño de las esporas, entre otros rasgos (Rivero et al., 2014)

- **Glomeraceae**

La familia de Glomeraceae forma principalmente esporas hipogeas, rara vez intraradicales, son esporas que principalmente están individualmente o en agredados sueltos. Sus hifas vegetativas generalmente carecen de paredes celulares y forman células multinucleadas. Las esporas son coloreadas o incoloras, globosas, elipsoidales, oblongas a irregulares. Las esporas ocasionalmente están envueltas en un manto de hifas sin una abertura o hifas entrelazadas. Su teñido con azul de tripano se da en los arbusculos y vesículas (Blaszkowski J., 2012).

- **Acaulosporaceae**

La familia de Acaulosporaceae sus esporas se forman lateralmente, directamente sobre o dentro del cuello de un saco esporífero. La estructura subcelular de las esporas consiste en una pared de esporas coloreadas, rara vez incolora. La pared rara vez es lisa y contiene una capa que generalmente se tiñe de reactivo Melzer, pero el manchado es poco pronunciado (Blaszkowski J., 2012).

- **Diversisporaceae**

La familia de Diversisporaceae son hongos que forman esporas globoides o acaulosporoides. Su característica de la espora es de forma globoides es que solo tienen una pared de esporas y las Acaulosporoides tiene una pared de 4 capas de color y una pared interna incolora. Esta familia es separada por las características de RNA (Blaszkowski J., 2012).

- **Paraglomeraceae**

La familia de Paraglomeraceae son hongos que se forman en el suelo y su característica es que las esporas se forman individualmente. Las esporas se forman en la parte superior de las hifas de forma globoides con una hifa subtendente. Las esporas son globosas a irregulares, incoloras o de color claro, tienen dentro 2-3 capas. La capa 1 que se forma en la superficie de las esporas, pero esta se deteriora con la edad. Fueron separadas de los otros órdenes de Glomerycota debido a su RNA (Blaszkowski J., 2012)

2.2.5 Hongos micorrícicos y cacao

El cacao (*Theobroma cacao* L.), por ser una especie neotropical tiene una gran diversidad genética por lo que la interacción biológica. Asimismo, al tener una amplia diversidad está obligada a tener una simbiosis, relacionándose con los hongos micorrícicos arbusculares AMF (Cuadros G. et al., 2011). Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) realizan una simbiosis con casi 80% de plantas terrestres,

beneficiando en su etapa de crecimiento aportando fósforo (P). Además, estos microorganismos ayudan a que el cacao tenga una tolerancia a la sequía, metales pesados e incluso patógenos (Tuesta-Pinedo et al., 2017).

2.2.6 Fertilizantes

El uso de fertilizantes químicos en el cultivo de cacao se utiliza para contrarrestar la baja fertilidad de suelos, ya que algunos carecen nutrientes esenciales tales como nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) (Cerdeira et al., 2021). Asimismo, estos fertilizantes químicos son aportados de acuerdo con las cantidades insuficientes en el suelo para poder obtener un alto rendimiento del cultivo (Vera, 2024).

2.2.7 Biofertilizantes

Los biofertilizantes son formulaciones que contienen microorganismos viables. Estos se aplican al suelo o a las plantas con el objetivo de incrementar la disponibilidad y absorción de nutrientes, estimulando con ello el crecimiento y desarrollo del cultivo (Cardoza et al., 2021).

La función principal de los biofertilizantes es incrementar la fertilidad del suelo y promover la salud vegetal. Estas formulaciones proveen nutrientes esenciales para las plantas, estimulando su crecimiento y desarrollo, además de conferir protección contra diversas fitopatologías (Nosheen et al., 2021). Algunas de sus atribuciones incluyen:

- **Absorción y transporte de nutrientes**

Los biofertilizantes microbianos, tanto fúngicos como bacterianos, contribuyen indirectamente al proceso de fotosíntesis al facilitar la absorción de nutrientes esenciales para la planta y participar en el ciclo del carbono. Asimismo, dependiendo del tipo de microorganismo, pueden mejorar la

estructura del suelo incrementando su porosidad y capacidad de retención hídrica, solubilizar minerales, sintetizar vitaminas y producir fitohormonas que estimulan el crecimiento vegetal (Araujo & Collahuazo, 2019).

- **Perspectivas con los biofertilizantes**

La investigación en biofertilizantes está evolucionando hacia el desarrollo de consorcios microbianos. Esta estrategia busca replicar las complejas interacciones simbióticas que ocurren de manera natural en la rizosfera, con el objetivo de potenciar sinérgicamente la promoción del crecimiento vegetal y la salud del suelo (Singh & Singh, 2015).

Por otro lado, se están realizando estudios con microorganismos para la fijación de nitrógeno tales como *Agrobacterium tumefaciens*. Además, en los ecosistemas naturales existe una diversidad de microorganismos que promueven el crecimiento vegetal. Entre los más relevantes se encuentran los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), los cuales establecen una simbiosis mutualista con aproximadamente el 80% de las especies de plantas. Esta asociación se lleva a cabo mediante la formación de un micelio extraradical que amplía enormemente la superficie de absorción radical, facilitando la captación de agua y nutrientes esenciales para la planta. Finalmente, la inoculación con estos consorcios microbianos naturales representa una estrategia sostenible para reducir significativamente la dependencia de fertilizantes químicos sintéticos. Este efecto se debe no solo a la mejora en la nutrición vegetal, sino también a su capacidad como agentes de biocontrol, que confieren protección contra fitopatógenos (Urgiles & Lalangui, 2019).

2.2.8 Suelo

El suelo es un cuerpo natural que se forma mediante procesos geomorfológicos a partir de la descomposición y alteración de la roca madre y la

incorporación y descomposición de materia orgánica. Su formación es un proceso extremadamente lento que puede tardar miles de años, mientras que su degradación, a menudo resultado de prácticas antropogénicas, puede ocurrir en escalas de tiempo mucho más cortas (Avila et al., 2013).

- **Composición del suelo:** Los componentes del suelo son las partículas minerales, materia orgánica, agua y aire que se encuentran en diferentes proporciones:

- **Partículas minerales:** Las partículas del suelo se clasifican por su tamaño en diferentes fracciones, conocidas como fracciones granulométricas. Estas incluyen: grava (> 2 mm), arena (entre 0.05 y 2 mm), limo (entre 0.002 y 0.05 mm) y arcilla (< 0.002 mm). Entre estas, la fracción arcillosa es de especial importancia agronómica. Debido a su tamaño micrométrico y su alta superficie específica, las partículas de arcilla desarrollan cargas electrostáticas superficiales. Esta propiedad les confiere una elevada capacidad de intercambio catiónico (CIC), lo que les permite adsorber, retener e intercambiar cationes esenciales para la nutrición vegetal, como potasio (K^+), calcio (Ca^{2+}), magnesio (Mg^{2+}) y amonio (NH_4^+) (Van Kooni, 2006).
- **Materia orgánica:** La materia orgánica del suelo se origina a partir de la descomposición de residuos vegetales y animales, los cuales se encuentran en diferentes estados de descomposición. Su color oscuro característico es un indicativo de su alto contenido de ácidos húmicos. Además, la MOS es un componente fundamental para la estructura del suelo, ya que promueve la formación de agregados estables. Esto incrementa la porosidad,

mejorando con ello la aireación, la retención de humedad y la regulación de la temperatura edáfica (Van Kooni, 2006).

- ✓ **Glomalina:** es una glicoproteína que son producidas por los hongos micorrícicos arbusculares HMA, pertenecientes al conjunto de la *Glomeromycota*. Esta proteína ayuda a las propiedades químicas y físicas que se encuentran en el suelo y su función es proteger la superficie del suelo, teniendo una gran importancia ecológica y económica (Van Kooni, 2006).

2.2.9. Relación de HMA con el suelo

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) incrementan significativamente la disponibilidad de macro y micronutrientes en la rizósfera para las plantas. Este efecto no se debe a la generación de nuevos nutrientes, sino a que el micelio extraradical del hongo actúa como una extensión del sistema radical de la planta, explorando un mayor volumen de suelo y facilitando la absorción de nutrientes poco móviles, como el fósforo (P), zinc (Zn) y cobre (Cu). Además, los HMA participan en procesos clave como la solubilización de fosfatos y la protección contra estrés abiótico, mejorando así la eficiencia nutricional del cultivo (Miller & Jastrow, 2000).

La presencia de estos hongos hace que exploten entre un (4-20) % de carbono presente en el suelo, reutilizando en procesos metabólicos favoreciendo en el crecimiento de las plantas, pero también se benefician los microbios presentes, donde se desarrollan hifas el cual liberan carbono (Anckaert et al., 2024). Diversos estudios han demostrado que los hongos micorrícicos, en conjunto con comunidades bacterianas de la rizosfera, participan en procesos clave de ciclo de

nutrientes, como la mineralización de nitrógeno (N) y la solubilización de fósforo (P). Adicionalmente, esta red de microorganismos confiere a la planta una mayor resiliencia, induciendo mecanismos de defensa sistémicos que la protegen contra patógenos y estrés biótico, como plagas y enfermedades.



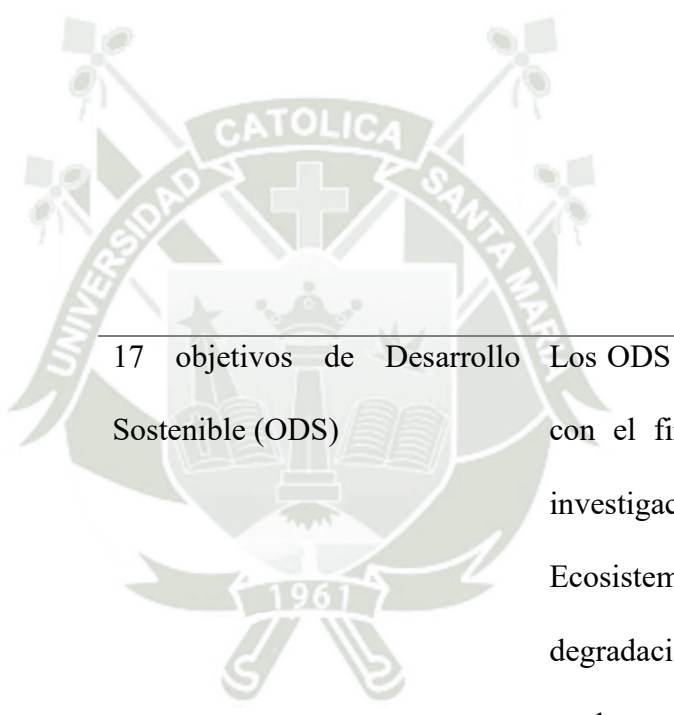
2.3 Marco legal

Tabla 3

Normativa correspondiente a la investigación

Ámbito	Tipo de Normatividad	Título/año	Relevancia y aplicación para su investigación
INTERNACIONAL	Compromiso	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO)- "Intensificación de las medidas relativas a los vínculos entre la agricultura y la actividad forestal" 2024	La "Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación" busca intensificar medidas relativas que se relacionen con la agricultura. Asimismo, se ve una interacción con los bosques por o que busca tomar medidas cuidando directamente la naturaleza ya que nos brinda diferentes servicios ecosistémicos tal como, regulación de agua, conservación de suelo, entre otros. Por lo que, el ámbito normativo busca tener vínculos entre la

agricultura y actividades forestales con el fin de hacerlo de manera sostenible y agroecológico.



17 objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS)

Los ODS es una llamada de acción a diferentes países con el fin de proteger el planeta, por lo que esta investigación se relaciona con el ODS 15 "Vida de Ecosistema Terrestre" ya que se busca detener la degradación de tierra por el masivo uso de fertilizantes en la agricultura. Además, nos enfrentamos en una crisis de cambio climático generando diferentes contaminación y pérdida de biodiversidad.

NACIONAL

Ley

Ley General del Ambiente-
LEY N.º 28611

La legislación ambiental en el capítulo 1 promueve la conservación y aprovechamiento sostenible por medio de la política. Asimismo, en el artículo 89 menciona sobre las medidas previas para la investigación científica, el cual se relaciona con la investigación ya que el fin es la conservación del suelo. En el art. 91 menciona el recurso del suelo ya que el estado es el que promueve y regula el uso sostenible para prevenir el deterioro o contaminación ya que diferentes actividades pueden causar daños al suelo tal como la agricultura por el excesivo uso de fertilizantes.

Decreto Supremo N.º 017-
2009-AG "Aprueban
Reglamento de Clasificación de

El DS. N.º 017-2009- AG realiza la clasificación de tierras por la capacidad por lo que esta normativa pone limitaciones sobre el uso del suelo, en el aspecto

Tierras por su Capacidad de agronómico buscan implementación de medidas de
Uso Mayor " conservación y aprovechamiento sostenible.

Ley N.º 31075, Ley de Esta política nacional tiene tres niveles de gobierno
Organización y Funciones del donde el Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego tiene
Ministerio de Desarrollo competencia. El uso del suelo en el ámbito agronómico
Agrario y Riego es un tema importante ya que es un recurso natural de
suma importancia. El fin de esta política se rige en la
conservación y aprovechamiento sostenible del suelo y
fomentando investigaciones e innovación.

Proyecto de Ley que declara de Se estableció este proyecto debido a que la agricultura
interés nacional y necesidad está afectando a la calidad del suelo haciendo que afecte
publica la implementación de a la fertilidad, esto se debe por el uso excesivo de los
prácticas de manejo y fertilizantes haciendo que aumente los precios. Por ello,
conservación de suelos para la

prevención de la erosión del suelo agrícola, esta ley impulsa el desarrollo agraria y rural con el fin
Ley N° de cuidar la seguridad alimentaria.

7785/2020 -CR





1. METODOLOGÍA

3.1 Tipo de investigación

La investigación se desarrolló bajo un diseño experimental aplicado, orientado a evaluar el efecto de la inoculación de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) en el desarrollo de plántulas de *Theobroma cacao* L. Para ello, se utilizaron siete inóculos, conformados por cinco cepas puras y dos consorcios, con el propósito de validar su potencial como biofertilizantes en condiciones controladas de vivero.

3.2 Nivel de investigación

El nivel de investigación de este estudio es explicativo-aplicado, ya que analiza los efectos de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) en el cultivo de cacao, estableciendo la relación de causa y efecto. Además, tiene un enfoque práctico al evaluar su potencial como biofertilizantes, con el propósito de su aplicación en sistemas agrícolas.

3.3 Diseño de la investigación

La investigación se desarrolló bajo un diseño completamente al azar (DCA) simple, conformado por ocho tratamientos (cinco especies puras y dos consorcios micorrícicos), incluido el control con un total de 18 unidades experimentales, fueron etiquetadas desde el M1 al M7. El ensayo se llevó a cabo en condiciones controladas de vivero, lo que permitió minimizar la influencia de factores ambientales externos. Cada unidad experimental estuvo constituida por plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) establecidas en macetas con sustrato previamente esterilizado y caracterizado en el Instituto de Cultivos Tropicales (ICT), cuyo informe se adjunta en el Anexo N° 4. La inoculación de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), proporcionados por el Laboratorio de Biología y Genética Molecular

a partir de su banco de germoplasma (reporte taxonómico en el Anexo N°1), se efectuó al momento de la siembra. Durante 150 días se evaluaron variables de crecimiento morfológico como altura, diámetro del tallo y número de hojas. Finalmente, las diferencias entre tratamientos se analizaron mediante un análisis estadístico con la prueba de Tukey, utilizando el software MINITAB 18.

3.4 Métodos de la investigación

3.4.1 Área de estudio

El estudio se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo, con el objetivo de evaluar los efectos de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) en el cultivo de *Theobroma cacao* L. y en las propiedades físicas del suelo. El ensayo se llevó a cabo en condiciones controladas de vivero, lo que garantizó un entorno estandarizado para la inoculación, el monitoreo y la medición de las variables de interés.

a) Ubicación temporal

La investigación se llevó a cabo durante un periodo de cinco meses, desde noviembre de 2024 hasta marzo de 2025, correspondiente a la etapa de desarrollo vegetativo del cacao, siguiendo la referencia de estudios previos. Este intervalo permitió evaluar de manera adecuada las respuestas morfológicas y fisiológicas de las plántulas, con el propósito de analizar la funcionalidad de la asociación micorrícica bajo condiciones controladas.

b) Ubicación espacial

El experimento se llevó a cabo en el vivero de la Universidad Nacional de San Martín (UNSM), ubicado en la ciudad de Tarapoto, provincia y región de San Martín. Geográficamente, el área de estudio se localiza a 6°29'57" S y 76°21'52" O, a una altitud de 356 m s. n. m. Presenta un clima tropical húmedo, con una

temperatura media anual entre 25 y 27 °C. El vivero dispone de infraestructura adecuada para el establecimiento de unidades experimentales, con cobertura semicontrolada y acceso permanente a agua para riego.

3.5. Materiales y equipos

3.5.1. Materiales

- Bandejas Portatubetes
- Tubetes
- Bolsa de plástico 5x10
- Sorgo (*Sorghum spp.*)
- Semillas de cacao (*Theobroma cacao L.*)
- Vermiculita
- Arena esterilizada
- Suelo esterilizado
- Tamiz de suelo redondo

3.5.2. Materiales de campo

- Lampa
- Pico
- Sacos de polietileno
- Tamiz grande de suelo

3.5.3. Materiales del laboratorio

- Tubos falcón de 15 mL
- Microplaca 96 Elisa (96 pozos)
- Probeta de 10 mL

- Probeta de 500mL
- Pipetas multicanal 200ul modelo Eppendorf
- Pipetas automáticas de 10 mL modelo DLAB

3.5.4 Equipos

- Baño maría modelo Memert
- Centrifuga modelo Eppendorf
- Balanza Analítica modelo OHAUS
- Estufa modelo Memert
- Autoclave (P-Selecta)
- Baño María modelo EMERSON
- Microscopio trinocular modelo NIKON
- Estereoscopio modelo Stemi 305-ZEISS
- SPAD 502 PLUS
- Estufa esterilizadora modelo Memert

3.5.5 Insumos y Reactivos

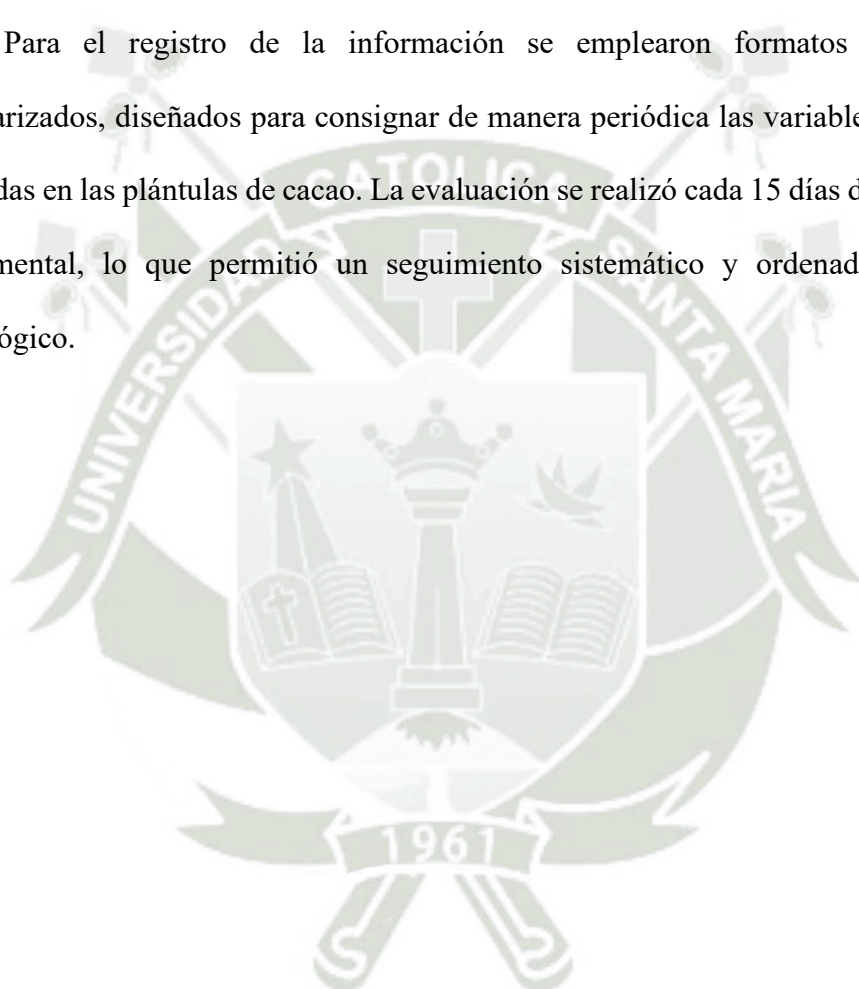
- Colorante Bradford
- Tinta Parker
- Lactoglicerol
- Solución de citrato de sodio 20mM
- Albumina de suero bovino
- Alcohol de 96°

3.5.6 Software

- MINITAB 18
- Excel office 16

3.6. Técnicas observacionales

Para el registro de la información se emplearon formatos de observación estandarizados, diseñados para consignar de manera periódica las variables de crecimiento evaluadas en las plántulas de cacao. La evaluación se realizó cada 15 días durante el periodo experimental, lo que permitió un seguimiento sistemático y ordenado del desarrollo morfológico.



3.7 Métodos de la investigación

3.7.1 Determinación de propágulos infectivos de los inóculos de hongos micorrícicos arbusculares

Para la determinación de los propágulos infectivos se empleó la metodología del Número Más Probable (NMP) modificado ya que es más confiable que otras técnicas para la cuantificación porque se centra en los propágulos infectivos (Agnihotri et al., 2022) . Se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología y Genética Molecular de la Universidad Nacional de San Martín (UNSM).

- **Etapa de desarrollo**

Los inóculos utilizados en la metodología estuvieron conformados por cinco especies puras y dos consorcios de hongos micorrícicos arbusculares (HMA), proporcionados por el banco de germoplasma del Laboratorio de Biología y Genética Molecular. La composición específica de los inóculos se presenta en la Tabla 4, mientras que el reporte taxonómico correspondiente se adjunta en el Anexo N°1.

Tabla 4

Composición de inóculos micorrízicos

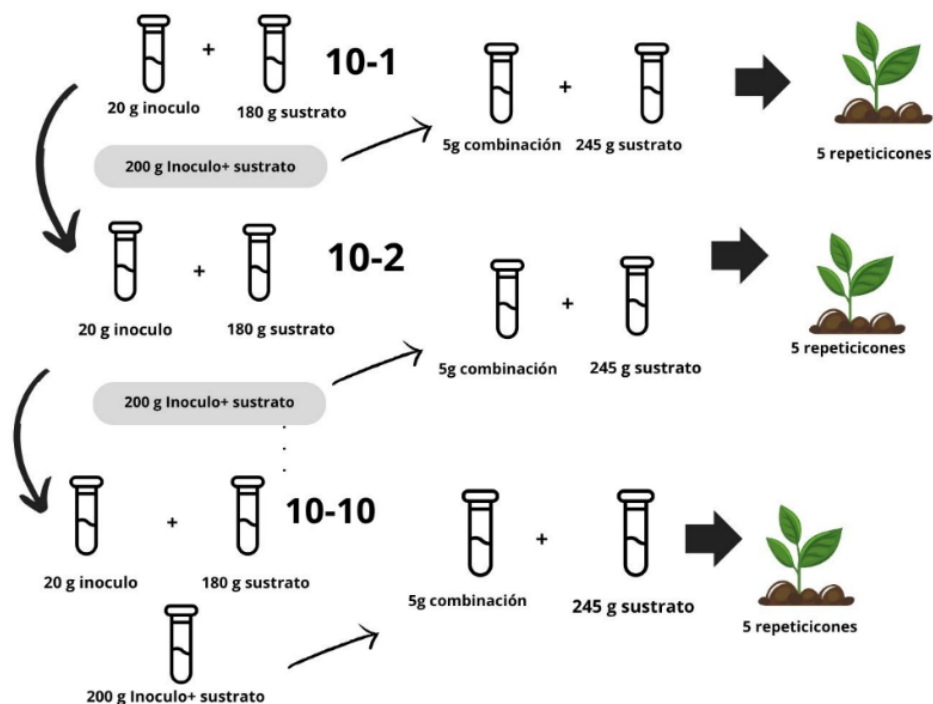
Nº TRATAMIENTO	HMA
CT	Sin inóculo
M1	<i>Acaulospora</i> sp.
M2	Consorcio Micorrízico: <i>Diversispora</i> sp.; <i>Rhizoglosum intraradices</i> ; <i>Nanoglosum plukenetiae</i> ; <i>Glomus microcarpum</i>
M3	<i>Rhizoglosum variabile</i>
M4	<i>Funneliformis</i> sp.
M5	Consorcio Micorrízico: <i>Acaulospora</i> sp.; <i>Paraglosum occultum</i> ; <i>Nanoglosum plukenetiae</i>
M6	<i>Diversispora</i> sp.
M7	<i>Paraglosum</i> sp.

Nota. La tabla representa la composición de cada tratamiento tales como CT = control sin inoculación. Cada tratamiento asignado con la letra “M1” hasta el “M7” es la composición de los inóculos de hongos micorrízicos arbusculares.

Para la preparación se empleó sustrato y arena en una proporción de 1:1, los cuales fueron previamente esterilizados. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas siguiendo el método Numero Mas Probable (NMP). En la primera dilución, se mezclaron 20 g de inóculo con 180 g de sustrato, obteniendo un total de 200 g. De esta mezcla se extrajeron 5 g, que fueron incorporados a 245 g de sustrato, alcanzando así 250 g, los cuales se homogenizaron y dividieron en cinco repeticiones. A partir de allí, se continuó con las diluciones seriadas, tomando 20 g de la mezcla inicial (200 g) y repitiendo el procedimiento hasta alcanzar la dilución 10^{-10} , tal como se muestra en la Figura 1.

Figura 1

Diluciones de la metodología Número Mas Probable

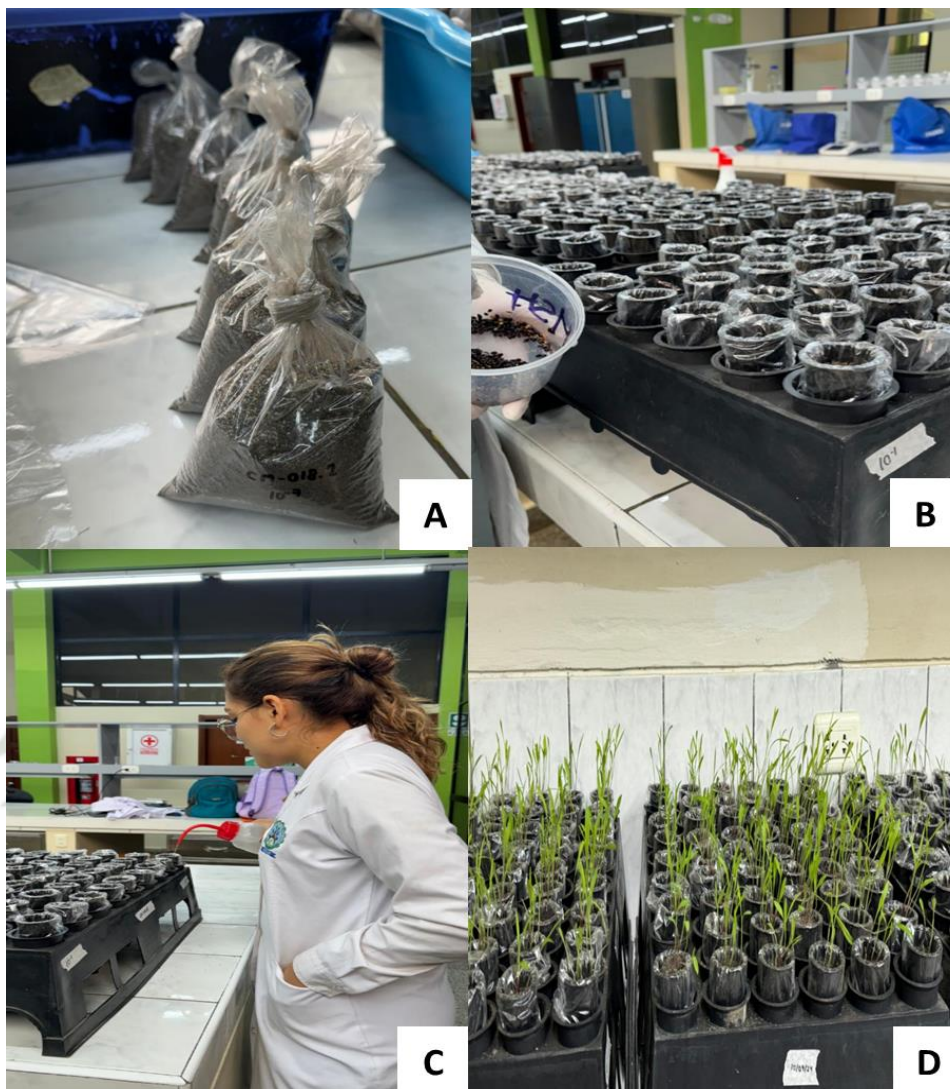


Nota. En la figura representa las diluciones que se realiza desde el 10-1 hasta el 10-10. Elaborado por Barreto de Nováis, (2017).

Una vez preparado el sustrato, este fue humedecido y se sembraron cinco semillas de sorgo (*Sorghum spp.*) en cada tubo. El riego se efectuó con agua destilada en volúmenes de 2 a 3 mL, ajustados según las necesidades de la planta. Adicionalmente, una vez por semana se aplicó la solución nutritiva propuesta por Long- Ashton (Hewitt, 1966). El periodo de mantenimiento se prolongó por 4 semanas, se muestra en la Figura 2 el procedimiento.

Figura 2

Procedimiento experimental para determinar el Número Más Probable (NMP) de las diluciones



Nota. Preparación de diluciones seriadas y establecimiento del experimento. A. Combinación de sustrato con el inoculo B. Semillas de la planta trampa C. Regado con ayuda de una piseta D. Establecimiento de experimentación

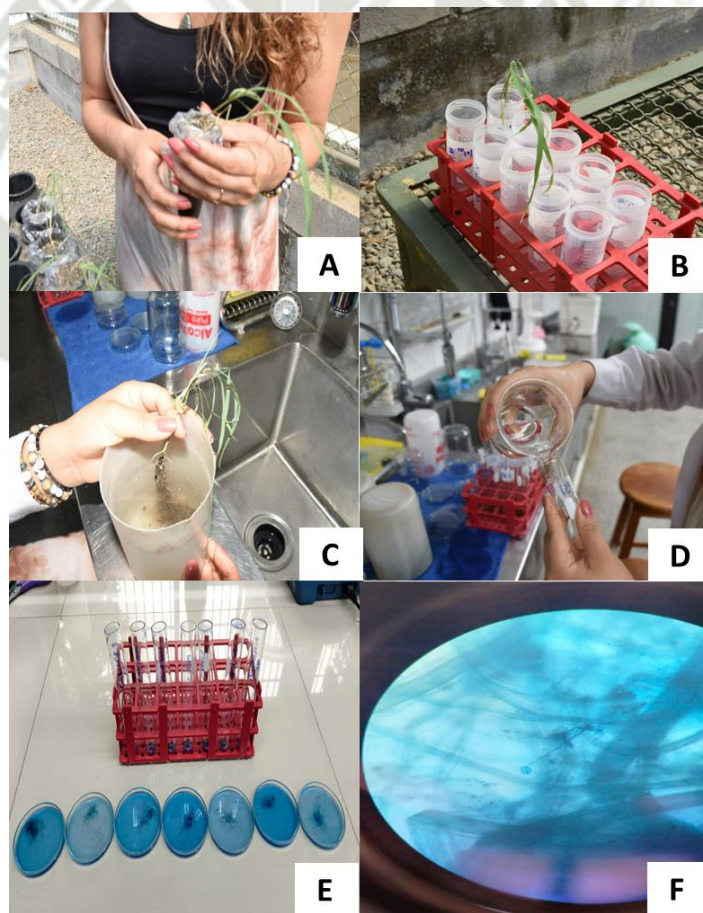
- Evaluación

Se utilizó la metodología propuesta por Vierheilig et al. (1998), con algunas modificaciones. Para ello, se recolectaron todas las raíces de sorgo (*Sorghum spp.*) y se lavaron cuidadosamente con abundante agua para eliminar por completo los restos de sustrato. Posteriormente, las raíces se trataron con KOH al 10 % y se colocaron en baño

maría a 90 °C durante 30 minutos. Una vez retiradas, se cubrieron con agua oxigenada a 20 V durante 1 minuto. Transcurrido este tiempo, se enjuagaron con agua destilada hasta eliminar el exceso del reactivo. Finalmente, las raíces se tiñeron sumergiéndolas en tinta Parker, primero a temperatura ambiente por 10 minutos y luego en baño maría a 90 °C durante 5 minutos, hasta asegurar la coloración adecuada para su posterior evaluación. Finalmente, se eliminó la tinta Parker y se agregó lactoglicerol, tras lo cual las raíces fueron evaluadas bajo el estereoscopio como se muestra en la Figura 3.

Figura 3

Evaluación del sorgo (Sorghum spp.) para hallar el NMP



Nota. Evaluación del NMP. A y B. Recolección de la planta trampa C. Lavado de raíces D y E Metodología de la tinción de raíces F. Observación en el microscopio.

- **Calcular el número más probable.**

El procedimiento descrito por Barreto de Nováis (2017) menciona utilizar tres repeticiones el cual se escogieron 10^{-8} , 10^{-9} y 10^{-10} para determinar la infectividad por mL, por ende, se consultó en la tabla del Anexo N°3.

3.7.2 Evaluación del desarrollo morfológico, fisiológico y enzimático de las plántulas de cacao.

Recolección de suelo de campo

La recolección de suelo se realizó en terrenos de la Universidad Nacional de San Martín (UNSM), ubicados en el sector de Aucaloma, a 15 km de la ciudad de Tarapoto, en la carretera hacia San Antonio de Cumbaza, distrito de San Roque, provincia de Lamas, región San Martín como se observa en la Tabla 5 y 6. Cabe destacar que el suelo de Aucaloma presenta baja concentración de fósforo, condición que favorece la asociación simbiótica entre los hongos micorrícicos arbusculares y las plántulas de cacao (Carrillo et al., 2022).

Tabla 5

Ubicación geográfica de la zona de recolección de suelo

Parámetro	Valor
Latitud sur	6°25'53.4"
Longitud oeste	76°25'21.3"
Altitud	720 m.s.n.m
Zona de vida	bh-T (Bosque espinoso tropical)

Nota: Elaboración propia

Tabla 6*Ubicación política de la zona de recolección de suelo*

Parámetro	Valor
Región	San Martín
Departamento	San Martín
Provincia	Lamas
Distrito	San Roque
Fundo	Aucaloma

Germinación de semillas

Se trabajó con el cultivo de cacao CCN-51, seleccionado en base a investigaciones previas de la Universidad Nacional de San Martín, mientras que las mazorcas utilizadas fueron proporcionadas por el Instituto de Cultivos Tropicales. Para el proceso de germinación, las mazorcas que contenían entre 25 y 30 semillas cada una, fueron desinfectadas mediante un lavado inicial con agua destilada y posteriormente sumergidas en una solución desinfectante durante cinco minutos. Luego, se procedió a la apertura de las mazorcas y a la extracción de las semillas, eliminando el mucílago mediante fricción con arena esterilizada y enjuagues sucesivos con agua destilada hasta asegurar su completa remoción. Una vez limpias, las semillas se colocaron de manera ordenada en bandejas con vermiculita como sustrato, previamente humedecida para garantizar condiciones óptimas de humedad. Finalmente, se mantuvieron bajo estas condiciones hasta su germinación, la cual ocurrió aproximadamente a los tres días como se muestra en la Figura 4.

Figura 4

Germinación de semillas de cacao CCN-51

**Establecimiento y mantenimiento****➤ Preparación de sustrato y embolsado**

El sustrato recolectado y la arena fueron esterilizados en autoclave a 121 °C durante 1 hora, en tres ciclos consecutivos. Posteriormente, los sacos esterilizados se dejaron secar durante tres semanas, asegurando la obtención de un suelo completamente seco. Con este material se procedió al llenado de bolsas de polietileno de 3 kg, utilizando una proporción de 2:1 (suelo: arena). Asimismo, una parte del suelo fue enviada para su análisis, cuyos resultados se presentan en el Anexo N° 4.

➤ Inoculación a las plántulas de cacao

La inoculación se realizó utilizando cinco especies puras y dos consorcios de hongos micorrícicos arbusculares (HMA), obtenidos del banco de

germoplasma de la Universidad Nacional de San Martín. La caracterización y reporte taxonómico de los inóculos se presentan en el Anexo N° 1. La aplicación se consideró los resultados obtenidos mediante la metodología de Número Más Probable (NMP), a fin de establecer una dosis estandarizada para cada tratamiento como se puede observar en la Figura 5.

Figura 5

Inoculación con hongos micorrícicos arbusculares



➤ Evaluaciones morfológicas en las plántulas de cacao

Una vez establecido el experimento con las plántulas de cacao, estas se mantuvieron en condiciones de vivero durante 150 días posteriores a la siembra. Durante este periodo se realizaron evaluaciones morfológicas cada 15 días y se aplicó la solución nutritiva propuesta por Long-Ashton (Hewitt, 1966). Los resultados se presentan en la Figura 6.

- **Altura:** La medición de la altura se inició a los 15 días después de la inoculación y se efectuó cada 15 días. Para ello, se utilizó una regla

graduada, registrando la distancia desde la base de la planta hasta la yema terminal (Corazon-Guivin et al., 2024)

- **Diámetro del tallo:** La medición se inició a los 15 días después de la siembra y se repitió con una frecuencia quincenal. Se utilizó un vernier digital, registrando el diámetro a 1 cm por encima del nivel del sustrato (Corazon-Guivin et al., 2024).
- **Numero de hojas:** El conteo se inició a partir de la aparición de las primeras hojas verdaderas, posteriores al cotiledón, y se registró cada 15 días, considerando únicamente las hojas plenamente desarrolladas (Corazon-Guivin et al., 2024).

Figura 6

Evaluaciones morfológicas de las plántulas de cacao.



Nota. Evaluaciones A. Medición del diámetro del tallo B. Conteo del número de hojas verdaderas C. Medición de clorofila

Al culminar los 150 días de evaluación, las plántulas de cacao fueron cuidadosamente extraídas de las macetas, separando la parte aérea (tallos y hojas) de la parte radicular.

- **Peso fresco de la biomasa**

En la Figura 7 se muestra la separación, cada fracción (aérea y radicular) fue pesada con una balanza digital de precisión para registrar la biomasa fresca en gramos (Corazon-Guivin et al., 2024).

- **Peso seco de la biomasa**

Posteriormente, las muestras fueron colocadas en bolsas de papel y llevadas a una estufa de secado a 65 °C hasta alcanzar peso constante (aproximadamente 72 horas). Una vez secas, se pesaron nuevamente en la balanza digital para obtener la biomasa seca (aérea y radicular) (Corazon-Guivin et al., 2024).

Figura 7

Determinación del peso de biomasa.



Nota. Metodología A. Corte de la parte aérea de la plántula B. Conservación de los tallos C. Escaneo de las hojas para el área foliar

- **Evaluaciones fisiológicas en las plántulas de cacao**

- **Clorofila:** La determinación del contenido de clorofila se realizó a los 30 días después de la inoculación, utilizando un medidor de clorofila. Para las mediciones se consideraron únicamente las hojas verdaderas,

seleccionando las más desarrolladas y representativas de cada plántula (Corazon-Guivin et al., 2024b)

- **Área Foliar**

Transcurridos 150 días, en el momento de la cosecha de las plántulas, se recolectaron las hojas y se escanearon para su registro en carpetas digitales. Posteriormente, el área foliar fue determinada con el programa *Fiji is Just Image* a partir de las imágenes obtenidas (cm²) (Corazon-Guivin et al., 2024).

- **Evaluación enzimática en las plántulas de cacao**

La detección in situ de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en hojas maduras de plántulas de cacao se realizó mediante una evaluación enzimática con el método de tinción con 3,3'-diaminobencidina (DAB). Este compuesto se polimeriza al ser oxidado por el H₂O₂ en presencia de peroxidasas (enzimas que contienen grupo hemo), generando un precipitado de color marrón oscuro que permite la localización histológica del H₂O₂ (Daudi & O'Brien, 2012).

- **Metodología**

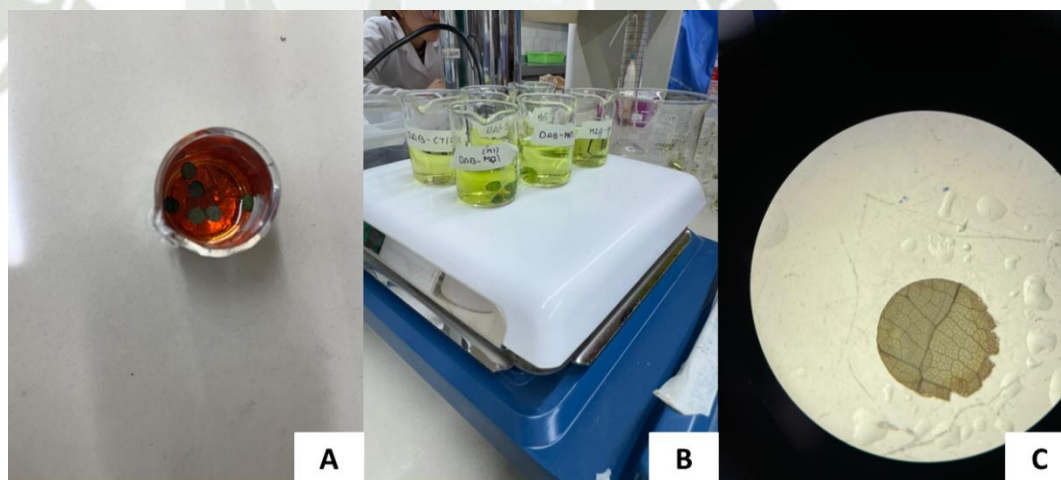
El experimento se realizó en condiciones de oscuridad debido a la fotosensibilidad del reactivo. Para la preparación, se disolvieron 0,3 g de DAB en 250 ml de agua ultrapura y se ajustó el pH a 3,8 con NaOH 1N. Paralelamente, se preparó un blanco con 300 ml de agua ultrapura ajustado a pH 3,8 con HCl. Posteriormente, se recolectaron 5 discos foliares de las plantas seleccionando siempre la misma hoja (la 4^a desde el ápice) y se colocaron inmediatamente en

vasos de 15 ml con 10 ml de reactivo DAB y en blanco. Las muestras se sometieron a vacío a 12 inHg durante 30 minutos y luego se mantuvieron en oscuridad durante 24 horas a temperatura ambiente (Farias et al., 2023).

Tras la incubación, se procedió al lavado de los discos en un agitador con calefacción. Primero se utilizó etanol al 96 °C durante 30 minutos y luego cinco lavados sucesivos con etanol al 50 °C. Finalmente, los discos se conservaron en etanol al 50 °C para su posterior análisis en el microscópico a 60X debido a su coloración marrón. Por último, tras su un registro fotográfico se procesó las imágenes en el programa de “Fiji” (Farias et al., 2023) como se muestra en la Figura 8.

Figura 8

Evaluación y observación enzimática



Nota. *Evaluaciones del DAB A. Discos foliares en reactivo DAB. B. Lavado de muestras en etanol. C. Observación microscópica de discos foliares.*

3.7.3 Evaluación de la absorción de nutrientes (N, P, K) en las hojas de la plántula de cacao.

▪ Análisis foliar de NPK

El análisis foliar de NPK se realizó a partir de hojas secas obtenidos de la biomasa seca. Las muestras fueron enviadas al Instituto de Cultivos Tropicales (ICT), donde se aplicaron metodologías estandarizadas: para nitrógeno se empleó el método de Kjeldahl (1); la concentración de fósforo se determinó mediante digestión en $\text{HNO}_3:\text{HClO}_3$ (4:1) y espectrofotometría UV ($\lambda = 420 \text{ nm}$); mientras que la concentración de potasio se obtuvo mediante digestión en $\text{HNO}_3:\text{HClO}_3$ (4:1) y espectrofotometría de absorción atómica (Horneck & Miller, 1998) Los resultados del análisis nutricional (NPK) se presentan en el Anexo V, expresados en mg/kg, tras su normalización con el peso seco. (Corazon-Guivin et al., 2024b)

3.7.4 Determinación de la colonización de hongos micorrícicos en plántulas de cacao

➤ Porcentaje de Colonización micorrícica

Las raíces de cada plántula fueron cuidadosamente extraídas y lavadas con abundante agua para eliminar todo el sustrato adherido. Posteriormente, se realizó la tinción siguiendo la metodología de Vierheilig et al. (1998) con algunas modificaciones adaptadas a la textura leñosa de las raíces de cacao. El procedimiento consistió en sumergir las raíces en KOH al 10% hasta cubrir las por completo y colocarlas en baño maría a $90 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 60 minutos.

Transcurrido este tiempo, se adicionó H_2O_2 (20 V) por aproximadamente un minuto y se enjuagaron con abundante agua destilada para eliminar el exceso de reactivo.

Luego, las raíces fueron teñidas con tinta Parker acidificada, mantenidas en baño maría a $90\text{ }^\circ\text{C}$ durante 10 minutos y posteriormente a temperatura ambiente por 5 minutos. Finalizada la tinción, se retiró el exceso de colorante y se aplicó lactoglicerol como medio de conservación.

Para la evaluación microscópica, se montaron 20 segmentos radiculares en portaobjetos y se observaron a 20X y 40X, aplicando el método de intersecciones y registrando la presencia de arbuscúlos, vesículas e hifas como se muestra en la Figura 9. El porcentaje de colonización total se calculó como la proporción entre el número de intersecciones con presencia de estructuras micorrícicas y el número total de observaciones, multiplicado por 100 (Slaughter et al., 2019).

Figura 9

Tinción y evaluación microscópica de raíces de cacao



Nota: A. Proceso de tinción de raíces. B. Evaluación microscópica de las muestras.

3.7.5 Evaluación de micelio Extrarradical (MER) y glomalina producidas por inóculos de micorrizas en plántulas de cacao

- Cuantificación de glomalina fácilmente extraíble (GFE)

La glomalina fácilmente extraíble se utilizó la técnica de Jakobsen et al. (1992) con modificaciones. Para ello, se pesaron 0,25 g de suelo seco y se transfirieron a un tubo Falcon de 15 mL, al que se le adicionaron 2 mL de citrato de sodio 20 mM en pH 7,0. La mezcla se homogeneizó mediante vortex y posteriormente se sometió a autoclave a 121 °C durante 30 minutos. Una vez transcurrido el tiempo, los tubos fueron enfriados, sellados y centrifugados a 6000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido fue de color café-rojizo, característico de la fracción de glomalina, donde se recuperó en tubos de 2 mL para su posterior análisis.

La concentración proteica de glomalina se determinó mediante el método colorimétrico de Bradford (1976) empleando albúmina sérica bovina (BSA) como estándar de referencia. Se preparó una curva patrón a partir de concentraciones conocidas de BSA (100–1000 µg/mL), registrando la absorbancia a 595–596 nm en el lector de microplaca.

La ecuación de la recta fue:

$$y = ax + b$$

y: absorbancia en la microplaca a 595nm

x: concentración de la proteína (ug/mL)

a: pendiente de la recta (curva patrón)

b: intercepto de la recta

Asimismo, para determinar la cantidad de glomalina fácilmente extraíble, se realizó la siguiente ecuación:

$$\text{Glomalina (mg)} = \gamma \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) \times V \text{ (mL)} \times F$$

γ : concentración de proteína obtenida

V: volumen de extracto recuperado (mL)

F: factor de dilución

- **Cuantificación del micelio extraradical (MER)**

La cuantificación la longitud de hifas extraradicales de los hongos micorrícicos se utilizó la técnica de gel semisólido y cuantificación por medio del método de intersección de cuadrantes Giovannetti & Mosse (1980) con modificación , se extrajo una submuestra de suelo de 0.5g de suelo seco donde se agregó 2.5 ml de citrato de sodio a 50nM a pH 8 y luego se llevó a baño maría por 30 minutos para que la solución ayude a la dispersión de agregados del suelo que están unidos en las fracciones de hifas, pasado el tiempo se retira de baño maría y se agrega 1 ml de azul de metileno, se coloca en baño maría 10 minutos y 5 minutos en temperatura ambiente, después se retiró y se tamizo en 38um el material retenido fue depositado nuevamente para agregar agar bacteriológico 0.1g y agua destilada y fue sometido a calor con constantes movimientos para disolver en la placa. Después que se solidifico se observó en el estereoscópico con una base de rejilla cuadrada 10x10 y se contaron las intersecciones hifa-línea y se utilizó la ecuación de Tennant (1975), como se observa en la siguiente ecuación.

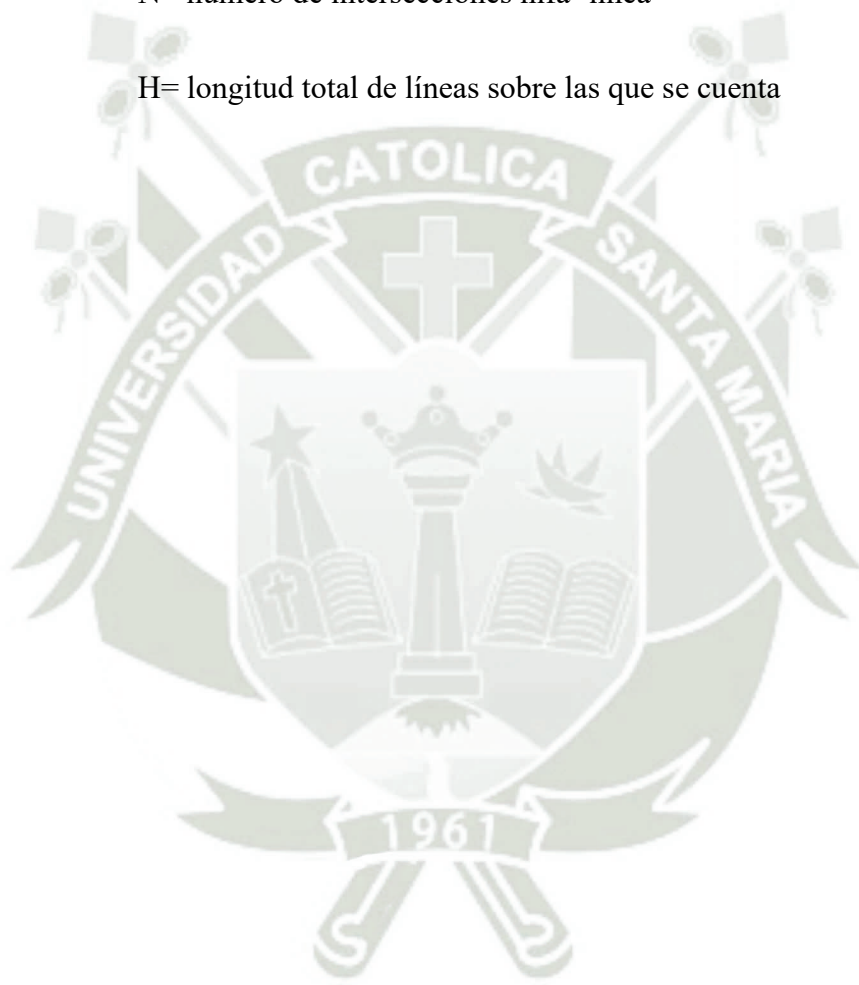
$$R = \frac{AN}{2H}$$

En donde R= Longitud de micelio por unidad de peso de suelo

A= área de la placa

N= número de intersecciones hifa- línea

H= longitud total de líneas sobre las que se cuenta





CAPITULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Determinación de los propágulos infectivos de los inóculos de hongo micorrízico arbusculares

4.1.1 Evaluación del Número Más Probable

A los 30 días de evaluación en 364 tubetes, se determinó el número más probable (NMP/ml) de propágulos infectivos de cinco especies puras y dos consorcios de hongos micorrízicos arbusculares (HMA). La cuantificación se realizó mediante el método de diluciones seriadas utilizando como planta trampa al sorgo (*Sorghum spp.*). Asimismo, los valores obtenidos variaron entre 39 NMP/ml (M7) y 1600 NMP/ml (M6), siendo estos los valores mínimo y máximo, respectivamente. Los tratamientos M4 y M5 alcanzaron 350 NMP/ml, M2 presentó 280 NMP/ml, mientras que M1 y M3 mostraron resultados similares (180 NMP/ml) como se puede observar en la Tabla 7:

Tabla 7

Resultados del Número Mas Probable (NMP/ml)

Tratamientos	Diluciones	NMP/ml
M1	533	180
M2	543	280
M3	533	180
M4	544	350
M5	544	350
M6	555	1600
M7	432	39

Nota. Los valores corresponden al Número Mas Probable de propágulos infectos de hongos micorrízicos arbuscular.

Se evaluaron los propágulos infectivos, cuyos valores oscilaron entre 39 y 1600 NMP/ml, lo que evidencia la variabilidad en la capacidad infectiva de los tratamientos analizados. Estos resultados se relacionan con lo reportado por Douds et al. (2016b), quienes al trabajar con maíz dulce (*Zea mays*) obtuvieron valores de 183, 400 y 717 NMP/ml, lo cuales se encuentran dentro de un rango similar de infectividad. Sin embargo, las diferencias observadas podrían atribuirse a factores como el tipo de sustrato empleado, la especie trampa utilizada en su caso *Paspalum notatum* y las condiciones agroclimáticas particulares en que se desarrollaron los experimentos. De manera complementaria, en la investigación de Monte et al. (2025) se empleó la metodología de NMP para la inoculación de *Passiflora foetida* L., utilizando 1500 NMP/ml de propágulos infectivos con cuatro inóculos de hongos micorrícicos, lo cual respalda la consistencia de los valores obtenidos en este trabajo.

4.1.2 Evaluación del desarrollo morfológico, fisiológico y enzimático de las plántulas de cacao.

➤ Evaluaciones morfológicas en el desarrollo de las plántulas de cacao

Tras la inoculación con cinco especies puras y dos consorcios de hongos micorrícicos arbusculares, se analizó el efecto en plántulas de cacao, evaluando parámetros morfológicos como la altura, diámetro del tallo, número de hojas, así como la biomasa fresca y seca, luego de 150 días bajo condiciones de vivero. Estos indicadores resultan fundamentales para comprender la respuesta de las plántulas a la simbiosis generada por la inoculación micorrícica.

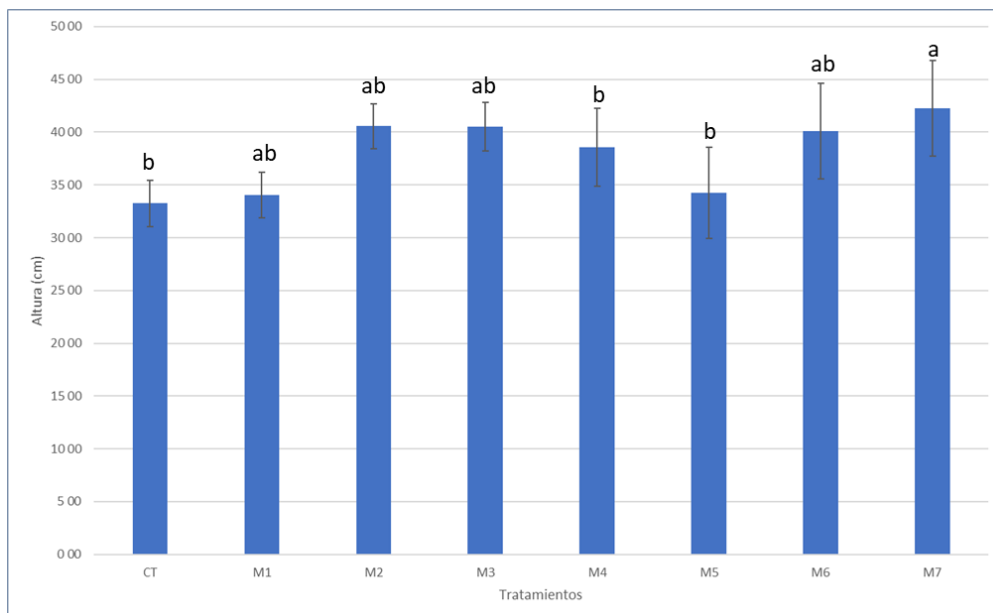
Los resultados obtenidos mostraron la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), entre los tratamientos lo cual evidencia el efecto positivo de la inoculación con hongos micorrícicos arbusculares (HMA) en el desarrollo de las plántulas de cacao. Este impacto se reflejó en un incremento significativo de la biomasa aérea y radicular, en comparación con el control.

- **Altura de la plántula de cacao**

En la Figura 10 se muestra la altura de las plántulas de cacao a los 150 días posteriores a la siembra para los ocho tratamientos evaluados. Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, donde M7 (*Paraglomus* sp.) alcanzó un promedio de 42,25 cm, seguido de M2 (consorcio: *Diversispora* sp., *Rhizoglomus intraradices*, *Nanoglomus plukenetiae*, *Glomus microcarpum*) con 40,56 cm y M3 (*Rhizoglomus variable*) con 40,50 cm. En contraste, el control (CT) registró la menor altura promedio (33,25 cm), evidenciando un menor desarrollo en comparación con los demás tratamientos.

Figura 10

Altura de la plántula de cacao (cm) posterior al tratamiento.



Nota. En la figura muestra el CT. Control, M1-M7: tratamientos con diferentes especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA),

En la investigación de Pérez-Díaz et al. (2023) quienes trabajaron con dos inóculos de hongos micorrícicos que fueron *Glomus cubense* y *Rhizogloium irregulares* en plántulas de cacao en similares condiciones a la presente investigación, obtuvieron resultados significativos en relación con la altura alrededor de un promedio de 31 cm el cual se podría comparar con esta investigación ya que el promedio esta entre los 40 a 42cm que fue de M3 (*Rizhogloium variable*) y el M7 (*Paragloium sp.*).

Al tener estos resultados se podría comparar entre *Paragloium sp.* y *Rizhogloium variable* ya que tuvieron una fuerte especificidad hongo-planta el cual el *Paragloium* favorece por la absorción de nutrientes favoreciendo a su crecimiento de la planta por medio de las vías de redes micorrícicas. Además, en la investigación de Zhang et al. (2018) que utilizaron *Paragloium occultum* favoreció al crecimiento

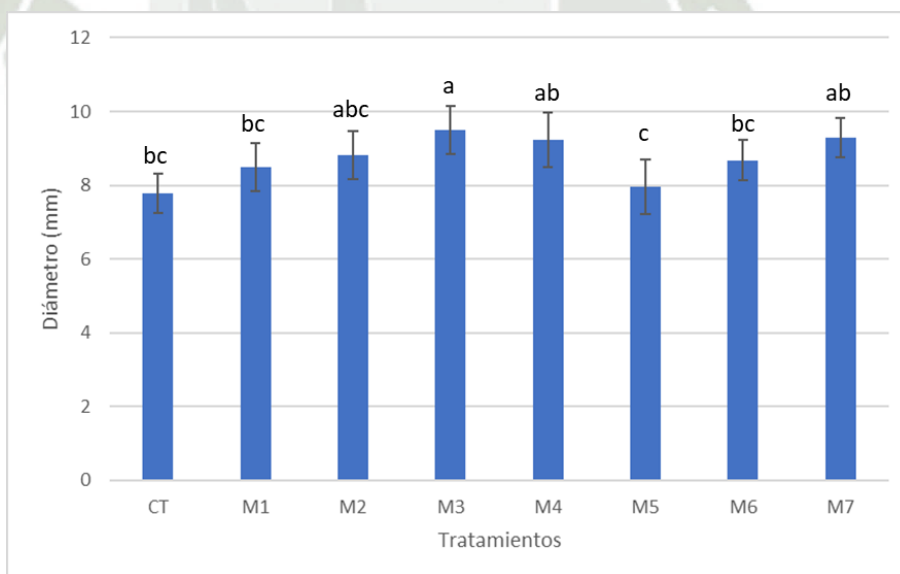
y la morfología radical de la planta hospedante evidenciándose en su capacidad simbiótica.

- **Diámetro de las plántulas de cacao**

En la Figura 11 se observa el diámetro del tallo de las plántulas de cacao posteriores a la siembra para los ocho tratamientos evaluados. Los resultados muestran diferencias significativas entre tratamientos, destacando M3 (*Rhizoglosum variabile*) con un diámetro promedio de 9.50 mm, seguido el M4 (*Funneliformis* sp.) con 9.22 mm y M7 (*Paraglosum* sp.) con 9.28. En contraste, los tratamientos con menor diámetro fueron el M5 (*Acaulospora* sp.; *Paraglosum occultum*; *Nanoglosum plukenetiae*) con 7.96 y el control (CT) con un promedio 8.43.

Figura 11

Diámetro de las plántulas de cacao (mm) posterior al tratamiento.



Nota. En la figura muestra el CT. Control, M1-M7: tratamientos con diferentes especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA)

Los resultados obtenidos el M3 (*Rhizoglosum variabile*) fue el que mejor destaco y estos resultados coinciden con Corazon-Guivin et al. (2024), quienes inocularon con *Rhizoglosum variabile* en plántulas de café donde hubo una diferencia significativa

en el diámetro a comparación del control, esto explica que hubo una mayor absorción de nutrientes; además en la investigación de Aggangan et al. (2019) menciona en su investigación que una colonización incompleta puede limitar a los beneficios asociados a la simbiosis micorrícica.

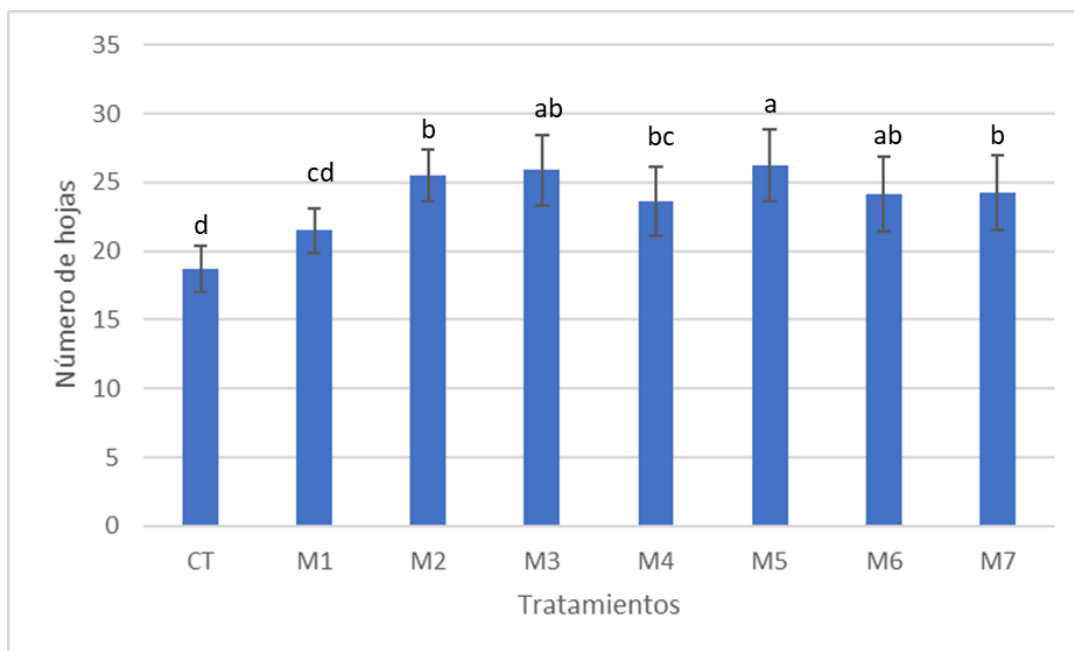
El estudio de Pacheco et al. (2022) demuestran que la diversidad de comunidades de hongos micorrícicos asociados al cacao varía según las condiciones edáficas, encontrándose géneros como *Acaulospora*, *Diversispora*, *Glomus* y *Paraglomus*. Esto refuerza la importancia de considerar la composición y adaptación de las especies micorrícicas al sistema suelo-planta para optimizar el desarrollo morfológico del cacao.

- **Número de hojas en las plántulas de cacao**

En la Figura 12 se presenta el número de hojas de las plántulas de cacao a los 150 días posteriores a la siembra. Los resultados muestran diferencias significativas, el tratamiento M5 (**Consorcio Micorrícico:** *Acaulospora* sp.; *Paraglomus occultum*; *Nanoglomus plukenetiae*) registró el mayor promedio con 30 hojas, seguido M3 (*Rhizoglomus variabile*) con 27 hojas, y M6 (*Diversispora* sp.) con 27 hojas. En contraste, el control (CT) presentó el valor más bajo con 19 hojas, mostrando un menor desarrollo foliar respecto a los tratamientos inoculados.

Figura 12

Número de hojas en plántulas de cacao posterior al tratamiento.



Nota. En la figura muestra el CT. Control, M1-M7: tratamientos con diferentes especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA)

El número de hojas en plántulas de cacao se considera un indicador fisiológico clave, directamente relacionado con la capacidad fotosintética y el estado general de desarrollo. Entre los tratamientos evaluados, el consorcio microbiano M5 mostró la mayor eficacia, observándose una correlación positiva con un mayor número de hojas. Esto sugiere una mayor compatibilidad con el sistema radicular del hospedero, lo que probablemente optimizó la eficiencia en la absorción de nutrientes y agua, y consecuentemente, potenció la actividad fotosintética y el crecimiento vegetal; además se puede comparar con la investigación de Corazon-Guivin et al. (2024) que utilizaron dos inóculos *Rhizoglonus variable* y *Nanoglonus plukenetiae* el cual obtuvieron 1,3 veces más hojas que el control. El tratamiento M3(*Rizhoglonus variable*) obtuvo resultados altos, los cuales también se comparan con el estudio

Corazon-Guivin et al. (2024). Asimismo, se ve relacionado con el área foliar en explicando un efecto positivo de la absorción de nutrientes. Por último, otra investigación reportó que el hongo *Diversispora* sp presentó simbiosis en cultivos de cacao en la investigación de Pacheco et al. (2022).

- **Biomasa fresca y biomasa seca**

En la Tabla 8 se presentan los valores de biomasa fresca y seca, tanto de la parte aérea como radicular, de las plántulas de cacao. En la biomasa fresca de la parte aérea, el tratamiento M3 (*Rhizogloium variable*) registró el valor más alto con 27,09 g, seguido de M2 con 23,68 g. Para la biomasa fresca radicular son estadísticamente iguales, pero destaca el M7 con 9.30g.

De manera similar, en la biomasa seca de la parte aérea, el tratamiento M3 (*R. variable*) alcanzó el mayor valor con 9,09 g, seguido de M7 (*Paragloium* sp.) con 7,68 g, destacándose significativamente frente al resto de tratamientos. En cuanto a la biomasa seca radicular, el mayor valor se obtuvo en M7 (*Paragloium* sp.) con 2,40 g, seguido de M2 (**Consorcio Micorrízico:** *Diversispora* sp.; *Rhizogloium intraradices*; *Nanogloium plukenetiae*; *Glomus microcarpum*) con 2,26 g, mientras que los demás tratamientos presentaron valores inferiores.

Tabla 8

Biomasa fresca y seca (g) en las plántulas de cacao

Tratamiento	Biomasa Fresca		Biomasa seca	
	Parte aérea (g)	Radicular (g)	Parte aérea (g)	Radicular (g)
CT	19.66 ± 2.02 ^{bcd}	8.11 ± 1.70 ^a	7.01 ± 0.77 ^{bc}	2.33 ± 0.42 ^{ab}
M1	18.72 ± 3.04 ^{ab}	7.82 ± 1.82 ^a	6.55 ± 1.16 ^{bc}	2.16 ± 0.66 ^{ab}
M2	23.68 ± 2.64 ^{ab}	7.51 ± 3.06 ^a	7.69 ± 0.75 ^{ab}	2.29 ± 0.42 ^{ab}
M3	27.09 ± 2.61 ^a	8.23 ± 1.84 ^a	9.09 ± 1.28 ^a	2.30 ± 0.49 ^{ab}
M4	19.80 ± 3.21 ^{bcd}	8.12 ± 1.03 ^a	6.66 ± 1.14 ^{bc}	2.24 ± 0.31 ^{ab}
M5	21.38 ± 3.41 ^{bc}	6.96 ± 1.08 ^a	7.32 ± 1.38 ^{bc}	1.72 ± 0.31 ^b
M6	16.71 ± 3.64 ^d	7.56 ± 1.08 ^a	5.79 ± 1.27 ^c	1.92 ± 0.46 ^{ab}
M7	21.86 ± 3.72 ^{bc}	9.30 ± 1.88 ^a	7.68 ± 1.51 ^{ab}	2.40 ± 0.53 ^a
p-values	p < 0.05		p < 0.05	
F-values	F= 6.91		F=2.47	

Nota. CT: control sin inoculación. M1–M7: tratamientos con diferentes especies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

Los resultados de biomasa fresca y seca constituyen indicadores clave del crecimiento vegetal, ya que reflejan la integración de los procesos fisiológicos y nutricionales durante el desarrollo morfológico. En este estudio se observaron diferencias entre tratamientos, destacando M3 (*Rhizoglyphus variabile*), que registró los valores más altos de biomasa tanto aérea como radicular. Estos resultados coinciden con lo reportado de Pérez-Díaz et al. (2023) quienes al trabajar con plántulas de cacao inoculadas con *Rhizoglyphus irregulares* y *Glomus cubense* obtuvieron incrementos de hasta un 39 % en biomasa seca respecto al control, con valores en el rango de 6,31–6,36 g. De manera similar, el estudio de Monte et al. (2025a) señalan que una simbiosis micorrízica eficiente promueve un mayor

desarrollo morfológico y acumulación de biomasa, principalmente por el incremento en la absorción de nutrientes esenciales.

➤ **Evaluación fisiológica en el desarrollo de las plántulas de cacao**

- **Área foliar en plántulas de cacao**

En la Figura 13 se presenta el área foliar promedio de las plántulas de cacao a los 150 días posterior a la siembra para los distintos tratamientos. El tratamiento M3 (*Rhizoglyphus variabile*) registró el mayor valor promedio de área foliar (277.78 cm²), seguido por M2 (253.42 cm²) y M5 (253.22 cm²). En contraste, el tratamiento M6 (*Diversispora sp.*) mostró el menor valor con un promedio de 226 cm², mientras que el control (CT) y los tratamientos M1 (*Acaulospora sp.*), M4 (*Funneliformis sp.*) y M7 (*Paraglyphus sp.*) se ubicaron en un rango intermedio (234–237 cm²).

Figura 13

Área Foliar (cm²) en plántulas de cacao



Nota. CT: control sin inoculación. M1–M7: tratamientos con diferentes especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA).

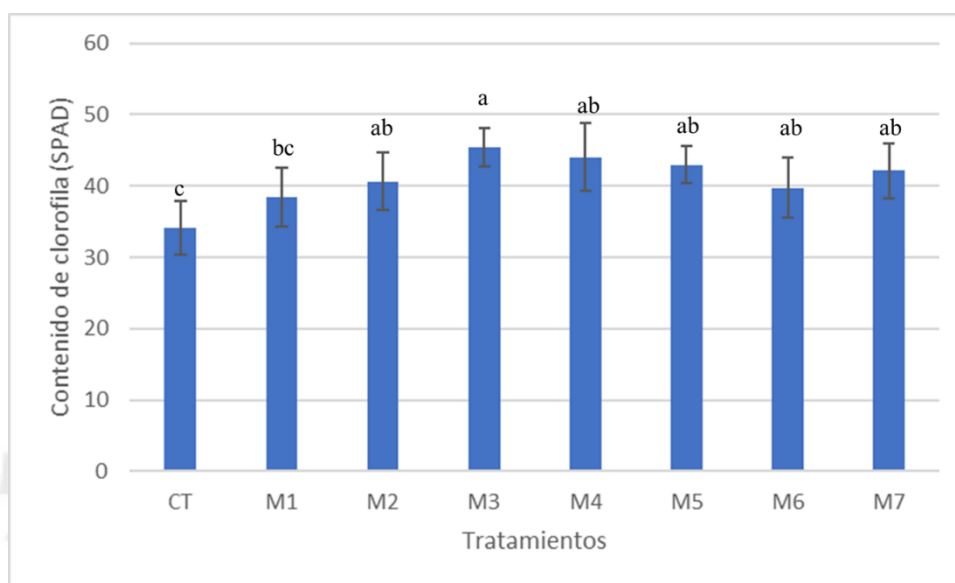
El área foliar constituye un indicador fundamental del desarrollo vegetativo, ya que refleja la capacidad fotosintética de la planta y su eficiencia en la utilización de recursos y el tratamiento M3 fue el que mayor destaque. Diversos estudios han demostrado que los HMA que favorecen el crecimiento vegetal al mejorar la absorción de nutrientes, efecto que se manifiesta en un incremento del área foliar. En la investigación de Cruz (2017) reportó que la inoculación con HMA en plántulas de cacao promovió un aumento significativo tanto en el área foliar como en la biomasa, semejándose a la presente investigación. De manera complementaria, el estudio de Tondjo et al. (2015) resalta que el área foliar es un factor determinante en el desarrollo morfológico, ya que se encuentra estrechamente relacionado con la producción de biomasa y el rendimiento de la planta.

- **Análisis de la cantidad de clorofila (SPAD)**

En la Figura 14 se presenta el contenido de clorofila en las plántulas de cacao, expresado en unidades SPAD. Se observaron diferencias entre los tratamientos, destacando el M3 (*Rhizoglopus variable*), que alcanzó el valor más alto con un promedio de 45 SPAD. Asimismo, los demás tratamientos inoculados mostraron valores superiores y estadísticamente diferentes en comparación con el control (CT), que registró el promedio más bajo con 34 SPAD, tal como se confirma en el análisis estadístico presentado en el Anexo II.

Figura 14

Contenido de clorofila en las hojas de la plántula de cacao



Nota. CT: control sin inoculación. M1–M7: tratamientos con diferentes especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA).

El contenido de clorofila fue significativamente mayor en los tratamientos inoculados a comparación del control el cual se encuentra en el Anexo II, este patrón concuerda con el rol de los hongos micorrícicos arbusculares influyendo en la nutrición de la planta. Se asemeja a la investigación de Flores et al. (2019) que utilizaron *Rizhoglopus intraradices* y *Glomus sp.* por medio de la metodología similar y todos los tratamientos que fue inoculado tuvo un resultado significativo a comparación de control. Además, mencionan que a mayor cantidad de clorofila influye en el crecimiento de la planta y se ve reflejado también en la biomasa y área foliar. Por lo que en la investigación de Fernandes, Oliveira, Silva, Junior, Fontes, & Fernandes (2021) menciona que la baja cantidad de clorofila se debe a un proceso de estrés abiótico ya que el proceso es fotosintético sensible por lo que podría explicarse al control ya que es una planta que no está inoculada por HMA.

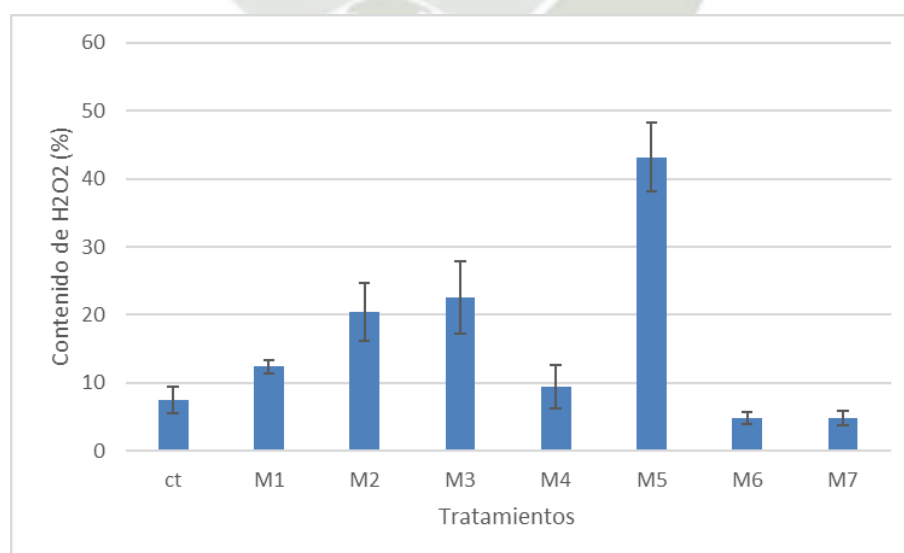
➤ *Evaluación enzimática en las plántulas de cacao*

- **Diaminobenzina (DAB)**

En la Figura 15 se presenta el contenido de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en las hojas de plántulas de cacao, expresado en porcentaje, determinado a partir de la coloración marrón producto de su reacción. Se observó una mayor acumulación de H_2O_2 en el tratamiento M5 (Consortio Micorrícico: *Acaulospora* sp.; *Paraglomus occultum*; *Nanoglomus plukenetiae*), que alcanzó el valor más alto con 43 %. En contraste, los tratamientos M6 (*Diversispora* sp.) y M7 (*Paraglomus* sp.) registraron los valores más bajos (5 %), incluso por debajo del control (CT) que presentó un promedio de 7 %. Los demás tratamientos mostraron valores intermedios, dentro de un rango comprendido entre 9 % y 23 % como se puede observar en el Anexo II la tabla de promedio.

Figura 15

Contenido de peróxido de hidrogeno en hojas



Nota. CT: control sin inoculación. M1–M7: tratamientos con diferentes especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA).

La producción y la eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS) son factores de defensa de las plantas; la evaluación del sistema de defensa antioxidante de plantas inoculadas con hongos micorrícicos arbúsculares (HMA) puede mejorar la tolerancia de las plántulas de cacao en diversos factores de estrés tanto abiótico o bióticos. En este estudio, se demostró que las plantas inoculadas con HMA presentaron niveles más bajos de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) tales como el tratamiento M6 (*Diversispora* sp.) y M7 (*Paraglomus* sp.). Se obtuvieron efectos similares en plantas de algodón inoculadas con *Paraglomus occultum*, en las cuales esta micorriza mitigó el aumento de H_2O_2 y potenció la actividad de las enzimas antioxidantes en la planta (D.-J. Zhang et al., 2024). De igual manera, las plántulas de sandía inoculadas con el hongo micorrízico *Glomus versiforme* mostraron una menor acumulación de radicales superóxidos O_2 y H_2O_2 en respuesta al déficit hídrico, lo que indica un menor daño por estrés oxidativo a las células vegetales en comparación con las plantas sin inocular (Y. Wang et al., 2016). El H_2O_2 se considera una molécula tóxica que induce daño oxidativo en las plantas. Por lo tanto, con base en los resultados de este estudio y el conocimiento existente en la literatura, podemos concluir que los hongos micorrícicos asociados a las raíces de las plántulas de cacao desempeñaron un papel importante en la eliminación de ROS, las cuales pueden dañar diversas moléculas biológicas, como proteínas y ácidos nucleicos en las plantas (Huang et al., 2017).

4.1.3. Evaluación de la absorción de nutrientes (N, P, K) en las hojas de la plántula de cacao.

- Contenido de NPK en hojas

En la Tabla 9 se presentan los valores de concentración foliar de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en las plántulas de cacao, se observó las variaciones en los

tratamientos evaluados. Para el nitrógeno (N), el mayor valor correspondió al tratamiento M3 (*Rhizoglopus variable*) con 170,94 mg.kg⁻¹, seguido por (Consortio Micorrícico: *Acaulospora* sp.; *Paraglopus occultum*; *Nanoglopus plukenetiae*) M5 (166,61 mg.kg⁻¹) y M2 (138,79 mg.kg⁻¹), mientras que el control (CT) registró el nivel más bajo (76,90 mg.kg⁻¹). En el caso del fósforo (P), el mayor contenido se observó en M2 (13,57 mg.kg⁻¹) y M1 (12,12 mg.kg⁻¹), en comparación con el control (1,45 mg.kg⁻¹) y M4 (2,02 mg.kg⁻¹), que presentaron los valores más bajos.

Respecto al potasio (K), los tratamientos M3 (94,62 mg.kg⁻¹) y M5 (89,99 mg.kg⁻¹) alcanzaron los niveles más altos, en contraste con el control (42,28 mg.kg⁻¹) que registró la menor concentración.

Tabla 9

Contenido foliar de macronutrientes (N, P, K) en plántulas de cacao

Tratamientos	Contenido de Nutriente (mg kg ⁻¹)		
	N	P	K
CT	76 90	1 45	42 28
M1	97 37	12 12	53 45
M2	138 79	13 57	64 42
M3	170 94	5 96	94 62
M4	105 95	2 02	52 71
M5	166 61	7 74	89 99
M6	125 47	4 14	64 86
M7	131 71	4 96	72 00

Los resultados de la Tabla 9 reflejan la influencia de los hongos micorrícicos en la captación de nutrientes en las hojas como nitrógeno, fosforo y potasio. El

tratamiento M3 presenta valores altos con respecto al NPK seguido del tratamiento 5, esto se puede deber a que el tratamiento 5 presentó mayor estrés como se evidenció en el análisis enzimático. En el estudio de Corazon-Guivin et al. (2024) menciona que el fosforo interviene en la absorción de potasio, en el caso que no haya una buena cantidad de fosforo, los valores de potasio son menores; a diferencia del estudio realizado donde el tratamiento 3 los valores de fosforo es de 5.96 y el valor de potasio es de 94.62, lo que significa que a pesar de que el valor del fosforo es bajo, hubo una buena absorción de potasio. Por otro lado, Asante et al. (2024) menciona en su investigación que la absorción de nitrógeno influye en la biomasa total, resaltando que el potencial de los hongos micorrízicos como *Rhizoglosum variable* quien destacó en la mayoría de los análisis realizados.

Los hongos micorrízicos arbusculares promueven una mayor eficiencia en la absorción de nutrientes, especialmente en suelos degradados y con bajo contenido de macronutrientes. Según Smith & Read (2008), los HMA incrementan su volumen de hifas extraradicales en suelos con uso agrícola intensivo, lo que amplía la superficie de exploración y favorece los procesos de intercambio catiónico en la rizósfera, beneficiando directamente a la planta hospedera.

De acuerdo con X. Wang et al. (2020), los HMA aumentan significativamente la absorción de fósforo (P), un nutriente que suele encontrarse en formas no disponibles en suelos ácidos o erosionados. En el presente estudio, los análisis previos del suelo Anexo N° 4 evidenciaron una deficiencia severa de fósforo, la cual fue mitigada tras la inoculación micorrízica. Este efecto se debe al mecanismo enzimático de las fosfatasa, que actúan como puentes de fosfato facilitando el transporte del fósforo desde su forma inorgánica hacia la planta. Así, los HMA funcionan como

biofertilizantes naturales, optimizando la disponibilidad y transferencia del fósforo (Vallejos Torres et al., 2022).

En cuanto al nitrógeno (N), los tratamientos inoculados mostraron mayores concentraciones foliares, lo que refleja una mejor simbiosis radicular y una mayor eficiencia en la absorción de nitrato. Según Kadanga et al. (2024), los HMA mejoran la biomasa radicular y estimulan el microbiota asociado a la rizosfera, lo que incrementa la mineralización del nitrógeno y reduce las pérdidas por lixiviación. Aunque los HMA no fijan directamente el nitrógeno atmosférico, promueven su uso eficiente y mejoran la retención de este elemento en comparación con los sistemas altamente dependientes de fertilizantes químicos.

Respecto al potasio (K), los suelos iniciales presentaron concentraciones moderadas, pero tras la inoculación micorrícica se observó un aumento en la retención y aprovechamiento del elemento en las plantas. Según (Han et al., 2025), demostraron que los HMA mejoran la captación de potasio en condiciones de baja disponibilidad mediante la activación de transportadores específicos, lo que fortalece la homeostasis iónica y el equilibrio nutricional de la planta.

En conjunto, los resultados obtenidos confirman que los hongos micorrícicos arbusculares son una alternativa viable y sostenible para reducir la dependencia de fertilizantes químicos en el cultivo de cacao. Su aplicación promueve un manejo agroecológico más equilibrado, que mejora la productividad del cultivo, conserva la salud del suelo y fortalece la resiliencia del sistema agrícola frente al deterioro causado por prácticas convencionales intensivas.

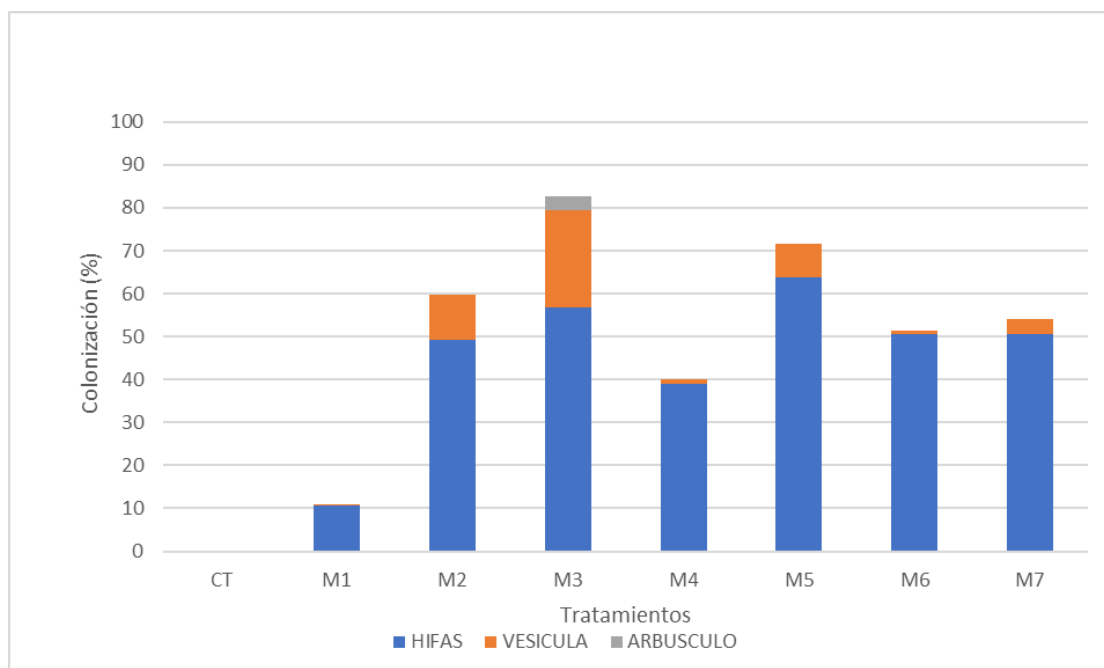
4.1.4. *Determinación de la colonización de hongos micorrícicos en plántulas de cacao*

- **Porcentaje de colonización en raíces de las plántulas de cacao**

En la Figura 16 se presenta el porcentaje de colonización micorrícica en las raíces de cacao, diferenciando las estructuras fúngicas observadas (hifas, vesículas y arbuscúlos). El tratamiento M3 (*Rizhoglomus variabile*) registró el mayor nivel de colonización con un 83 %, compuesto principalmente por hifas (57 %), seguido de vesículas (23 %) y una menor proporción de arbuscúlos (3 %). De manera similar, el tratamiento M5 (Consortio Micorrícico: *Acaulospora* sp.; *Paraglomus occultum*; *Nanoglomus plukenetiae*) alcanzó una colonización elevada, con un predominio del 64 % de hifas. En contraste, el tratamiento M1 (*Acaulospora* sp.) presentó una colonización considerablemente baja respecto a los demás, mientras que el control (CT) no evidenció estructuras de colonización. Los valores porcentuales detallados se encuentran en el Anexo II.

Figura 16

Porcentaje de colonización en raíces de las plántulas de cacao



Nota. CT: control sin inoculación. M1–M7: tratamientos con diferentes especies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

La colonización de raíces desempeña un papel importante ya que, por su relación simbiótica, ayuda a la absorción de nutrientes tales como el fosforo y otros nutrientes Hnini et al. (2024). En la investigación de Monte et al. (2025a) menciona que el género *Glomerales*, produce una mayor colonización por lo que la especie (*Rizhoglomus variable*) está dentro del grupo teniendo un mayor desarrollo y colonización en las plántulas de cacao. En la investigación de Corazon-Guivin et al. (2024a) muestra que la colonización con *Rhizoglomus variable* fue de 94.4 % y de *Nanoglomus plukenetiae* fue de 73.1% indicando que el M3 (*R. variable*) tuvo una mejor simbiosis en Sacha Inchi evidenciando resultados similares en la presente investigación.

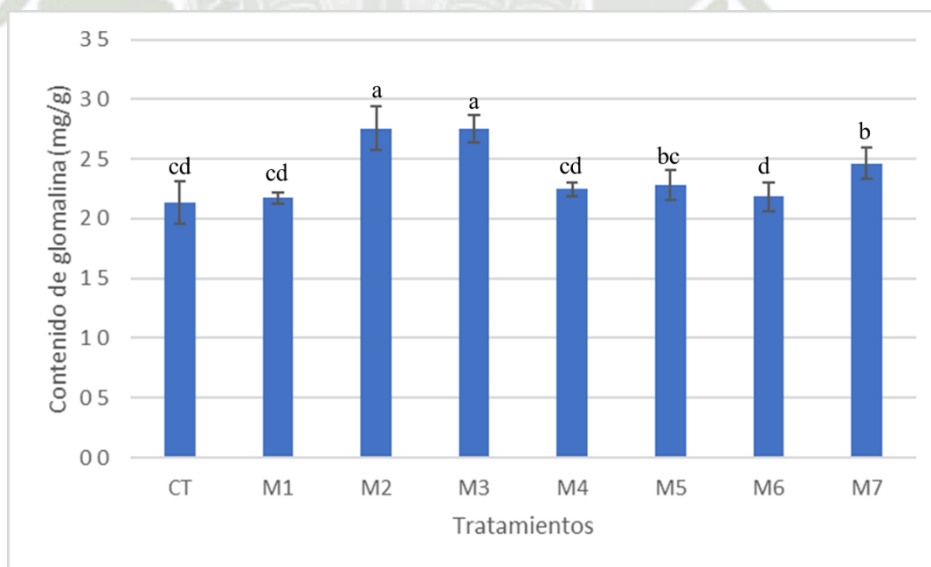
4.1.5 Evaluación de micelio extraradical (MER) y glomalina producidas por inóculos de micorrizas en plántulas de cacao

- Cuantificación de glomalina fácilmente extraíble en plántulas de cacao

En la Figura 17 se observa que el análisis de varianza evidenció diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$). Los tratamientos M2 (Consorcio Micorrícico: *Diversispora* sp.; *Rhizoglomus intraradices*; *Nanoglomus plukenetiae*; *Glomus microcarpum*) y M3 (*R. variable*) registraron los mayores valores de glomalina fácilmente extraíble, con un promedio de 2.75 mg g^{-1} en ambos casos. De manera adicional, el tratamiento M7 (*Paraglomus* sp.) alcanzó un valor intermedio de 2.46 mg g^{-1} a comparación del control y los otros tratamientos.

Figura 17

Contenido de glomalina fácilmente extraíble (mg/g) en el sustrato de las plántulas de cacao



Nota. CT: control sin inoculación. M1–M7: tratamientos con diferentes especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA).

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) producen glomalina, una glicoproteína recalcitrante considerada un marcador específico de su presencia en el suelo y se puede observar en la Figura 17 con el tratamiento M2 y M3 quienes tuvieron mayor glomalina. Las concentraciones de glomalina fácilmente extraíble (EEG) suelen variar entre 2 y 15 mg g⁻¹ en ecosistemas de clima templado (Lovelock et al., 2004). Sin embargo, en el estudio de Vallejos-Torres et al. (2024) realizado en la Amazonía se reportaron valores menores a 2 mg g⁻¹, lo que resulta relevante para comparar con los resultados del presente trabajo, donde los tratamientos M2 (Consorcio Micorrícico: *Diversispora sp.*; *Rhizogloium intraradices*; *Nanogloium plukenetiae*; *Glomus microcarpum*) y M3 (*Rizhogloium variabile*) alcanzó 2.75 mg g⁻¹, superando el rango reportado en suelos amazónicos.

De acuerdo con Lehmann et al. (2020), la glomalina desempeña un papel clave en el almacenamiento de carbono en el suelo, lo que explica que las plantas inoculadas con HMA presenten mayores contenidos de esta proteína, así como una mejora en la estabilidad de los agregados del suelo y, en consecuencia, un mayor crecimiento vegetal. De manera complementaria, el estudio de Pérez et al. (2019) reporta que la inoculación con *Rizhogloium intradices*, *Glomus macrocarpum* y un consorcio de HMA promovió la producción de glomalina, lo cual favoreció la fijación de nutrientes en el suelo y estimuló el desarrollo morfológico de las plantas de cacao.

- **Cuantificación de Micelio Extrarradical en plántulas de cacao**

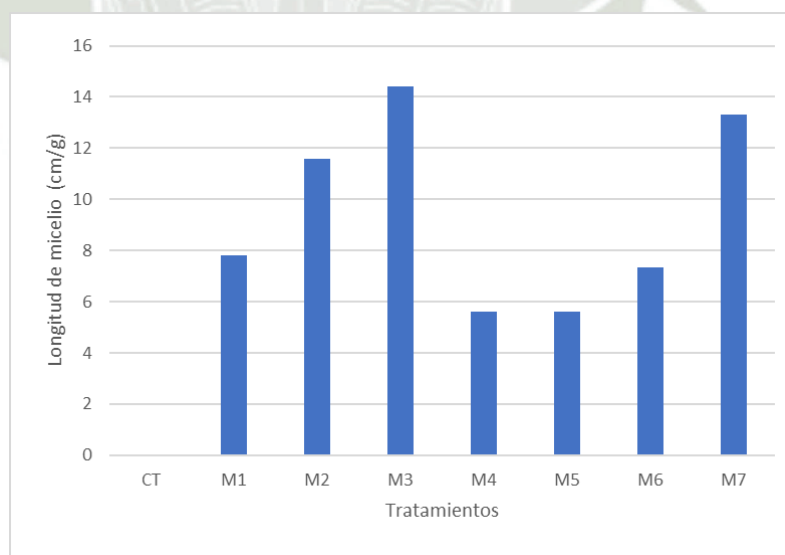
En la Figura 18 se presenta el micelio Extrarradical el cual es expresadas en metros por gramo de raíz. Se observaron diferencias claras entre tratamientos, donde el

mayor valor correspondió al M3 (*Rhizoglofus variabile*) con 14 cm/g, seguido de M7 (13 cm/g) y M2 (12 cm/g). El tratamiento M1 alcanzó un valor intermedio (8 cm/g), mientras que (*Diversispora* sp.) M6 (7 cm/g), (*Funneliformis* sp) M4 (6 cm/g) y (Consortio Micorrízico: *Acaulospora* sp.; *Paraglofus occultum*; *Nanoglofus plukenetiae*) M5 (6 cm/g) registraron las menores longitudes. En contraste, el control (CT) no presentó desarrollo de micelio externo.

Estos resultados reflejan que los tratamientos inoculados con (*Rhizoglofus variabile*) M3, (*Paraglofus* sp.) M7 y (*Diversispora* sp. *Rhizoglofus intraradices*; *Nanoglofus plukenetiae*; *Glomus microcarpum*) M2 favorecieron en mayor medida la formación de micelio externo en comparación con los demás tratamientos y el control.

Figura 18

Longitud de micelio Extrarradical (cm/g) en sustrato de plántulas de cacao



Nota. CT: control sin inoculación. M1–M7: tratamientos con diferentes especies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

El micelio extraradical se desarrolla fuera de las raíces y funciona como una extensión del sistema radicular, incrementando la superficie de absorción y prolongando la vida útil de las raíces absorbentes. Este penetra en las células de la raíz y en la corteza, donde se ramifica formando estructuras como los arbusculos, tal como se evidenció en la colonización radicular observada en el tratamiento M3 que tuvo presencia de arbusculos. Dicho proceso explica el mayor desarrollo morfológico de las plántulas, resultado del intercambio bidireccional de nutrientes entre el hongo y la planta por medio de su simbiosis mutualista. Además, diversos autores señalan que los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) contribuyen a la tolerancia frente a estreses ambientales, lo que guarda relación con los resultados obtenidos en el análisis enzimático (Goss et al., 2017)

Los hongos micorrízicos arbusculares se desarrollan por medio de la simbiosis con las plantas hospedantes por lo que se extiende al suelo a través del Micelio Extraradical (MER) demostrando en la investigación de (Gil-Cardeza et al., 2017) que inocularon con *Rhizophagus irregularis* por lo que adquirió mayor absorción de nutrientes por medio del micelio extraradical ya que está relacionado con la simbiosis del hospedante. Según Brito et al. (2019) en su estudio hace mención que el micelio extraradical mejoro significativamente el crecimiento de las plantas, comparando con esta investigación el tratamiento M3 y, M7 tuvo el mejor desarrollo morfológico, fisiológico.

Desde una perspectiva económica, los resultados de esta investigación evidencian que la aplicación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) constituye una alternativa técnica y financieramente viable para los productores de cacao, especialmente en regiones con suelos degradados o con limitada disponibilidad de

fertilizantes químicos. Diversos estudios han señalado que el uso de biofertilizantes puede reducir hasta en un 30 % el consumo de insumos sintéticos, al tiempo que mejora la productividad y sostenibilidad del sistema agrícola (Espinoza et al. 2014; MIDAGRI, 2023). En este estudio, el tratamiento M3 destacó en la mayoría de los parámetros evaluados, optimizando la absorción de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), lo que se traduce en una menor dependencia de fertilización química y una mayor estabilidad del sistema productivo. Este efecto se relaciona con la formación del micelio extraradical, que actúa como una extensión del sistema radicular y mejora la captación de nutrientes en suelos de baja fertilidad. Finalmente, la propagación local de los HMA mediante sustratos orgánicos de bajo costo refuerza su viabilidad técnica y económica, haciendo factible su implementación en viveros y parcelas cacaoteras, y promoviendo un modelo agroecológico rentable, sostenible y alineado con las políticas nacionales de agricultura sostenible MINAM & SERNANP (2023).

En esta investigación se planteó en un enfoque desde la ingeniería ambiental, donde la aplicación de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) se presenta como una estrategia altamente eficiente y de menor costo en comparación con los fertilizantes químicos utilizados comúnmente en la agricultura. Sin embargo, su potencial no se limita únicamente al ámbito agrícola, sino que puede extenderse a proyectos de restauración ecológica y conservación, contribuyendo a mitigar los procesos de degradación ambiental (Carrillo-Saucedo et al., 2022) . Según Zhang et al. (2024) los HMA pueden aplicarse con éxito en suelos alterados, demostrando su eficacia en la remediación y recuperación del microbiota edáfico mediante mecanismos biológicos sostenibles y de bajo costo. En este sentido, se puede

concluir que el uso de HMA en diferentes contextos productivos y ambientales constituye una herramienta ambientalmente superior y económicamente viable para la rehabilitación de ecosistemas degradados y el fortalecimiento de la sostenibilidad del suelo.





CAPITULO V

5. CONCLUSIÓN

PRIMERO: La determinación de los propágulos infectivos nos permitió comprobar la viabilidad de los inóculos y asegurar su potencial de colonización en las plántulas de cacao. Este procedimiento se utilizó principalmente como metodología de referencias para la estandarización.

SEGUNDO: El tratamiento con *Rhizogloium variable* (M3) se consolidó como el más eficiente, al registrar los mayores valores en diámetro del tallo, biomasa aérea y radicular, así como en área foliar, demostrando su efecto positivo en el desarrollo morfológico y fisiológico.

TERCERO: La inoculación con *Rhizogloium variable* (M3) mostró la mejor respuesta nutricional, elevando N y K foliar por encima del control aun con P moderado, lo que evidencia alta eficiencia de la simbiosis para favorecer N y K y respalda a M3 con una buena simbiosis.

CUARTO: se observó un elevado porcentaje de colonización radicular en el tratamiento con *Rhizogloium variable* (M3) alcanzando valores superiores al control, lo que explica los efectos positivos sobre el crecimiento y fisiología de las plántulas.

QUINTO Se comprobó que el micelio extraradical fue más abundante en el tratamiento con *Rhizogloium variable* (M3), superando los valores reportados en suelos amazónicos. Asimismo, la glomalina, reconocida como un componente clave para la estabilidad del suelo y la fijación de nutrientes, alcanzó su mayor concentración en el tratamiento M3. Este resultado se asoció directamente con una mejor respuesta morfológica y fisiológica de las

plántulas de cacao, confirmando el papel central de los HMA en la sostenibilidad del agroecosistema.

6. RECOMENDACIONES

- Comparar el suelo después de la siembra para cuantificar cambios en el contenido nutricional y contrastarlos con la línea base del suelo inicial en todos los tratamientos.
- Determinar la dosis óptima del inóculo para cultivos y/o variedades específicas, a fin de estandarizar la inoculación.
- Investigar en especies silvestres amenazadas, evaluando cómo la inoculación impacta su desarrollo morfológico y fisiológico.
- Ampliar el análisis enzimático incorporando otras enzimas relevantes, con el objetivo de comparar respuestas frente a factores ambientales.
- Realizar ensayos en campo para validar los datos obtenidos en condiciones controladas, evaluando la eficacia de los HMA en la absorción de nutrientes y productividad en condiciones reales del cultivo de cacao.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, R., Corazon, M., & Cerna, A. (2021). *Estudio de la diversidad de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) en el cultivo de Sacha Inchi (Plukenetia volubilis L.), en la región San Martín*. <https://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/4124>
- Aggangan, N. S., Cortes, A. D., & Reaño, C. E. (2019). Growth response of cacao (*Theobroma cacao* L.) plant as affected by bamboo biochar and arbuscular mycorrhizal fungi in sterilized and unsterilized soil. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22, 101347. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101347>
- Agnihotri, R., Sharma, M., Bucking, H., Dames, J., & Bagyaraj, D. (2022). Methods for assessing the quality of AM fungal bio-fertilizer: Retrospect and future directions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(6), 97. <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03288-3>
- Anckaert, A., Declerck, S., Poussart, L.-A., Lambert, S., Helmus, C., Boubsi, F., Steels, S., Argüelles-Arias, A., Calonne-Salmon, M., & Ongena, M. (2024). The biology and chemistry of a mutualism between a soil bacterium and a mycorrhizal fungus. *Current Biology*, 34(21), 4934-4950.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2024.09.019>
- Araujo, A., & Collahuazo, R. (2019). Producción de Biofertilizantes a Partir de Microalgas. *CEDAMAZ*, 2. <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/cedamaz/article/view/648>
- Armas Vega, F. V. (2024). Beneficios de la agricultura regenerativa en la salud del suelo. *RECIAMUC*, 8(2), 665–677. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/8.\(2\).abril.2024.665-677](https://doi.org/10.26820/reciamuc/8.(2).abril.2024.665-677)
- Asante, W., Adomako, D., & Tetteh, E. (2024). Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Seedlings Growth. *Tropical Agriculture*, 1, 45–56.
- Avila, A., Campos, S., & Falguni, S. (2013). *Aprendiendo e innovando sobre el manejo de fertilidad de suelos cacateros*. https://cadenacacaoca.info/CDOC-Deployment/documentos/19_Guia_4_Fertilidad_de_Suelos.pdf
- Baltruschat, H., Santos, V. M., da Silva, D. K. A., Schellenberg, I., Deubel, A., Sieverding, E., & Oehl, F. (2019). Unexpectedly high diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in fertile Chernozem croplands in Central Europe. *CATENA*, 182, 104135. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2019.104135>

- Barreto de Novais, C. (2017). *Técnicas Básicas em Micorrizas Arbusculares* (Cândido Barreto de Novais, Ed.). UFLA.
- Berruti, A., Lumini, E., Balestrini, R., & Bianciotto, V. (2016). Arbuscular Mycorrhizal Fungi as Natural Biofertilizers: Let's Benefit from Past Successes. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01559>
- Blazzkowski J. (2012). *Glomeromycota* (M. Zbigniew, w Jan, & Wojcicki, Eds.). https://www.researchgate.net/publication/271264049_Blazzkowski_J_2012_Glomeromycota_Book_review
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brito, I., Goss, M. J., Alho, L., Brígido, C., van Tuinen, D., Félix, M. R., & Carvalho, M. (2019). Agronomic management of AMF functional diversity to overcome biotic and abiotic stresses - The role of plant sequence and intact extraradical mycelium. *Fungal Ecology*, 40, 72-81. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.06.001>
- Cardoza, A., El Mujtar, V., & Alvarez, V. (2021). Manual para la elaboración de biofertilizante a partir de desecho. *Fontagro* . https://www.fontagro.org/new/uploads/productos/16680_-_Producto_5.pdf
- Carrillo, S., Puente, J., Montes, S., & Cruz, R. (2022). Las micorrizas como una herramienta para la restauración ecológica. *Acta Botanica Mexicana*, 129. <https://doi.org/10.21829/abm129.2022.1932>
- CEPAL. (2018). La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible Una oportunidad para América Latina y el Caribe. (LC/G.2681-P/Rev.3). <https://www.cepal.org/es/publicaciones/40155-la-agenda-2030-objetivos-desarrollo-sostenible-oportunidad-america-latina-caribe>
- CEPAL. (2024). *Balance Preliminar de las Economías de América Latina y el Caribe, 2024. I*. <https://www.cepal.org/es/publicaciones/81104-balance-preliminar-economias-america-latina-caribe-2024>
- Cerda, R., Mata-Quirós, A., & Ramírez, J. (2021). *Guia de Fertilización de cacao* . <https://bpp.org.do/wp-content/uploads/2022/12/Guia-Fertilizacion-Cacao.pdf>
- Corazon-Guivin, M. A., Rengifo del Aguila, S., Corrêa, R. X., Cordova-Sinarahua, D., Costa Maia, L., Alves da Silva, D. K., Alves da Silva, G., López-García, Á., Coyne, D., & Oehl, F. (2024a). Native Arbuscular Mycorrhizal Fungi Promote *Plukenetia volubilis* Growth and Decrease the

- Infection Levels of *Meloidogyne incognita*. *Journal of Fungi*, 10(7), 451.
<https://doi.org/10.3390/jof10070451>
- Corazon-Guivin, M. A., Rengifo del Aguila, S., Corrêa, R. X., Cordova-Sinarahua, D., Costa Maia, L., Alves da Silva, D. K., Alves da Silva, G., López-García, Á., Coyne, D., & Oehl, F. (2024b). Native Arbuscular Mycorrhizal Fungi Promote *Plukenetia volubilis* Growth and Decrease the Infection Levels of *Meloidogyne incognita*. *Journal of Fungi*, 10(7), 451.
<https://doi.org/10.3390/jof10070451>
- Cruz, J. (2017). *Respuesta de Cacao (Theobroma cacao L.) y Teca (Tectona grandis Lf) a la micorrización durante la etapa de vivero* [Universidad Nacional Agraria]. 10.13140/RG.2.2.19183.97440
- Cuadros G., Guillermo Andrés, Gómez S., & Raúl; Rodríguez L. (2011). Asociación simbiótica entre hongos micorrízicos arbusculares y el sistema radicular de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.): efecto de la formononetina y la disponibilidad de fósforo en el suelo. *Ciencia y Tecnología Agorpecuaria*, 12(0122–8706).
<https://www.redalyc.org/pdf/4499/449945030009.pdf>
- Daymond, A., Giraldo, D., & Hadley, P. (2022). Guía global para los sistemas de cultivo de cacao. *University of Reading* .
- Dorado, E., Gavilanes Muñoz, H. R., Viera Aguilera, R. A., Morejón Troya, F. J., & Bajaña Sánchez, A. F. (2024). Complejos micorrícicos asociados al cultivo de plántulas de cacao (*theobroma cacao* l.). *Conocimiento Global*, 9(2), 117–131. <https://doi.org/10.70165/cglobal.v9i2.393>
- Dostert, N., Roque, J., & Cano Asunción. (2011). Hoja botánica: Cacao “*Theobroma cacao* L.” *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*.
http://www.botconsult.com/downloads/Hoja_Botanica_Cacao_2012.pdf
- Douds, D. D., Wilson, D. O., Seidel, R., & Ziegler-Ulsh, C. (2016a). A method to minimize the time needed for formation of mycorrhizas in sweet corn seedlings for outplanting using AM fungus inoculum produced on-farm. *Scientia Horticulturae*, 203, 62–68.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.03.015>
- Douds, D. D., Wilson, D. O., Seidel, R., & Ziegler-Ulsh, C. (2016b). A method to minimize the time needed for formation of mycorrhizas in sweet corn seedlings for outplanting using AM fungus inoculum produced on-farm. *Scientia Horticulturae*, 203, 62–68.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.03.015>
- El Comercio. (2022, September 31). *El cultivo de cacao: de problema ambiental a solución sostenible*. El Comercio.
<https://especial.elcomercio.pe/perusostenible/el-cultivo-de-cacao-de-problema-ambiental-a-la-solucion-sostenible/>

- Espinoza, J., Pajarito, A., & Triana, M. (2014). Evaluación económica de la utilización de biofertilizantes en parcelas de productores de frijol de temporal en el estado de durango . *Revista Mexicana de Agronegocios* , 35(1405–9282).
- Farias, K. S., Ferreira, M. M., Amaral, G. V., Zugaib, M., Santos, A. S., Gomes, F. P., Rezende, R. P., Gramacho, K. P., Aguiar, E. R. G. R., & Pirovani, C. P. (2023). BASIDIN as a New Protein Effector of the Phytopathogen Causing Witche's Broom Disease in Cocoa. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(14), 11714. <https://doi.org/10.3390/ijms241411714>
- Fernandes, M., Oliveira, C., Silva, A., Junior, L. F., Fontes, P., & Fernandes, M. (2021). The inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi improved ecophysiological and growth parameters of Schinus terebinthifolius and Caesalpinia ferrea in degraded mining sites. *Environmental Challenges*, 4, 100181. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100181>
- Fernandes, M., Oliveira, C., Silva, A., Junior, L. F., Fontes, P. T. N., Fernandes, M. R. de M., Oliveira, D. D. S., Santos, C. dos, Filho, R. N. de A., Filho, R. R. G., Piscocoy, V. C., Piscocoy, T. O. F., & Filho, M. C. (2021). The inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi improved ecophysiological and growth parameters of Schinus terebinthifolius and Caesalpinia ferrea in degraded mining sites. *Environmental Challenges*, 4, 100181. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100181>
- Firdu, Z., & Dida, G. (2024). Extraction, identification and mass production of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from faba bean (*Vicia faba* L.) rhizosphere soils using maize (*Zea mays* L.) as a host plant. *Heliyon*, 10(17), e36838. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36838>
- Flores, E., Corazon, M., & Romero, G. (2019). *Efecto de especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares en plántulas de Coffea arabica L., variedad caturra en condiciones de vivero en la región San Martín.* <https://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/3279>
- Gil-Cardeza, M., Calonne, M., Gómez, E., & Declerck, S. (2017). Short-term chromium (VI) exposure increases phosphorus uptake by the extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* MUCL 41833. *Chemosphere*, 187, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.079>
- Giovannetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular infection in roots. *New Phytologist*, 84(3), 489–500. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x>
- Goss, M. J., Carvalho, M., & Brito, I. (2017). Diversity in Arbuscular Mycorrhizal Fungi * *With Clarisse Brígido. In *Functional Diversity of*

- Mycorrhiza and Sustainable Agriculture* (pp. 59–79). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804244-1.00004-6>
- Guerrero, F. (2019). Cultivo de Cacao (*Theobroma cacao* linnaeus) como Rubro para la Sustentabilidad de los Suelos. *INDTEC, C.A*, 4.
<https://www.redalyc.org/journal/5636/563659492005/html/>
- Han, A.-Q., Chen, S.-B., Zhang, D.-D., Liu, J., Zhang, M.-C., Wang, B., Xiao, Y., Liu, H.-T., Guo, T.-C., Kang, G.-Z., & Li, G.-Z. (2025). Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on the Growth and Nutrient Uptake in Wheat Under Low Potassium Stress. *Plants*, 14(9), 1288.
<https://doi.org/10.3390/plants14091288>
- Herrera, S., Herrera, M., & Rivera, J. M. (2023). Revisión sistemática en torno a los hongos micorrízicos arbusculares y su importancia ecológica. *Revista Chapingo Serie Agricultura Tropical*, 3(2), 1–18.
<https://doi.org/10.5154/r.rchsagt.2022.03.07>
- Hnini, M., Homadi, C., Aurag, J., & Chamkhi, I. (2024). Morpho-diversity and abundance of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) colonized the rhizospheric soils of two endemic plants localized in sud of Morocco. *The Microbe*, 4, 100133. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100133>
- Horneck, D., & Miller, R. (1998). Determinación del nitrógeno total en el tejido vegetal. *Manual de Métodos de Referencia Para El Analisis de Plantas* .
- Huaman, O. (2023). Observatorio de COMMODITIES cacao . *MIDAGRI* .
<https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/5264502/%20Commodities%20Cacao%3A%20ene-mar%202023.pdf?v=1697059698>
- Huamán, O., & Sánchez, K. (2023). *Observatorio Commodites “Cacao”* (N.º 2021-07002).
- Huang, Y.-M., Zou, Y.-N., & Wu, Q.-S. (2017). Alleviation of drought stress by mycorrhizas is related to increased root H₂O₂ efflux in trifoliolate orange. *Scientific Reports*, 7(1), 42335. <https://doi.org/10.1038/srep42335>
- ICCO. (2025, February 28). *Boletín trimestral de estadísticas del cacao de febrero de 2025*. <https://www.icco.org/February-2025-Quarterly-Bulletin-of-Cocoa-Statistics/>.
- Jakobsen, I., Abbott, L. K., & Robson, A. D. (1992). External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. *New Phytologist*, 120(3), 371–380.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1992.tb01077.x>
- Kadanga, P., Tchabi, A., Ablede, K. A., M BOUMBA, E. B., Exonam Ametefe, K., & Kondow, M. (2024). The Potential Evaluation of Mycorrhizal Inoculation on the Growth of Young Cocoa Plants (*Theobroma cacao* L.) Hybrid P7 x IMC67 in Greenhouse. *International Journal of Current*

Microbiology and Applied Sciences, 13(2), 129–139.
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2024.1302.018>

- Kwashie, G. K. S., Kaba, J. S., Appiah-Kubi, Z., Abunyewa, A. A., Asare, A. Y., Agyei, E. K., & Muhammed, H. (2023). Synergic effect of Arbuscular mycorrhizal fungi and potassium fertilizer improves biomass-related characteristics of cocoa seedlings to enhance their drought resilience and field survival. *Open Agriculture*, 8(1). <https://doi.org/10.1515/opag-2022-0239>
- Lehmann, A., Zheng, W., Ryo, M., Soutschek, K., Roy, J., Rongstock, R., Maaß, S., & Rillig, M. C. (2020). Fungal Traits Important for Soil Aggregation. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02904>
- Lessmann, M., Kanellopoulos, A., Kros, J., Orsi, F., & Bakker, M. (2024). A spatially explicit assessment on the carrying capacity of livestock under minimum feed imports and artificial fertilizer use in Dutch agriculture. *Agricultural Systems*, 220, 104092. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2024.104092>
- Li, Z., Xu, S., Li, Y., & Arai, Y. (2020). Novel Application of Hybrid Anion Exchange Resin for Phosphate Desorption Kinetics in Soils: Minimizing Re-Adsorption of Desorbed Ions. *Soil Systems*, 4(2), 36. <https://doi.org/10.3390/soilsystems4020036>
- Llanos Gómez, K. J., Silva Manco, M. Julia, Arce Inga, M., Sanchez Santillan, T., & Leiva Espinoza, S. T. (2023). Identificación morfológica de hongos micorrízicos arbusculares en plantaciones de cacao en la región Amazonas, Perú. *Manglar*, 20(1), 7–14. <https://doi.org/10.57188/manglar.2023.001>
- Lovelock, C. E., Wright, S. F., Clark, D. A., & Ruess, R. W. (2004). Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. *Journal of Ecology*, 92(2), 278–287. <https://doi.org/10.1111/j.0022-0477.2004.00855.x>
- Ma, J., Zhao, Q., Zaman, S., Anwar, A., & Li, S. (2024). The transcriptomic analysis revealed the molecular mechanism of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) inoculation in watermelon. *Scientia Horticulturae*, 332, 113184. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113184>
- MIDAGRI. (2023, September 29). *Perú, centro de origen y productor mundial de cacao orgánico*. <https://www.gob.pe/institucion/midagri/noticias/841797-peru-centro-de-origen-y-productor-mundial-de-cacao-organico>.
- MIDAGRI. (2024). *Existencias de cacao en el mundo*. <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/7958599/5316298-commodities-cacao-n-02-2024.pdf>.

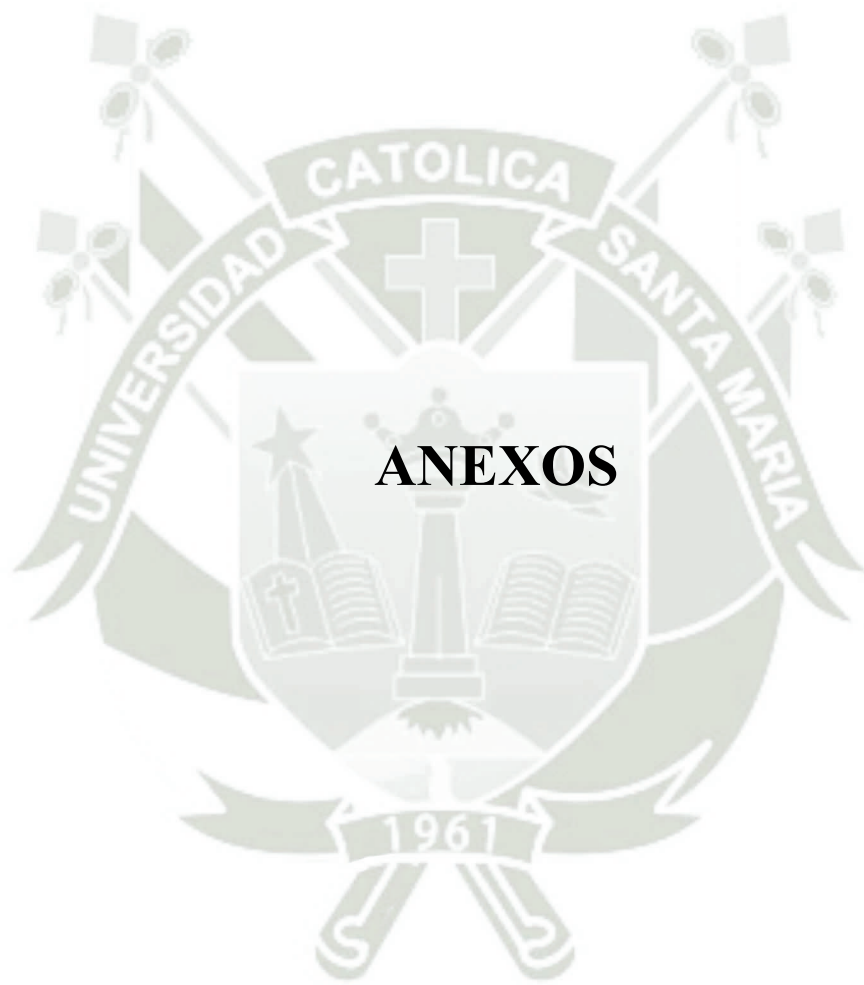
- Miller, R. M., & Jastrow, J. D. (2000). Mycorrhizal Fungi Influence Soil Structure. In *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function* (Vol. 2, pp. 3–18). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-0776-3_1
- MINAGRI. (2016). *Estudio del CACAO en el Perú y en el Mundo*. <https://camcafeperu.com.pe/admin/recursos/publicaciones/Estudio-cacao-Peru-y-Mundo.pdf>
- MINAM, & SERNANP. (2023). San Martín: Productores de cacao son beneficiados con proyecto para impulsar actividades económicas en Parque Nacional Cordillera Azul. *Gob.Pe*.
- MINCETUR. (2024, June). *Reporte de Comercio Regional I Semestre 2024*. <https://www.gob.pe/institucion/mincetur/informes-publicaciones/6422337-report-de-comercio-report-comercio-regional-rcr-junin-2024-i-semestre>
- Monte, Assis, D., Silva, D., Maia, L., & Yano-Melo, A. (2025a). Combined inoculation of ancestral and derived lineages of arbuscular mycorrhizal fungal species promotes better development of *Passiflora foetida* L. seedlings. *Scientia Horticulturae*, 345, 114139. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2025.114139>
- Monte, I. P., Assis, D. M. A., Silva, D. K. A., Maia, L. C., & Yano-Melo, A. M. (2025b). Combined inoculation of ancestral and derived lineages of arbuscular mycorrhizal fungal species promotes better development of *Passiflora foetida* L. seedlings. *Scientia Horticulturae*, 345, 114139. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2025.114139>
- Nosheen, S., Ajmal, I., & Song, Y. (2021). Microbes as Biofertilizers, a Potential Approach for Sustainable Crop Production. *Sustainability*, 13(4), 1868. <https://doi.org/10.3390/su13041868>
- Pacheco, A., Naranjo, J., Reyes, G., Oviedo, J., Ratti, M., & Barcos, M. (2022). Discovering the Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Associated with Two Cultivation Practices of *Theobroma cacao*. *Diversity*, 14(8), 651. <https://doi.org/10.3390/d14080651>
- Pérez, U., Ramírez, M., Serralde, D., & Peñaranda, A. (2019). Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) como estrategia para reducir la absorción de cadmio en plantas de cacao (*Theobroma cacao*). *Revista Terra Latinoamericana*, 37(2), 121. <https://doi.org/10.28940/terra.v37i2.479>
- Pérez-Díaz, A., Aranda-Azaharez, R., Rivera-Espinosa, R. A., Bustamante-González, C. A., & Pérez-Suarez, Y. (2023). Indicadores de calidad para posturas microinjetadas de *Theobroma cacao* inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares. *Agronomía Mesoamericana*, 51102. <https://doi.org/10.15517/am.v34i2.51102>

- Ramos, J., & Guadarrama, P. (2004). Los hongos micorrizogenos arbusculares en la restauración de comunidades tropicales . *Universidad y Ciencia**Universidad y Ciencia*.
<https://www.redalyc.org/pdf/154/15409908.pdf>
- Raya Montaña, Y. A., Apáez Barrios, P., Aguirre Paleo, S., Vargas Sandoval, M., Paz Da Silva, R., & Lara-Chávez, Ma. B. N. (2019). Identificación de hongos micorrizógenos arbusculares en huertos de aguacate de Uruapan, Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 23, 267–276.
<https://doi.org/10.29312/remexca.v0i23.2026>
- Rivero, M., Crespo, E., & Molina, M. (2014). *Diversidad diferencial de esporas de Glomeromycota en la rizosfera de Bromeliáceas nativas del Parque Nacional Sierra de Las Quijadas (San Luis, Argentina)*. 0373–580, 317–325.
https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/7016/CONICET_Digital_Nro.9618_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Rodriguez, C. (2024). *Una resiliente América Latina aprovecha la crisis del cacao, pese la caída de la producción de Brasil*. Bloomberg Línea .
<https://www.bloomberglinea.com/mercados/una-resiliente-america-latina-aprovecha-la-crisis-del-cacao-pese-la-caida-de-la-produccion-de-brasil/>
- Singh, A., & Singh, N. B. (2015). *Plant-nanoparticle interaction: an approach to improve agricultural practices and plant productivity*. *Int J Pharm Sci Invent*. 4(8). https://www.researchgate.net/publication/286452652_Plant-nanoparticle_interaction_An_approach_to_improve_agricultural_practices_and_plant_productivity#fullTextFileContent
- Slaughter, L. C., Nelson, J. A., Carlisle, A. E., Bourguignon, M., Dinkins, R. D., Phillips, T. D., & McCulley, R. L. (2019). Tall Fescue and *E. coenophiala* Genetics Influence Root-Associated Soil Fungi in a Temperate Grassland. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02380>
- Smith, S. E., & Read, D. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis* (Vol. 3).
- Tennant, D. (1975). A Test of a Modified Line Intersect Method of Estimating Root Length. *The Journal of Ecology*, 63(3), 995.
<https://doi.org/10.2307/2258617>
- Tondjo, K., Brancheriau, L., Sabatier, S.-A., Kokutse, A. D., Akossou, A., Kokou, K., & Fourcaud, T. (2015). Non-destructive measurement of leaf area and dry biomass in *Tectona grandis*. *Trees*, 29(5), 1625–1631.
<https://doi.org/10.1007/s00468-015-1227-y>
- Tuesta-Pinedo, Á. L., Trigozo-Bartra, E., Cayotopa-Torres, J. J., Arévalo-Gardini, E., Arévalo-Hernández, C. O., Zúñiga-Cernadez, L. B., & Leon-Tacca, B. (2017). Optimización de la fertilización orgánica e inorgánica del cacao (*Theobroma Cacao* L.) con la inclusión de *Trichoderma* endófito y

- Micorrizas arbusculares. *Revista Tecnología En Marcha*, 30(1), 67.
<https://doi.org/10.18845/tm.v30i1.3086>
- Urgiles, N., & Lalangui, C. (2019). Aislamiento y caracterización morfológica de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) de zonas riparias del Sur del Ecuador: un enfoque a la producción de biofertilizantes. *Cedamaz*, 1(1390–5902). <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/cedamaz/article/view/700/592>
- Vallejos-Torres, G., Mendoza-López, K., Ordoñez-Sánchez, L., Lozano Sulca, Y. T., Gaona-Jiménez, N., & Baselly-Villanueva, J. R. (2024). Niveles de glomalina y carbono en función de los agregados del suelo en la Amazonia Peruana. *Bioagro*, 36(3), 375–382. <https://doi.org/10.51372/bioagro363.11>
- Van Kooni, A. (2006). Agricultura Organica El suelo . *Estación Experimental Agropecuaria* . [https://www.ciaorganico.net/documypublic/498_script-tmp-inta_material_didactico_nro_01_\(1\).pdf](https://www.ciaorganico.net/documypublic/498_script-tmp-inta_material_didactico_nro_01_(1).pdf)
- Vera, Y. (2024). *Efecto de la poda y fertilización organica y convencional en el cultivo de cacao (Theobroma cacao L.) en el Cantón Naranjal*. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/VERA%20VELASQUEZ%20YVANN A%20MAYTE.pdf>
- Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U., & Piché, Y. (1998). Ink and Vinegar, a Simple Staining Technique for Arbuscular-Mycorrhizal Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(12), 5004–5007. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.12.5004-5007.1998>
- Wang, X., Hoffland, E., Feng, G., & Kuyper, T. W. (2020). Arbuscular mycorrhizal symbiosis increases phosphorus uptake and productivity of mixtures of maize varieties compared to monocultures. *Journal of Applied Ecology*, 57(11), 2203–2211. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13739>
- Wang, Y., Yang, R., Zheng, J., Liu, C., Li, H., Ma, J., Zhang, Y., Wei, C., & Zhang, X. (2016). Regulation of Plant Growth, Photosynthesis, Antioxidation and Osmosis by an Arbuscular Mycorrhizal Fungus in Watermelon Seedlings under Well-Watered and Drought Conditions. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00644>
- Zhang, D.-J., Tong, C.-L., Wang, Q.-S., & Bie, S. (2024). Mycorrhizas Affect Physiological Performance, Antioxidant System, Photosynthesis, Endogenous Hormones, and Water Content in Cotton under Salt Stress. *Plants*, 13(6), 805. <https://doi.org/10.3390/plants13060805>
- Zhang, X., Wang, Z., Lu, Y., Wei, J., Qi, S., Wu, B., & Cheng, S. (2024). Sustainable Remediation of Soil and Water Utilizing Arbuscular Mycorrhizal Fungi: A Review. *Microorganisms*, 12(7), 1255. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12071255>

Zhang, Y., Xie, M., Feng, H., Zhou, M., Zhang, Z.-Z., Liu, C.-Y., & Wu, Q.-S. (2018). Common mycelium networks with *Paraglomus occultum* induce better plant growth and signal substance changes between trifoliolate orange seedlings. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 17(6), 95–104. <https://doi.org/10.24326/asphc.2018.6.10>





ANEXO I

Reporte Taxonómico

LABORATORIO DE BIOLOGÍA Y GENÉTICA MOLECULAR

**REPORTE DE ESPECIES DE HONGOS MICORRÍDICOS
ARBUSCULARES**

Lugar de procedencia: Banco de Germoplasma del Laboratorio de Biología y Genética Molecular de la Universidad Nacional de San Martín.

Ubicación: Tarapoto, San Martín, Perú.

Referencia UTM: 347427.00 m E y 9282758.00 m S

*Glomus microcarpum***Taxonomía**

Reino: Fungi

División: Glomeromycota

Clase: Glomeromycetes

Orden: Glomerales

Familia: Glomeraceae

Género: Glomus

Especie: *Glomus microcarpum*

Descripción morfológica

Esporas de color amarillo pálido a amarillo dorado, de 39 μm de diámetro en promedio, con un rango de 22 y 55 μm (algunos casos). La capa de la pared de la espora hialina tiene un grosor de 1 μm cuando promedio está intacta, variando de 0.5 a 1.5 μm . La capa de la pared de la espora de (1.0-) 1.9 (-2.9) μm ; se tiñe de rojo pardusco a marrón violeta cuando es expuesta a MELZER. La hifa subyacente es de forma cilíndrica de (5,4-) 6.3 (-6.9) μm de grosor. Esporocarpos ovoides o irregulares de 4-6 x 8-12 mm (Figura 01) (Blaszkowski J., 2012).

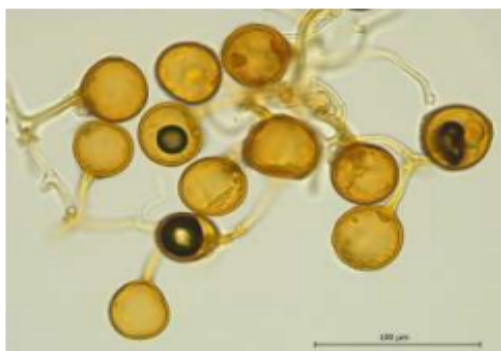


Figura 1. Esporas de *Glomus microcarpum* con PVLG + MELZER

LABORATORIO DE BIOLOGÍA Y GENÉTICA MOLECULAR

*Rhizoglopus variabile***Taxonomía****Reino:** Fungi**División:** Glomeromycota**Clase:** Glomeromycetes**Orden:** Glomerales**Familia:** Glomeraceae**Género:** *Rhizoglopus***Especie:** *Rhizoglopus variabile***Descripción morfológica**

Esporas de color amarillo dorado-marrón a amarillo marrón, globosas a subglobosas (rara vez irregulares oblongas), con un tamaño de (30) 70-185 x (30)65-160 μm , formadas terminalmente en hifas subyacentes cilíndricas de forma individual o en grupos de 2-50 esporas. La pared de la espora está compuesta por 3 capas: Capa externa, hialina de 0.8-1.5 μm de grosor; capa media, amarillo dorado a amarillo brillante de 1.6-2.6(3.2) μm de grosor; y capa interna, color amarillo claro a amarillo brillante de 1.1-2 μm de grosor. Las hifas subyacentes pueden medir 9 a 18 μm de ancho y 150-200 μm de largo (Figura 2.) (Song et al., 2019).

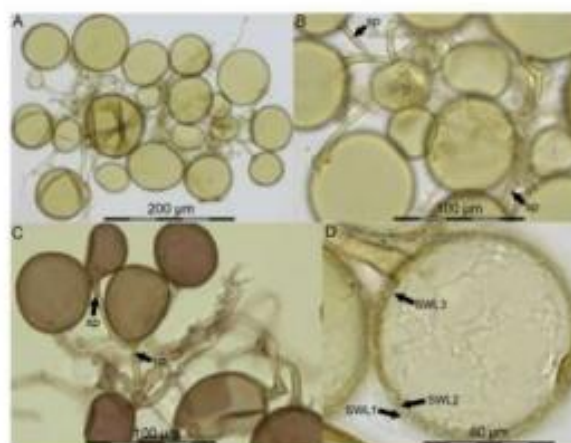


Figura 2. Esporas de *Rhizoglopus variabile* A- B. Grupo de esporas en PVLG con esporas de tamaño muy variable. C. Fragmento de grupo de esporas en PVLG y reactivo de Melzer. Las esporas pigmentadas y las hifas subyacentes, así como las hifas del micelio hialino, se tiñen de púrpura rosado a púrpura. D. Espora en PVLG con tres capas (SWL1, 2, 3) y una hifa subyacente ligeramente embudoide.

LABORATORIO DE BIOLOGÍA Y GENÉTICA MOLECULAR

*Acaulospora* sp.**Taxonomía****Reino:** Fungi**División:** Glomeromycota**Clase:** Glomeromycetes**Orden:** Diversisporales**Familia:** Acaulosporaceae**Género:** Acaulospora**Especie:** *Acaulospora* sp.**Descripción morfológica**

Las esporas se forman secuencialmente en una o dos paredes internas hialinas, discretas y separadas, flexibles a semiflexibles, hacia el centro de la espora. En algunas especies de *Acaulospora*, se describe que la pared interna 1 de sus esporas está compuesta por una sola capa. Sin embargo, según Morton (2002), puede ser bicapa como en la mayoría de las demás especies de *Acaulospora*, pero con solo una capa visible. Después de que ambas paredes internas están completamente diferenciadas, se sintetiza un poro pregerminativo en la superficie superior de la pared más interna (Figura 3) (Błaszowski J., 2012).

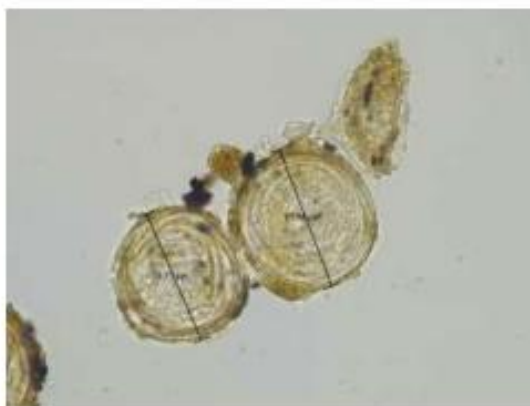


Figura 3. Esporas de *Acaulospora* sp. montadas con PVLG

LABORATORIO DE BIOLOGÍA Y GENÉTICA MOLECULAR

*Diversispora* sp.**Taxonomía****Reino:** Fungi**División:** Glomeromycota**Clase:** Glomeromycetes**Orden:** Diversisporales**Familia:** Diversisporaceae**Género:** *Diversispora***Especie:** *Diversispora* sp.**Descripción morfológica**

Esporas tienen forma de glomoide o acaulosporoides. Estas esporas solo presentan una pared esporular coloreada de 4 capas y una pared interna incolora de 3 tapas, en la que todas las capas son delgadas y no reaccionan al reactivo de Melzer. La diferenciación entre el género *Diversispora* y *Glomus*. Las esporas se forman en la parte superior de las hifas esporógenas continuas con las hifas extra radicales micorrícicas (Figura 4) (Blaszkowski J., 2012).

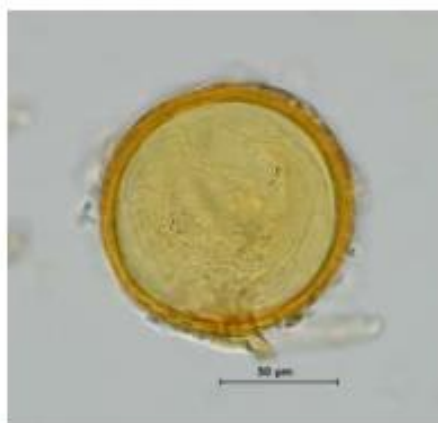


Figura 4. Esporas de *Diversispora* sp. montadas con PVLG

LABORATORIO DE BIOLOGÍA Y GENÉTICA MOLECULAR

*Rhizoglopus intraradices***Taxonomía****Reino:** Fungi**División:** Glomeromycota**Clase:** Glomeromycetes**Orden:** Glomerales**Familia:** Glomeraceae**Género:** Rhizoglopus**Especie:** *Rhizoglopus intraradices***Descripción morfológica**

Espora tiene mayor variabilidad de tamaño de las esporas, por lo que las diferencia de las demás, además de presentar una pared esporular más delgada. Es de color crema, pálido o marrón amarillento, su forma es globosa, irregular con esporas elípticas. Su tamaño varía entre los 40 a 140 μm . Posee de tres capas L1, L2 y L3 donde la primera está en las esporas juveniles y en la pared de hifas subyacentes por lo que tienden a ser de color incoloras. L2 y L3 se forman secuencialmente en la pared de las esporas como hifa subyacente (Figura 5) (Blaszkowski J., 2012)



Figura 5. Esporas de *Rhizoglopus intraradices* montadas con PVLG

LABORATORIO DE BIOLOGÍA Y GENÉTICA MOLECULAR

*Nanoglomus plukenetiae***Taxonomía****Reino:** Fungi**División:** Glomeromycota**Clase:** Glomeromycetes**Orden:** Glomerales**Familia:** Glomeraceae**Género:** Nanoglomus**Especie:** *Nanoglomus plukenetiae***Descripción morfológica**

Esporas hialinas de forma terminal o intercaladas en las hifas subyacentes con formas cilíndricas o ligeramente embutiformes. Se forman individualmente o en grupo con hasta 90 esporas con un diámetro de $900 \times 600 \mu\text{m}$. Las esporas tienen una bicapa, globosa o subglobosa. Tiene pared de la espora SW bicapa, hialina y su capa externa SWL1 tiene un grosor de $0,7 - 1,1 \mu\text{m}$. La SWL2 es persistente y unitaria con un grosor de $1,1 - 2,1 - 3,0 \mu\text{m}$ y tienden a teñirse de color amariloso al exponerse con reactivo de Melzer. Ambas capas de la pared tienen hifas subyacentes, con un grosor similar o ligeramente menor a la hifa micelar (Figura 6) (Corazon-Guivin et al., 2023).



Figura 6. Esporas de *Nanoglomus plukenetiae* montadas con PVLG

LABORATORIO DE BIOLOGÍA Y GENÉTICA MOLECULAR

*Funneliformis* sp.**Taxonomía****Reino:** Fungi**División:** Glomeromycota**Clase:** Glomeromycetes**Orden:** Glomerales**Familia:** Glomeraceae**Género:** *Funneliformis***Especie:** No definido**Descripción morfológica**

Funneliformis tienen esporas pigmentadas y se forman individualmente en el suelo o en grupo de 1 con aproximadamente 20 esporas y son rodeadas por un manto de micelio grueso. Estas esporas suelen tener una base en forma de embudo. Las esporas tienen entre dos o tres capas, la capa externa es hialina y se desprende en la etapa de maduración (Figura 7) (Bever et al., n.d.).

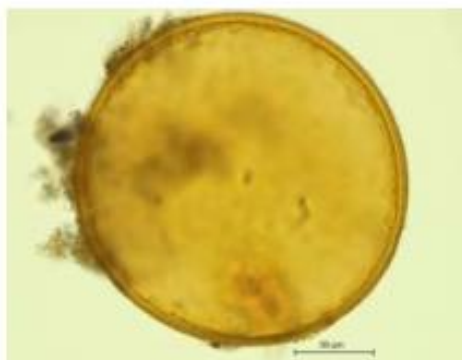


Figura 7. Esporas de *Funneliformis* sp. montadas con PVLG + MELZER

LABORATORIO DE BIOLOGÍA Y GENÉTICA MOLECULAR

*Paraglomus* sp.**Taxonomía****Reino:** Fungi**División:** Glomeromycota**Clase:** Glomeromycetes**Orden:** Paraglomerales**Familia:** Paraglomeraceae**Género:** Paraglomus**Especie:** No definida**Descripción morfológica**

La ontogénesis de las esporas del hongo del género *Paraglomus* sp. procede de forma idéntica de las esporas del género *Glomus*. El *Paraglomus* sp. forma solo una pared de esporas donde se desarrollan contiguamente en las esporas y sus hifas. Asimismo, esa especie y su estructura se tiñen fácilmente y carecen de vesículas (Figura 8) (Błaszowski J., 2012).



Figura 8. Esporas de *Paraglomus* sp. montadas con PVLG + MELZER

LABORATORIO DE BIOLOGÍA Y GENÉTICA MOLECULAR

*Paraglomus occultum***Taxonomía****Reino:** Fungi**División:** Glomeromycota**Clase:** Glomeromycetes**Orden:** Paraglomerales**Familia:** Paraglomeraceae**Género:** Paraglomus**Especie:** *Paraglomus occultum***Descripción morfológica**

Esporas aparecen individualmente en el suelo o en ocasiones dentro de las raíces, en forma de hifas extrarradicales micorrícicas. Las esporas hialinas tienden a ponerse amarillas con la edad y miden (60-)72(-100) μm diámetro. La estructura subcelular de las esporas consta de una pared con tres capas hialinas. Capa 1 es semipermanente, entre 0.5-1.4 μm de espesor, cuando está intacta tiende a deteriorarse en esporas maduras. Capa 2 finamente laminada, permanente, lisa entre <0.5 - 1.2 μm de grosor. Capa 3 es finamente laminada, permanente, lisa < 0.5 - 1.2 μm de espesor, a menudo engrosando a 1.6 μm en la región subyacente. Cuando se tiñe con el reactivo de Melzer solo se tiñe la capa 2 y 3 en color amarillo pastel o amarillo limón. Pared de hifa hialina subyacente, de 0.8-2.0 μm de grosor en base de la espora, compuesta en tres capas que se continúan entre capas 1-3 de la pared esporal (Figura 9) (Blaszkowski J., 2012).



Figura 9. Esporas de *Paraglomus occultum* montadas con PVLG + MELZER

LABORATORIO DE BIOLOGÍA Y GENÉTICA MOLECULAR



REFERENCIAS

- Bever, J., Schultz, P., Koziol, L., & Lubin, T. (n.d.). *The International Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi*. <https://Invam.Ku.Edu/Contact>.
- Blazzkowski J. (2012). *Glomeromycota* (M. Zbigniew, w Jan, & Wojcicki, Eds.).
- Corazon-Guivin, M. A., Romero-Cachique, G., Del Aguila, K. M., Padilla-Dominguez, A., Hernández-Amasifuen, A. D., Cerna-Mendoza, A., Coyne, D., & Oehl, F. (2023). *Rhizoglyphus variabile* and *Nanoglyphus plukenetiae*, Native to Peru, Promote Coffee Growth in Western Amazonia. *Microorganisms*, 11(12), 2883. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122883>
- Song, J., Liang, J., Mehrabi-Koushki, M., Krisai-Greilhuber, I., Ali, B., Bhatt, V. K., Cerna-Mendoza, A., Chen, B., Chen, Z., Chu, H. L., Corazon-Guivin, M. A., Guerrero-Abad, Dima, B., Han, L., & Haelewaters, D. (2019). *Fungal Systematics and Evolution: FUSE* 5. 141–245.



Firma
Digital

Firmado digitalmente por CORAZON
GLEVIN Mike Anderson FAU
2016070619:50:56
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 10.04.2025 18:23:22 -05:00

Dr. Mike Anderson Corazon Guivin

ANEXO II

Análisis estadístico

- **Altura de la plántula de cacao**

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	7	701.5	100.21	4.12	0.001
Error	56	1361.5	24.31		
Total	63	2063.0			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
CT	8	33.250	2.188	(29.758; 36.742)
M1	8	34.06	5.35	(30.57; 37.55)
M2	8	40.56	3.68	(37.07; 44.05)
M3	8	40.50	5.13	(37.01; 43.99)
M4	8	38.59	4.60	(35.10; 42.08)
M5	8	34.25	5.53	(30.76; 37.74)
M6	8	40.09	5.87	(36.60; 43.58)
M7	8	42.25	5.92	(38.76; 45.74)

Desv.Est. agrupada = 4.93083

- **Diámetro en las plántulas de cacao**

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	7	15.22	2.1748	6.32	0.000
Error	56	19.26	0.3439		
Total	63	34.48			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
CT	8	8.436	0.472	(8.021; 8.852)
M1	8	8.4862	0.2116	(8.0709; 8.9016)
M2	8	8.818	0.479	(8.402; 9.233)
M3	8	9.504	0.380	(9.088; 9.919)
M4	8	9.219	0.589	(8.803; 9.634)
M5	8	7.955	0.415	(7.540; 8.370)
M6	8	8.559	1.114	(8.143; 8.974)
M7	8	9.281	0.592	(8.866; 9.697)

Desv.Est. agrupada = 0.586472

- **Número de hojas**

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	7	641.8	91.679	18.19	0.000
Error	56	282.2	5.040		
Total	63	924.0			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
CT	8	18.750	1.669	(17.160; 20.340)
M1	8	21.500	2.204	(19.910; 23.090)
M2	8	25.750	2.252	(24.160; 27.340)
M3	8	26.750	2.493	(25.160; 28.340)
M4	8	23.625	1.768	(22.035; 25.215)
M5	8	29.63	3.25	(28.03; 31.22)
M6	8	26.500	2.204	(24.910; 28.090)
M7	8	25.500	1.690	(23.910; 27.090)

Desv.Est. agrupada = 2.24503

- Contenido de clorofila (SPAD)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
T	7	437.6	62.51	3.37	0.004
Error	56	1037.3	18.52		
Total	63	1474.9			

Medias

T	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
CT	8	36.70	5.98	(33.66; 39.75)
M1	8	39.71	5.16	(36.66; 42.76)
M2	8	40.66	3.99	(37.61; 43.71)
M3	8	45.433	2.766	(42.385; 48.482)
M4	8	44.05	4.77	(41.00; 47.09)
M5	8	42.980	2.596	(39.932; 46.028)
M6	8	39.70	4.21	(36.65; 42.75)
M7	8	42.17	3.88	(39.12; 45.21)

Desv.Est. agrupada = 4.30395

- **Biomasa fresca radicular**

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	7	32.74	4.677	1.37	0.229
Error	72	244.97	3.402		
Total	79	277.71			

Medias

Tratamiento	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
CT	10	8.114	1.695	(6.951; 9.277)
M1	10	7.822	1.818	(6.659; 8.985)
M2	10	7.515	3.061	(6.352; 8.678)
M3	10	8.235	1.841	(7.072; 9.398)
M4	10	8.108	1.032	(6.945; 9.271)
M5	10	6.958	1.085	(5.795; 8.121)
M6	10	7.566	1.573	(6.403; 8.729)
M7	10	9.293	1.889	(8.130; 10.456)

Desv.Est. agrupada = 1.84455

- **Biomasa fresca aérea**

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
tratamiento	7	719.3	102.756	10.81	0.000
Error	72	684.4	9.505		
Total	79	1403.7			

Medias

tratamiento	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
CT	10	19.659	2.024	(17.715; 21.603)
M1	10	18.719	3.035	(16.775; 20.663)
M2	10	23.676	2.640	(21.732; 25.620)
M3	10	27.090	2.613	(25.146; 29.034)
M4	10	19.80	3.21	(17.85; 21.74)
M5	10	21.38	3.41	(19.44; 23.33)
M6	10	16.71	3.64	(14.76; 18.65)
M7	10	21.86	3.72	(19.92; 23.80)

Desv.Est. agrupada = 3.08308

- Biomasa seca aérea

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
tratamiento	7	67.92	9.702	6.91	0.000
Error	72	101.16	1.405		
Total	79	169.08			

Medias

tratamiento	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
CT	10	7.015	0.773	(6.268; 7.762)
M1	10	6.546	1.158	(5.799; 7.293)
M2	10	7.688	0.754	(6.941; 8.435)
M3	10	9.090	1.279	(8.343; 9.837)
M4	10	6.656	1.144	(5.909; 7.403)
M5	10	7.323	1.376	(6.576; 8.070)
M6	10	5.791	1.270	(5.044; 6.538)
M7	10	7.677	1.510	(6.930; 8.424)

Desv.Est. agrupada = 1.18532

- **Peso seco radicular**

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
tratamientos	7	3.740	0.5342	2.47	0.025
Error	72	15.560	0.2161		
Total	79	19.300			

Medias

tratamientos	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
CT	10	2.332	0.423	(2.039; 2.625)
M1	10	2.163	0.660	(1.870; 2.456)
M2	10	2.287	0.425	(1.994; 2.580)
M3	10	2.308	0.494	(2.015; 2.601)
M4	10	2.2430	0.3121	(1.9499; 2.5361)
M5	10	1.7280	0.3094	(1.4349; 2.0211)
M6	10	1.924	0.461	(1.631; 2.217)
M7	10	2.402	0.533	(2.109; 2.695)

Desv.Est. agrupada = 0.464879

- **Análisis enzimático Diaminobenzina (DAB)**

Tratamientos	Media	desv
CT	7	1.975843
M1	12	0.960972
M2	20	4.273817
M3	23	5.366463
M4	9	3.158467
M5	43	5.125118
M6	5	0.915645
M7	5	1.095575

- Glomalina fácilmente extraíble

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
trat	7	4.494	0.64195	39.55	0.000
Error	64	1.039	0.01623		
Total	71	5.533			

Medias

trat	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
CT	9	2.1391	0.1780	(2.0543; 2.2240)
M1	9	2.1733	0.0491	(2.0884; 2.2581)
M2	9	2.7547	0.1824	(2.6699; 2.8396)
M3	9	2.7528	0.1108	(2.6680; 2.8377)
M4	9	2.2449	0.0594	(2.1601; 2.3298)
M5	9	2.2787	0.1242	(2.1939; 2.3636)
M6	9	2.0850	0.1200	(2.0001; 2.1698)
M7	9	2.4602	0.1299	(2.3754; 2.5451)

Desv.Est. agrupada = 0.127409

ANEXO III

Tabla del Número Mas Probable (NMP)

10⁻¹	Tubos		NMP	Intervalo de confianza	Tubos			NMP	Intervalo de confianza
	10⁻²	10⁻³			10⁻¹	10⁻²	10⁻³		
0	0	0	<1.8	__-6.8	4	0	2	21	6.8-40
0	0	1	18	0.09-6.8	4	0	3	25	9.8-70
0	1	0	18	0.09-6.9	4	1	0	17	6.0-40
0	1	1	36	0.7-10	4	1	1	21	6.8-42
0	2	0	37	0.7-10	4	1	2	26	9.8-70
0	2	1	55	1.8-15	4	1	3	31	10.0-70
0	3	0	56	1.8-16	4	2	0	22	6.8-50
1	0	0	2	0.1-10	4	2	1	26	9.8-70
1	0	1	4	0.7-10	4	2	2	32	10.0-70
1	0	2	6	1.8-15	4	2	3	38	14-100
1	1	0	4	0.7-12	4	3	0	27	9.9-70
1	1	1	61	1.8-15	4	3	1	33	10.0-70
1	1	2	81	3.4-22	4	3	2	39	14-100
1	2	0	61	1.8-15	4	4	0	34	14-101
1	2	1	82	3.4-22	4	4	1	40	14-102
1	3	0	83	3.4-22	4	4	2	47	15-120
1	3	1	10	3.5-22	4	5	0	41	14-100
1	4	0	11	3.5-22	4	5	1	48	15-120

2	0	0	45	0.79-15	5	0	0	23	6.8-70
2	0	1	68	1.8-15	5	0	1	31	10.0-70
2	0	2	91	3.4-22	5	0	2	43	14-100
2	1	0	68	1.8-17	5	0	3	58	22-150
2	1	1	92	3.4-22	5	1	0	33	10-100
2	1	2	12	4.1-26	5	1	1	46	14-120
2	2	0	93	3.4-22	5	1	2	63	22-150
2	2	1	12	4.1-26	5	1	3	84	34-220
2	2	2	14	5.9-36	5	2	0	49	15-150
2	3	0	12	4.1-26	5	2	1	70	22-170
2	3	1	14	5.9-36	5	2	2	94	34-230
2	4	0	15	5.0-36	5	2	3	120	36-250
3	0	0	78	2.1-22	5	2	4	150	58-400
3	0	1	11	3.5-23	5	3	0	79	22-220
3	0	2	13	5.6-35	5	3	1	110	34-250
3	1	0	11	3.5-26	5	3	2	140	52-400
3	1	1	14	5.6-36	5	3	3	180	70-400
3	1	2	17	6.0-36	5	3	4	210	70-400
3	2	0	14	5.7-36	5	4	0	130	36-400
3	2	1	17	6.8-40	5	4	1	170	58-400
3	2	2	20	6.8-40	5	4	2	220	70-440
3	3	0	17	6.8-40	5	4	3	280	100-710
3	3	1	21	6.8-41	5	4	4	350	100-710
3	3	2	24	9.8-70	5	4	5	430	150-1,100
3	4	0	21	6.8-40	5	5	0	240	70-710
3	4	1	24	9.8-70	5	5	1	350	100-1100
3	5	0	25	9.8-70	5	5	2	540	150-1700
4	0	0	13	4.1-35	5	5	3	920	220-2600

4	0	1	17	5.9-36	5	5	4	1600	400-4600
					5	5	5	>1600	700-__

Nota. Elaboración por (Barreto Nováis)

ANEXO IV

Resultados de la Evaluación del suelo en el Instituto de Cultivos Tropicales



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL – DA
CON REGISTRO N° LE - 229



LABORATORIO AGRÍCOLA

INFORME DE ENSAYO N°69-2025

Laboratorio : LABORATORIO AGRICOLA

Dirección del Laboratorio : AV. AHUASHIYACU CUADRA 16 NRO. 5/N SEC. LAGUNA VENECIA-SAN MARTIN - SAN MARTIN - LA BANDIA DE SHLCAYO

Cliente : UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTIN

Procedencia : SAN MARTIN - MORALES - VIVERO DE LA UNSM

Contacto : MARIA NELLY PEZO TORRES

Teléfono y correo : 940 419 446 calhgt82@gmail.com

Cultivo* : CACAO

Descripción de la muestra : SUELO

Fecha de Muestreo * : 25/10/2024

Fecha de recepción de la muestra : 10/03/2025

Fecha de ensayo : 12/03/2025

Fecha de emisión de informe de ensayo : 23/03/2025

Persona encargada de análisis : J.A.C.V

Observación : NINGUNA

Nota: 1- Los resultados presentados pertenecen al ítem ensayado tal como se recibió por parte del cliente.
Nota: 2- Este informe no se puede reproducir sin la aprobación del laboratorio excepto cuando se reproduce en su totalidad.



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL – DA
CON REGISTRO N° LE - 229



LABORATORIO AGRÍCOLA

INFORME DE ENSAYO N° 69-2025

Fecha de ensayo: 12/3/2025

N° ítem	Codigo de laboratorio	Codigo usuario	Prof.*	Peso de muestra (kg)	N° de perforaciones*	pH	RESULTADOS																		
							CE	CaCO ₃	M.O.	N	P	K	CiC	CiCat	Ca	Mg	K	Na	Al	Saturación de Bases	Saturación de Al	Arena	Limo	Arcilla	Clase textural
						ds/cm	%	mg/kg	cmolc/kg							%									
1	313	SUELO-INICIAL	0-30	1.30	1	4.85	0.07	<0.3	3.03	0.15	3.45	48.00	13.51	5.21	3.70	0.48	0.12	0.21	0.70	33.40	13.43	71.36	5.44	23.20	Fra-Arc-Are

* Datos proporcionados por el cliente
Nota: 1- Los resultados presentados pertenecen al ítem ensayado tal como se recibió por parte del cliente.
Nota: 2- Este informe no se puede reproducir sin la aprobación del laboratorio excepto cuando se reproduce en su totalidad.

INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTIN
LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO
CON REGISTRO N° LE - 229

METODOLOGIAS	
pH**	ASTM- D4972-19. Standard Test Methods for pH of Soils. 2019
CE	NORMA Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. 2002.
Carbonatos	
Materia organica	
Fosforo disponible	
CIC	
Cationes intercambiables (Ca, Mg, K, Na)	
Acidez intercambiable	
Textura	
Azufre (S)	
Boro (B) disponible	
Cu, Fe, Mn y Zn disponible	EPA Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils. 1996.
Metales pesados (Cd**, Pb**, Cr, Ni)	

** Indica que metodo esta acreditado por la NTP ISO/IEC 17025:2017

CONDICIONES AMBIENTALES				
Parametros	HR min	HR max	T° min	T° max
pH	40.3	68.3	24.6	26.9
CE	40.3	68.3	24.6	26.9
Carbonatos	40.3	68.3	24.6	26.9
Materia organica	40.3	68.3	24.6	26.9
Fosforo disponible	40.3	68.3	24.6	26.9
CIC	40.3	68.3	24.6	26.9
Cationes intercambiables (Ca, Mg, K, Na)	40.3	68.3	24.6	26.9
Al intercambiable	40.3	68.3	24.6	26.9
Azufre (S)	---	---	---	---
Boro (B) disponible	---	---	---	---
Cu, Fe, Mn y Zn disponible	---	---	---	---
Metales Pesados (Cd, Pb, Cr, Ni)	---	---	---	---
Textura	40.3	68.3	24.6	26.9

EQUIPOS	CODIGO	MARCA	MODELO
Balanza	EQL0335	Ohaus	PX224
Potenciometro	EQL0336	Ohaus	Starter 22100
Conductimetro	EQL 0424	Ohaus	Aquasearc her a-AB33EC
Espectrofotometro de absorción visible	EQL0118	Thermo	SPECTRONI C 20D+
Espectrofotometro de absorción atomica	EQL 00115	Varian	SPECTRAA 55 B



ANEXO V

Resultados del contenido nutricional NPK en el Instituto de Cultivos Tropicales



INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES
Investigación y Extensión agrícola para el desarrollo de la Amazonía peruana
CERTIFICADO INDECOPI N° 00072183

LABORATORIO AGRÍCOLA

INFORME DE ENSAYO N°133-2025

Laboratorio : LABORATORIO AGRÍCOLA

Dirección del Laboratorio : AV. AHUASHIYACU CUADRA 16 NRO. S/N SEC. LAGUNA VENECIA-
SAN MARTIN - SAN MARTIN - LA BANDA DE SHILCAYO

Cliente : UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTIN

Procedencia : SAN MARTIN - MORALES - VIVERO DE LA UNSM

Contacto : MIKE ANDERSON CORAZON GUIVIN

Teléfono y correo : 945 655 865 macorazong@unsm.edu.pe

Cultivo* : CAFÉ

Descripción de la muestra : TEJIDO FOLIAR - CAFÉ

Fecha de Muestreo * : 12/04/2025

Fecha de recepción de la muestra : 24/04/2025

Fecha de ensayo : 05/05/2025

Fecha de emisión de informe de ensayo : 07/05/2025

Persona encargada de análisis : J.A.C.V

Observación : NINGUNA

Nota: 1- Los resultados presentados pertenecen al ítem ensayado tal como se recibió por parte del cliente.
Nota: 2- Este informe no se puede reproducir sin la aprobación del laboratorio excepto cuando se reproduce en su totalidad.
*Datos proporcionados por el cliente



Página 1 de 5



INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES

Investigación y Extensión agrícola para el desarrollo de la Amazonía peruana
CERTIFICADO INDECOPI N° 00072183

LABORATORIO AGRÍCOLA

Laboratorio acreditado NTP-ISO/IEC 17025:2017. Registro I

INFORME DE ENSAYO N° 133-2025

Fecha de ensayo 5/5/2025

N° Ítem	Codigo de laboratorio	Codigo usuario	RESULTADOS		
			N	P	K
1	823	CT-P1	4.52	0.04	2.20
2	824	CT-P2	4.50	0.04	2.71
3	825	CT-P3	4.33	0.03	2.32
4	826	T1-P1	4.53	0.04	2.05
5	827	T1-P2	4.65	0.04	2.16
6	828	T1-P3	4.17	0.04	2.14
7	829	T2-P1	4.76	0.04	2.03
8	830	T2-P2	4.32	0.05	2.16
9	831	T2-P3	4.22	0.06	2.27
10	832	T3-P1	3.81	0.13	2.91

7/5/2025

Página 2 de 5



INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES

Investigación y Extensión agrícola para el desarrollo de la Amazonía peruana
CERTIFICADO INDECOPI N° 00072183

LABORATORIO AGRÍCOLA

Laboratorio acreditado NTP-ISO/IEC 17025:2017. Registro I

INFORME DE ENSAYO N° 133-2025

Fecha de ensayo 5/5/2025

N° Item	Codigo de laboratorio	Codigo usuario	RESULTADOS		
			N	P	K
			%		
11	833	T3-P2	3.05	0.11	2.58
12	834	T3-P3	3.23	0.11	2.43
13	835	T4-P1	4.47	0.04	2.45
14	836	T4-P2	4.31	0.04	2.40
15	837	T4-P3	4.70	0.04	2.17
16	838	T5-P1	4.10	0.11	2.43
17	839	T5-P2	4.00	0.07	2.59
18	840	T5-P3	3.81	0.13	2.68
19	841	T6-P1	4.40	0.06	2.78
20	842	T6-P2	4.44	0.08	2.58

7/5/2025

Página 3 de 5




INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES

Investigación y Extensión agrícola para el desarrollo de la Amazonía peruana
CERTIFICADO INDECOPI N° 00072183

LABORATORIO AGRÍCOLA

Laboratorio acreditado NTP-ISO/IEC 17025:2017. Registro I

INFORME DE ENSAYO N° 133-2025

Fecha de ensayo 5/5/2025

N° Item	Codigo de laboratorio	Codigo usuario	RESULTADOS		
			N	P	K
			%		
21	843	T6-P3	5.25	0.06	2.33
22	844	T7-P1	4.55	0.04	1.93
23	845	T7-P2	4.46	0.04	2.07
24	846	T7-P3	4.39	0.04	2.10

Nota: 1- Los resultados presentados pertenecen al ítem ensayado tal como se recibió por parte del cliente.

Nota: 2- Este informe no se puede reproducir sin la aprobación del laboratorio excepto cuando se reproduce en su totalidad.



7/5/2025

Página 4 de 5

METODOLOGIAS	
N	EMBRAPA. Determinação de nitrogênio. Capítulo 2: Análise química de tecido vegetal. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2 ed. 2009.
P	EMBRAPA. Determinação de fósforo Amarelo-Vanadato. Capítulo 2: Análise química de tecido vegetal. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2 ed. 2009.
SO4	EMBRAPA. Determinação de enxofre por Turdimetria. Capítulo 2: Análise química de tecido vegetal. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2 ed. 2009.
B	EMBRAPA. Determinação de boro por espectrofotometria com azometina-H. Capítulo 2: Análise química de tecido vegetal. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2 ed. 2009.
Ca, Mg, K, Na, Cu, Fe, Mn y Zn	EMBRAPA. Determinação por espectrofotometria de absorção atômica. Capítulo 2: Análise química de tecido vegetal. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2 ed. 2009.
Metales pesados (Cd, Pb, Cr, Ni)	EMBRAPA. Determinação por espectrofotometria de absorção atômica. Capítulo 2: Análise química de tecido vegetal. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2 ed. 2009.

** Indica que metodo esta acreditado por la NTP ISO/IEC 17025:2017

CONDICIONES AMBIENTALES				
Parametros	HR min	HR max	T° min	T° max
N	40.8	67.4	24.3	27.4
P	40.8	67.4	24.3	27.4
SO4	---	---	---	---
B	---	---	---	---
Ca, Mg, K, Na, Cu, Fe, Mn y Zn	40.8	67.4	24.3	27.4
Metales pesados (Cd, Pb, Cr, Ni)	---	---	---	---



EQUIPOS	CODIGO	MARCA	MODELO
Balanza	EQL0335	Ohaus	PX224
Potenciometro	EQL0336	Ohaus	Starter 22100
Conductimetro	EQL 0424	Ohaus	Aquasearcher a-AB33EC
Espectrofotometro de absorción visible	EQL0118	Thermo	SPECTRONIC 20D+
Espectrofotometro de absorción atomica	EQL 00115	Varian	SPECTRAA 55 B



ANEXO VI

Registro fotográfico

- Recolección de sustrato y preparación para el establecimiento



Preparación de sustrato. A y B. Tamizado del sustrato C y D Desinfección de Arena y lavado E. Autoclavado del sustrato

- Establecimiento del experimento



Establecimiento del experimento. A, B y C. Lavado y desinfección de semillas de cacao C y D. Inóculos de HMA E y F. Inoculación y ...

- Evaluaciones morfológicas de las plántulas de cacao

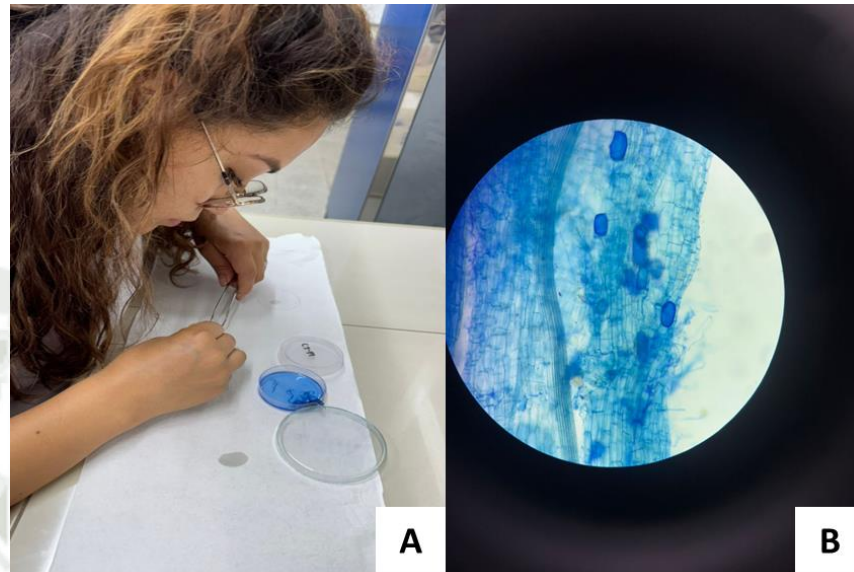


Análisis morfológicos. A. Medición de Clorofila SPAD, B. Medición de diámetro del tallo y C. Conteo de hojas verdaderas.

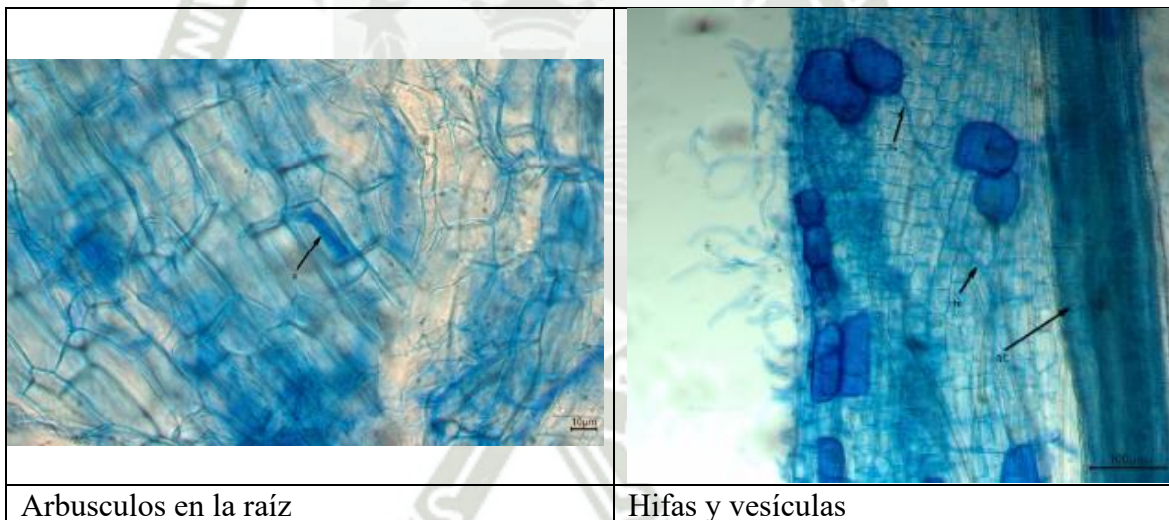


Análisis morfológicos. A y B Medición de la altura, C. Medición del diámetro del tallo.

- Evaluación de la colonización de raíces



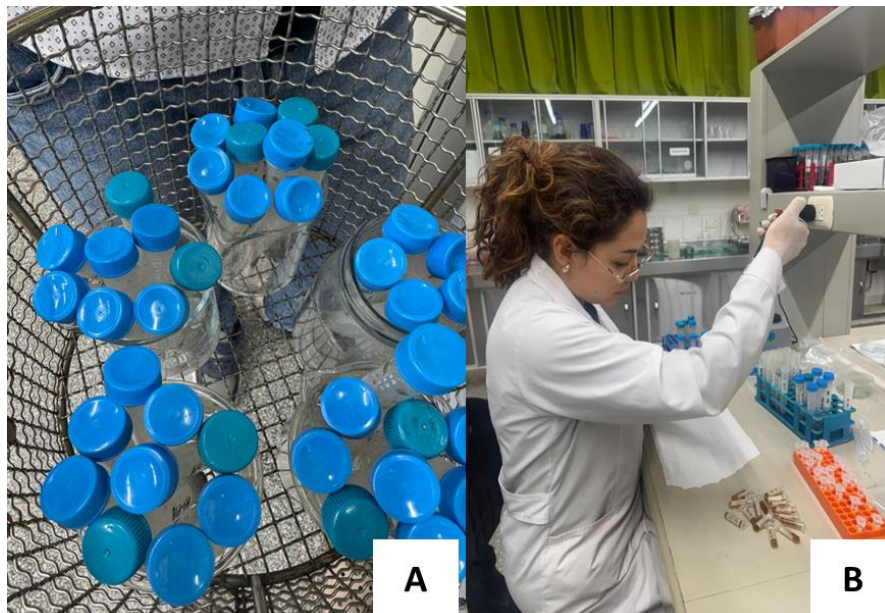
Análisis de colonización de raíces. A. Preparación de placas, B. Arbusculos en las raíces



Arbusculos en la raíz

Hifas y vesículas

- **Glomalina Fácilmente Extraíble (GFE)**



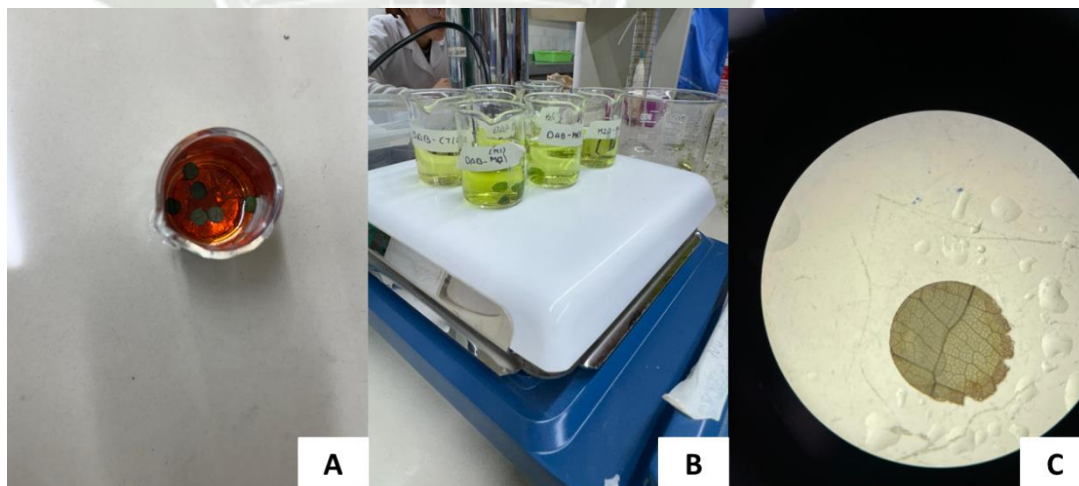
Procedimiento de la glomalina. A. Solución de citrato con suelo en autoclave B. Extracción de la glomalina

- **Análisis foliar y biomasa después de los 150 días posterior a la siembra**



Análisis. A. Extracción de la parte aérea B. Conservación de los tallos C. Escaneo de hojas para análisis foliar

- **Evaluación del análisis enzimático Diaminobencidina (DAB)**



Diaminobencidina. *A. Reactivo con hojas de las plántulas de cacao B. Alcohol y hojas para su extraer la clorofila C. Escaneo de hojas para el análisis*