



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA



**Propagación y selección de consorcios de hongos
micorrízicos arbusculares aislados de la rizósfera de
Asparagus officinalis L.**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOLOGÍA GENERAL

PRESENTADO POR:

Br. Ybeth Fiorella Gálvez Alvítez

Br. Aariana Diana Sughey Zapata Ortiz

LAMBAYEQUE, PERÚ

2017

**Propagación y selección de consorcios de hongos
micorrízicos arbusculares aislados de la rizósfera de
Asparagus officinalis L.**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOLOGÍA**

APROBADO POR:

Dr. César Estela Campos

PRESIDENTE

Dr. Antero Vásquez García

SECRETARIO

Dra. Gianina Llontop Barandiarán

VOCAL

Dra. Carmen Carreño Farfán

PATROCINADORA

LAMBAYEQUE, PERÚ

2017

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta aquí y darme salud para lograr mis objetivos.

A mi madre Delia.

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante, pero más que nada, por su amor.

A mi padre Víctor.

Por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante

Queridos Papás: ustedes son el pilar fundamental en mi vida, gracias por su incondicional apoyo. Por animarme siempre a terminar las metas que me impongo.

A mi madrina Melva Alvítez Bazán (QEPD) y tío Mario Reaño (QEPD) por quererme y apoyarme siempre, esto también se lo debo a ustedes. Por siempre mostrarme que nunca es tarde para cumplir mis sueños. Los quiero y los extrañare siempre. Dejaron huellas en nuestras vidas. Ustedes no serán olvidados.

A mi hermana Lizbeth por su fe, confianza y cariño a pesar de todo y de todos. Por haberme apoyado en cada cosa que me he propuesto a lo largo de mi vida.

A mi sobrina Valentina, desde que naciste. Tú has llenado mi vida de alegría

A ti en el cielo, corazón.., Siempre llenaste de paz y luz aquellos días tristes, porque todo el tiempo que me acompañaste fue brillante .

A todos mis amigos que formaron parte de los mejores recuerdos en estos años, por siempre animarme a seguir lo que me propongo; sin ustedes este camino hubiera sido muy solitario.

Ybeth Fiorella Gálvez Alvítez

Dedicatoria

A mi madre Diana, mi hermosa líder, tus logros y tus enseñanzas son la mejor herencia para mi.

A mi padre Miguel, a pesar de mis tropiezos, siempre me contagiaste las ganas para continuar.

A mi hermano Miguel, aunque estés lejos siempre estás conmigo, nunca es tarde para conseguir lo que uno se propone.

A mi corazón en el paraíso, Tom, eras mi más tierna distracción en mis momentos difíciles.

A todos mis amigos, compañeros de trabajo y familiares que me escucharon y me alentaron a seguir.

Aariana Diana Sughey Zapata Ortiz

Agradecimientos

A la venia del universo por permitirnos ser y estar en el momento adecuado.

*A Dios, por su inmensurable amor hacia nosotras, porque nos demostró en todo momento que
nunca estuvimos solas.*

*A la Dra. Carmen Carreño, por su constante guía, su cariño y su interminable paciencia para
la culminación de este proyecto.*

Al MSc. Jorge Fupuy, por su amabilidad y su tiempo disponible para ayudarnos.

*A nuestra promoción de compañeros tesisistas que comenzaron con nosotras esta gran
aventura.*

*Ya todos los que colaboraron directa e indirectamente en la realización de ésta obra de
trabajo, bendiciones para cada uno de ustedes y que sus caminos sean de éxito.*

Ybeth Gálvez y Aariana Zapata.

Resumen

En el suelo radicular de *Asparagus officinalis* L. “espárrago” se aislaron e identificaron consorcios de HMA, con el objetivo de propagarlos y seleccionarlos en *Zea mays* L. “maíz”. Se colectaron 96 muestras de suelo radicular, se procesaron mediante el método de tamizaje–flotación–filtración, observándose HMA que se identificaron con base a la morfología de las esporas y se multiplicaron en maíz durante 90 días. En todas las muestras de suelo radicular se observaron esporas de HMA, identificándose *Glomus* (100,0%), *Gigaspora* (94,79%), *Scutellospora* (89,58%), *Acaulospora* (65,63%), *Entrophospora* (46,88%) y *Archaeospora* (8,33%). Los HMA se propagaron en maíz con una efectividad de 2,86 a 131,43%, seleccionándose cuatro consorcios de HMA con un rango de 97,14 a 131,43%. Éstos incrementaron el desarrollo vegetativo del espárrago, alcanzándose índices de efectividad de 9,6 a 21,7% en la altura; 75,35 a 176,2% en la biomasa radicular y 4,3 a 81,70% en la base aérea. Se demostró la propagación y selección de consorcios de HMA en maíz.

Palabras clave: Hongos micorrízicos, *Asparagus officinalis* L., propagación

Abstract

Arbuscular mycorrhizal fungi, HMA, are biofertilizers that require increasing in susceptible hosts. In the root soil of *Asparagus officinalis* L. "asparagus", HMA consortia were isolated and identified, with the objective of propagating them and selecting them in *Zea mays* L. "maize". 96 root soil samples were collected, processed by the flotation-filtration method, observing HMA that were identified based on the morphology of the spores and multiplied in maize for 90 days. In all soil samples, HML spores were observed, with *Glomus* (100.00%), *Gigaspora* (94.79%), *Scutellospora* (89.58%), *Acaulospora* (65.63%), *Entrophospora* 88%) and *Archaeospora* (8.33%). HMA were propagated in maize with an effectiveness of 2.86-131.43%, selecting four HMA consortia with a range of 97.14-131.43%. These increased the vegetative development of asparagus, reaching effectiveness rates of 9.6 to 21.7% in height; 75.35 to 176.2% in the root biomass and 4.3 to 81.70% in the air base. The propagation and selection of HMA consortia in maize was demonstrated.

Keywords: Mycorrhizal fungi, *Asparagus officinalis* L., propagation

INDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.2.1 Micorrizas	7
2.2.2 <i>Asparagus officinalis</i> L.....	10
III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
3.1 Material.....	12
3.1.1 Material biológico.....	12
3.1.2 Población y muestra	12
3.2 Métodos	12
3.2.1 Variables de la fase descriptiva	12
3.2.2 Variables de la fase experimental	12
3.2.3 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis	13
3.2.4 Lugar de muestreo	12
3.2.5 Obtención de muestras.....	13
3.2.6 Aislamiento de esporas de HMA.....	17
3.2.7 Identificación de esporas de HMA	22
3.2.8 Propagación de esporas de HMA en maíz	29
3.2.9 Determinación de la infectividad de los HMA nativos.....	30
3.2.10 Determinación de la efectividad de los HMA nativos	33
3.2.11 Consorcios de HMA seleccionados	35
3.2.12 Efecto de consorcios de HMA en plantas de espárrago	35
3.2.13 Análisis estadístico de los datos.....	44
IV. RESULTADOS.....	45
4.1 Esporas de HMA aisladas e identificadas.....	45
4.2 Infectividad y efectividad de consorcios de HMA propagados en maíz ...	51
4.3 Consorcios de HMA seleccionados	51
4.4 Efecto de consorcios de HMA en el desarrollo vegetativo de espárrago	51
V. DISCUSIÓN.....	77
VI. CONCLUSIONES.....	81
VII. RECOMENDACIONES.....	82
VIII. RESUMEN	83

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
X. ANEXOS	91

Índice de tablas

Tabla 1.	Lote de procedencia de muestras de suelo radicular de <i>Asparagus officinalis</i> L. en el Fundo Josymar, Virú, La Libertad.....	15
Tabla 2.	Análisis físico – químico de suelo radicular de <i>Asparagus officinalis</i> L. en Virú, La Libertad, 2016.....	18
Tabla 3.	Frecuencia de géneros de HMA identificados en muestras de suelo cultivado con <i>Asparagus officinalis</i> L. en Trujillo, 2016.....	50
Tabla 4.	Incremento (%) de esporas de <i>Glomus</i> spp. en suelo cultivado con <i>Zea mays</i> L.....	52
Tabla 5.	Incremento (%) de esporas de <i>Gigaspora</i> spp. en suelo cultivado con <i>Zea mays</i> L.....	54
Tabla 6.	Incremento (%) de esporas de <i>Scutellospora</i> spp. en suelo cultivado con <i>Zea mays</i> L.....	56
Tabla 7.	Incremento (%) de esporas de <i>Acaulospora</i> spp. en suelo cultivado con <i>Zea mays</i> L.....	58
Tabla 8.	Incremento (%) de esporas de <i>Entrophospora</i> spp. en suelo cultivado con <i>Zea mays</i> L.....	59
Tabla 9.	Incremento (%) de esporas de <i>Archaeospora</i> spp. en suelo cultivado con <i>Zea mays</i> L.....	60
Tabla 10.	Frecuencia de muestras de suelo cultivado con <i>Zea mays</i> L. donde se incrementaron las esporas de HMA.....	61
Tabla 11.	Número promedio e incremento de esporas de seis géneros de HMA en <i>Zea mays</i> L.....	61
Tabla 12.	Porcentaje de micorrización en <i>Zea mays</i> L.....	62
Tabla 13.	Índices de efectividad de HMA en el cultivo de <i>Zea mays</i> L.....	64
Tabla 14.	Número de esporas por 100 g de suelo y efectividad (%) de consorcios de HMA propagados y seleccionados en <i>Zea mays</i> L.....	65

Tabla 15.	Índices de efectividad en la altura de plantas de <i>Asparagus officinalis</i> L. 30, 60, 90 y 120 días después de la inoculación de HMA, 2016.....	68
Tabla 16.	Prueba de Tukey de la altura de plantas de <i>Asparagus officinalis</i> L. 30, 60, 90 y 120 días después de la inoculación de HMA.....	69
Tabla 17.	Índices de efectividad en la biomasa radicular y aérea de <i>Asparagus officinalis</i> L., 120 días después de la inoculación de HMA.....	74
Tabla 18.	Prueba de Tukey de la biomasa radicular y aérea de <i>Asparagus officinalis</i> L., 120 días después de la inoculación de HMA.....	75

Índice de figuras

Figura 1.	Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de consorcios de HMA en <i>Asparagus officinalis</i> L.....	14
Figura 2.	Ubicación de la provincia de Virú, región La Libertad, abril, 2016.....	15
Figura 3.	Extracción de suelo radicular de <i>Asparagus officinalis</i> L.....	16
Figura 4.	Suelo radicular de <i>Asparagus officinalis</i> L.....	16
Figura 5.	Muestras de suelo radicular de <i>Asparagus officinalis</i> L.....	18
Figura 6.	Muestras de suelo radicular de <i>Asparagus officinalis</i> L. sin piedras y restos de tejido vegetal.....	19
Figura 7.	Técnica de cuarteo y amontonamiento de suelo.....	19
Figura 8.	Submuestra de suelo para la obtención de esporas de HMA.....	20
Figura 9.	Vertido de agua potable sobre submuestra de suelo.....	20
Figura 10.	Sedimentado de suspensión de muestra de suelo.....	21
Figura 11.	Sedimentado de suspensión de muestra de suelo en tamices superpuestos.....	21
Figura 12.	Anillo plástico de cloruro de polivinilo, para embudos Bushner.....	23
Figura 13.	Embudos Bushner modificados para la recuperación de esporas de HMA.....	23
Figura 14.	Vertido del tamizado de suelo en tubo de centrifuga.....	24
Figura 15.	Adición de sacarosa al tamizado de suelo.....	24
Figura 16.	Sobrenadante de suelo vertido en tamiz de 45 micrones.....	25
Figura 17.	Sobrenadante de suelo depositado sobre papel filtro de embudo Bushner modificado.....	25
Figura 18.	Papel filtro seco y con esporas de HMA.	26
Figura 19.	Papeles filtro conteniendo esporas de HMA, acondicionados en láminas portaobjetos.....	26
Figura 20.	Tamizado de suelo en placa de Petri.....	27

Figura 21.	Recuperación de esporas de HMA.....	27
Figura 22.	Inóculos de HMA listos para su propagación.....	28
Figura 23.	Homogenización del insecticida con las semillas de <i>Zea mays</i> L.....	31
Figura 24.	Suelo experimental contenido en macetas de arcilla.....	31
Figura 25.	Siembra de <i>Zea mays</i> L. en suelo experimental.....	32
Figura 26.	Raíces de <i>Asparagus officinallis</i> L. pigmentadas y conservadas y conservadas en lactoglicerina.....	34
Figura 27.	Fragmentos de raíces de <i>Asparagus officinallis</i> L. pigmentados para la observación microscópica.....	34
Figura 28.	Plantas de <i>Zea mays</i> L., 90 días después de la inoculación de HMA..	36
Figura 29.	Suelo experimental en vasos de tecnopor.....	36
Figura 30.	Semillas de <i>Asparagus officinallis</i> L.....	37
Figura 31.	Hidratación de semillas de <i>Asparagus officinallis</i> L.....	37
Figura 32.	Aplicación de fungicida a semillas de <i>Asparagus officinallis</i> L.....	38
Figura 33.	Aplicación de insecticida a semillas de <i>Asparagus officinallis</i> L.....	38
Figura 34.	Plántulas de <i>Asparagus officinallis</i> L. desarrolladas en condiciones de invernadero.....	39
Figura 35.	Remoción de suelo de consorcio de HMA seleccionado.....	41
Figura 36.	Inoculación de HMA en suelo.....	41
Figura 37.	Trasplante de plántula de <i>Asparagus officinallis</i> L.....	42
Figura 38.	Plántulas de <i>Asparagus officinallis</i> L. en el invernadero.....	42
Figura 39.	Medición de la altura de planta de <i>Asparagus officinallis</i> L.....	43
Figura 40.	Pesaje de la biomasa aérea de <i>Asparagus officinallis</i> L.....	43
Figura 41.	Observación microscópica de espora de <i>Glomus</i> sp. con hifa de sustentación recta.....	46
Figura 42.	Observación microscópica de espora de <i>Glomus</i> sp. con hifa de sustentación curva.....	46

Figura 43.	Observación microscópica de espora de <i>Glomus</i> sp. con hifa de sustentación en forma de embudo.....	47
Figura 44.	Observación microscópica de espora de <i>Gigaspora</i> sp.....	47
Figura 45.	Observación microscópica de espora de <i>Scutellospora</i> sp. con escudo de germinación.....	48
Figura 46.	Observación microscópica de espora de <i>Acaulospora</i> sp. con cicatriz.....	48
Figura 47.	Observación microscópica de espora interna y apical de <i>Entrophospora</i> sp.....	49
Figura 48.	Observación microscópica de espora de <i>Archaeospora</i> sp.....	49
Figura 49.	Frecuencia de consorcios de HMA con efectividad en la altura de <i>Zea mays</i> L.....	62
Figura 50.	Altura de <i>Zea mays</i> L., (a) Consorcio HMA, (b) Agua destilada.....	63
Figura 51.	Altura de <i>Zea mays</i> L., (a) Testigo, (b) Consorcio HMA no efectivo, (c) Consorcio HMA efectivo.....	63
Figura 52.	Plantas de <i>Asparagus officinalis</i> L. 30 días después de la inoculación de HMA, (a) Testigo absoluto, (b) Testigo químico, (c) Consorcios HMA.....	67
Figura 53.	Altura (cm) de <i>Asparagus officinalis</i> L. 30 días después de la inoculación de HMA, 2016.....	67
Figura 54.	Plantas de <i>Asparagus officinalis</i> L. 60 días después de la inoculación de HMA, (a) Testigo absoluto, (b) Testigo químico, (c) Consorcios HMA.....	70
Figura 55.	Altura (cm) de <i>Asparagus officinalis</i> L. 60 días después de la inoculación de HMA, 2016.....	70
Figura 56.	Plantas de <i>Asparagus officinalis</i> L. 90 días después de la inoculación de HMA, (a) Testigo absoluto, (b) Testigo químico, (c) Consorcios HMA.....	71
Figura 57.	Altura (cm) de <i>Asparagus officinalis</i> L. 90 días después de la inoculación de HMA, 2016.....	71

Figura 58.	Plantas de <i>Asparagus officinalis</i> L. 120 días después de la inoculación de HMA, (a) Testigo absoluto, (b) Testigo químico, (c) Consorcios HMA.....	72
Figura 59.	Altura (cm) de <i>Asparagus officinalis</i> L. 120 días después de la inoculación de HMA, 2016.....	72
Figura 60.	Biomasa radicular (g) de <i>Asparagus officinalis</i> L., 120 días después de la inoculación de HMA, 2016.....	74
Figura 61.	Biomasa aérea de <i>Asparagus officinalis</i> L. 120 días después de la inoculación de HMA, (a) Testigo absoluto, (b) Testigo químico, (c) Consorcios HMA.....	75
Figura 62.	Biomasa aérea (g) de <i>Asparagus officinalis</i> L., 120 días después de la inoculación de HMA, 2016.....	76

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de *Asparagus officinalis* L. “espárrago” es muy importante en el Perú y en el 2014 representó el 14% del valor total de exportación, con un promedio de 9% de crecimiento entre el 2005 y 2014 (Gómez y Flores, 2015); no obstante, la productividad competitiva tiene factores limitantes como la fertilidad de los suelos, ataque de fitopatógenos, escasez del recurso hídrico, limitada asistencia técnica y empresarial y elevados costos de inversión y producción (Agrobanco, 2007). La problemática de fertilidad del suelo y presencia de fitopatógenos se previene o se minimiza con la aplicación de fertilizantes y plaguicidas químicos; sin embargo, el uso irracional de estos productos causa contaminación del suelo y agua, además de un desequilibrio en la densidad y actividad de los microorganismos rizosféricos como los hongos formadores de micorriza (Muñoz et al., 2009).

La micorriza es una asociación simbiótica mutualista formada por raíces de las plantas vasculares y las hifas de los hongos micorrízicos. Con base a la estructura, morfología y modo de infección se distinguen ectomicorrizas y endomicorrizas (Muñoz et al., 2009). Estas últimas son poco específicas, pudiendo infectar gran número de especies vegetales y entre las más comunes están los hongos micorrízicos arbusculares, HMA (Salas, 2004). Los HMA mejoran la absorción de agua (Martínez & Pugnaire, 2011), nutrientes poco móviles como el fósforo (Xu et al., 2014) y el crecimiento y adaptación de las plantas ante diversas condiciones desfavorables causadas por factores bióticos

(Choudhary et al., 2015) y abióticos (Harris et al., 2012; Ruiz et al., 2012; Castro et al., 2012).

El efecto benéfico de los HMA en los suelos agrícolas se traduce en la cantidad y calidad de los productos vegetales (Baum et al., 2015); sin embargo, las poblaciones de HMA disminuyen drásticamente por la actividad antifúngica, no todas las combinaciones HMA-planta son compatibles y la adaptación es determinada por las condiciones edafoclimáticas (López et al., 2015). Además, los HMA son simbioses obligados y no se pueden cultivar *in vitro*, pero si pueden incrementarse masivamente en hospederos susceptibles como *Zea mays* L. “maíz” (Bustamante y Zambrano, 2015). En este contexto, se necesita aislar, identificar y propagar los HMA de los cultivos de interés económico como el espárrago, con la perspectiva de obtener inóculos que garanticen un efecto benéfico en las plantas.

La propagación y selección de HMA permitirá obtener consorcios adaptados al sistema agroecológico del espárrago, los que posteriormente podrán ser evaluados para constituir biofertilizantes en una agricultura amigable con el ambiente y de bajo costo. Por lo expuesto, se planteó el siguiente problema: ¿Cómo se propagan y seleccionan los consorcios de HMA aislados e identificados en la rizósfera de espárrago? El objetivo general fue: Propagar y seleccionar consorcios de HMA aislados de la rizósfera de plantas de espárrago.

Los objetivos específicos fueron: Aislar e identificar HMA en el suelo radicular de espárrago, propagar las esporas de los consorcios de HMA en maíz, para determinar la infectividad y efectividad, seleccionar los cuatro consorcios con la mayor efectividad y determinar el efecto en el desarrollo vegetativo del espárrago. La hipótesis planteada fue: Los HMA aislados e identificados en la rizósfera de espárrago se propagan en maíz y se seleccionan con base a una efectividad mayor de 50%.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

La micorriza es una simbiosis establecida en el 95% de las especies vegetales de forma natural (Faggioli et al., 2013). Los HMA se han reportado en *Coffea arabica* “café” (Bolaños et al., 2000), *Carya illinoensis* “nogal” (Muñoz et al., 2009), *Theobroma cacao* L. “cacao” (Rojas, 2010; Prieto et al., 2012), *Zea mays*, “maíz” (Pérez et al., 2012; Bustamante y Zambrano, 2015), *Musa* sp. “plátano” (Adriano et al., 2010), *Alsophila firma* (Lara et al., 2014), *Bothriochloa pertusa* L. “pasto colosuana” (Espitia et al., 2014), *Capsicum annuum* L. “chile mirasol” (López et al., 2015), plantas medicinales (De la Rosa et al., 2012), malezas (Tena, 2002) y suelos salinos (Tapia et al., 2010).

El efecto benéfico de los HMA en los cultivos agrícolas, corresponde a incrementos en el área foliar, volumen radical y peso de la biomasa en *Lactuca sativa* “lechuga” (Tapia et al., 2010); biomasa aérea y radical, eficiencia fotosintética y contenido de prolina en *Oryza sativa* “arroz” (Ruiz et al., 2012), biomasa total y absorción de N, P, K en *Canavalia ensiformis* (Martín et al., 2010); número de hojas y biomasa foliar en *Catharanthus roseus* “vinca” (De la Rosa et al., 2012); materia seca de nódulos radiculares de bacterias simbióticas en *Mimosa caesalpiniaefolia* (Castro et al., 2012); altura, número de raíces y rendimiento en *Manihot esculenta* “yuca” (Riera et al., 2016); biomasa total en *Capsicum annuum* L. “chile” (López et al., 2015); altura, diámetro de tallo e índice de vigor, en *Bactris gasipaes* Kunt “palmito” (Enríquez et al., 2010); biomasa

aérea y radical en espárrago (Xu et al., 2014) y reducción de la dosis del fertilizante nitrogenado en “fresa” (Salgado et al., 2012).

La dinámica de la colonización de raíces por HMA se investigó en plantas de plátano clon Gran Enano. En parcelas de 1 ha se seleccionaron diez plantas con diferentes estadios fenológicos de desarrollo: infantil, juvenil y reproducción y se determinaron la morfometría de las plantas, el nivel de colonización por HMA de las raíces (%) y la cantidad de esporas ($n=100$ g suelo⁻¹). El máximo (55%) nivel de colonización por HMA se encontró antes de la reproducción. El promedio de esporas fue 93-100g suelo⁻¹ a lo largo del ciclo productivo. El mayor valor se encontró a los 165–213 días, en la etapa de floración y el número disminuyó durante la fructificación. Se concluyó que la dinámica de colonización de las raíces del banano se incrementa en el periodo vegetativo y alcanza el valor máximo en la etapa de reproducción (Adriano et al., 2010).

La selección de microorganismos nativos para la producción de biofertilizantes posibilita su adaptación y multiplicación en el suelo. Cepas nativas de HMA aisladas de suelo en dos sistemas de producción de chile Mirasol: tecnificado (TEC) y tradicional (TRA) se incrementaron, con el objetivo de seleccionarlas mediante la infectividad y efectividad. El ensayo se condujo en invernadero, con 14 tratamientos con TEC y 15 con TRA, cada uno con ocho repeticiones. Durante 40 días se midió la altura de planta y biomasa seca de hojas, tallos y raíces y a los 90 días después del trasplante se determinó el porcentaje de raíces colonizadas. Los mayores valores en la biomasa seca total (0,66 y 0,60 g) y porcentajes de colonización de raíces (33,89 y 36, 67%) se alcanzaron en TEC-11 y TRA-14. Se concluyó que los HMA pueden ser utilizados para mejorar el desarrollo del cultivo de chile Mirasol (López et al., 2015).

En el cultivo de fresa se investigó el efecto de la inoculación con *Glomus intraradices* en el crecimiento de plantas fertirrigadas con 0,3 y 10 mM de N en formas de NH_4^+ o NO_3^- . El experimento se realizó en invernadero, determinando la colonización (%), peso seco de raíces (PSR) y parte aérea (PSPA) a los 33 y 48 días después del establecimiento (ddl). El porcentaje de colonización de *G. intraradices* se redujo conforme al incremento de la concentración del fertilizante químico a los 33 ddl. *G. intraradices* incrementó el PSR y PSPA en las plantas con NH_4^+ y a los 48 ddl se observó el mismo efecto en las plantas con NO_3^- . En

ambos casos, los mayores valores de biomasa aérea y radical se alcanzaron en las plantas fertirrigadas con bajas concentraciones de nitrógeno. Se demostró que *G. intraradices* tiene el potencial de reducir la dosis de fertilizante nitrogenado en el cultivo de fresa y que el exceso de nitrógeno inhibe la colonización de HMA, sin incrementar el crecimiento de las plantas (Salgado et al., 2012).

El sobrepastoreo disminuye la cobertura de gramíneas de interés forrajero y aumenta el arbusto poco apetecible *Empetrum rubrum* “murtilla”. Con el objetivo de determinar la relación entre las propiedades del suelo y las poblaciones de HMA se seleccionaron cuatro suelos con diferente manejo: I (80% de cobertura entre murtillo y suelo desnudo), II (20% de cobertura de murtillo y 30% de gramíneas), III (60% de cobertura de murtillo y 20% de gramíneas) y IV (pastizal con 2% de murtillo). El número promedio de esporas en 100 g de suelo fue 908 y 3715 en los suelos I y IV respectivamente y en la rizósfera de las tres gramíneas más frecuentes fue de 2006-3280. *Poa rigidifolia* presentó el mayor número de esporas en la rizósfera y colonización (52,2%) de raíces. Se identificó *Glomus fasciculatum*, *G. etunicatum* y *Acaulospora denticulata*. Se concluyó que la mayor cantidad y diversidad de HMA están asociadas a la mayor calidad forrajera del pastizal (Mendoza et al., 2002).

La densidad y diversidad de especies de HMA asociadas al cultivo de maíz se investigó en parcelas manejadas con bajos ingresos de insumos externos con el objetivo de determinar la respuesta a la aplicación de abono verde/cultivo de cobertura (AVCC) y biofertilizante. Se trabajó con siete parcelas de productores, de las cuales tres habían sido manejadas con *Macuna deeringiana* Mev. “frijol nescafé” como AVCC y cuatro sin dicho manejo. En cada parcela se establecieron cuatro tratamientos de biofertilización: 1) inoculación con HMA, 2) aplicación de fertilizante orgánico foliar, 3) inoculación con HMA + fertilizante orgánico foliar (FOF) y 4) testigo. Se identificaron 23 morfoespecies, siendo *Glomus* y *Acaulospora* los géneros predominantes. En las parcelas con AVCC se encontró el 91,3% de especies de HMA, mientras que a las parcelas sin AVCC les correspondió el 60,9%. Se concluyó que el AVCC y la inoculación con micorrizas ejercen efectos positivos en la densidad y diversidad de HMA y en la colonización de la raíz (Pérez et al., 2012).

Los HMA establecen asociaciones con las plantas, beneficiándolas en su desarrollo y rendimiento, siendo importante caracterizarlos para propagarlos y aplicarlos en los diferentes cultivos agrícolas. Con el objetivo de aislar e identificar HMA asociados a sistemas agroforestales en *Theobroma cacao* L. “cacao”, se colectaron muestras de suelo y raíces. Las esporas de HMA se aislaron por el método de tamizado y decantación con centrifugación y el porcentaje de colonización se determinó en las raíces despigmentadas y teñidas. Se identificaron *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Glomus* y *Scutellospora*, cuantificándose 1030-2028 esporas de HMA por 100 g de suelo húmedo. *Glomus* predominó con 879–1199 esporas 100 g suelo. Los porcentajes de colonización micorrízica fueron de 0,9 – 3,5%. Se determinó la presencia de HMA en los cultivos de cacao, pudiendo ser utilizados para la producción de inóculos de biofertilizantes (Prieto et al., 2012).

La colonización y estructura de la comunidad de HMA se investigó en *Alsophila firma*, un helecho amenazado por la reducción de su hábitat bosque mesófilo de montaña. Muestras de raíz y suelo se recolectaron en tres reservas naturales correspondientes a un bosque maduro conservado sin alteración por 100 años, vegetación secundaria en recuperación de pastoreo y bosque alterado con vegetación secundaria y acceso al público. Se identificaron 19 morfoespecies de HMA, predominando *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Glomus*, *Funneliformes*, *Sclerocystis* y *Scutellospora*. La mayor diversidad de HMA, distribución más uniforme, mayor número de esporas por género y mayor abundancia de HMA correspondieron al bosque conservado. El alto porcentaje de colonización de HMA indican que el helecho depende e de la micorriza, sugiriéndose la inoculación con HMA previa a la reintroducción de los especímenes en los hábitats disturbados (Lara et al., 2014).

Se investigó la influencia de las características físicas y químicas de los suelos salinos sobre la presencia y diversidad de HMA en la vegetación existente. Muestras de raíces y suelo rizosférico se colectaron en dos tipos de suelo. En raíces previamente teñidas se determinó la colonización y en el suelo se cuantificaron las esporas por el método de decantación y centrifugación. La conductividad eléctrica (dSm^{-1}) fue de 19,21 y 55,14 en suelos salinos-sódicos y sódicos, respectivamente. El número de esporas (98) y colonización micorrízica

(3,47%) fue mayor en los suelos salino – sódicos, en comparación con 71 y 1,94% de los suelos sódicos. En ambos suelos se identificaron los géneros *Glomus* (92-96%) y *Gigaspora* (8-4%). Se demostró que la concentración de sales influye severamente en la diversidad y número de esporas de HMA (Tena, 2002).

2.2 Base teórica

En el mundo se aprecia la expansión de una agricultura sostenible, que es sinónimo de incremento en la productividad de los cultivos con base al uso eficiente de los recursos naturales, en un enfoque ecosistémico e intertemporal (Carreño, 2009; Gómez y Flores, 2015). A partir de 2005, sobre la base del aporte de la “Evaluación de los ecosistemas del milenio”, se reconoce la importancia económica de los ecosistemas y de los servicios que brindan para mejorar el bienestar humano (Gómez y Flores, 2015).

El Perú tiene más del 80 % de las zonas de vida en el mundo, entre las cuales se encuentran doce ecosistemas frágiles, megadiversidad que ha sostenido el desarrollo de diversos modos de vida y producción. En las últimas dos décadas se aprecian notorios cambios en la actividad agrícola, es decir, el cultivo de productos en áreas distintas a las tradicionales, lo que ha contribuido al proceso de diversificación de la oferta agroexportable, la adopción de tecnologías, buenas prácticas agrícolas y la certificación de procesos, entre otros aportes. Estos cambios están orientados a responder a las exigencias de los mercados de destino, mejorar la eficiencia en el uso de los recursos naturales como el suelo y gestionar el uso de recursos escasos como el agua. Es decir, gradualmente, se hace evidente la consideración de los servicios ecosistémicos en las decisiones de producción (Gómez y Flores, 2015).

2.2.1 Micorrizas

El término micorriza describe la asociación simbiótica de las raíces de plantas con hifas de hongos, involucrada en la captación de nutrientes por la mayoría de plantas terrestres. Se distinguen siete tipos de asociaciones: ectendomicorrizas, ericoides, arbustoides, monotropoides, orquideoides, ectomicorrizas y arbusculares. La micorriza arbuscular llamada también micorriza vesicular-arbuscular es una asociación entre las raíces de la mayoría

de plantas vasculares y un grupo pequeño de hongos del phylum Glomeromycota (Camarena, 2012).

Los HMA presentan hifas intra e intercelulares en la corteza de la raíz y pueden formar arbuscúlos y vesículas. Los arbuscúlos son hifas que se dividen dicotómicamente, son invaginados por la membrana plasmática de las células corticales y presentan periodos de vida cortos. Las vesículas son estructuras de almacenamiento que se forman en la parte terminal de las hifas. Los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* no producen vesículas, en su lugar forman células auxiliares. Las hifas externas pueden ser de tres tipos: infectivas que inician los puntos de colonización, hifas absorbentes que se encargan de explorar el suelo para la extracción de nutrientes y las hifas fértiles que llevan las esporas (Barrer, 2009).

Cuando una espora de un hongo micorrízico germina, ramifica en todas las direcciones para incrementar la posibilidad de encontrar raíces y en ausencia del hospedante, el crecimiento se limita a 20-30 días. Las señales de reconocimiento o elicitores son secretadas por el microorganismo (elicitador exógeno) o generados por una ruptura de la pared celular de la planta (elicitador endógeno). En un inicio, se observa incremento de la actividad de las enzimas catalasa y peroxidasa, que coincide con la formación del apresorio y penetración del hongo en la raíz. También se acumula el ácido salicílico (AS) involucrado en la transducción de señales activadas en las reacciones planta-patógeno. Simultáneamente al crecimiento inter o intracelular de los HMA, la hifa terminal se diferencia en arbuscúlos dentro de ciertas células corticales, cuyas vacuolas se fragmentan, aumentando el volumen del citoplasma y el número de organelos. Después que los arbuscúlos se colapsan, son degradados completamente y las células de la planta regresan a su fisiología normal (Camarena, 2012).

Plantas con sistemas radicales abundantes como *Manihot esculenta* “yuca”, *Allium* sp. “cebolla” y cítricos pueden ser muy dependientes de los HMA, mientras que plantas con raíces abundantes pero finas y con pelos radicales largos son poco dependientes a la micorrización. En los HMA se distinguen dos tipos morfológicos de colonización, el tipo “Arum”, donde las hifas presentan crecimiento intercelular y los arbuscúlos se encuentran dentro de las células corticales de la raíz y el tipo “Paris” en el cual las hifas presentan crecimiento

intracelular al igual que los arbusculos, pero forman enrollamientos cuando están dentro de la célula. El crecimiento del hongo de manera asimbiótica es de 1-2 semanas hasta que hace contacto con la raíz del hospedero, formando el apresorio, por donde penetrarán las hifas a las células corticales de la raíz, para formar los arbusculos e incrementar el área de contacto entre la planta y el hongo (Barrer, 2009).

La capacidad de las micorrizas para promover el desarrollo de los cultivos depende de la infectividad y efectividad. La infectividad se refiere a la capacidad del hongo para penetrar e invadir la raíz intensamente y explorar el suelo, así como su habilidad de persistir en el sistema productivo. La efectividad del hongo se demuestra cuando mejora el desarrollo del hospedante directa o indirectamente. De forma directa incrementa la absorción del agua y nutrientes poco móviles como el fósforo y mejora la absorción del zinc, cobre, amoníaco anhidro y fosforo. De manera indirecta el hongo protege contra los fitopatógenos y condiciones de estrés, así como también aumenta la agregación del suelo y la estabilidad (Tapia et al., 2010; Pérez et al., 2012).

Los HMA tienen gran potencial como biofertilizantes y bioprotectores. a) Los HMA tienen hifas que conforman una interfase entre el suelo y la planta, favoreciendo la absorción de nutrientes P, N, K, Zn, Cu, S, Fe, Mg, Ca y Mn desde la solución del suelo hasta el interior de las raíces, b) Los HMA incrementan el área de contacto de la raíz en el suelo, asegurando la continuidad absorbente radicular, c) En condiciones de estrés hídrico y de salinidad los HMA facilitan la absorción de agua, d) Las vesículas cubren la carencia de sustancias nutritivas cuando la planta sufre lesiones en los folíolos fotosintéticos, e) La colonización favorece la lignificación de las raíces y también modifica el microambiente de las raíces incrementando la resistencia a los fitopatógenos (Bashan et al., 2012).

A las micorrizas se les atribuye antagonismo directo e indirecto. El antagonismo directo por competencia se puede dar por i) los sitios de infección radicular con producción de exudados de HMA que modifican el crecimiento de patógenos y modificaciones morfológicas y anatómicas en el sistema radicular, ii) nutrición por consumo de carbohidratos: desarrollo de un entorno propicio para los antagonistas en la rizósfera, intercambio de nutrientes y agua en la planta. El

antagonismo indirecto por favorecimiento de la planta se puede dar por: i) inducción de resistencia sistémica, acumulación de especies reactivas de oxígeno, ácido salicílico, fitoalexinas y activación de fenilpropanoides, ii) estimulación del crecimiento, acumulación de enzimas hidrolíticas, quitinasas y glucanasas, mayor absorción de agua y nutrientes, mayor producción de biomasa y protección contra patógenos edáficos (Cano, 2011).

2.2.2 *Asparagus officinalis* L.

El espárrago es originario de la región oriental del Mediterráneo y Asia menor y crece en climas templados y subtropicales, siendo la única especie de su género cultivada como hortaliza. La planta de espárrago presenta una porción subterránea conocida como “araña” que consiste en un rizoma expandido lateralmente y poco profundo que posee yemas en su extremo apical, raíces carnosas de almacenamiento y raíces laterales de absorción. El crecimiento de la “araña” ocurre cuando las yemas periféricas originan nuevos grupos de gemación para la próxima generación, de la planta (Asprelli et al., 2005).

El ciclo vital de las plantas de espárrago verde se divide en cuatro fases: de crecimiento temprano, los primeros 2 años desde la plantación, caracterizados por un fuerte desarrollo vegetativo; de productividad creciente (3°- 4° año) que corresponde a los 2 primeros años de cosecha; de productividad estable (4°-10° año) y finalmente de productividad decreciente (más de 10 años). El aumento de temperatura propicia la emergencia de brotes jóvenes llamados turiones a partir del rizoma. Después de la cosecha, los turiones se desarrollan y forman el follaje o helecho (Asprelli et al., 2005). Las plantas son dioicas, siendo más productivas las plantas masculinas que las femeninas. Las estaminadas tienen mayor número de turiones mientras que en las pistiladas los turiones tienen mayor diámetro (Kirschenbilder et al., 2015).

El cultivo de espárrago se concentra en la franja costera del país, destacando La Libertad e Ica con el 50 y 30% de la producción nacional, respectivamente. En el 2012, La Libertad registró el mayor rendimiento (12 000 kg ha⁻¹), seguido por Ica (11 200 kg ha⁻¹). En el ámbito nacional el 75% de la superficie sembrada se encuentra en unidades agropecuarias, UA, con más de 50 ha. A diferencia, en La Libertad e Ica las UA tienen 77 y 83% de la

superficie sembrada. Respecto al riego, en La Libertad en el 64,4% de los UA es por goteo y en el 34,5% por gravedad. En Ica el 74,2% es por goteo, el 23,6% por gravedad y el 2,2% por aspersión. La procedencia del agua para riego es diversa y entre las principales fuentes se incluye agua superficial y subterránea. En La Libertad el 46% del agua proviene de río, el 37% de manantiales y el 4% de agua subterránea. Por el contrario, en Ica predomina el uso de agua subterránea, el 31% proviene de ríos y el 21% de manantiales (Agrobanco, 2007; Gómez y Flores, 2015).

El Instituto Nacional de Estadística e Informática informó que entre 2004-2013 el índice del volumen exportado de espárrago creció en 70,5%, lo que equivale a una tasa promedio anual de 6,1%. El índice más alto se registró en el 2011 (199,3) seguido del 2013 (198). Entre el 2004 y 2013 la producción de espárragos se incrementó en 94,3%; no obstante, la producción del 2012 (376,0 TM) y del 2013 (374,1 TM) se ubicó por debajo del nivel alcanzado en el 2011 (392,3 TM), principalmente debido a la disminución de la cosecha en las plantaciones antiguas. En el 2013 los principales departamentos productores de espárrago fueron La Libertad, Ica, Lima, Ancash, Lambayeque y Piura, correspondiéndole el 89,8% de la producción total a La Libertad con 49,96% e Ica con 39,85% (INEI, 2014).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Material biológico

El material biológico estuvo constituido por suelo radicular de espárrago, hongos micorrízicos arbusculares, HMA, semillas de maíz y espárrago UC-157 F2.

3.1.2 Población y muestra

En la investigación descriptiva la población estuvo constituida por el suelo radicular de las plantas de espárrago del fundo Josymar (50 ha) en Virú, Trujillo y se investigó una muestra no probabilística del suelo radicular de 96 plantas colectado durante abril de 2016. El número de muestras fue calculado (Vásquez et al., 2012), tomando en cuenta una prevalencia de 90%, determinada en un estudio piloto por los investigadores. En la investigación explicativa la población fueron los consorcios de HMA aislados e identificados en el suelo radicular de espárrago durante abril de 2016 y la muestra no probabilística y por conveniencia estuvo constituida por cuatro consorcios de HMA.

3.2 Métodos

3.2.1 Variables de la fase descriptiva

Variable cualitativa: Géneros de HMA.

Variables cuantitativas: Número de HMA y efectividad en maíz.

3.2.2 Variables de la fase explicativa

Variable independiente: Consorcios (4) de HMA.

Variable dependiente: Altura de plantas de espárrago.

3.2.3 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis

La investigación se realizó en dos fases. La primera fase descriptiva correspondió al aislamiento, identificación, cuantificación, propagación y selección de consorcios de HMA. En la segunda fase explicativa se determinó el efecto de cuatro consorcios de HMA en la altura de plantas de espárrago. La hipótesis en la primera fase se contrastó con el diseño de “Solo Después” (Vásquez et al., 2012) y en la segunda fase con el diseño experimental completamente aleatorio, DCA (Hernández et al., 2014). Los tratamientos fueron seis, correspondientes a T1: Testigo absoluto (agua destilada), T2: Testigo químico (NPK); T3 a T6 consorcios de HMA. En cada tratamiento se consideraron tres repeticiones, totalizando 18 unidades experimentales (Figura 1).

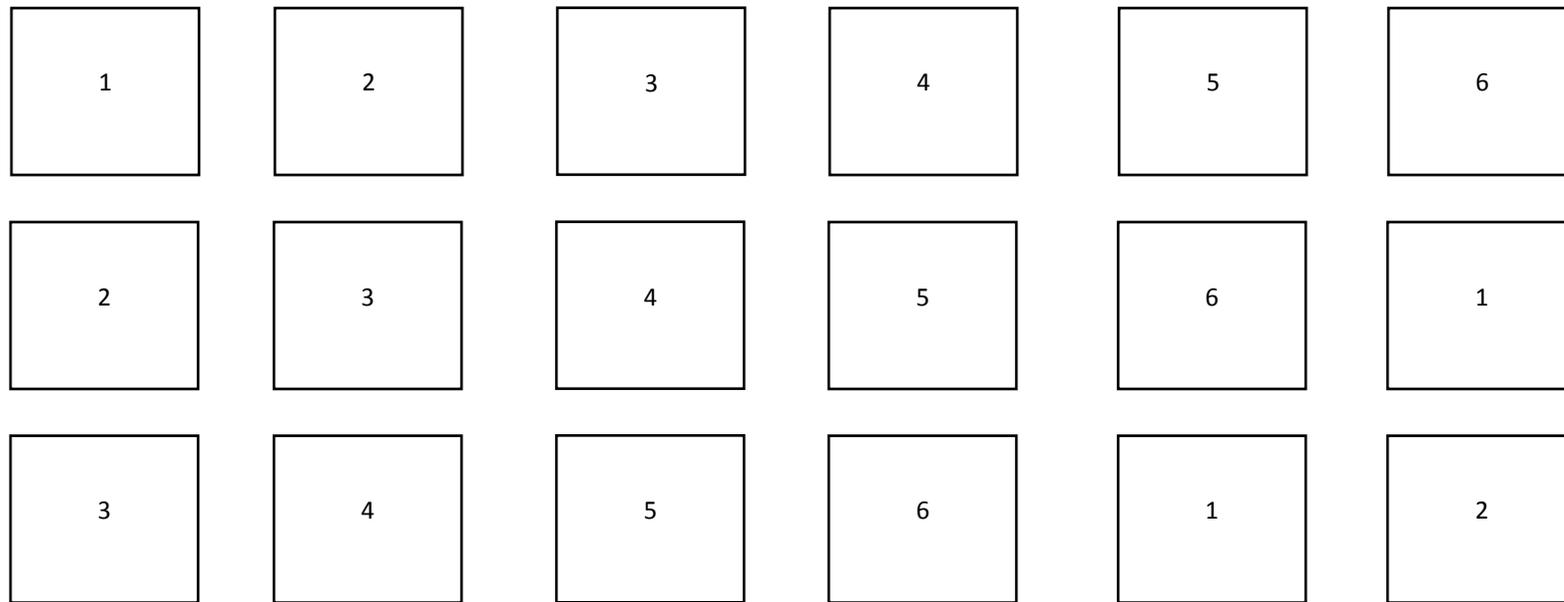
3.2.4 Lugar de muestreo

Las 96 muestras de suelo radicular de espárrago se colectaron en el fundo Josymar, ubicado en el lote 10,6 del sector IV, Proyecto Especial Chavimochic, en la provincia de Virú, región La Libertad (Figura 2, tabla 1). Virú tiene una superficie de 3218,74 km² y limita por el norte con la provincia de Trujillo, por el este con las provincias de Julcán y Santiago de Chuco, por el sur con el Departamento de Ancash y por el oeste con el Océano Pacífico (Municipalidad Provincial de Virú, 2016).

El fundo Josymar tiene 50 ha, distribuidas en 24 lotes de aproximadamente 1,5 ha cada uno. Al momento del muestreo, 19 lotes estaban sembrados con espárrago cultivar UC-157 F2 (cuatro plantas por metro lineal), con 1,8-2,5 años transcurridos después del trasplante de coronas y una población promedio de 30 000 plantas ha⁻¹.

3.2.5 Obtención de muestras

En el campo de cultivo de espárrago, cada cinco surcos se seleccionó la planta más vigorosa y se extrajeron muestras de aproximadamente 2 kg de suelo radicular (Figuras 3,4), se depositaron en bolsas de polietileno debidamente identificadas e inmediatamente se transportaron en una caja térmica (10 ± 1°C) hacia el Laboratorio de Microbiología y Parasitología.



T1: Testigo absoluto

T2: Testigo químico

T3-T6: Consorcios de HMA

Figura 1. Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de consorcios de HMA en *Asparagus officinalis* L.



Figura 2. Ubicación de la provincia de Virú, región La Libertad, abril, 2016 (<https://www.google.com.pe/maps/place/Vir%C3%BA/@-8.5583137,78.8676435,10z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x91ac59407c7b0391:0x6c172095672753ce!8m2!3d-8.5528417!4d-78.625476>).

Tabla 1. Lote de procedencia de muestras de suelo radicular de *Asparagus officinalis* L. en el Fundo Josymar, Virú, La Libertad

Lote	Nº de surcos	Nº de muestras
A1-B1-C1	54	15 (1-15)
A2-B2-C2	61	15 (16-30)
A3-B3-C3	62	15 (31-45)
A4-B4-C4	63	15 (46-60)
C5	56	5 (61-65)
A6-B6-C6	64	15 (66-80)
C7	49	5 (81-85)
C8	55	6 (86-91)
C9	51	5 (92-96)
Total: 19 lotes	515	96



Figura 3. Extracción de suelo radicular de *Asparagus officinalis* L.



Figura 4. Suelo radicular de *Asparagus officinalis* L.

En simultáneo al muestreo de raíces con suelo radicular de espárrago (Figura 5), para el aislamiento de HMA, se colectó una muestra representativa de 1 kg de suelo para realizar el análisis físico-químico en el Instituto Nacional de Innovación y Extensión Agraria, Estación Experimental Vista Florida de Chiclayo. Según los resultados (Tabla 2), el suelo es ligeramente ácido (pH 6,5) y ligeramente salino (CE 3,06 dSm⁻¹), con textura arenosa, niveles bajos de materia orgánica (0,23 %) nitrógeno (0,103 ppm) , fósforo disponible (6,0 ppm) y potasio (203,0 ppm).

3.2.6 Aislamiento de esporas de HMA

Las muestras de suelo fueron depositadas sobre un papel Kraft, para separar las piedras y restos de tejido vegetal (Figura 6). A continuación, se realizó el submuestreo (Carreño, 2009), siguiendo el método de cuarteo y amontonamiento (Figura 7). El volumen de suelo del extremo inferior derecho se mezcló cinco veces con el superior izquierdo, el inferior izquierdo con el superior derecho, el superior con el inferior y el derecho con el izquierdo, formando un montón con el suelo, en cada cambio de posición. Una vez homogenizada la muestra, se tomaron trece submuestras de 100 g cada una, totalizando 1,3 kg.

Para la obtención de esporas de HMA, según el método de tamizaje-flotación-filtración (Dávila et al., 2009; Bustamante y Zambrano, 2015). En un balde de 4 L, se depositaron 100 g de suelo, se agregó 1 L de agua potable (Figuras 8,9), se agitó vigorosamente durante 30 segundos y se dejó sedimentar por 1 minuto (Figura 10). El sobrenadante se decantó sobre tamices de 120 y 45 micrones superpuestos entre sí y se lavó con un chorro suave de agua potable, descartando las partículas del tamiz de 120 micrones y concentrando las del tamiz de 45 micrones (Figura 11). Estas fracciones se vertieron en un vaso de precipitación de 500 mL de capacidad, repitiendo el proceso con tres submuestras (0,300 kg), requeridas para la obtención e identificación de las esporas y diez submuestras (1 kg) para la obtención del inóculo, que posteriormente fue propagado en maíz.



Figura 5. Muestras de suelo radicular de *Asparagus officinalis* L.

Tabla 2. Análisis físico – químico de suelo radicular de *Asparagus officinalis* L. en Virú, La Libertad, 2016

Clase textual	pH	CE (dSm ⁻¹)	MO (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)
Arenoso	6,5	3,06	0,23	0,103	6,0	203,0



Figura 6. Suelo radicular de *Asparagus officinalis* L. sin piedras y restos de tejido vegetal.



Figura 7. Técnica de cuarteo y amontonamiento de suelo.



Figura 8. Submuestra de suelo para la obtención de esporas de HMA.



Figura 9. Vertido de agua potable sobre submuestra de suelo.



Figura 10. Sedimentado de suspensión de muestra de suelo.



Figura 11. Vertido del sobrenadante de suspensión de suelo en tamices superpuestos.

En la obtención de esporas de HMA para su identificación, se acondicionaron recipientes para que funcionen como embudos Bushner modificados (Bustamante y Zambrano, 2015). Cada recipiente se higienizó con hipoclorito de sodio comercial (5 % v/v), durante 30 minutos y en el extremo superior se colocó un anillo de cloruro de polivinilo (PVC) de 4 cm de ancho y 8 cm de diámetro. El extremo inferior del anillo fue cubierto con tul y sobre éste se depositó un papel filtro Watman N°1, de 9 cm de diámetro (Figuras 12,13).

El tamizado proveniente del procesado de 0,300 kg de suelo se vertió en tres tubos de centrifuga (2/4 del tubo), se agregó una solución de sacarosa al 50 % (1/4 del tubo), el contenido se mezcló y se centrifugó a 3000 rpm, durante 3 minutos (Figuras 14,15). El sobrenadante se vertió en el tamiz de 45 micrones (Figura 16), rápidamente se enjuagó con agua potable, para eliminar el exceso de sacarosa y se vertió cuidadosamente sobre el papel filtro de cada embudo Bushner modificado (Figura 17). Después de 48 horas, el papel filtro completamente seco y conteniendo las esporas de HMA fue retirado y cortado en ocho partes (Figura 18) y cada una fue acondicionada sobre una lámina portaobjetos y asegurada con cinta adhesiva (Figura 19), para la observación e identificación bajo el microscopio compuesto.

En la obtención de esporas de HMA para su propagación, el tamizado de 1 kg de suelo se vertió en el tamiz de 45 micrones para eliminar el exceso de agua y el material retenido fue llevado a placas de Petri de 14 cm de diámetro (Figura 20), permaneciendo a temperatura ambiente durante 48 horas, para eliminar el exceso de humedad. Después, el suelo y esporas obtenidas se colectaron con un pincel (Figura 21) y se depositaron en sobres de papel de 5 x 12 cm, obteniendo en promedio 10 g (Figura 22), que constituyeron el inóculo de HMA, para su propagación.

3.2.7 Identificación de esporas de HMA

Las esporas de HMA fueron observadas bajo el microscopio (10 y 40x) describiéndose su forma, color, forma de hifa de sustentación y ubicación, identificándolas con el catálogo de micorrizas arbusculares de la Amazonía Colombiana (Peña et al., 2007) e “International Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi–INVAM” (2009).



Figura 12. Anillo plástico de cloruro de polivinilo, para embudos Bushner.



Figura 13. Embudos Bushner modificados para la recuperación de esporas de HMA.



Figura 14. Vertido del tamizado de suelo en tubo de centrifuga.



Figura 15. Adición de sacarosa al tamizado de suelo.



Figura 16. Sobrenadante de suelo vertido en tamiz de 45 micrones.

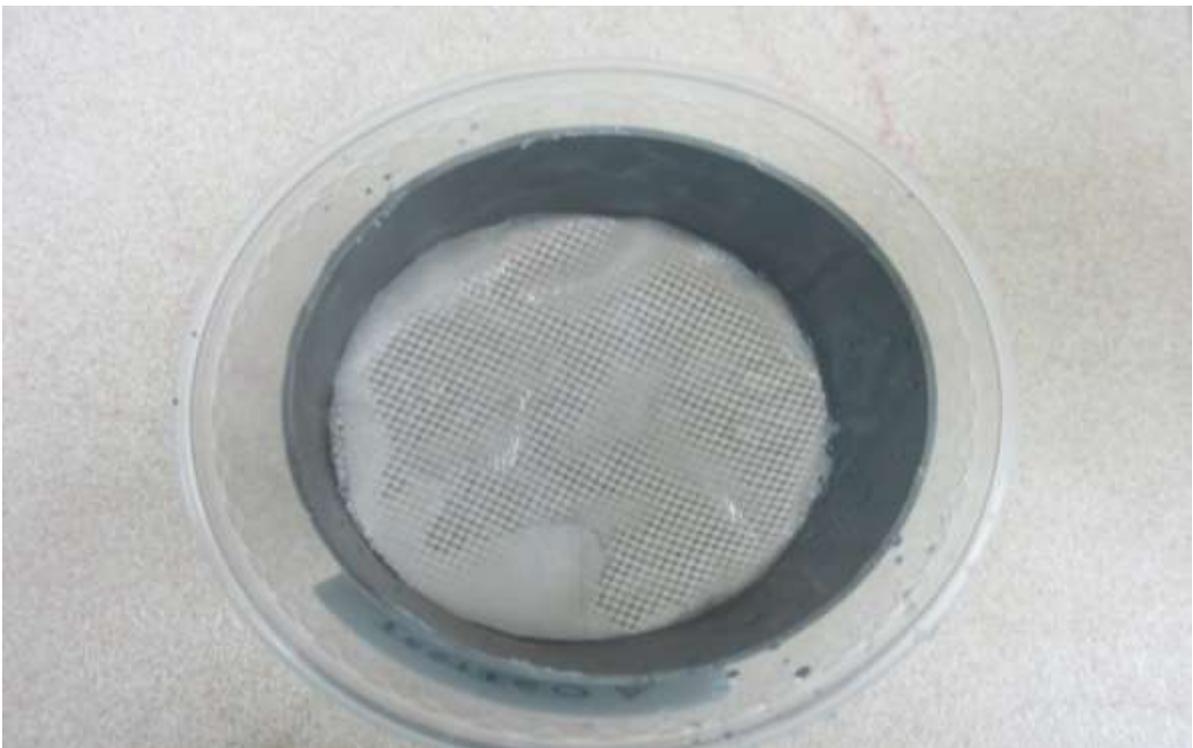


Figura 17. Sobrenadante de suelo depositado sobre papel filtro de embudo Bushner modificado.

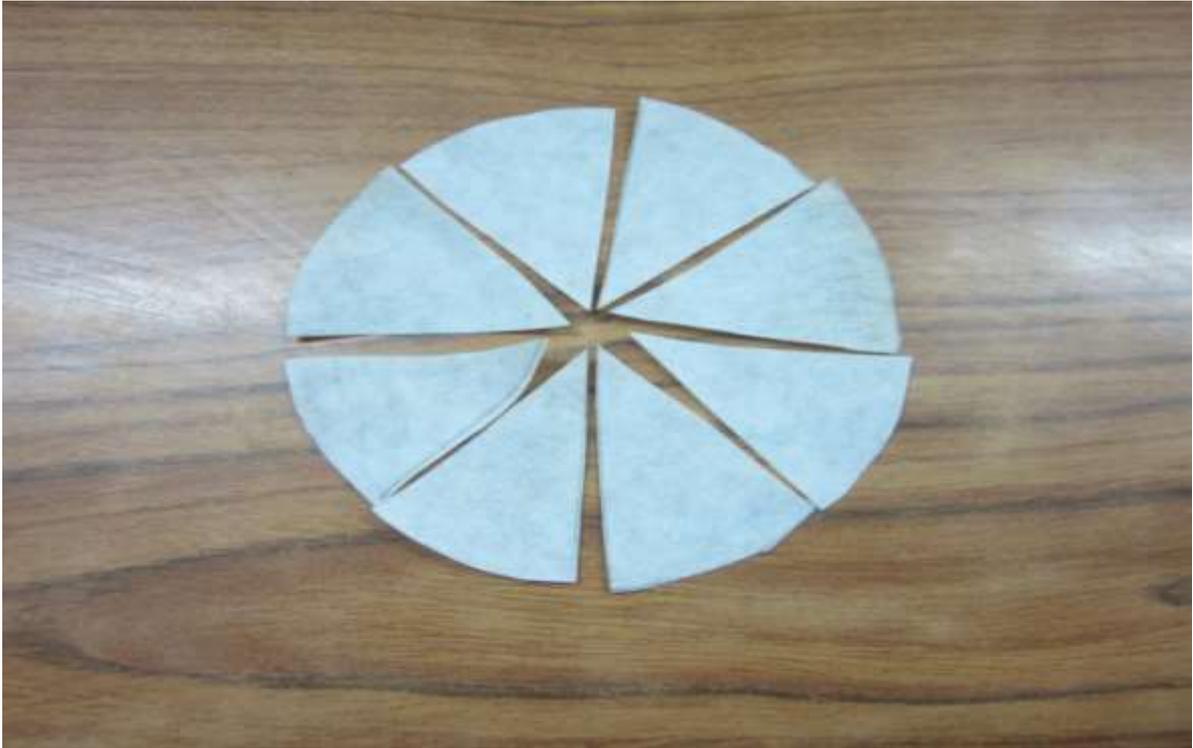


Figura 18. Papel filtro seco y con esporas de HMA.



Figura 19. Papeles filtro conteniendo esporas de HMA, acondicionados en láminas portaobjetos.



Figura 20. Tamizado de suelo en placa de Petri.



Figura 21. Recuperación de esporas de HMA.



Figura 22. Inóculos de HMA listos para su propagación.

Una vez identificados los géneros de HMA, se cuantificó el número de esporas de cada inóculo previamente obtenido (Pi), expresando el resultado como número de esporas HMA por 100 g de suelo.

3.2.8 Propagación de esporas de HMA en maíz

Las esporas de HMA, obtenidas mediante procesamiento del suelo, se propagaron en plantas de maíz (Dávila et al., 2009), en condiciones de invernadero.

a. Ubicación e instalación del cultivo

El cultivo de maíz amarillo duro híbrido simple AGRI-144 y la inoculación de esporas de HMA se realizaron en el invernadero de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo en Lambayeque. El ensayo fue conducido entre el 18 de abril al 15 de julio de 2016, con una temperatura mínima de 18 °C y una máxima de 26 °C.

b. Características de la especie vegetal

El maíz amarillo duro AGRI-144, es un híbrido simple precoz, con un periodo vegetativo de 115 días. El número de plantas por hectárea es de 55 000, con un potencial de rendimiento de 14 000 kg ha^{-1} . Las plantas alcanzan 1,90 m de altura y requieren cinco riegos, después del abonamiento, a los 30 días después de la siembra, a “lomo negro”, antes que aparezca la primera flor y al llenado de la mazorca (Casos y Santiago, 2013).

c. Acondicionamiento del suelo experimental

El suelo experimental estuvo constituido por 144,5 kg de una mezcla de suelo agrícola, arena y compost, en la proporción 2,5:2,0:0,5, que se solarizó por 30 días. A continuación, la mezcla de suelo experimental se distribuyó en 97 bolsas de polietileno negro de 16,5 x 3,5 cm, a razón de 1,5 Kg por bolsa.

d. Porcentaje de germinación

El porcentaje de germinación de las semillas de maíz, se determinó en cinco bandejas de tecnopor de 20 x 14 cm, en cuyo fondo se colocaron cuatro capas de papel toalla esterilizado, humedecido con agua destilada esterilizada y con ayuda de pinzas esterilizadas, se depositaron 20 semillas de maíz por bandeja, distribuidas en dos hileras, a razón de diez por hilera. Las bandejas se taparon y se mantuvieron a temperatura ambiente (28°C), humedeciéndolas interdiariamente, hasta observar el máximo de germinación, después de 7 días.

e. Tratamiento de la semilla

Las semillas de maíz se depositaron en una bolsa de plástico, donde se agregó el insecticida en polvo soluble Acephate O, S-dimethylacetylphosphoramidothioate, (Orthene 75PS) en la dosis de $4,8 \text{ g kg}^{-1}$ de semillas. El contenido fue homogenizado, por movimientos de rotación durante 2 minutos, para que el insecticida se distribuyera uniformemente sobre las semillas (Figura 23) y después, las semillas fueron extendidas en el interior de la bolsa y llevadas sobre una bandeja hacia la estufa a 30°C , para disminuir el exceso de humedad.

f. Inoculación de las esporas de HMA

En 96 macetas de arcilla, de 2 kg de capacidad conteniendo el suelo experimental (Figura 24) se realizaron tres agujeros de 3 cm de profundidad, se depositaron 5 g del inóculo de esporas de HMA en cada agujero y se cubrieron con una capa de 0,5 cm de suelo experimental. Después, se sembró una semilla de maíz en cada agujero (Figura 25) y se realizaron los riegos correspondientes, según los requerimientos del cultivo. Se incluyó un control en el que se aplicó agua destilada.

3.2.9 Determinación de la infectividad de los HMA nativos

La infectividad de los HMA se determinó contando con el número de esporas por 100 g de suelo (Pf), y el porcentaje de micorrización 90 días después de la inoculación de HMA. Para contar el número de esporas, 100 g de suelo radicular fueron procesados mediante el método de tamizaje-flotación y filtración descrito en el ítem 7.2.4. El número de esporas obtenidas constituyeron la población final (Pf) y tomando en cuenta la población inicial (Pi), se calculó el porcentaje de incremento.

La micorrización de las raíces se determinó con el método del clareo y tinción (Vierheling et al., 1998, modificado por Bustamante y Zambrano, 2015). En el clareo o despigmentación las raíces se lavaron con agua de caño, para eliminar el suelo adherido, se cortaron en fragmentos de aproximadamente 2 cm y se depositaron en tubos de 13 x 100 mm, a razón de 12 fragmentos por tubo. Se agregaron 10 mL de hidróxido de potasio, KOH 10%, v/v, cubriendo totalmente las raíces y se llevaron a baño maría, a 87°C , durante 20 minutos.



Figura 23. Homogenización del insecticida con las semillas de *Zea mays* L.



Figura 24. Suelo experimental contenido en macetas de arcilla.



Figura 25. Siembra de *Zea mays* L. en suelo experimental.

Las raíces se enjuagaron con agua destilada, se adicionaron 10 mL de ácido clorhídrico, HCl 10%, v/v, se dejaron reposar a temperatura ambiente por 5 minutos y después se eliminó el exceso de ácido con agua destilada, obteniéndose raíces despigmentadas.

Para la tinción, sobre las raíces se vertieron 10 mL de solución colorante-tinta china y se llevaron a baño maría, por 15 minutos. Se enjuagaron con agua destilada y se depositaron en placas de Petri con lactoglicerina, para su observación posterior bajo el microscopio óptico (Figura 26). El porcentaje de micorrización de raíces se determinó mediante el método de interceptos (McGonigle & Fitter, 1990, modificado por Bustamante y Zambrano, 2015). Los segmentos de raíces fueron extendidos en láminas portaobjetos, cinco en el extremo superior y cinco en el inferior, depositándose sobre cada grupo un cubreobjetos y presionando suavemente para evitar la formación de burbujas (Figura 27). Después de 2 minutos, las raíces se examinaron bajo el microscopio compuesto, considerando como raíces micorrizadas aquellas donde se observaron hifas en el interior del tejido y el resultado se expresó como porcentaje de micorrización.

3.2.10 Determinación de la efectividad de los HMA nativos

La efectividad de los HMA en maíz (Guerra, 2011) estuvo determinada por la altura (cm) de las plantas de maíz considerando desde la base del tallo hasta el extremo final de la hoja bandera. El índice de efectividad se calculó según la fórmula utilizada por Carreño (2009):

$$IEI(\%) = \frac{\text{Tratamiento con inoculación} - \text{Control sin inoculación}}{\text{Control sin inoculación}} \times 100$$



Figura 26. Raíces de *Asparagus officinallis* L. pigmentadas y conservadas en lactoglicerina.



Figura 27. Fragmentos de raíces de *Asparagus officinallis* L. pigmentados para la observación microscópica.

3.2.11 Consorcios de HMA seleccionados

El suelo de los cuatro consorcios de HMA con los que se alcanzaron los mayores índices de efectividad (%) en maíz y el testigo se seleccionaron para la fase explicativa (Figura 28).

3.2.12 Efecto de consorcios de HMA en plantas de espárrago

Plántulas de espárrago cultivar UC-157 se sembraron en el suelo de los cuatro consorcios de HMA seleccionados y del testigo. El cultivar UC-157 F1 es un híbrido clonar obtenido por cruzamientos de dos plantas (una hembra y un macho) y las plantas originadas son clonadas para su utilización por vía de cultivo de meristemas. Produce espárragos grandes cilíndricos, de buena uniformidad, y con tallos verde oscuro. Presenta resistencia a la roya y se le reconoce por su gran productividad (Giaconi y Escaff, 1993).

a. Plántulas de espárrago

Para obtener plántulas de espárrago, se preparó una mezcla de suelo agrícola, arena de río y humus, en la proporción 2:1:1, que fue distribuida en 50 vasos de tecnopor de 0,450 kg de capacidad (Figura 29), a razón de 0,340 kg por vaso y después se sembraron las semillas de espárrago (Figura 30), previamente hidratadas y tratadas (Regalado, 1992).

Para la hidratación, las semillas se acondicionaron en una bolsita de tocuyo, que fue sumergida en un recipiente de vidrio con 600 mL de agua declorada (Figura 31), la misma que fue cambiada cada 24 horas, durante 96 horas. Para la desinfección, las semillas hidratadas se remojaron por 2 minutos en una solución del fungicida Benomyl polvo mojable-WP (Benlate), en la dosis de 2 gL⁻¹ de agua declorada y posteriormente en una solución del insecticida en polvo soluble Acephate O, S-dimethylacetylphosphoramidothioate, (Orthene 75PS) en la dosis de 4,8 g kg⁻¹ (Figuras 32,33).

Las semillas de espárrago previamente tratadas se sembraron (dos por vaso de tecnopor), a 2 cm de profundidad, separadas 2,5 cm cada una de la otra, se cubrieron con la mezcla de suelo previamente obtenida y se mantuvieron bajo sombra en condiciones de invernadero durante 45 días (Figura 34).



Figura 28. Plantas de *Zea mays* L., 90 días después de la inoculación de HMA.



Figura 29. Suelo experimental en vasos de tecnopor.



Figura 30. Semillas de *Asparagus officinallis* L.



Figura 31. Hidratación de semillas de *Asparagus officinallis* L.



Figura 32. Aplicación de fungicida a semillas de *Asparagus officinallis* L.



Figura 33. Aplicación de insecticida a semillas de *Asparagus officinallis* L.



Figura 34. Plántulas de *Asparagus officinallis* L. desarrolladas en condiciones de invernadero.

b. Inoculación de HMA

El suelo de los cuatro consorcios de HMA seleccionados fue sacado de las macetas para ser mullido, eliminar los restos vegetales y tomar una muestra de 0,5 kg para la obtención de esporas de HMA o inóculo (Figura 35). Después, el suelo fue depositado en sus mismas macetas y en cada una se realizaron agujeros de 8 cm de profundidad, donde se depositó el inóculo (5g) de esporas de HMA (Figura 36) e inmediatamente después se trasplantaron las plántulas de espárrago con su masa radicular íntegra (Figura 37).

Se incluyeron seis macetas con mezcla de suelo agrícola, arena de río y humus (2,5:2,0:0,5) sin inóculo de HMA, como testigo absoluto y químico a los que se les aplicaron 5 mL de agua destilada y fertilizante químico (NPK:150-100-100), respectivamente. El fósforo como superfosfato triple de calcio (46% P_2O_5), el potasio como sulfato de potasio (50% K_2O) y la mitad del nitrógeno como nitrato de amonio (33,5% N) se incorporaron al suelo, antes del trasplante y la mitad restante del nitrógeno se aplicó 2 meses después (Regalado, 1992). Todas las macetas con las plántulas se ubicaron aleatoriamente (Figura 38) bajo el diseño experimental completamente aleatorio y se realizaron los riegos con agua potable previamente declorada (24 horas), según los requerimientos hídricos de las plantas.

c. Efectividad

Al momento del trasplante y cada 30 días, durante 120 días, se midió la altura de las plantas (Figura 39) y a los 120 días, se determinó el peso de la biomasa seca de la parte aérea y radicular. La altura se expresó en cm, considerando desde la base del tallo hasta la yema terminal. A continuación se cortó la parte aérea de cada planta, a ras del suelo y junto con la raíz se depositaron en bandejas de plástico (Corrales y Lumbres, 2017).

Para determinar el peso de la materia seca, tanto la raíz previamente lavada como la biomasa aérea se deshidrataron en el horno a 70°C, hasta alcanzar peso constante (Puicón, 2014). El peso de la biomasa se determinó en una balanza de precisión (Figura 40) y en los resultados obtenidos se calculó el índice de efectividad de la inoculación (IEI) en porcentaje (Carreño, 2009).



Figura 35. Remoción de suelo de consorcio de HMA seleccionado.



Figura 36. Inoculación de HMA en suelo.



Figura 37. Trasplante de plántula de *Asparagus officinallis* L.



Figura 38. Plántulas de *Asparagus officinallis* L. en el invernadero.



Figura 39. Medición de la altura de planta de *Asparagus officinallis* L.



Figura 40. Pesaje de la biomasa aérea de *Asparagus officinallis* L.

3.2.13 Análisis estadístico de los datos

Para el diseño experimental completamente aleatorio, el modelo aditivo lineal fue:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = observación del i -ésimo tratamiento, J -ésima repetición

μ = media general de la variable respuesta.

τ_i = efecto i -ésimo tratamiento, siendo $i = 1, 2, 3, \dots, 6$

ϵ_{ij} = error experimental en el i -ésimo tratamiento, j -ésima repetición

$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3, \dots = \mu_6$

H_a = al menos una media diferente

Con los valores de la altura, biomasa aérea y radicular de las plantas se realizaron las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza y según los resultados se llevaron a cabo análisis paramétricos y no paramétricos (Hernández et al., 2014). En el presente trabajo se utilizó el software estadístico SPSS versión 15,0 así como los programas de Microsoft Office Word, Excel versión 2013 y Minitab 15.

IV. RESULTADOS

4.1 Esporas de HMA aisladas e identificadas

En el 100% de muestras de suelo radicular de espárrago se obtuvieron esporas de HMA de formas globosa, subglobosa, elíptica e irregular y de color amarillo, marrón y amarillo pálido. En las esporas de HMA obtenidas se identificaron los géneros: *Glomus*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Acaulospora*, *Entrophospora* y *Archaeospora* (Figura 41 a 48), con una frecuencia de 100% para *Glomus* spp.; 94,79% para *Gigaspora* spp.; 89,58% para *Scutellospora* spp.; 65,63% para *Acaulospora* spp.; 46,88% para *Entrophospora* spp. y 8,33% para *Archaeospora* spp. (Tabla 3).

En las esporas de *Glomus* spp. la hifa de sustentación se observó recta (Figura 41), curva (Figura 42) y en forma de embudo (Figura 43). En *Gigaspora* spp. las esporas se observaron en el ápice de la hifa de sustentación, ensanchada como bulbo o perilla (Figura 44). En *Scutellospora* spp. se observó el escudo de germinación (Figura 45). En *Acaulospora* spp. y *Entrophospora* spp., la hifa de sustentación se visualizó como un sáculo globoso, en donde se observaron las esporas formadas en la parte externa y lateral, en *Acaulospora* spp. y en la parte interna y apical en *Entrophospora* spp. (Figuras 46, 47). A su vez, en las esporas maduras se observaron las cicatrices dejadas por el colapso del sáculo globoso, siendo una en *Acaulospora* spp. (Figura 46) y dos en *Entrophospora* spp. En *Archaeospora* spp. la hifa de sustentación se observó recta, ligeramente curva, similar a *Glomus* spp. o como sáculo globoso o esporífero, similar a *Acaulospora* spp. (Figura 48).

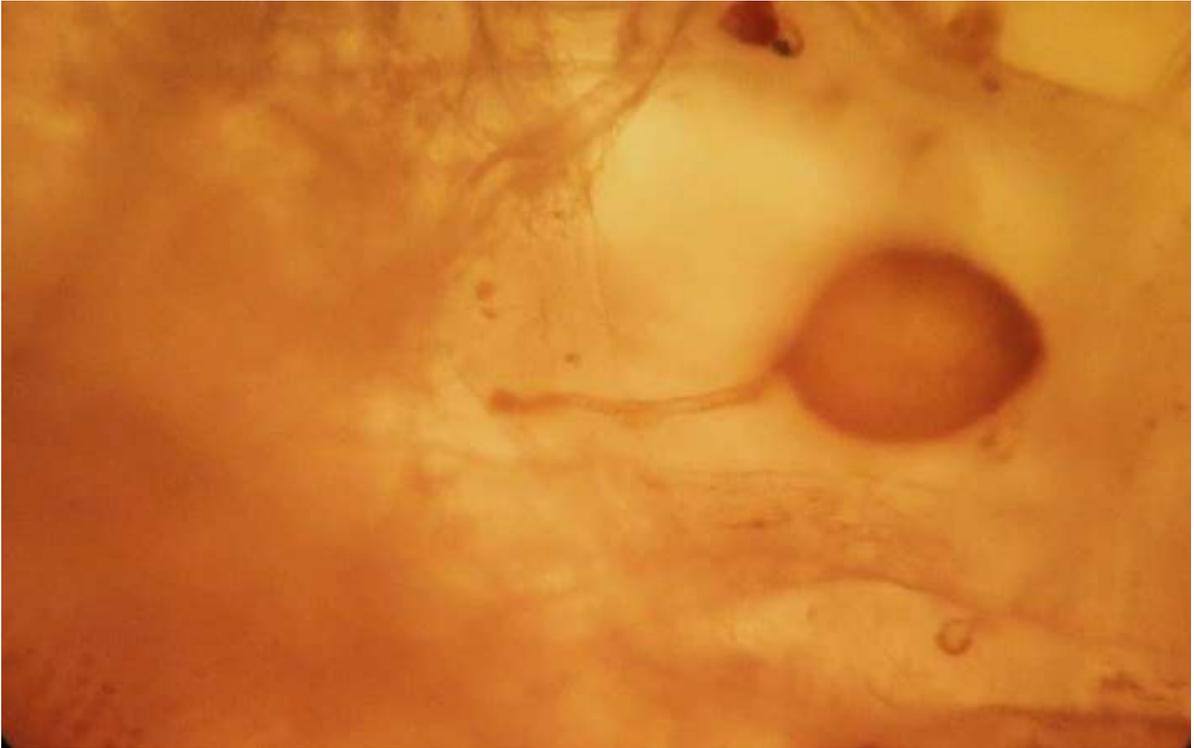


Figura 41. Observación microscópica de espora de *Glomus* sp. con hifa de sustentación recta.



Figura 42. Observación microscópica de espora de *Glomus* sp. con hifa de sustentación curva.

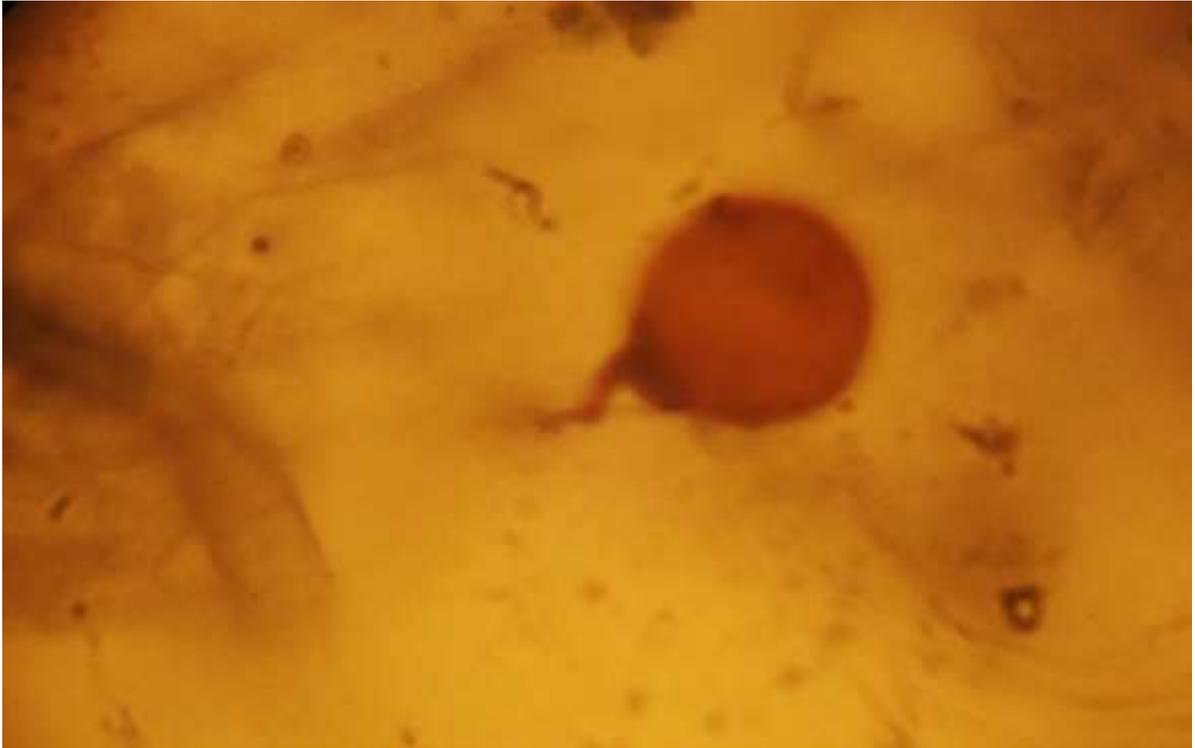


Figura 43. Observación microscópica de espora de *Glomus* sp. con hifa de sustentación en forma de embudo.

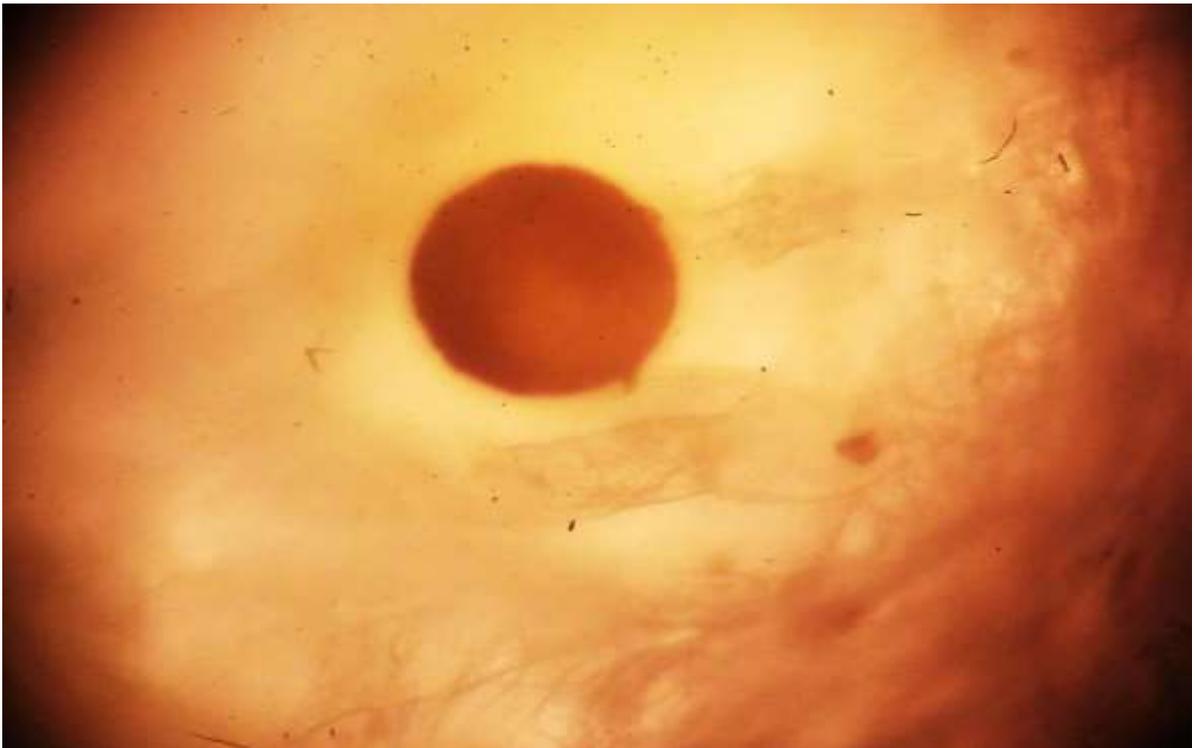


Figura 44. Observación microscópica de espora de *Gigaspora* sp.



Figura 45. Observación microscópica de espora de *Scutellospora* sp. con escudo de germinación.

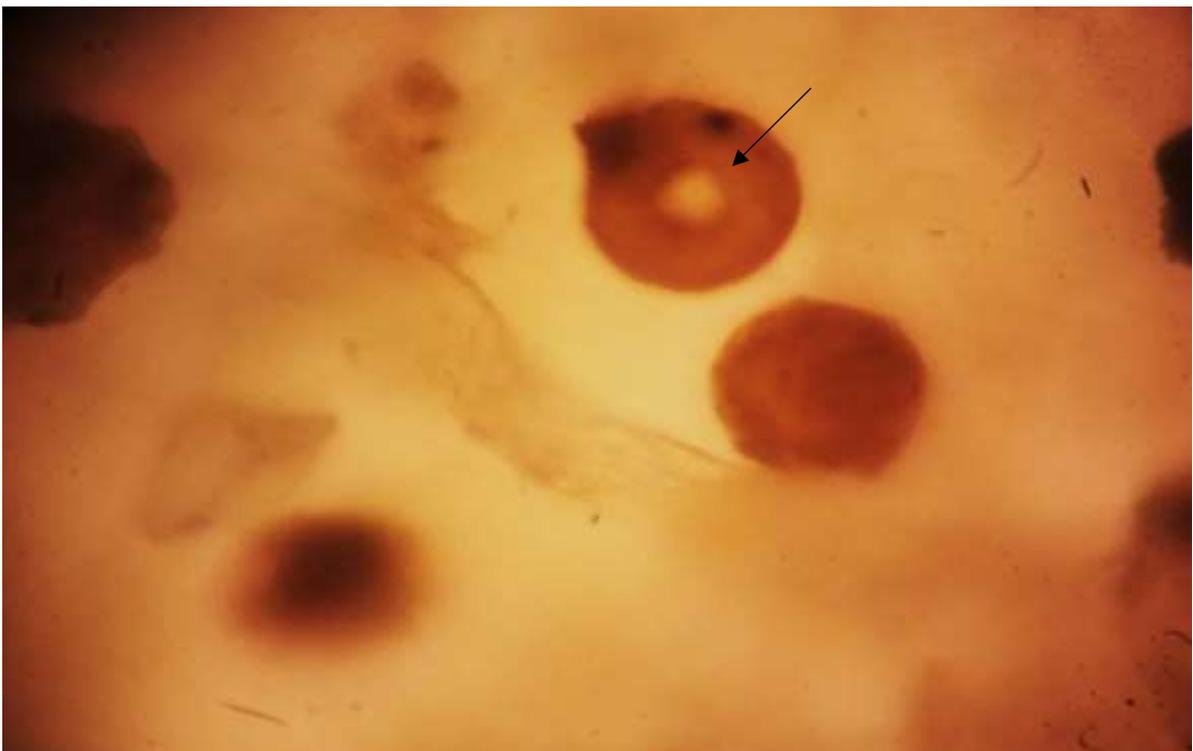


Figura 46. Observación microscópica de espora de *Acaulospora* sp. con cicatriz.



Figura 47. Observación microscópica de espora interna y apical de *Entrophospora* sp.

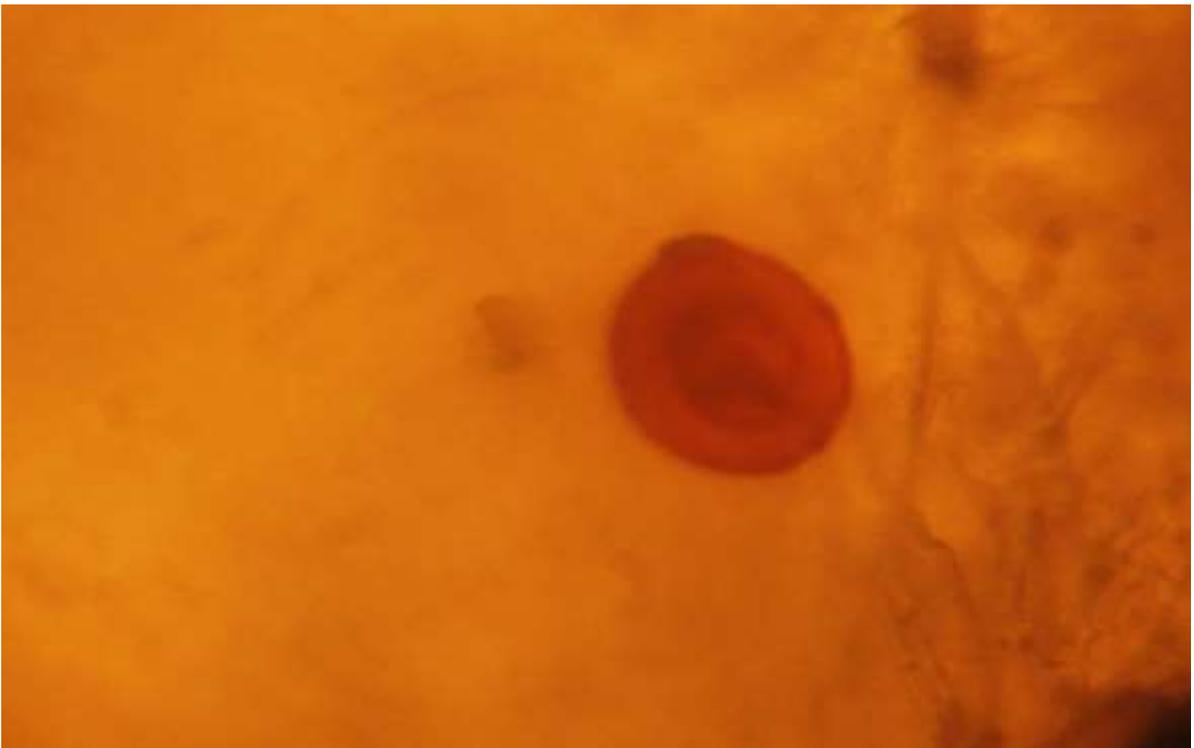


Figura 48. Observación microscópica de espora de *Archaeospora* sp.

Tabla 3. Frecuencia de géneros de HMA identificados en muestras de suelo cultivado con *Asparagus officinalis* L. en Trujillo, 2016

Géneros HMA	Muestras de suelo	
	Número	%
<i>Glomus</i> spp.	96	100,00
<i>Gigaspora</i> spp.	91	94,79
<i>Scutellospora</i> spp.	86	89,58
<i>Acaulospora</i> spp.	63	65,63
<i>Entrophospora</i> spp.	45	46,88
<i>Archaeospora</i> spp.	8	8,33

4.2 Infectividad y efectividad de consorcios de HMA propagados en maíz

Los HMA se propagaron en las plantas de maíz, determinándose la infectividad y efectividad mediante el incremento en el número de esporas de HMA y porcentaje de micorrización en las raíces (Tablas 4 a 12) y altura de las plantas (Tabla 13), respectivamente.

Según el género de HMA la frecuencia de muestras de suelo cultivado con maíz donde se incrementaron las esporas fue 100% para *Glomus*; 94,79% en *Gigaspora*; 89,58% en *Scutellospora*; 65,63% en *Acaulospora*; 39,58% en *Entrophospora* y 6,25% en *Archaeospora* (Tabla 10). El incremento fue de 200,0–685,71% en *Glomus spp.*; 200,0–500,0% en *Gigaspora spp.*; 142,86–466,67% en *Scutellospora spp.*; 150,0–466,67% en *Acaulospora spp.*; 200,0–450,0% en *Entrophospora spp.* y 200,0–500,0% en *Archaeospora spp.* (Tablas 4 a 9). En promedio, el incremento fue de 443,15% en *Glomus*; 262,40% en *Gigaspora*; 269,19% en *Scutellospora*; 274,19% en *Acaulospora*; 264,12% en *Entrophospora* y 340,0% en *Archaeospora* (Tabla 11).

El porcentaje de micorrización en las raíces de maíz fue de 40 a 80% (Tabla 12). Asimismo, el 76% (73) de los consorcios de hongos micorrízicos arbusculares propagados en maíz presentó efectividad, evidenciada por el incremento en la altura de las plantas, obteniendo índices de efectividad de 2,86–131,43% (Figuras 49 a 51, tabla 13).

4.3 Consorcios de HMA seleccionados

Los consorcios de HMA seleccionados 10, 43, 30, y 91 presentaron índices de efectividad de 97,14; 100,0; 122,86 y 131,43 % respectivamente (Tabla 14).

4.4 Efecto de consorcios de HMA en el desarrollo vegetativo de espárrago

El análisis de los valores de la altura, biomasa radicular y aérea de las plantas de espárrago, demostró que el desarrollo vegetativo fue incrementado con la inoculación de los HMA investigados. Los valores de altura de planta a los 30, 60, 90 y 120 días de la inoculación así como la biomasa radical y aérea a los 120 días, presentaron distribución normal ($p > 0,05$) y homogeneidad de varianzas ($p > 0,05$), por lo que se realizó el análisis de varianza y la prueba de Tukey.

Tabla 4. Incremento (%) de esporas de *Glomus* spp. en suelo cultivado con *Zea mays* L.

Tratamientos	Esporas/100 g			Tratamientos	Esporas/100 g		
	de suelo		Incremento		de suelo		Incremento
	Inicial	Final	%		Inicial	Final	%
43	28	192	685,71	27	14	69	492,86
34	26	177	680,77	76	20	97	485,00
15	21	142	676,19	85	18	87	483,33
38	32	215	671,88	88	10	48	480,00
82	20	131	655,00	66	23	109	473,91
91	26	167	642,31	65	22	104	472,73
12	22	139	631,82	7	18	85	472,22
14	30	189	630,00	95	14	66	471,43
5	18	113	627,78	8	13	61	469,23
21	40	250	625,00	63	24	112	466,67
30	17	105	617,65	73	20	92	460,00
70	33	200	606,06	72	25	115	460,00
10	30	176	586,67	55	24	110	458,33
3	20	115	575,00	52	20	90	450,00
89	33	189	572,73	67	25	111	444,00
1	17	96	564,71	75	14	62	442,86
2	10	56	560,00	11	18	79	438,89
29	12	67	558,33	48	23	100	434,78
78	18	99	550,00	71	28	121	432,14
31	12	66	550,00	26	19	82	431,58
45	10	54	540,00	40	14	60	428,57
79	14	75	535,71	25	16	68	425,00
37	15	80	533,33	74	28	119	425,00
28	15	80	533,33	94	16	68	425,00
87	11	58	527,27	4	15	63	420,00
92	12	62	516,67	86	10	42	420,00
36	14	72	514,29	96	17	71	417,65

... continuación

Tratamientos	Esporas/100 g			Tratamientos	Esporas/100 g		
	de suelo		Incremento		de suelo		Incremento
	Inicial	Final	%		Inicial	Final	%
39	12	50	416,67	54	30	101	336,67
90	18	75	416,67	49	26	87	334,62
41	13	54	415,38	58	21	69	328,57
56	21	87	414,29	51	23	74	321,74
60	28	115	410,71	32	15	48	320,00
6	25	102	408,00	17	6	19	316,67
93	18	73	405,56	83	23	72	313,04
77	30	121	403,33	53	21	65	309,52
64	27	107	396,30	47	23	68	295,65
57	21	83	395,24	24	7	20	285,71
33	30	117	390,00	80	14	40	285,71
46	21	79	376,19	81	25	70	280,00
68	27	98	362,96	20	4	11	275,00
61	28	101	360,71	13	11	30	272,73
35	20	72	360,00	84	20	50	250,00
62	29	103	355,17	18	13	32	246,15
42	14	49	350,00	19	8	19	237,50
69	32	110	343,75	23	16	38	237,50
59	21	72	342,86	22	7	16	228,57
16	5	17	340,00	44	60	120	200,00
50	24	81	337,50	9	19	38	200,00

Tabla 5. Incremento (%) de esporas de *Gigaspora* spp. en suelo cultivado con *Zea mays* L.

Tratamientos	Esporas/100 g de suelo		Incremento %	Tratamientos	Esporas/100 g de suelo		Incremento %
	Inicial	Final			Inicial	Final	
84	1	5	500,00	29	9	22	244,44
17	10	45	450,00	36	12	29	241,67
56	10	42	420,00	18	10	24	240,00
82	5	20	400,00	78	5	12	240,00
4	14	53	378,57	20	13	31	238,46
32	12	45	375,00	66	8	19	237,50
40	14	51	364,29	26	15	35	233,33
19	11	40	363,64	22	12	28	233,33
16	10	36	360,00	90	3	7	233,33
37	12	42	350,00	65	13	30	230,77
31	13	43	330,77	46	8	18	225,00
58	8	26	325,00	10	17	38	223,53
61	6	19	316,67	55	13	29	223,08
9	16	50	312,50	11	18	40	222,22
71	10	31	310,00	6	19	42	221,05
21	9	27	300,00	81	10	22	220,00
15	8	24	300,00	60	5	11	220,00
59	6	18	300,00	92	5	11	220,00
96	4	12	300,00	47	11	24	218,18
80	1	3	300,00	42	12	26	216,67
93	1	3	300,00	91	6	13	216,67
94	1	3	300,00	7	13	28	215,38
34	15	45	300,00	30	13	28	215,38
5	13	38	292,31	67	14	30	214,29
27	13	38	292,31	48	7	15	214,29
62	8	23	287,50	70	7	15	214,29
39	15	43	286,67	12	8	17	212,50
63	5	14	280,00	73	8	17	212,50
74	9	25	277,78	24	9	19	211,11
64	12	33	275,00	68	12	25	208,33
72	8	22	275,00	38	13	27	207,69
54	19	52	273,68	13	14	28	200,00
49	7	19	271,43	43	14	28	200,00
50	10	27	270,00	51	13	26	200,00
25	12	32	266,67	28	10	20	200,00
44	3	8	266,67	69	8	16	200,00
35	11	29	263,64	1	7	14	200,00
57	8	21	262,50	88	6	12	200,00
14	15	39	260,00	52	5	10	200,00

... continuación

Tratamientos	Esporas/100 g de suelo		Incremento %	Tratamientos	Esporas/100 g de suelo		Incremento %
	Inicial	Final			Inicial	Final	
41	15	39	260,00	75	3	6	200,00
53	7	18	257,14	85	2	4	200,00
2	9	23	255,56	86	2	4	200,00
8	14	35	250,00	76	1	2	200,00
3	6	15	250,00	87	1	2	200,00
89	4	10	250,00	95	1	2	200,00
23	13	32	246,15				

Tabla 6. Incremento (%) de esporas de *Scutellospora* spp. en suelo cultivado con *Zea mays* L.

Tratamientos	Esporas/100 g de suelo		Incremento %	Tratamientos	Esporas/100 g de suelo		Incremento %
	Inicial	Final			Inicial	Final	
3	3	14	466,67	23	6	16	266,67
42	4	18	450,00	21	5	13	260,00
39	2	9	450,00	27	4	10	250,00
47	5	21	420,00	26	2	5	250,00
16	8	32	400,00	41	2	5	250,00
96	7	28	400,00	94	2	5	250,00
25	5	20	400,00	38	12	29	241,67
49	5	20	400,00	40	5	12	240,00
62	5	20	400,00	22	8	19	237,50
28	4	16	400,00	6	6	14	233,33
7	2	8	400,00	19	6	14	233,33
46	1	4	400,00	57	3	7	233,33
52	1	4	400,00	34	7	16	228,57
73	1	4	400,00	14	8	18	225,00
78	1	4	400,00	93	4	9	225,00
83	1	4	400,00	81	7	15	214,29
89	5	19	380,00	76	15	32	213,33
85	4	15	375,00	10	7	14	200,00
37	7	26	371,43	31	4	8	200,00
9	5	18	360,00	43	2	4	200,00
36	5	18	360,00	82	2	4	200,00
32	6	21	350,00	51	2	4	200,00
92	6	21	350,00	53	2	4	200,00
48	2	7	350,00	61	2	4	200,00
54	2	7	350,00	65	1	2	200,00
55	5	17	340,00	66	1	2	200,00
44	3	10	333,33	79	1	2	200,00
50	3	10	333,33	4	8	15	187,50
59	4	13	325,00	5	7	13	185,71
11	10	32	320,00	29	7	13	185,71
91	5	16	320,00	24	5	9	180,00
20	6	19	316,67	18	4	7	175,00
17	7	22	314,29	56	9	15	166,67
75	4	12	300,00	13	6	10	166,67
15	3	9	300,00	74	3	5	166,67
33	1	3	300,00	70	3	5	166,67
60	1	3	300,00	87	5	8	160,00
71	1	3	300,00	88	8	12	150,00
95	1	3	300,00	30	4	6	150,00

... continuación

Tratamientos	Esporas/100 g de suelo		Incremento %	Tratamientos	Esporas/100 g de suelo		Incremento %
	Inicial	Final			Inicial	Final	
72	7	20	285,71	8	4	6	150,00
35	6	17	283,33	69	2	3	150,00
90	6	17	283,33	84	9	13	144,44
12	6	16	266,67	1	7	10	142,86

Tabla 7. Incremento (%) de esporas de *Acaulospora* spp. en suelo cultivado con *Zea mays* L.

Tratamientos	Esporas/100 g de suelo		Incremento %	Tratamientos	Esporas/100 g de suelo		Incremento %
	Inicial	Final			Inicial	Final	
28	3	14	466,67	61	2	4	200,00
34	2	9	450,00	11	1	2	200,00
10	2	9	450,00	17	1	2	200,00
8	7	31	442,86	20	1	2	200,00
7	4	17	425,00	24	1	2	200,00
84	4	16	400,00	26	1	2	200,00
12	2	8	400,00	27	1	2	200,00
43	2	8	400,00	36	1	2	200,00
50	1	4	400,00	41	1	2	200,00
57	1	4	400,00	46	1	2	200,00
70	1	4	400,00	47	1	2	200,00
64	5	18	360,00	49	1	2	200,00
37	2	7	350,00	53	1	2	200,00
6	3	10	333,33	55	1	2	200,00
22	4	12	300,00	58	1	2	200,00
65	2	6	300,00	59	1	2	200,00
3	1	3	300,00	69	1	2	200,00
25	1	3	300,00	72	1	2	200,00
32	1	3	300,00	85	1	2	200,00
38	1	3	300,00	91	1	2	200,00
42	1	3	300,00	96	3	5	166,67
52	1	3	300,00	5	2	3	150,00
66	1	3	300,00	31	2	3	150,00
9	3	8	266,67	44	2	3	150,00
40	2	5	250,00	51	2	3	150,00
60	2	5	250,00	62	2	3	150,00
63	2	5	250,00	73	2	3	150,00
71	3	7	233,33	78	2	3	150,00
56	1	2	200,00	67	3	4	133,33
76	5	10	200,00	68	2	3	150,00
39	2	4	200,00	77	2	3	150,00
54	2	4	200,00				

Tabla 8. Incremento (%) de esporas de *Entrophospora* spp. en suelo cultivado con *Zea mays* L.

Tratamientos	Esporas/100 g de suelo		Incremento %	Tratamientos	Esporas/100 g de suelo		Incremento %
	Inicial	Final			Inicial	Final	
95	2	9	450,00	78	2	5	250,00
60	2	8	400,00	53	5	12	240,00
90	1	4	400,00	51	3	7	233,30
59	4	15	375,00	56	3	7	233,30
37	2	7	350,00	81	3	7	233,30
57	2	7	350,00	63	4	9	225,00
64	2	7	350,00	69	5	11	220,00
73	2	7	350,00	67	6	13	216,70
58	4	13	325,00	54	7	15	214,30
49	4	12	300,00	61	5	10	200,00
72	4	12	300,00	66	5	10	200,00
70	3	9	300,00	84	4	8	200,00
52	2	6	300,00	48	3	6	200,00
74	2	6	300,00	65	3	6	200,00
93	1	3	300,00	96	2	4	200,00
47	4	11	275,00				
50	4	11	275,00				
68	4	11	275,00				
71	3	8	266,70				
82	3	8	266,70				
55	5	13	260,00				
46	4	10	250,00				
1	2	5	250,00				

Tabla 9. Incremento (%) de esporas de *Archaeospora* spp. en suelo cultivado con *Zea mays* L.

Tratamientos	Esporas/100 g de suelo		Incremento %
	Inicial	Final	
75	1	5	500,00
81	2	8	400,00
96	2	7	350,00
78	1	3	300,00
83	2	6	300,00
80	2	4	200,00

Tabla 10. Frecuencia de muestras de suelo cultivado con *Zea mays* L. donde se incrementaron las esporas de HMA

Géneros HMA	Muestras de suelo	
	Número	%
<i>Glomus</i> spp.	96	100,00
<i>Gigaspora</i> spp.	91	94,79
<i>Scutellospora</i> spp.	86	89,58
<i>Acaulospora</i> spp.	63	65,63
<i>Entrophospora</i> spp.	38	39,58
<i>Archaeospora</i> spp.	6	6,25

Tabla 11. Número promedio e incremento de esporas de seis géneros de HMA en *Zea mays* L.

Géneros HMA	Esporas/100 g de		Incremento %
	suelo		
	Inicial	Final	
<i>Glomus</i> spp.	20,00	88,63	443,15
<i>Gigaspora</i> spp.	8,83	23,17	262,40
<i>Scutellospora</i> spp.	4,09	11,01	269,19
<i>Acaulospora</i> spp.	1,24	3,40	274,19
<i>Entrophospora</i> spp.	1,31	3,46	264,12
<i>Archaeospora</i> spp.	0,10	0,34	340,00

Tabla 12. Porcentaje de micorrización en *Zea mays* L.

Tratamientos	Micorrización
N°	(%)
52	80
19	70
11	60
8	50
6	40

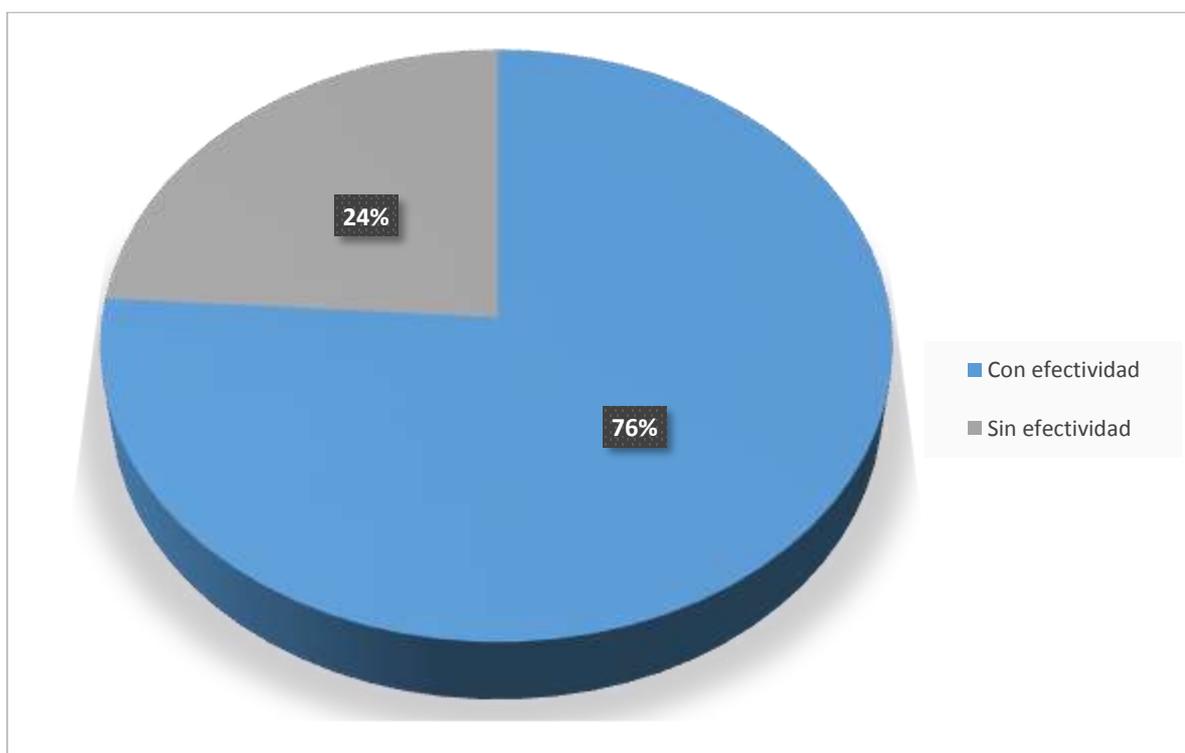


Figura 49. Frecuencia de consorcios de HMA con efectividad en la altura de *Zea mays* L.



Figura 50. Altura de *Zea mays* L., (a) Consorcio HMA, (b) Agua destilada.

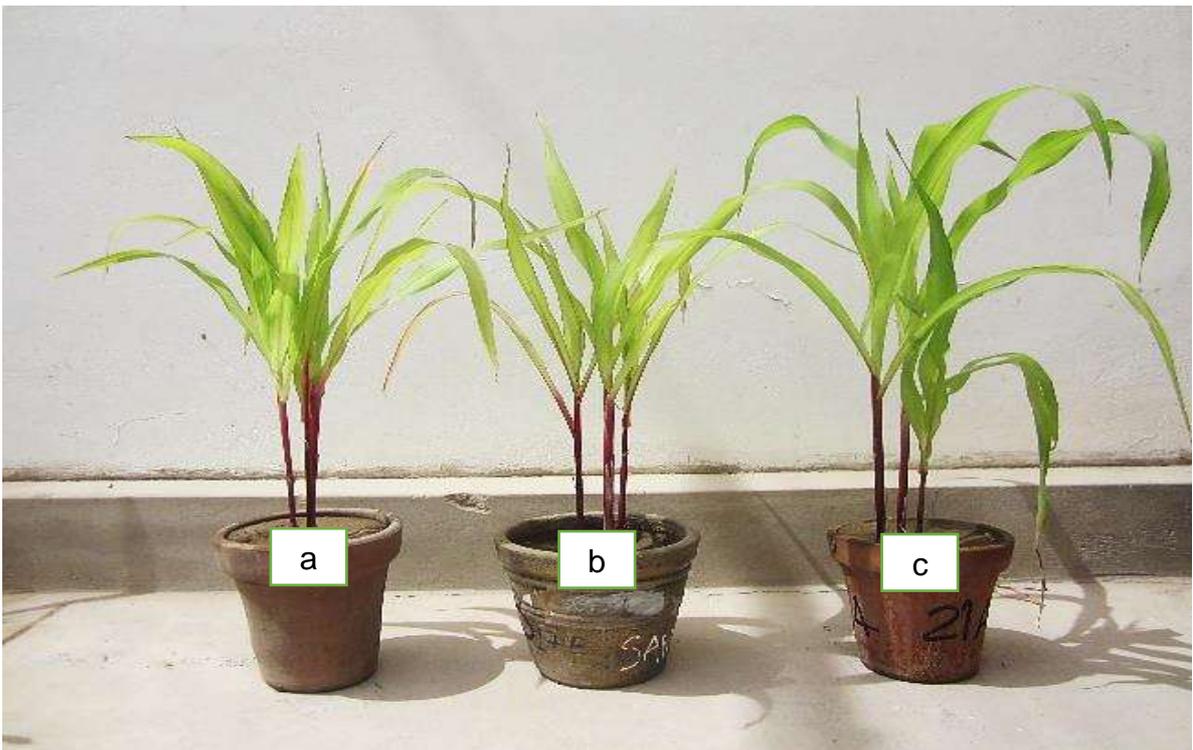


Figura 51. Altura de *Zea mays* L., (a) Testigo, (b) Consorcio HMA no efectivo, (c) Consorcio HMA efectivo.

Tabla 13. Índices de efectividad de HMA en el cultivo de *Zea mays* L.

Tratamientos	Altura	IEI	Tratamientos	Altura	IEI
	(cm)	(%)		(cm)	(%)
91	81,0	131,43	19	45,0	28,57
30	78,0	122,86	22	48,0	37,14
43	70,0	100,00	81	45,0	28,57
10	69,0	97,14	92	45,0	28,57
5	68,0	94,29	23	44,0	25,71
32	66,0	88,57	79	44,0	25,71
21	65,0	85,71	70	44,0	25,71
15	62,0	77,14	62	43,5	24,29
12	61,0	74,29	63	43,5	24,29
2	60,0	71,43	45	43,0	22,86
58	60,0	71,43	49	43,0	22,86
75	60,0	71,43	37	42,0	20,00
34	58,0	65,71	84	42,0	20,00
39	58,0	65,71	9	41,0	17,14
24	57,0	62,86	13	41,0	17,14
11	56,0	60,00	44	41,0	17,14
38	56,0	60,00	95	41,0	17,14
4	55,0	57,14	74	40,0	14,29
67	55,0	57,14	77	40,0	14,29
76	55,0	57,14	36	39,0	11,43
14	53,0	51,43	53	39,0	11,43
27	53,0	51,43	51	38,0	8,57
3	52,0	48,57	54	38,0	8,57
50	52,0	48,57	56	38,0	8,57
46	51,0	45,71	72	38,0	8,57
94	51,0	45,71	93	38,0	8,57
28	50,5	44,29	96	38,0	8,57
65	50,0	42,86	64	37,5	7,14
90	50,0	42,86	47	37,0	5,71
7	49,0	40,00	40	36,5	4,29
26	49,0	40,00	35	36,0	2,86
85	49,0	40,00	57	36,0	2,86
22	48,0	37,14	Testigo	35,0	
25	48,0	37,14			
69	48,0	37,14			
16	47,0	34,29			
18	47,0	34,29			
52	47,0	34,29			
78	47,0	34,29			
89	47,0	34,29			
88	46,0	31,43			

Tabla 14. Número de esporas por 100 g de suelo y efectividad (%) de consorcios de HMA propagados y seleccionados en *Zea mays* L.

Características	Conorcios HMA			
	91	30	43	10
Número de esporas por 100 g de suelo				
<i>Glomus</i> spp.	167	105	192	176
<i>Gigaspora</i> spp.	13	28	28	38
<i>Scutellospora</i> spp.	16	6	4	14
<i>Acaulospora</i> spp.	2	0	8	9
Efectividad (%)	131,43	122,86	100,00	97,14

La altura de las plantas de espárrago a los 30 días fue de 27,7 a 41cm con los consorcios HMA 30 y 91, respectivamente; 39,0cm en el testigo químico y 30,7cm en el testigo absoluto (Figuras 52, 53) registrándose índices de efectividad de 11,4 a 33,6% (Tabla 15). El análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba múltiple de Tukey, el mayor valor correspondió al consorcio HMA 91, no diferenciándose significativamente del testigo químico, pero sí de los demás tratamientos (Tabla 16).

La altura de las plantas de espárrago a los 60 días fue de 43,5 a 44,7cm con los consorcios HMA 30 y 43, respectivamente; 44,8cm en el testigo químico y 38,5cm en el testigo absoluto (Figuras 54, 55), registrándose índices de efectividad de 12,98 a 16,36% (Tabla 15). El análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba múltiple de Tukey, los mayores valores correspondieron al testigo químico y consorcios HMA, sin diferencias significativas entre ellos, pero si con el testigo absoluto (Tabla 16).

La altura de las plantas de espárrago a los 90 días fue de 46,3 a 50,8cm con los consorcios HMA 30 y 10, respectivamente; 49,2cm en el testigo químico y 42,5cm en el testigo absoluto (Figuras 56, 57), registrándose índices de efectividad de 8,9 a 19,5% (Tabla 15). El análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba múltiple de Tukey, el mayor valor correspondió al consorcio HMA 10, no diferenciándose significativamente de HMA 43 y el testigo químico, pero sí de los demás tratamientos (Tabla 16).

La altura de las plantas de espárrago a los 120 días fue de 48,0 a 53,27cm con los consorcios HMA 30 y 10, respectivamente; 51,0cm en el testigo químico y 43,83cm en el testigo absoluto (Figuras 58, 59) registrándose índices de efectividad de 9,6 a 21,7% (Tabla 15). El análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba múltiple de Tukey, el mayor valor correspondió al consorcio HMA 10, no diferenciándose significativamente del consorcio HMA 43 y el testigo químico, pero sí de los demás tratamientos (Tabla 16).

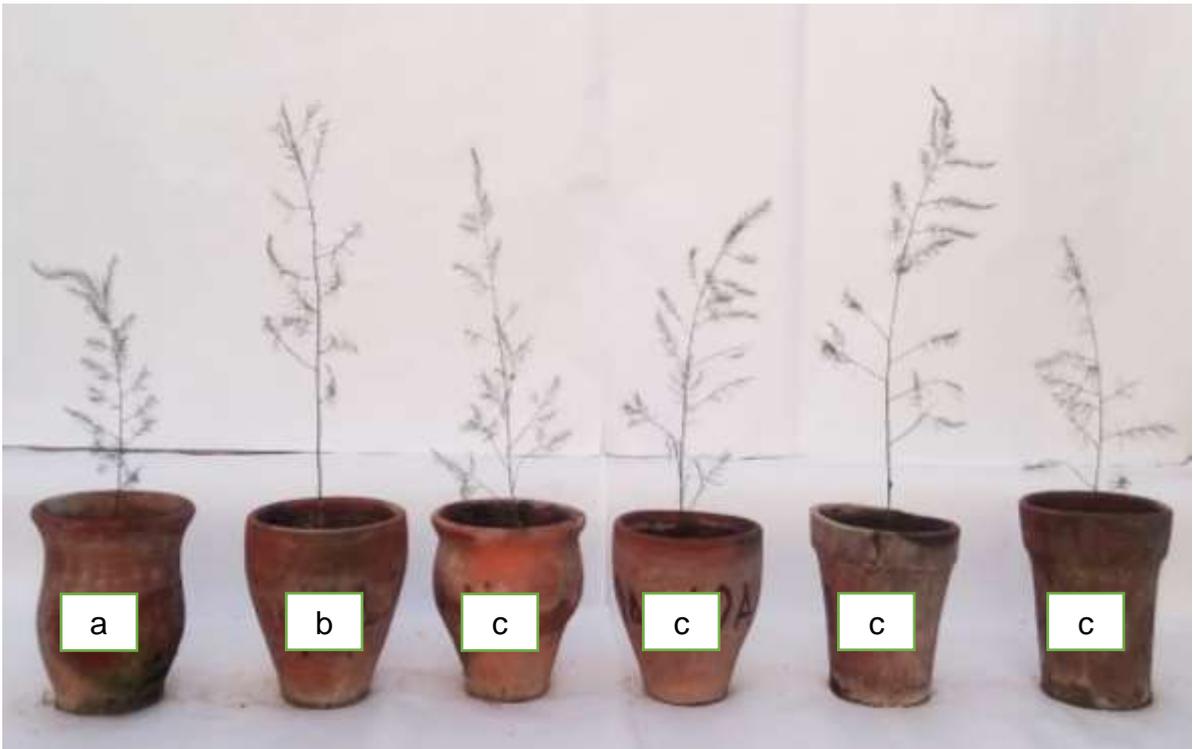


Figura 52. Plantas de *Asparagus officinalis* L. 30 días después de la inoculación de HMA, (a) Testigo absoluto, (b) Testigo químico, (c) Consorcios HMA.

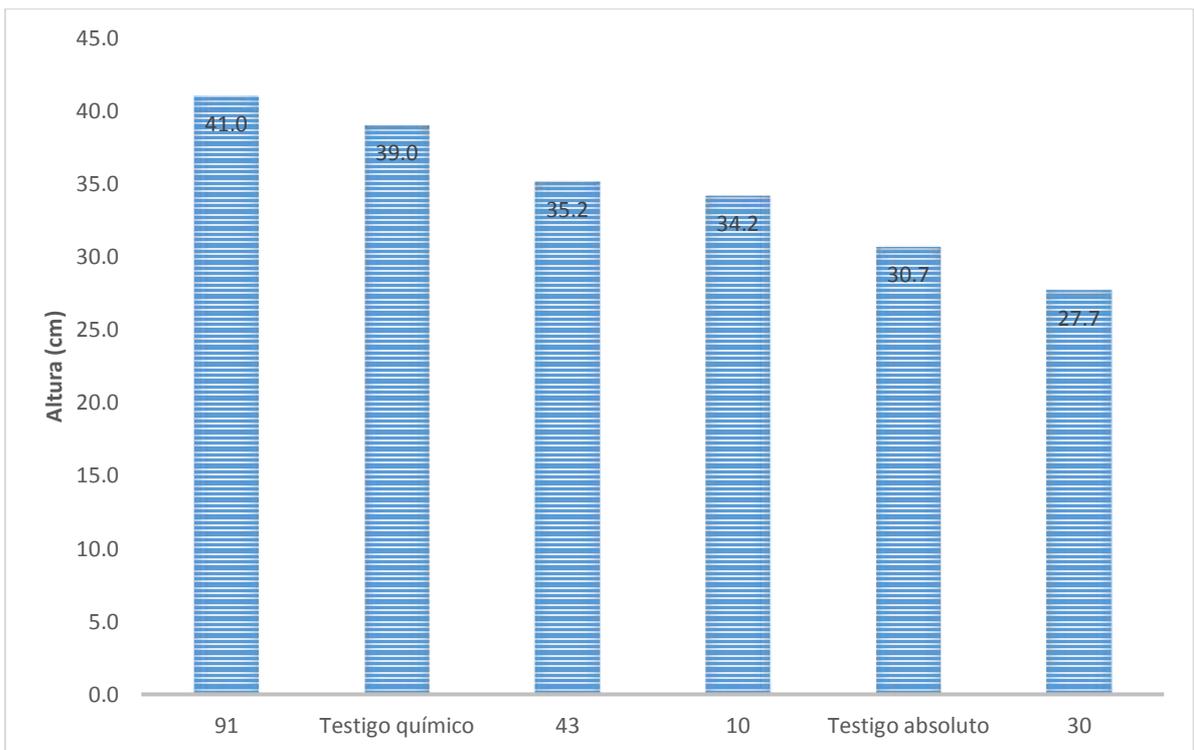


Figura 53. Altura (cm) de *Asparagus officinalis* L. 30 días después de la inoculación de HMA, 2016.

Tabla 15. Índices de efectividad en la altura de plantas de *Asparagus officinalis* L.
30, 60, 90 y 120 días después de la inoculación de HMA, 2016

Tratamientos UNPRG	IEI%			
	30 días	60 días	90 días	120 días
Testigo químico	27,0	16,3	15,8	16,4
HMA 91	33,6	15,8	11,1	11,4
HMA 30	0	12,9	8,9	9,6
HMA 43	14,7	16,1	18,4	18,7
HMA 10	11,4	15,5	19,5	21,7

Tabla 16. Prueba de Tukey de la altura de plantas de *Asparagus officinalis* L. 30, 60, 90 y 120 días después de la inoculación de HMA

Tratamientos	Altura (cm)*								
	UNPRG	30 días	Sign.	60 días	Sign.	90 días	Sign.	120 días	Sign.
Testigo químico		39,0	ab	44,8	a	49,2	abc	51,00	abc
Testigo absoluto		30,7	cd	38,5	b	42,5	d	43,83	d
HMA 91		41,0	a	44,6	a	47,2	bc	48,83	bc
HMA 30		27,7	d	43,5	a	46,3	c	48,00	c
HMA 43		35,2	bc	44,7	a	50,3	ab	52,00	ab
HMA 10		34,2	c	44,5	a	50,8	a	53,27	a

*Promedio de tres repeticiones.

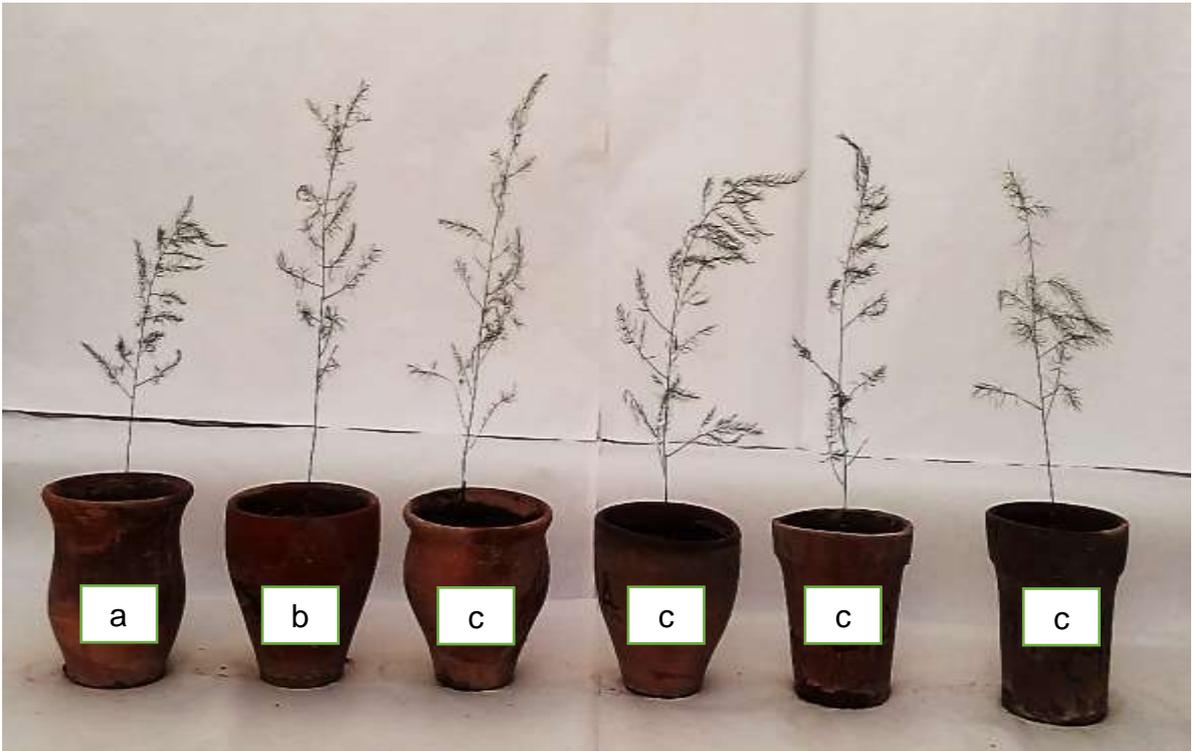


Figura 54. Plantas de *Asparagus officinalis* L. 60 días después de la inoculación de HMA, (a) Testigo absoluto, (b) Testigo químico, (c) Consorcios HMA.

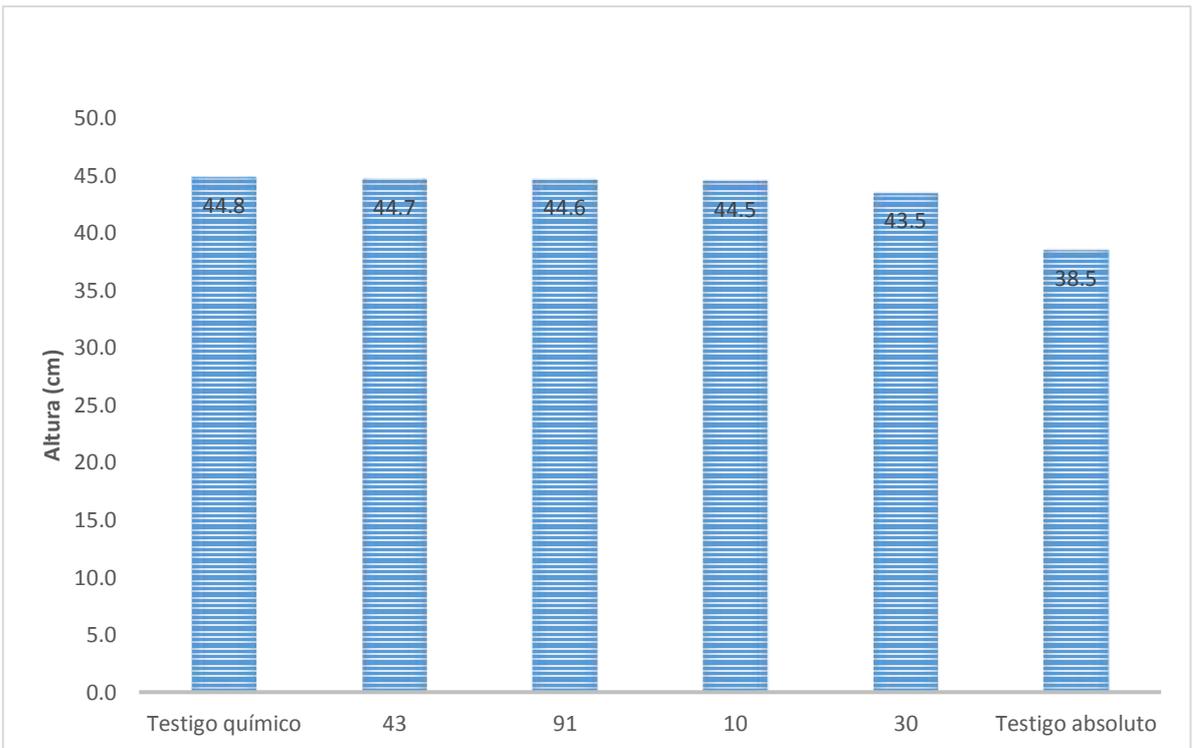


Figura 55. Altura (cm) de *Asparagus officinalis* L. 60 días después de la inoculación de HMA, 2016.



Figura 56. Plantas de *Asparagus officinalis* L. 90 días después de la inoculación de HMA, (a) Testigo absoluto, (b) Testigo químico, (c) Consorcios HMA.

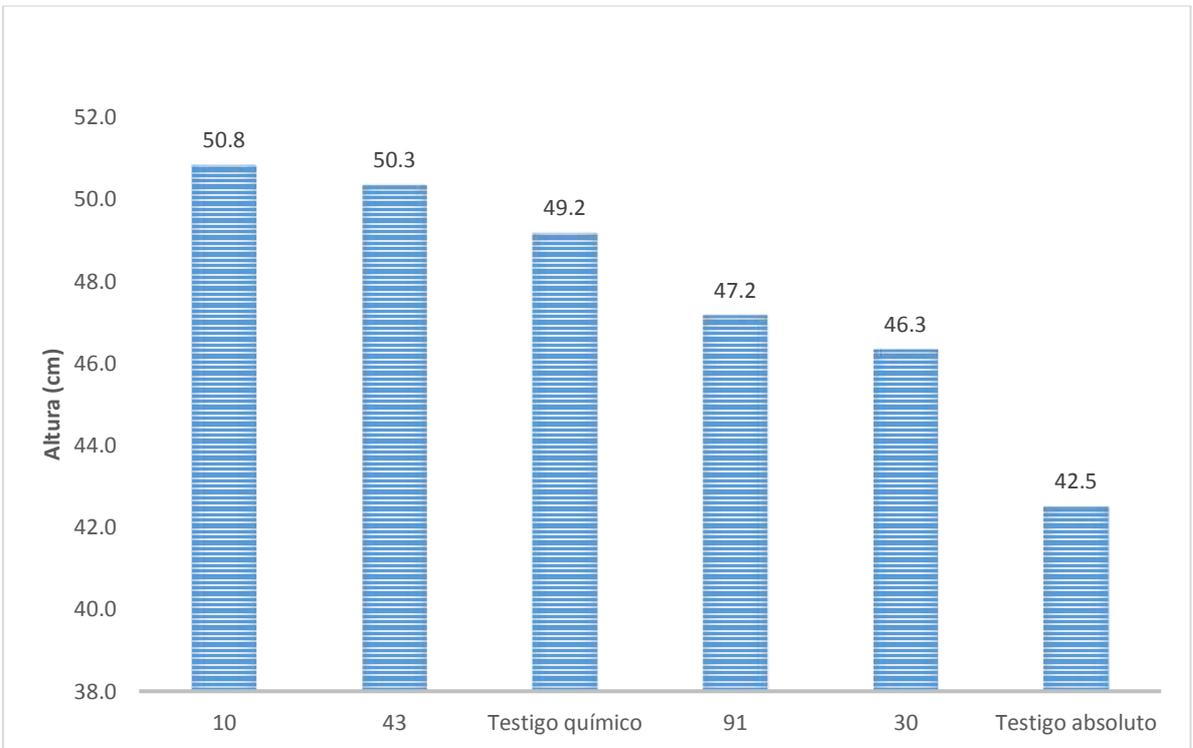


Figura 57. Altura (cm) de *Asparagus officinalis* L. 90 días después de la inoculación de HMA, 2016.



Figura 58. Plantas de *Asparagus officinalis* L. 120 días después de la inoculación de HMA, (a) Testigo absoluto, (b) Testigo químico, (c) Consorcios HMA.

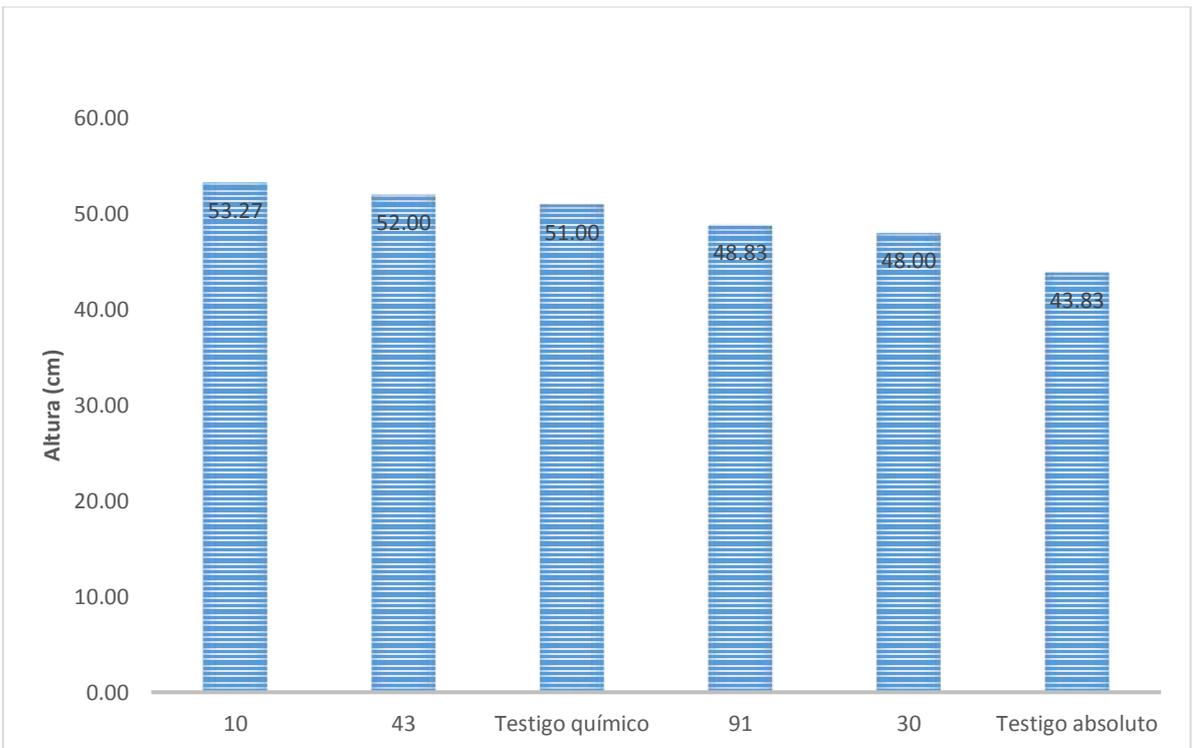


Figura 59. Altura (cm) de *Asparagus officinalis* L. 120 días después de la inoculación de HMA, 2016.

La biomasa radicular de las plantas de espárrago a los 120 días fue de 7,70 a 26,27g con los consorcios HMA 43 y 10 respectivamente; 11,18g en el testigo químico y 7,13g en el testigo absoluto (Figura 60), registrándose índices de efectividad de 7,92 a 268,21% (Tabla 17). El análisis de varianza de los valores de la biomasa radicular demostró alta significancia y según la prueba múltiple de Tukey, el mayor valor correspondió al consorcio HMA 10, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 18).

La biomasa aérea de las plantas de espárrago a los 120 días fue de 1,04 a 1,82g con los consorcios HMA 43 y 10, respectivamente; 1,64g en el testigo químico y 1,0g en el testigo absoluto (Figuras 61, 62), registrándose índices de efectividad de 4,30 a 81,70% (Tabla 17). El análisis de varianza demostró alta significancia y según la prueba múltiple de Tukey, el mayor valor se alcanzó con el consorcio HMA 10, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 18).

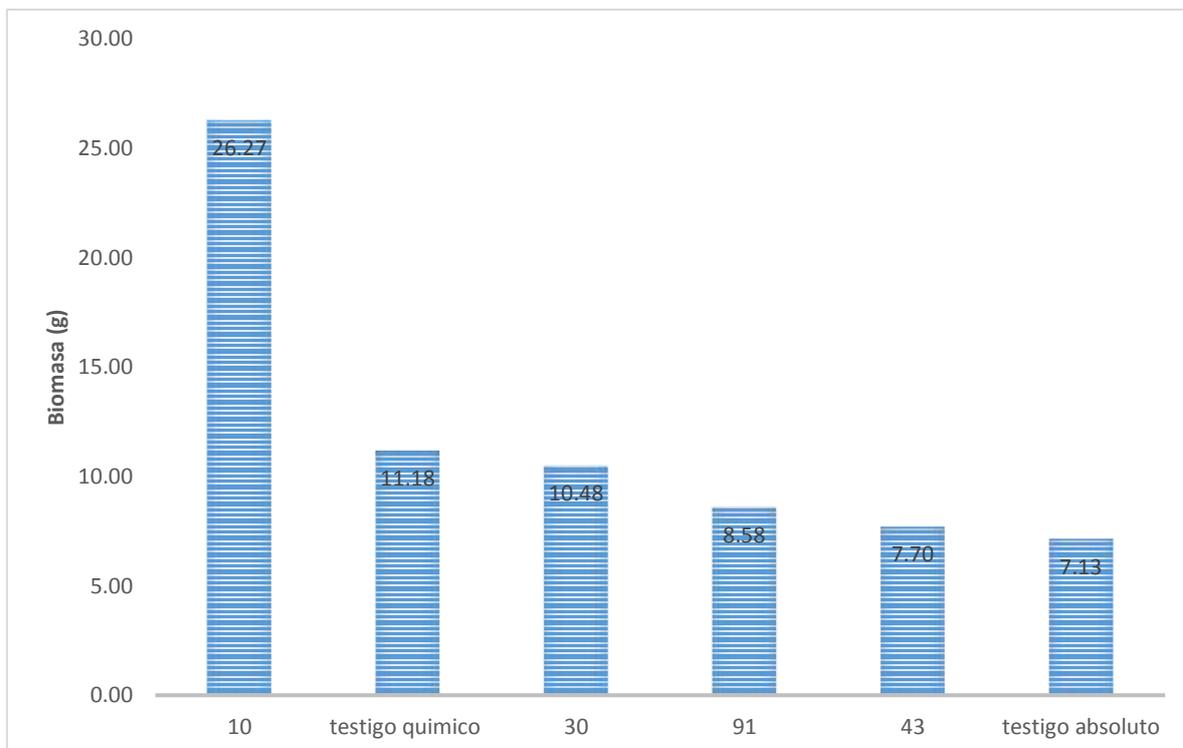


Figura 60. Biomasa radicular (g) de *Asparagus officinalis* L., 120 días después de la inoculación de HMA, 2016.

Tabla 17. Índices de efectividad en la biomasa radicular y aérea de *Asparagus officinalis* L., 120 días después de la inoculación de HMA

Tratamientos	Biomasa (IEI%)	
	UNPRG	
	Radicular	Aérea
Testigo químico	56,79	64,00
HMA 91	20,34	39,70
HMA 30	46,92	62,70
HMA 43	7,92	4,30
HMA 10	268,21	81,70

*Promedio de tres repeticiones

Tabla 18. Prueba de Tukey de la biomasa radicular y aérea de *Asparagus officinalis* L., 120 días después de la inoculación de HMA

Tratamientos UNPRG	Biomasa (g)			
	Radicular	Sign.	Aérea	Sign.
Testigo químico	11,18	b	1,64	b
Testigo absoluto	7,13	d	1,00	d
HMA 91	8,58	bcd	1,40	c
HMA 30	10,48	bc	1,63	b
HMA 43	7,70	cd	1,04	d
HMA 10	26,27	a	1,82	a

*Promedio de tres repeticiones.



Figura 61. Biomasa aérea de *Asparagus officinalis* L. 120 días después de la inoculación de HMA, (a) Testigo absoluto, (b) Testigo químico, (c) Consorcios HMA.

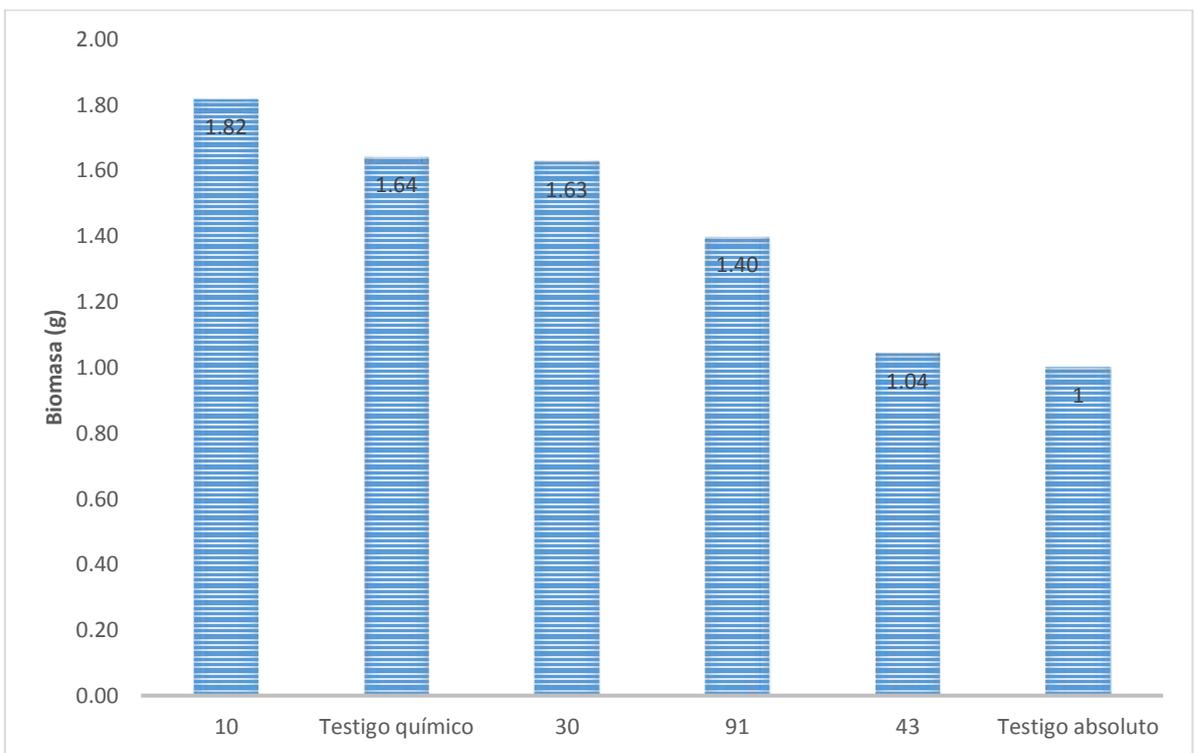


Figura 62. Biomasa aérea (g) de *Asparagus officinalis* L., 120 días después de la inoculación de HMA, 2016.

V. DISCUSIÓN

En muestras de suelo radicular de espárrago se obtuvieron esporas de hongos micorrízicos arbusculares, HMA. Los HMA forman hifas intra e intercelulares, arbusculos, vesículas y micelio extra-radical, que conecta la raíz con el suelo (Rojas, 2010; Camarena, 2012) y forman esporas o propágulos de reproducción asexual (Tena, 2002). Éstas se encuentran en el suelo y su germinación, bajo determinadas condiciones ambientales, inicia la infección de los HMA (Camarena, 2012).

La simbiosis de la micorriza arbuscular está formada por las raíces de más del 80% de las especies de plantas terrestres y los hongos del Phylum Glomerycota (Camarena, 2012). Las esporas de HMA se han reportado previamente en el suelo radicular de *Lycopersicon esculentum* Mill. “tomate” (Medina et al., 2010), *Theobroma cacao* L. “cacao” (Prieto et al., 2012), *Alsophila firma* “helecho arborescente” (Lara et al., 2014), *Zea mays* L. “maíz” (Bustamante y Zambrano, 2015) y en el suelo rizosférico de cacao (Rojas, 2010), palmito (Enríquez et al., 2010), maíz (Perez et al., 2012), plantas medicinales (de la Rosa et al., 2012) y plantas de ambientes semiáridos (Martínez & Pugnaire, 2011).

La identificación taxonómica del género de los HMA se basó en la morfología de las esporas, coincidiendo con Muñoz et al. (2009), Rojas (2010) y de la Rosa et al. (2012). Según de la Rosa et al. (2012), en la identificación del género de los HMA se consideran el tipo de hifa de sostén, así como el tamaño, forma, ornamentación y número y grosor de las capas que conforman la pared de las esporas; no obstante, Martínez & Pugnaire (2011) determinaron la diversidad de HMA en el suelo rizosférico de plantas de ambientes semiáridos, mediante caracterización molecular.

En el suelo radicular de espárrago se identificaron seis géneros de HMA, valor que se encuentra en el rango de 2-6, registrado en cacao (Rojas, 2010), palmito (Enríquez et al., 2010), maíz (Perez et al., 2012), cacao (Prieto et al., 2012) y helechos arborescentes (Lara et al., 2014), respectivamente. En las investigaciones se reportan pocos géneros de HMA, pero muchas morfoespecies: 23 en maíz (Perez et al., 2012), 21 en cacao (Rojas, 2010), 20 en café (Bolaños et al., 2000); 19 en “helecho arborescente” (Lara et al., 2014) y 12 en plantas silvestres (Tena, 2002).

Los géneros de HMA identificados fueron: *Glomus*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Acaulospora*, *Entrophospora* y *Archaeospora*, reportados previamente por Bustamante y Zambrano (2015) en maíz (*Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Archaeospora*) y de la Rosa et al. (2012) y Prieto et al. (2012) en plantas medicinales y cacao (*Scutellospora*).

El género *Glomus* fue el más frecuente en los HMA identificados en espárrago, coincidiendo con Rojas (2010) y Perez et al. (2012), quienes reportaron su mayor frecuencia en cacao y maíz. Los HMA se encuentran en suelos con pH 2,7-9,2; no obstante, *Glomus* y *Acaulospora* prevalecen en condiciones ácidas y neutrales (Monroy, 2004), en este caso el suelo de espárrago presentó un pH de 6,5 ligeramente ácido.

La abundancia de *Glomus* en los suelos agrícolas se debe a que estacionalmente es el primero en esporular (Oehl et al., 2004) y forma micelio extrarradical altamente infectivo, además de las esporas o propágulos de diseminación (Hart & Reader, 2002, mencionados por Perez et al., 2012). Los HMA presentan micelio externo e interno (Rojas, 2010). Las hifas externas pueden ser infectivas, que inician los puntos de colonización; absorbentes, que exploran el suelo para la extracción de nutrientes e hifas fértiles que llevan las esporas (Barrer, 2009).

Los HMA tienen potencial como biofertilizantes y bioprotectores (Bashan et al., 2012), pero deben ser inoculados en suelos donde la población es mínima o donde los hongos nativos son inefectivos; no obstante, debido a que los HMA son simbiontes obligados (Harris et al., 2012), el inóculo puede obtenerse propagando los hongos en raíces de plantas hospedantes susceptibles o plantas “trampa” (Enríquez et al., 2010). De esta manera, los consorcios de HMA aislados de espárrago se propagaron en maíz, una planta micotrófica facultativa (Martínez et

al., 2010), aunque también se pueden utilizar plantas micotróficas obligadas como *Brachiaria decumbens* y *Pueraria phaseoloides* (Bolaños et al., 2000).

Los HMA se incrementaron en las plantas de maíz, demostrando infectividad y efectividad, coincidiendo con Dávila et al. (2009). La infectividad se refiere a la capacidad del hongo para penetrar e invadir la raíz internamente y explorar el suelo, así como la habilidad de persistir en el sistema productivo. La efectividad se demuestra cuando el hongo mejora el desarrollo del hospedante (Tapia et al., 2010; Perez et al. 2012). En este contexto, se investigó el número de esporas de HMA y la altura de las plantas de maíz, coincidiendo con Bustamante y Zambrano (2015). La infectividad de los HMA se demostró con el incremento de hasta 685% de las esporas, valor cercano a 690% reportado por Enríquez et al. (2010) para HMA aislados de palmito. Asimismo, se observó hasta 80% de micorrización en las raíces de maíz, valor cercano a 87,5% registrado por Bustamante y Zambrano (2015) para HMA de maíz propagados en maíz.

La efectividad de los HMA se demostró con el incremento de hasta 131% en la altura de las plantas de maíz, superando ampliamente 53% registrado por Bustamante y Zambrano (2015). Las plantas micótrofas facultativas como el maíz, pueden crecer sin micorrizas en suelo fértil, pero se benefician de la infección micorrízica incrementando su desarrollo y rendimiento, cuando los niveles de fósforo son bajos. El maíz es de crecimiento rápido, desarrolla un amplio sistema radicular y forma simbiosis con los HMA, características que debe tener una planta para la propagación de éstos (Martínez et al., 2010; de la Rosa et al., 2012).

La propagación de los HMA de espárrago en maíz se basó en que las endomicorrizas como los HMA son poco específicos, pudiendo infectar gran número de especies vegetales (Salas, 2004). De igual manera, esporas de *Brachiaria decumbens* se incrementaron en *Pennisetum clandestinum* (Sosa et al., 2006), cacao en maíz (Dávila et al., 2009), cacao y soya en arroz (Morales y Durango, 2008), palmito en maíz (Enríquez et al., 2010) y tomate en sorgo (Medina et al., 2010).

Los cuatro consorcios de HMA con la mayor infectividad y efectividad en maíz se seleccionaron para determinar el efecto en el desarrollo vegetativo del espárrago. Según Barrer (2009), en el manejo de los HMA para la agricultura se utilizan dos métodos, uno es trabajar con los hongos nativos, estimulando uno o varios de los géneros, después que han sido identificados y el otro es inocular

HMA previamente seleccionados. Ésta última, es la opción más importante, porque diversas condiciones como el monocultivo y los pesticidas en los agroecosistemas reducen la densidad de los HMA y como consecuencia su efecto benéfico es limitado en los hospederos. Por tanto, se requiere la selección de los HMA, propagación e inoculación en los diferentes cultivos agrícolas (Enríquez et al., 2010; de la Rosa et al., 2012).

Los HMA incrementaron el desarrollo vegetativo del espárrago, coincidiendo con Xu et al. (2014), investigadores que demostraron la promoción del crecimiento del espárrago por efecto de la inoculación de HMA con y sin fertilizante químico. El efecto benéfico es consecuencia de la modificación del estado nutricional de las plantas (Harris et al., 2012). Los HMA incrementan para las plantas la disponibilidad de agua y nutrientes, inducen tolerancia a las condiciones desfavorables y resistencia a las enfermedades en raíces, favoreciendo el desarrollo vegetativo y rendimiento (Baum et al., 2014).

Los HMA incrementaron la altura de las plantas de espárrago, efecto que también fue observado por Enríquez et al. (2010) en palmito, López et al. (2015) en Chile y Riera et al. (2016) en yuca. Según Barrer (2009), el crecimiento de las plantas, debido al aumento en la absorción de P, es el principal beneficio que se obtiene de los HMA, por cuanto este elemento tiene muy baja disponibilidad en los suelos agrícolas.

Los HMA incrementaron la biomasa aérea y radical de las plantas de espárrago, beneficio que también fue reportado por Harris et al. (2012) en calabaza; Salgado et al. (2012) en fresa; Xu et al. (2014) en espárrago y López et al. (2015) en Chile. Los HMA mejoran el nivel nutricional de las plantas, lo que se ve reflejado en mayor biomasa (Barrer, 2009).

El efecto positivo de los HMA se evidencia también como incremento en el diámetro de tallo, índice de vigor y concentración de fósforo (Enríquez et al., 2010), número de hojas, área foliar y peso foliar (de la Rosa et al., 2012), biomasa total y absorción total de N, P, K (Martín et al., 2010), volumen radical (Tapia et al., 2010), materia seca de nódulos radiculares de bacterias fijadoras de nitrógeno (Castro et al., 2012), rendimiento (Riera et al., 2016) y contenido de prolina, que participa en el ajuste osmótico, mejorando la tolerancia de las plantas a la sequía (Ruíz et al., 2012).

VI. CONCLUSIONES

- En el suelo radicular de espárrago se aislaron esporas de HMA, identificándose *Glomus* (100%), *Gigaspora* (94,79%), *Scutellospora* (89,58%), *Acaulospora* (65,63%), *Entrophospora* (46,88%) y *Archaeospora* (8,33 %).
- Los HMA aislados de espárrago se propagaron en maíz, con una efectividad de 2,86 a 131,43%.
- Los cuatro consorcios de HMA seleccionados presentaron un rango de efectividad de 97,14 a 131,43%.
- Los consorcios de HMA incrementaron el desarrollo vegetativo de espárrago, alcanzándose índices de efectividad de 9,6 a 21,7% en la altura; 7,92 a 268,21% en la biomasa radicular y 4,3 a 81,70% en la biomasa aérea.

VII. RECOMENDACIONES

- Determinar el efecto de los consorcios de HMA 91, 30, 43 y 10 en el rendimiento de espárrago en condiciones de campo.
- Determinar el efecto de los consorcios de HMA 91, 30, 43 y 10 en coinoculación con bacterias fijadoras de nitrógeno en condiciones de invernadero y campo.

VIII. RESUMEN

Los hongos micorrízicos arbusculares, HMA, son biofertilizantes que requieren incrementarse en huéspedes susceptibles. En el suelo radicular de *Asparagus officinalis* L. “espárrago” se aislaron e identificaron consorcios de HMA, con el objetivo de propagarlos y seleccionarlos en *Zea mays* L. “maíz”. Se colectaron 96 muestras de suelo radicular, se procesaron mediante el método de tamizaje–flotación–filtración, observándose HMA que se identificaron con base a la morfología de las esporas y se multiplicaron en maíz durante 90 días. En todas las muestras de suelo radicular se observaron esporas de HMA, identificándose *Glomus* (100,00%), *Gigaspora* (94,79%), *Scutellospora* (89,58%), *Acaulospora* (65,63%), *Entrophospora* (46,88%) y *Archaeospora* (8,33%). Los HMA se propagaron en maíz con una efectividad de 2,86-131,43%, seleccionándose cuatro consorcios de HMA con un rango de 97,14-131,43%. Éstos incrementaron el desarrollo vegetativo del espárrago, alcanzándose índices de efectividad de 9,6 a 21,7% en la altura; 7,92 a 268,21% en la biomasa radicular y 4,3 a 81,70% en la base aérea. Se demostró la propagación y selección de consorcios de HMA en maíz.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adriano, M., González, D., Medina, I., Ovando, I., Velázquez, G. y Salvador, M. (2010). Dinámica de los hongos micorrízicos arbusculares en el banano clon “Gran Enano”. *Quehacer Científico en Chiapas*, 1(10), 5-11.
- Agrobanco (2007). Área de desarrollo. Cultivo del espárrago. Lima, Perú
Recuperado de
http://www.agrobanco.com.pe/pdfs/publicacionagroinforma/2_cultivo_del_esparrago.pdf
- Asprelli, P., López, F. y Cointry, E. (2005). Caracteres agronómicos en el cultivo de espárrago de diferentes edades y manejos. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 40(1), 47-52.
- Barrer, S. (2009). El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 7(1), 124–132.
- Bashan, Y., Kamnev, A. & de-Bashan, L. (2012). Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: a proposal for an alternative procedure. *Biology and Fertility of Soils*, 49, 465–479.
- Baum, C., El-Tohamy, W., & Gruda, N. (2015). Increasing the productivity and product quality of vegetable crops using arbuscular mycorrhizal fungi: A review. *Scientia Horticulturae*, 187, 131–141.

- Bolaños, M., Rivillas, C. y Suárez, S. (2000). Identificación de micorrizas arbusculares en suelos de la zona cafetera colombiana. *Cenicafé*, 51 (4), 245-262.
- Bustamante, A. y Zambrano, W. (2015). *Eficiencia de la multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), nativos en Zea mays L. en condiciones de invernadero*, mayo-diciembre, 2014 (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Perú.
- Camarena, G. (2012). Interacción planta-hongos micorrízicos arbusculares. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 18(3), 409–421.
- Cano, M. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una revisión. *Revista Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales Actualidad & Divulgación Científica*, 14(2), 15–31.
- Carreño, C. (2009). *Efecto de la inoculación de bacterias nativas solubilizadoras de fósforo en el desarrollo y rendimiento de tres cultivos agrícolas en Mochumí, Lambayeque, Perú*. (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional de Trujillo, Perú.
- Casos, I. y Santiago, P. (2013). *Potencial promotor del crecimiento de las especies de Azospirillum aisladas de raíces de malezas asociadas a Zea mays L. "maíz" en Lambayeque, 2013*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Castro, R., Mendes, P., Feitosa, C. & Silva, J. (2012). Colonização micorrízica e nodulação radicular em mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) sob diferentes níveis de salinidade. *Revista Ciência Agronômica*, 43 (3), 409-416.
- Choudhary, D., Kasotia, A., Jain, S., Vaishnav, A., Kumari, S., Sharma, K. & Varma, A. (2015). Bacterial-mediated tolerance and resistance to plants under abiotic and biotic stresses. *Journal of Plant Growth Regulation* 35(1), 276-300.

- Corrales L., M. y Lumbres S., M. V. (2017). *Bacterias rizosféricas y endófitas aisladas de Portulaca oleracea L. como potenciales promotoras del crecimiento de plantas en suelos con salinidad*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Dávila, L., Ramos, C., y Rosales, C. (2009). *Multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares MA nativos de cultivo de cacao (Theobroma cacao) en maíz (Zea mays) bajo distintos tratamientos agronómicos*. (Tesis de Pregrado). Universidad Popular del Cesar, Valledupar, Colombia.
- De la Rosa, C., Ferrera, R., Alarcón, A., De Jesús Sánchez, M., y Franco, A. (2012). Aislamiento de consorcios de hongos micorrízicos arbusculares de plantas medicinales y su efecto en el crecimiento de vinca (*Catharanthus roseus*). *Revista Chilena de Historia Natural*, 85, 187–198.
- Enríquez, F., Núñez, L. y Paillacho, F. (2010). Evaluación de la efectividad de las micorrizas arbusculares nativas sobre el desarrollo y estado nutritivo del palmito (*Bactris gasipaes*, Kunt) en etapa de vivero. *XII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo*. Escuela Politécnica del Ejército, Santo Domingo, Ecuador.
- Espitia, F., Pérez, A., Núñez, A., y Jiménez, R. (2014). Diversidad de géneros de hongos formadores de micorrizas arbusculares asociados a pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa* (L) a. camus) en suelos compactados y no compactados del Municipio de San Marcos, departamento de Sucre. *II Seminario de Ciencias Ambientales Sue-Caribe & VII Seminario Internacional de Gestión Ambiental*, 214–219.
- Faggioli, V., Gudiño, S., Baigorria, T., Boccolini, M. y Cazorla, C. (2013). Respuesta de cereales de invierno a la inoculación con micorrizas sobre la producción de material seca y absorción de fósforo del suelo. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Marcos Juárez, INTA, Argentina, 1-8.
- Giacconi, M. V. y Escaff, G. M. (1993). *Cultivo de hortalizas*. Chile: Editorial Universitaria.

- Gómez, R. y Flores, F. (2015). Agricultura y servicios ecosistémicos: el caso del espárrago en Ica. *Apuntes 77, XLII (77)*, 9-55.
- Guerra, M. (2011). *Afinidad por colonización de dos hongos micorrízicos en plantas de maíz*. (Tesis de Maestría). Instituto Politécnico Nacional, Jiquilpan Michoacan, México.
- Harris, C., Esqueda, M., Orozco, A., Castellanos, A., Gardea, A., y Valenzuela, E. (2012). Metabolismo energético de *Cucurbita pepo* micorrizada con hongos del desierto sonorense y crecida con salinidad o déficit de humedad. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 51–59.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). *Metodología de la Investigación*. (6^{ta}ed.) México: Mc Graw, Hill Interamericana Editores S.A.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática, INEI (2014). Exportación de espárragos creció en 70,5%. Recuperado de <https://www.inei.gob.pe/prensa/noticias/exportacion-de-esparragos-crecio-en-705-7781/>
- International Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi, INVAM. (2009). Identification to Genus. Recuperado de <http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/genuskey.htm>
- Kirschenbilder, E., Castagnino, A., Díaz, K., Rosini M. y Falavigna, A. (2015). Cadena espárrago: producción de diferentes genotipos en su quinto año y comportamiento en poscosecha. *Agronomía Mesoamericana*, 26(1), 99-109.
- Lara, L., Noa, J., Landa, A., Hernández, S., Oros, I. y Andrade, A. (2014). Colonización y estructura de la comunidad de hongos micorrízicos arbusculares en *Alsophila firma* (Cyatheaceae) en bosque mesófilo de montaña en Veracruz, México. *Revista de Biología Tropical*, 62 (4), 1609-1623.
- López, B., Alarcón, A., Quintero, R. y Lara, A. (2015). Selección de cepas de hongos micorrízicos arbusculares en dos sistemas de producción de chile. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6 (6), 1203-1214.

- Martín, G., Arias, L. y Rivera, R. (2010). Selección de las cepas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) más efectivas para la *Canavalia ensiformis* cultivada en suelo ferralítico rojo. *Cultivos Tropicales*, 31 (1), 27-31.
- Martínez, L., & Pugnaire, F. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi host preference and site effects in two plant species in a semiarid environment. *Applied Soil Ecology*, 48, 313–317.
- McGonigle, T. & Fitter, A. (1990). Ecological specificity of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations. *Mycological Research*, 94, 120-122.
- Medina, L., Rodríguez, Y., Torres, Y. y Herrera, C. (2010). Aislamiento e identificación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de la zona de Las Caobas, Holguín. *Cultivos Tropicales*, 31(3), 2–4.
- Mendoza, E., Goldmann, V., Rivas, J., Escudero, V., Pagani, E., Collantes, M. y Marbán, L. (2002). Poblaciones de hongos micorrízicos arbusculares en relación con las propiedades del suelo y de la planta hospedante en pastizales de Tierra del Fuego. *Ecología Austral*, 12, 105-116.
- Morales, R. y Durango, W. (2008). Resultados en la obtención de inóculos nativos de hongos micorrízicos en cultivos de cacao (*Theobroma cacao*) y soya (*Glycine max*). XI Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo, 1-9 octubre, Quito, 1-9.
- Monroy, H. (2004). Caracterización de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) nativas, en seis coberturas de cítricos en el piedemonte del meta (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá DC, Colombia.
- Muñoz, E., Macías, C., Franco, A., Sánchez, E., Jiménez, J. y González, J. (2009). Identificación y colonización natural de hongos micorrízicos arbusculares en nogal. *Terra Latinoamericana*, 27, 355-361.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Ris, E., Boller, T. & Wiemken, A. (2004). Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi at different soil depths in extensively and intensively managed agroecosystems. *New Phytologist*, 165(1), 273-283.

- Peña, C., Cardona, G., Arguellez, J. y Arcos, A. (2007). Micorrizas arbusculares del sur de la amazonía colombiana y su relación con algunos factores fisicoquímicos y biológicos del suelo. *Acta Amazónica*, 37(3), 1-13.
- Pérez, Y., Álvarez, J., Mendoza, J., Pat, J., Gómez R., y Cuevas, L. (2012). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México. *Gayana Botánica*, 69(1), 46–56.
- Prieto, O., Belezaca, C., Mora, W., Garcés, F., Sabando, F. y Cedeño, P. (2012). Identificación de hongos micorrízicos arbusculares en sistemas agroforestales con cacao en el trópico húmedo ecuatoriano. *Agronomía Mesoamericana*, 23 (2), 233-239.
- Puicón, H. (2014). *Efecto de Pseudomonas spp. nativas en el desarrollo vegetativo de Zea mays L. "maíz" en condiciones de invernadero, 2013.* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Regalado, F. (1992). Espárrago conducción de vivero. Lambayeque: Colegio de Ingenieros del Perú.
- Riera, M., Rodríguez, Y. y Castañeda, D. (2016). Micorriza y métodos de plantación en el cultivo de yuca. *Hombre, Ciencia y Tecnología*, 20 (1), 19-26.
- Rojas, J. C. (2010.). *Hongos micorrízicos arbusculares en la rizósfera de genotipos promisorios de cacao (Theobroma cacao L.) bajo los sistemas tradicional y bajo bosque en la región San Martín.* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de San Martín, Perú.
- Ruiz, M., Muñoz, Y., Vázquez, B., Cuéllar, N., Polón, R. y Ruiz, J. (2012). La simbiosis micorrízica arbuscular en plantas de arroz (*Oryza sativa L.*) sometidas a estrés hídrico: Parte I. Mejora la respuesta fisiológica. *Cultivos Tropicales*, 33(4), 47–52.

- Salas, E. (2004). Las Micorrizas y su importancia para el manejo y conservación de los árboles del trópico. Memoria del I Congreso Sobre Suelos Forestales y de Ordenación Territorial. Universidad Nacional-INISEFOR, Costa Rica.
- Salgado, C., Bravo, A., Wang, E. y Cárdenas, R. (2012). Efecto de la inoculación con *Glomus intraradices* y de la fertilización nitrogenada en el crecimiento de plantas de fresa. *Scientia Agropecuaria*, 2, 171-179.
- Sieverding, E. (1983). *Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular en el laboratorio*. Colombia: Centro de Investigaciones en Agricultura Tropical, CIAT.
- Sosa, T., Sánchez, J., Morales, E. y Cruz, F. (2006). Interacción micorrizas arbusculares - *Trichoderma harzianum* (Moniliaceae) y efectos sobre el crecimiento de *Brachiaria decumbens* (Poaceae). *Acta Biológica Colombiana* 11(1), 43-54.
- Tapia, J., Ferrera, R., Varela, L., Rodríguez, J., Soria, J., Tiscareño, M., Loredó, C., Alcalá, J. y Villar, C. (2010). Infectividad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares nativos de suelos salinos en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*). *Revista Mexicana de Micología*, 31, 69-74.
- Tena, A. (2002). *Presencia de hongos micorrízicos arbusculares en plantas silvestres de suelos salinos en el estado de Colima*. (Tesis de Maestría). Universidad de Colima, México.
- Vásquez, A., Díaz, N., Vásquez, O. y Vásquez, W. (2012). *Metodología de la Investigación Científica*. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Perú.
- Vierheilig, H., Coughlan, A., Wyss U., Piche, Y., & Vinegar, A. (1998). Simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied Environment Microbiology*, 64(12), 5004–5007.
- Xu, P., Liang, L., Dong, X., Xu, J., Jiang, P. & Shen, R. (2014). Response of soil phosphorus required for maximum growth of *Asparagus officinalis* L. to inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi. *Pedosphere*, 24 (6), 776-782.

X. ANEXOS

ANEXO 1

Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de la altura de *Asparagus officinalis* L. a los 30 días

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 30 DÍAS

	g/1	g/2	Sig.
Estadístico de Levene			
1,770	5	12	,194

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 30 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	371,725	5	74,345	27,249	,000
Intra-grupos	32,740	12	2,728		
Total	404,465	17			

Anexo 2

Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de la altura de *Asparagus officinalis* L. a los 60 días

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 60 DÍAS

	g/1	g/2	Sig.
Estadístico de Levene			
1,599	5	12	,234

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 60 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	91,193	5	18,239	17,037	,000
Intra-grupos	12,847	12	1,071		
Total	104,040	17			

Anexo 3

Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de la altura de *Asparagus officinalis* L. a los 90 días

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 90 DÍAS

	g/1	g/2	Sig.
Estadístico de Levene			
2,345	5	12	,105

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 90 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	144,278	5	28,856	19,977	,000
Intra-grupos	17,333	12	1,444		
Total	161,611	17			

Anexo 4

Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de la altura de *Asparagus officinalis* L. a los 120 días

Prueba de homogeneidad de varianzas

ALTURA A LOS 120 DÍAS

	g/1	g/2	Sig.
Estadístico de Levene			
,517	5	12	,759

Anova de un Factor

ALTURA A LOS 120 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	172,478	5	34,496	25,616	,000
Intra-grupos	16,160	12	1,347		
Total	188,638	17			

Anexo 5

Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de la biomasa radicular y aérea de *Asparagus officinalis* L. a los 120 días

Prueba de homogeneidad de varianzas

BIOMASA RADICULAR A LOS 120 DÍAS

	g/1	g/2	Sig.
Estadístico de Levene			
,477	5	12	,787

Anova de un Factor

BIOMASA RADICULAR A LOS 120 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	780,877	5	156,175	146,472	,000
Intra-grupos	12,795	12	1,066		
Total	793,672	17			

Anexo 6

Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de la biomasa radicular y aerea de *Asparagus officinalis* L. a los 120 días

Prueba de homogeneidad de varianzas

BIOMASA AEREA A LOS 120 DÍAS

	g/1	g/2	Sig.
Estadístico de Levene			
1,791	5	12	,189

Anova de un Factor

BIOMASA AEREA A LOS 120 DÍAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1,702	5	,340	201,532	,000
Intra-grupos	,020	12	,002		
Total	1,722	17			