

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

**FACULTAD DE AGRONOMIA**



**“PROSPECCIÓN DE LA DENSIDAD DE ESPORAS Y  
COLONIZACIÓN DE MICORRIZAS EN CACAO SILVESTRE DE  
UCAYALI Y MADRE DE DIOS”**

**PRESENTADO POR:**

**CÉSAR OSWALDO ARÉVALO HERNANDEZ**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**LIMA – PERÚ**

**2016**

*A mi familia, que su apoyo siempre fue importante en la realización de este proyecto*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A mi padre, Enrique por su constante apoyo en el desarrollo del documento y experiencia impartida.*

*A mi madre, Karenina por su constante apoyo y recomendación en todo el proceso de realización de este proyecto.*

*A mis hermanas por su cariño y alegría impartida en cada uno de los momentos compartidos.*

*Al Dr. Sady por las facilidades otorgadas en el laboratorio para el desarrollo de este proyecto*

*Al Dr. Alegre por su apoyo en el desarrollo de este proyecto.*

*A Wendy, Henry y a todo el personal del laboratorio de microbiología de suelos de la UNALM por su apoyo en el desarrollo de este proyecto.*

*Al personal del ICT por su apoyo en la recolección de muestras y apoyo en el desarrollo del proyecto.*

*Y a todas las personas que contribuyeron en el proceso de desarrollo de este documento y del proyecto en general.*

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	3
2.1. Objetivo general: .....	3
2.2. Objetivos específicos:.....	3
<b>3. REVISIÓN LITERARIA</b> .....	4
3.1. Cacao.....	4
3.2. Micorrizas.....	5
3.3. Tipos de micorrizas.....	6
3.3.1. Micorrizas arbusculares (HMA).....	6
3.3.1.1. Función.....	7
3.3.1.1.1. Nutrición.....	7
3.3.1.1.2. Estrés por agua.....	8
3.3.1.1.3. Interacción con otros organismos.....	9
3.3.2. Descripción de géneros comunes de micorrizas arbusculares.....	10
3.3.2.1. <i>Glomus</i> sp.....	10
3.3.2.2. <i>Acaulospora</i> sp.....	11
3.3.2.3. <i>Gigaspora</i> sp.....	11
3.3.2.4. <i>Scutellospora</i> sp.....	12
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	13
4.1. Ubicación de lugar experimental.....	13
4.1.1. Fase de campo.....	13

4.1.2.	Fase de laboratorio. ....	13
4.1.3.	Codificación de muestras. ....	13
4.2.	Materiales. ....	14
4.2.1.	Colecta de muestras.....	14
4.2.2.	Laboratorio .....	14
4.2.2.1.	Equipos: .....	14
4.2.2.2.	Materiales:.....	15
4.3.	Muestreo de suelo.....	15
4.3.1.	Muestreo de suelo para caracterización.....	15
4.3.2.	Muestreo de suelo y raíces para la extracción de hongos micorrizícos.....	16
4.3.3.	Acondicionamiento y traslado de muestras.....	16
4.4.	Identificación de variables.....	16
4.4.1.	Esporas de HMA en suelo.....	16
4.4.2.	Colonización de raíces en plantas. ....	17
4.4.3.	Identificación de géneros de micorrizas arbusculares.....	17
4.5.	Diseño de investigación.....	18
5.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	19
5.1.	Análisis descriptivo de suelos.....	19
5.2.	Densidad de esporas en departamentos y zonas. ....	27
5.3.	Colonización de cacao silvestre en departamentos y zonas.....	29
5.4.	Correlación de densidad de esporas y colonización con factores físico-químicos de suelo. ....	32
5.5.	Distribución de muestras en base a características físico químicas del suelo, densidad de esporas y colonización.....	36

5.6. Identificación de géneros entre departamentos.....	38
7. <b>CONCLUSIONES</b> .....	41
8. <b>RECOMENDACIONES</b> .....	42
9. <b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Desarrollo de espora de <i>Glomus</i> sp.....	14
Figura 2.Desarrollo de espora de <i>Acaulospora</i> sp.....	15
Figura 3. Desarrollo de espora de <i>Gigaspora</i> sp. ....	15
Figura 4. Desarrollo de espora de <i>Scutellospora</i> sp. ....	16
Figura 5. Valores promedio de densidad de esporas de HMA en suelo en los departamentos de Madre de Dios y Ucayali .....	27
Figura 6. Valores promedio de densidad de esporas de HMA en suelo por zonas en los departamentos de Madre de Dios y Ucayali.....	28
Figura 7. Valores promedio para la colonización con HMA en raíces de cacao en los departamentos de Madre de Dios y Ucayali.....	30
Figura 8. Valores promedio para la colonización con HMA en raíces de cacao por zonas en los departamentos de Madre de Dios y Ucayali .....	31
Figura 9. Análisis de conglomerados de muestras, relacionando las principales variables encontradas en el análisis de correlación, para encontrar semejanza entre muestras;	<b>Error! Marcador no defi</b>
Figura 10. Fotos de esporas de micorrizas encontradas en departamentos Madre de Dios y Ucayali .....	40

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Código de muestras por sector.....	14
Cuadro 2. Análisis descriptivo de suelos .....	26
Cuadro 3. Correlación de Pearson entre variables a estudiar .....	32
Cuadro 4. Géneros encontrados por departamento .....	40



## RESUMEN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) se ha convertido en un cultivo de gran importancia para el Perú, debido al incremento del volumen de exportaciones. El cacao es una especie nativa de los bosques tropicales, donde se encuentra frecuentemente asociado a los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) que influyen en la tolerancia a estreses de tipo biótico y abiótico, sin embargo, la presencia de HMA en plantas de cacao ha sido poco documentada en el Perú. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la densidad de esporas y colonización de hongos micorrizicos arbusculares en ejemplares silvestres de cacao, y su correlación con atributos del suelo. Se colectó 54 muestras de suelo y raíces en los departamentos de Madre de Dios y Ucayali, donde se analizaron propiedades químicas (pH, Materia orgánica, N, P, K, Ca, CIC, Al, Mg, Fe, Cu, Mn y Zn) y físicas (textura) del suelo y presencia de hongos micorrizicos, mediante determinación de densidad de esporas por tamizado húmedo y colonización (clarificación de raíces y coloración de raíces con tinta de lapicero). Fueron realizados análisis de variancia e comparación de promedios entre los departamentos y zonas estudiadas (test de Tuckey). Las zonas con mayor densidad de esporas y colonización micorrítica se encontraron en el departamento de Ucayali; esto probablemente debido al mayor contenido de arcilla en los suelos, aunque no existieron diferencias significativas en la densidad de esporas en el suelo entre los dos departamentos. En la correlación con los atributos de suelo, el Ca estuvo más relacionado con la colonización, lo que podría relacionarse a la importancia del Ca en la señalización química entre la planta y el hongo. El pH, contenido de K, contenido de Fe, CIC efectiva y porcentaje de arcilla, correlacionaron significativamente con la densidad de esporas en el suelo, debido a procesos que afectan su sobrevivencia. La densidad de esporas estuvo más correlacionada con factores de suelo mientras que la colonización con factores fisiológicos de la planta y la diversidad fue baja encontrándose solamente al género *Glomus* sp.. Puede concluirse que existe dependencia geográfica en la colonización y la densidad de esporas.

## I. INTRODUCCIÓN

Los procesos de evolución en los ecosistemas tropicales dan como consecuencia diferentes especies adaptadas a su medio, variabilidad espacial, topografía, textura y otros atributos del suelo. Así un mayor conocimiento de los organismos que habitan los ecosistemas tropicales sería de especial interés para la recuperación de suelos degradados, una posterior reforestación y una estabilización de estos ecosistemas.

Este trabajo es parte de un proyecto donde se busca ampliar la base genética del cacao a través de la colección de cacao silvestre en las principales cuencas de los ríos amazónicos dentro de ellos el río Ucayali y Madre de Dios; estas expediciones son realizadas por el Instituto de Cultivos Tropicales - ICT ubicado en la ciudad de Tarapoto - Perú en colaboración con el USDA/ARS.

Con la finalidad de aprovechar esta diversidad en los últimos años el Instituto de Cultivos Tropicales, ha realizado expediciones para coleccionar cacao silvestre además de la flora fungosa asociada a su rizósfera y dentro de ella focalizar el estudio de micorrizas, en las principales cuencas de los ríos de la Selva peruana incluido los ríos Madre de Dios y Ucayali.

El cultivo del cacao tiene gran importancia comercial a nivel mundial, debido a su principal producto: el chocolate. La superficie sembrada de cacao en el Perú durante el año 2012 superó las 144 000 ha (INEI, 2012), en tanto que el rendimiento promedio fue de 706 kg ha<sup>-1</sup> (MINAGRI, 2014) Estas cifras indican que existe una brecha de 30% de adopción de las tecnologías que no permiten alcanzar rendimientos mínimos de 1 t ha<sup>-1</sup>, rendimiento considerado como límite mínimo de rentabilidad (Arévalo et al., 2004). Esta realidad se debe en gran parte al limitado acceso que tienen los agricultores a las tecnologías existentes para una producción óptima de cacao, en las que se contempla la fertilización del suelo, sistemas agroforestales y menor dependencia a insumos externos logrando así la conservación o aumento de productividad sin incrementar los costos de producción. Todos estos factores se traducen en el principal sistema de cultivo adoptado en la Amazonía (sistema agroforestal) que también aumenta y conserva la biodiversidad, logrando ser una alternativa para el pequeño productor de la selva peruana.

A esta limitación de recursos tecnológicos, se suman los problemas inherentes de los suelos tropicales como la baja disponibilidad de nutrientes esenciales para las plantas,

especialmente del fósforo. Este elemento es especialmente escaso en los suelos fuertemente meteorizados de la Amazonía peruana, puesto que su disponibilidad es afectada por la acidez del suelo. Debido a eso, estrategias fueron desarrolladas por las especies tropicales, para enfrentarse a esta escasez y conseguir una mejor nutrición de fósforo, como es el caso de la asociación simbiótica con los hongos micorrizicos.

La relación simbiótica micorrizica ha evolucionado para proveer una gran diversidad de beneficios pues optimiza la adaptación de plantas a diferentes tipos de ecosistemas, pero muchas veces estos hongos también forman mutualismos entre otros microorganismos, con efectos sinérgicos (Bowen y Theodorou, 1979). Además el cacao es un cultivo altamente colonizado por micorrizas de tipo arbuscular (Chulan, 1991; Kiers et al., 2000), pero no presenta reportes de la existencia de colonización de ectomicorrizas. Por ello, se espera encontrar una alta diversidad de hongos micorrizicos arbusculares (HMA), pues es necesaria una mayor información en ecosistemas de poca intervención humana, sobre la colonización y densidad de esporas de estos hongos y atributos del suelo que los afectan.

## **II. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **2.1. Objetivo general:**

- Determinar y cuantificar la presencia de hongos micorrizicos arbusculares (HMA) asociados a plantas de cacao silvestre de los departamentos de Madre de Dios y Ucayali.

### **2.2. Objetivos específicos:**

- Determinar la esporulación y colonización de raíces por HMA en genotipos de cacao silvestre colectados en campo.
- Determinar la correlación entre la presencia de HMA y las condiciones físico-químicas de los puntos de colección.
- Determinar los géneros de HMA en los departamentos de Madre de Dios y Ucayali.

### III. REVISIÓN LITERARIA

#### 3.1. Cacao

El género *Theobroma* se originó hace millones de años en Sudamérica, al este de los andes. El género comprende actualmente 17 especies donde *Theobroma cacao* es la más conocida. Fueron los mayas quienes dieron la primera evidencia de la domesticación del cacao y la evidencia arqueológica en Costa Rica indica que el chocolate pudo haber sido bebido por los mercantes mayas alrededor del 400 A.C. La cultura azteca, cultura dominante en Mesoamérica, puso mucho énfasis en la santidad del cacao.

El cultivo de cacao se cultiva entre los 10° latitud norte y 10° latitud sur del Ecuador y es uno de los principales *commodities* con una producción mundial de 3 931 millones de toneladas (ICCO, 2014).

El cacao es una planta muy sensible a la falta de agua por lo cual es necesario una buena distribución de precipitación o riego a través del año siendo el factor de mayor importancia en la producción por su alta susceptibilidad a la sequía e inundación (Alvim, 1959). Así mismo la temperatura es un factor relacionado con la fenología del cultivo. Las zonas elegidas para el cultivo de cacao deben presentar una temperatura media anual alrededor de 24 °C y no exceder de 30 °C, la temperatura media diaria no debe ser inferior a 15° C, la diferencia de temperatura entre día y noche no debe ser inferior a 9 °C (Arévalo et al., 2004). El cacao es una planta tolerante a sombra pero una sombra mayor del 50 % limita su rendimiento, puede alcanzar hasta 20 metros de altura (Valle et al., 2012). Sin embargo, es importante considerar la calidad de luz, pues en sistemas agroforestales es ampliamente variable. Se puede cultivar desde el nivel del mar hasta alturas considerables (1500 msnm; Arévalo et al., 2004).

Los suelos ideales para su cultivo son los suelos aluviales de textura franca con una profundidad mínima de 1.2 m (Valle et al., 2012). El cacao presentan un rango amplio de adaptabilidad a la reacción del suelo (pH 5.0 – 7.5). Se cree que la mayor diversidad se encuentra en los países altos amazónicos como el Brasil y Perú, donde se han encontrado la mayor variabilidad de especies (Enríquez, 1985). Los cacaos silvestres presentan una alternativa al componente actual genético que se posee, por lo cual podrían tener

características mejores en cuanto a calidad de fruto, rendimiento, así como una mayor tolerancia a plagas y enfermedades en general. Las expediciones en busca de nuevo material genético se iniciaron en la década de los 40 por Pound, siendo la base genética de la mayoría de clones comerciales en la actualidad. El ICT cuenta en la actualidad con el mayor banco de germoplasma del Perú con más de 400 accesiones de clones silvestres y comerciales (Arévalo, comunicación personal). El cacao es normalmente manejado en sistema de tres bolillo a un distanciamiento entre arboles de 3x3 (Arévalo et al., 2004). Una producción mínima óptima es considerada como 1 t ha<sup>-1</sup> para lo cual es necesario un manejo integrado de cultivo tomando en cuenta las variedades, manejo integrado de plagas y enfermedades, fenología del cultivo y prácticas culturales adecuadas (Arévalo et al., 2004).

### **3.2. Micorrizas**

Entre los organismos del suelo, los hongos representan el mayor componente de la biomasa total del suelo. Estos están involucrados en procesos del ecosistema tales como la descomposición de la hojarasca y mineralización de materia orgánica (Shanti y Vittal, 2010). El término *symbiotismus* (simbiosis) fue usado por primera vez por Frank (1877) como un término neutral que no implicaba parasitismo, simplemente la coexistencia de organismos distintos. Las micorrizas son un tipo de simbiosis entre las plantas y los hongos formadores de micorrizas, esta asociación se forma en las raíces de las plantas que varían ampliamente en estructura y funciones.

La simbiosis micorrizica es ubicua, está presente en casi todas las especies de plantas, y puede proveer beneficios mutuos a los participantes (Paul, 2007). Pero las interacciones más comunes son la asociación de las micorrizas arbusculares (HMA) y la de las ectomicorrizas (EM). Estos hongos juegan un rol fundamental en el establecimiento, crecimiento de plantas, protección contra enfermedades y la calidad de suelo (Anwar et al., 2008). Las micorrizas son miembros especializados de la vasta población de microorganismos que colonizan la rizósfera. Con pocas excepciones, son completamente dependientes de la planta en cuanto a carbono orgánico. Siendo independientes de la ausencia y de los recursos de carbono en el suelo, pues están en buenas condiciones para competir con saprofitos en la movilización de nitrógeno, fosfato y otros nutrientes (Smith y Read, 2007).

### **3.3. Tipos de micorrizas**

Hay dos grandes grupos de tipos de micorrizas: las endomicorrizas y ectomicorrizas. Las ectomicorrizas están caracterizadas por la formación de un manto y red de Hartig de hifas intercelulares, principalmente en raíces de árboles. Las endomicorrizas son más variables en cuanto a sus hospedantes, colonizando desde pastos hasta arboles (Peterson et al., 2004). Las endomicorrizas a su vez, son clasificadas en micorrizas arbusculares, micorrizas monotropoides, ectoendomicorrizas y micorrizas orquidáceas (Peterson et al., 2004).

Las micorrizas arbusculares son predominantes; ocurren en más del 80 % de las plantas terrestres, incluidas muchas especies de importancia en la agricultura (Smith y Read, 2007). Debido al objetivo del trabajo, se detallara con mayor profundidad a las micorrizas arbusculares.

#### **3.3.1. Micorrizas arbusculares (HMA)**

Las micorrizas arbusculares, hongos simbióticos obligados, son el tipo más común de micorrizas y presentan una gran diversidad de plantas hospedantes. El nombre arbuscular es derivado de sus estructuras características, los arbuscúlos, que ocurren dentro de las células corticales de muchas raíces de plantas, también colonizan micotalos. Esta simbiosis es antigua. Remy et al. (1994) y Taylor et al. (1995) reportaron hifas y arbuscúlos de micorrizas arbusculares en fósiles de *Aglaophyton*, esta evidencia estableció la existencia de la simbiosis de HMA a inicios del Devoniano. Además trabajos moleculares basados en la divergencia de secuencia de nucleótidos de 18DNAsr sugiere que los Glomales surgieron aproximadamente hace 350-460 millones de años y que la simbiosis sirvió de instrumento a las plantas para la colonización exitosa del suelo (Simon et al., 1993).

Estos hongos han sido recientemente clasificados en una división separada (Glomerycota) en base a secuencias de DNA (Schüßler, 2001). Los HMA, son los más ubicuos en los suelos agrícolas, representando de 9 – 55 % de biomasa total de microorganismos del suelo (Olson et al., 1999). Una micorriza arbuscular tiene tres componentes principales: la raíz, las estructuras fungosas dentro y fuera de las células de la raíz y un micelio extraradical en el suelo (Smith y Read, 2008). Forman estructuras internas

como: hifas intracelulares tipo bomba, hifa intercelular, hifa intracelular con numerosas ramificaciones y las hifas inter o intracelulares hipertrofiadas (Varma et al., 2008).

Los arbuscúlos junto con vesículas, sirven de almacén, localizadas dentro o entre las células, estas estructuras son consideradas para el diagnóstico de la simbiosis de HMA (Smith y Read, 2008). Estos arbuscúlos, son efímeros pero importantes para el intercambio de nutrientes durante un periodo de 4 a 15 días (Carling y Brown 1982; Cox y Tinker 1976). La morfología de los hongos HMA, sin embargo, puede cambiar en la raíces de diferentes hospederos y en raíces de diferentes edades en una misma planta (Abbott y Robson 1999). Las esporas formadas por los hongos HMA son muy grandes (hasta 500  $\mu\text{m}$  de diámetro), con abundantes reservas lipídicas, carbohidratos, paredes gruesas y resistentes que contienen quitina (Smith y Read, 2008). Cada espora contiene un elevado número de núcleos con estimados desde 800 a 35 000 en diferentes especies (Hosny et al., 1998).

### **3.3.1.1.Función**

#### **3.3.1.1.1. Nutrición**

Las micorrizas arbusculares son biotrófos obligados, siendo una de las asociaciones simbióticas más antiguas que existen. Los HMA juegan un rol importante en la fertilidad de suelo y nutrición de planta, son capaces de tomar nutrientes del suelo y transferirlos a la planta hospedante por medio del micelio extraradical, el cual explora el suelo y provee un área extensa para la absorción de agua y nutrientes (Smith y Read, 2008). Así los hongos HMA se extienden en el suelo más allá de la superficie radicular o la zona de pelos radiculares, pues su menor diámetro (similar o menor a pelos radiculares) les permite penetrar poros del suelo que las raíces no pueden acceder, logrando así una mayor capacidad de exploración de suelo y absorción de nutrientes en suelos más secos (Smith y Read, 2008).

Uno de los mayores enfoques en la investigación de HMA ha sido su relación con la disponibilidad y reservas de fósforo en el suelo. Los efectos en el crecimiento de plantas debido al alivio de estrés por este elemento, es una de las respuestas más conocidas de las micorrizas. Además algunas plantas inoculadas con micorrizas pueden presentar mayores concentraciones de fósforo en las hojas que las no colonizadas. Es importante considerar que, a medida que el contenido del fósforo en el suelo se incrementa, el efecto de crecimiento en

las plantas micorrizadas declina (Smith y Read, 2008). El micelio externo en la simbiosis de HMA también juega un rol directo en la toma y translocación de nitrógeno (Tobar, 1994) debido a una mayor área de exploración. Los HMA pueden incrementar el poder de absorción de sulfatos de las raíces, pero probablemente es producto de un efecto secundario debido a una mejor nutrición del fósforo (Rhodes y Gerdenman, 1978).

Hay evidencia consistente que la eficiencia en la toma de zinc y cobre es incrementada en las plantas micorrizadas con HMA (Smith y Read, 2008), favoreciendo la nutrición de micronutrientes en plantas donde su aplicación es de gran importancia. Además de una menor adquisición de manganeso en comparación a plantas no colonizadas por HMA (Bethlenfalvay y Franson 1989), ayudando a la tolerancia de cantidades tóxicas de este elemento, caso común, en suelos fuertemente ácidos.

#### **3.3.1.1.2. Estrés por agua**

Otro de los principales efectos de los HMA es la tolerancia al estrés por agua. Pero así como otros aspectos de la fisiología de los HMA es relevante distinguir entre los efectos directos de la colonización de los hongos, de los efectos indirectos debido a modificaciones en tamaño de planta o disponibilidad de fósforo (Smith y Read, 2008). Los efectos en las relaciones de agua, no son tan dramáticos o consistentes como las de adquisición de fósforo y crecimiento del hospedante. Pues, incluye efectos directos e indirectos, producto de cambios en la planta en nutrición y tamaño (Augé, 2001). Hay dos formas principales de estrés por falta de agua o resistencia a la sequía: Por evitación y tolerancia a la sequía propiamente dicha.

Augé (2001) realizó un artículo de revisión sobre las relaciones de agua y colonización de HMA. Observando que, en la mayor parte de los experimentos en resistencia a la sequía, la simbiosis con HMA promueve la resistencia a la sequía y lo hace mediante evitación, que consiste en mantener el potencial interno de agua alto. En cuanto a la tolerancia a la sequía propiamente dicha, la literatura es muy contradictoria pero Augé (2001) indica que las plantas con HMA son más tolerantes a la sequía (fisiológicamente) en las pocas instancias en que mostraron un ajuste osmótico similar a la presión osmótica en marchitez.



### 3.3.1.1.3. Interacción con otros organismos

Otra línea de estudio importante de las micorrizas es su uso para la prevención y control de plagas de forma directa o indirecta. El uso de comunidades nativas de HMA para contrarrestar los efectos negativos de patógenos de suelo requiere que los HMA sean activos. Una diversa y activa comunidad de HMA pueden controlar los patógenos de suelo indirectamente al aumentar el vigor de la planta (Varma et al., 2008). Interacciones entre HMA y gran variedad de bacterias, como diazotrofos, agentes de control biológico y, otras bacterias rizosféricas, generalmente resultan en optimización de crecimiento de planta, rendimientos y nutrición (Varma et al., 2008).

Liu (1995) realizó un trabajo en el uso de HMA como un controlador biológico de *Verticillium dahliae*, en algodón, siendo la especie más efectiva *Glomus versiforme*, esto resultó en la reducción de incidencia e índices de enfermedad durante toda la fase de crecimiento. Además el aumento de absorción de nutrientes, especialmente de fósforo, propiciado por la formación de asociación micorrizica, posibilita a las plantas mejores condiciones para enfrentar el ataque de organismos patogénicos (Michereff et al., 2005). Durante la colonización, los hongos HMA pueden prevenir las infecciones hacia la raíces por parte de patógenos reduciendo el acceso a sitios y estimulando la defensa del hospedante como lo que ocurre con los nematodos de nódulo, reduciendo su incidencia (Linderman, 1994).

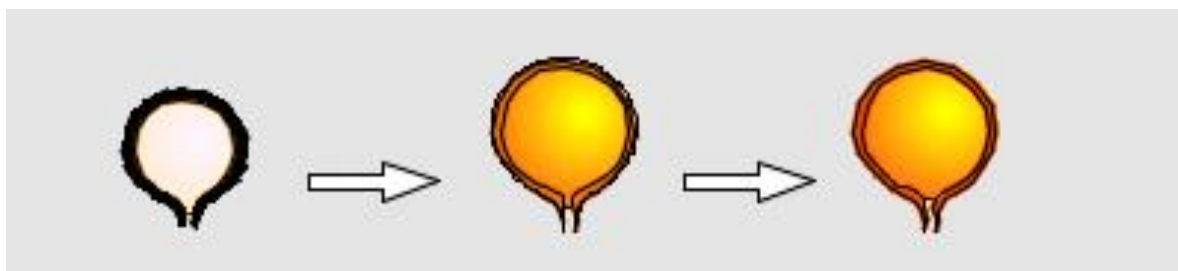
Diversos mecanismos logran que los hongos HMA mejoren la tolerancia al estrés biótico en la planta como redes intrínsecas de hifas del hongo alrededor de las raíces que bloquean las infecciones de patógenos de tipo fúngico (Varma et al., 2008). Así otro tipo de simbiosis pueden ser optimizadas con el uso de micorrizas arbusculares, como es el caso de *Rhizobium*-leguminosa donde la fijación biológica de nitrógeno es mejorada (Xavier y Germida, 2002). Además de las interacciones positivas con la planta, existen interacciones con bacterias que favorecen el crecimiento, colonización y otros aspectos de estos hongos, estas bacterias son llamadas: *Mycorrhiza Helper Bacteria* (MHB). Las MHB actúan de diferentes formas, ayudando a los hongos micorrizicos en la germinación, propiedades de suelo, crecimiento del micelio, reconocimiento de hospedante, adhesión y colonización (Garbaye 1994). La presencia de estas bacterias, directamente envueltas en la formación de micorrizas fue indicada por primera vez por Bowen y Theodorou (1979) que demostraron que

aislamientos de este tipo de bacteria promovieron e inhibieron la colonización de raíces de *Pinus radiata* por *Rhizopogon luteolus*, respectivamente.

### 3.3.2. Descripción de géneros comunes de micorrizas arbusculares

#### 3.3.2.1. *Glomus* sp.

Es el género más abundante y ubicuo dentro de las micorrizas, las esporas son glomoides, producidas en esporocarpos en la superficie del suelo, como esporas solitarias o en agregados, presentan las secuencias GGTACGYACTGGTATCATTGG y TCGGCTGTAAAAGGCYYTTG en el gen SSU, específico para el género. El desarrollo de las esporas se da con la expansión blástica de la punta de la hifa. La formación intercalar de la espora también ha sido reportado en algunas especies, pero tiene poca ocurrencia. Las capas externas de la pared de la espora generalmente se hunden a medida que la espora envejece, estas capas son las primeras componentes de la pared de la espora, en esporas juveniles. Usualmente, la capa más externa es mucilaginosa, una propiedad que parece estas correlacionada con una reacción dextrinoide (roja) en el reactivo Melzer.

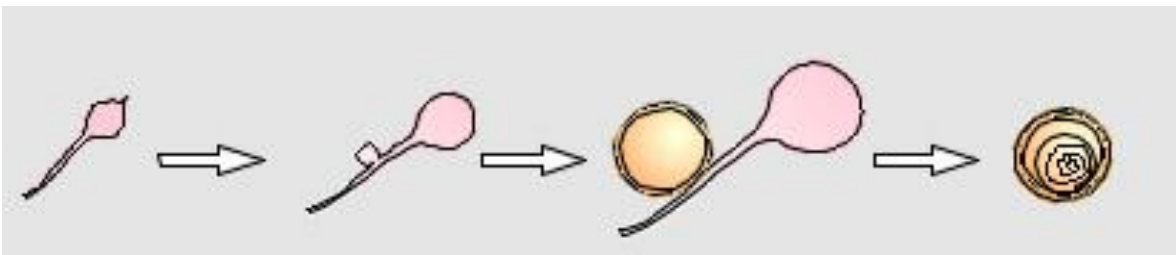


**Figura 1.** Esquema general de desarrollo de espora del género *Glomus* sp. (INVAM, 2013)

La hifa subtendida de la espora se diferencia al mismo tiempo y sintetiza los mismos componentes de las capas encontradas en la pared de la espora. En algunas especies, en esporas maduras, la hifa subtendida es tan delgada que es difícil ver o separar de la espora. (INVAM, 2013).

### 3.3.2.2. *Acaulospora* sp.

Este género fue definido por las esporas que nacen lateralmente de sáculos esporíferos pre-diferenciados. Sin embargo, especies previamente incluidas en *Entrophora* que muestran cercanía genética a las especies de *Acaulospora* están incluidas en este género. El sáculo esporífero se desarrolla blasticamente de la punta de la hifa. Después de que el sáculo se ha expandido totalmente, la espora empieza a desarrollar a partir del lado de la hifa subtendida. Cuando las esporas están maduras, el sáculo pierde su contenido hasta que después no se encuentra adherido a esporas maduras (INVAM, 2013).



**Figura 2.** Esquema general de desarrollo de espora del género *Acaulospora* sp (INVAM, 2013).

### 3.3.2.3. *Gigaspora* sp.

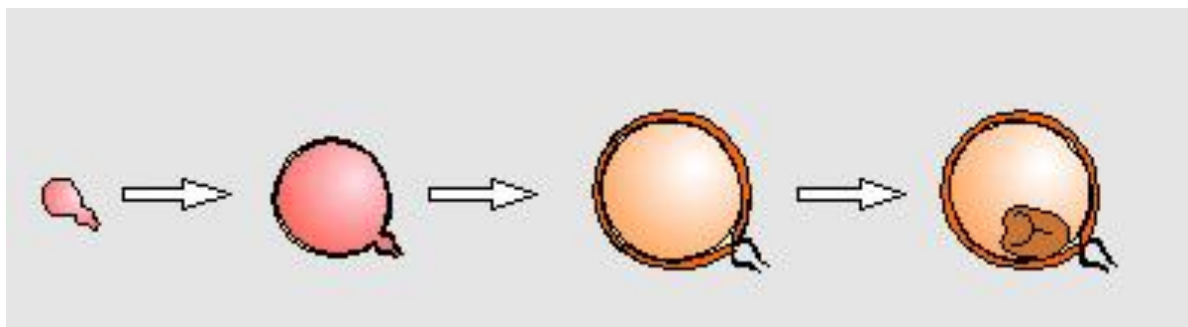
Todas las especies conocidas producen esporas sin ornamentaciones. Las esporas consisten solamente de una pared con dos capas. Las células auxiliares son de pared delgada con superficies equinuladas y producidas en las hifas en el suelo o la superficie de la raíz. Las esporas se desarrollan blasticamente a partir de la punta de la hifa, que se hincha y se convierte en una célula esporogénica. Después que esta alcanza su tamaño completo (usualmente cerca de 25 - 50  $\mu\text{m}$  en la mayoría de especies), la espora empieza a desarrollarse en la punta. La capa externa y la capa laminada se desarrollan simultáneamente, y generalmente no pueden ser distinguidas en esporas juveniles sin la ayuda del reactivo de Melzer. La lámina se engrosa y desarrolla la capa interna, de la cual múltiples tubos germinativos emergerán (INVAM, 2013).



**Figura 3.** Esquema general de desarrollo de espora del género *Gigaspora* sp (INVAM, 2013).

#### 3.3.2.4. *Scutellospora* sp.

Esporas con o sin ornamentaciones. Esporas que consisten de una espora con dos capas y dos capas interiores flexibles. Los tubos germinativos emergen de un persistente escudo germinativo asociado con la capa más interna de la pared flexible. Las células auxiliares de la pared son producidas en hifas en el suelo cerca de la superficie de la raíz. Estadios tempranos del desarrollo de la espora son similares al género *Gigaspora*. Las esporas se desarrollan blasticamente de la punta de la hifa, que se hincha y se convierte en una célula esporogénica. Después que esta alcanza su tamaño completo (usualmente cerca de 25-50  $\mu\text{m}$  en la mayoría de especies), la espora empieza a desarrollarse en la punta. La capa externa y la capa laminada se desarrollan simultáneamente, y generalmente no pueden ser distinguidas en esporas juveniles sin la ayuda del reactivo de Melzer. La lamina luego se engrosa y ornamentaciones externas se desarrollan (si presentes). Las paredes internas desarrollan y en el último estado se forma el escudo germinativo.



**Figura 4.** Esquema general de desarrollo de espora del género *Scutellospora* sp (INVAM, 2013).

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Ubicación de lugar experimental**

#### **4.1.1. Fase de campo**

El muestreo se realizó en las cuencas de los ríos Madre de Dios, Heat y Tahuamanu ubicados en Madre de Dios y en las cuencas de los ríos tributarios de Ucayali: Taraya, Abujao y Utoquinina. Las zonas fueron elegidas en base a la presencia de cacao silvestre, es decir, al azar para lo cual se obtuvo ayuda de pobladores locales que indicaron la presencia de la especie. Los cacaos silvestres fueron muestreados de forma aleatoria, tomando en consideración una distancia de 50 metros como mínimo entre plantas, la selección fue hecha en base a la disponibilidad de cada zona elegida. Las muestras de suelo y de raicillas de las plantas seleccionadas fueron tomadas de 0 – 20 cm de profundidad, debajo de la proyección de la copa de los cacaos silvestres.

#### **4.1.2. Fase de laboratorio.**

La fase de laboratorio se realizó en la estación experimental “Juan Bernito”, del Instituto de Cultivos Tropicales (ICT), distrito de la Banda de Shilcayo, provincia de San Martín, departamento de San Martín y en el laboratorio de microbiología de suelos de la Universidad Nacional Agraria La Molina ubicada en el distrito de La Molina, provincia de Lima, departamento de Lima. En esta fase se realizó el conteo de esporas en cada repetición y zona, así como también se determinó el porcentaje de colonización del hospedero, para los cacaos silvestres.

#### **4.1.3. Codificación de muestras**

Las muestras se codificaron de acuerdo a los lugares de colecta y numerados en forma correlativa, iniciándose en 347 que es la secuencia de anteriores colecciones en otros ríos del Perú.

**Cuadro 1.** Código de muestras por zona, distrito y departamento.

<b>Código</b>	<b>Zona</b>	<b>Distrito</b>	<b>Departamento</b>
PPA-N°	Puerto Pardo	Tambopata	Madre de Dios
HIT-N°	Puerto Pardo	Tambopata	Madre de Dios
PPR-N°	Comunidad Nativa Palma Real	Tambopata	Madre de Dios
SFR-N°	San Francisco	Tambopata	Madre de Dios
SND-N°	Puerto Maldonado	Tambopata	Madre de Dios
ROL-N°	Puerto Maldonado	Tambopata	Madre de Dios
ARR-N°	Arrozal	Iberia	Madre de Dios
TAM-N°	Puerto Alegre	Masisea	Ucayali
ABJ-N°	Santa Rosa	Masisea	Ucayali
UTQ-N°	Nuevo Utuquinina	Yarinacocha	Ucayali

## **4.2. Materiales**

### **4.2.1. Colecta de muestras**

- Bolsas de polietileno con cierre
- Cajas térmicas para mantenerlo frío
- Cinta masking tape
- Costales
- GPS Garmin Etrex®
- Tubo muestreador de 40 cm
- Martillo o comba
- Plumón indeleble
- Machete

### **4.2.2. Laboratorio**

#### **4.2.2.1. Equipos:**

- Balanza analítica
- Baño maría
- Estereoscopio
- Estufa
- Micropipeta
- Microscopio

#### **4.2.2.2. Materiales:**

- Azúcar
- Ácido láctico
- Agua destilada
- Alcohol polivinílico
- Estilete
- Glicerol
- Hidrato de cloral
- KOH (1 kilo)
- Lapiceros
- Papel aluminio
- Placas Petri cuadriculadas
- Pinzas
- Pizetas
- Probeta de 1L
- Tamices de 45um y 250um
- Tinta pelikan (1 litro)
- Tubos de ensayo
- Tubos centrifuga
- Vinagre blanco
- Yodo
- Yoduro de Potasio

#### **4.3. Muestreo de suelo**

##### **4.3.1. Muestreo de suelo para caracterización**

Se tomó una muestra de 1 kg de suelo aproximadamente por cada árbol identificado. La muestra fue tomada con un tubo muestreador de impacto de acero inoxidable a una distancia aproximada de 1 m del pie de cada árbol en forma de cruz (4 submuestras por cada árbol). La muestra tomada fue de la primera capa arable del suelo (20 cm de profundidad). Las muestras fueron colectadas en bolsas de polietileno previamente codificadas, posteriormente almacenadas en cajas térmicas para su transporte al laboratorio de suelos.

### **4.3.2. Muestreo de suelo y raíces para la extracción de hongos micorrizicos**

Se tomaron muestras de suelo rizosférico, siguiendo el procedimiento similar mencionado anteriormente (4.3.1). De los puntos muestreados para suelo se extrajo raíces de cacao nativo con la finalidad determinar el porcentaje de esporulación y colonización de hongos micorrizicos.

### **4.3.3. Acondicionamiento y traslado de muestras**

Después de la colecta, las muestras fueron almacenadas en cajas térmicas para su transporte al laboratorio de suelos del Instituto de Cultivos Tropicales ubicado en la estación experimental “Juan Bernito”. Las muestras de suelo fueron almacenadas a una temperatura de 6 °C, estas muestras permanecieron allí hasta su procesamiento. En caso de las raíces colectadas, fueron conservadas en una solución de alcohol al 50 %, a una temperatura de 6 °C las cuales permanecieron en sus envases hasta su posterior procesamiento.

## **4.4. Identificación de variables**

### **4.4.1. Esporas de HMA en suelo**

Se contó el número de esporas colectadas en el suelo de la prolongación de copa de las plantas en cada una de las zonas en cada uno de los departamentos. Se usó el método de decantación en húmedo mediante tamices (Gerdemann and Nicolson 1963, Sieverding 1983) modificado, que se detalla a continuación:

#### **Procedimiento (Conteo de esporas en el suelo)**

- Pesar 10 g del suelo colectado, en el estado que se encuentre, tratando de que sea lo más representativo posible. Obtener 3 sub muestras a partir de cada muestra. Secar lo pesado
- Pesar los 10 g de suelo para obtener la cantidad de suelo real. Moler el suelo lo máximo posible.
- Verter el suelo molido en un litro de agua. Mezclar la solución. Esperar 15 segundos para que las partículas más pesadas sedimenten. Rápidamente vaciar el contenido en un combinado de tamices de 45  $\mu\text{m}$  y 425  $\mu\text{m}$  (el de mayor medida primero luego el otro).



- Vaciar el contenido restante en un tubo para centrifuga hasta llegar a los 30 ml como máximo. Agregar una solución azucarada previamente preparada con (50 % de concentración de azúcar) hasta llegar a los 50 ml. Colocar los tubos en la centrifuga a 2000 rpm por 1 min.
- Retirar los tubos y tamizar (con tamiz de 45 µm). Lavar para limpiar el azúcar sobrante. Vaciar el contenido en tubos tratando de no llenarlos con más de 20 ml.
- Homogenizar la solución con las esporas de micorrizas y tomar 1 ml. Verterlo en una placa Petri cuadrículada. Hacer lo mismo hasta lograr 3 ml en la placa
- Contar esporas totales de micorrizas arbusculares con un contador hacer este procedimiento dos a tres veces.

#### **4.4.2. Colonización de raíces en plantas**

Se evaluó el porcentaje de colonización micorrízica en raíces de cada genotipo. Se usó el método con tinta y vinagre (Vierheilig et al., 1998) modificado.

#### **Procedimiento (colonización de micorrizas en raíces)**

- Colectar raíces de cacao (raicillas). Introducir raicillas en tubos de prueba. Agregar KOH (hidróxido de potasio, al 10 %) hasta cubrir la muestra.
- Esperar 24 horas. Eliminar KOH de tubos. Agregar KOH nuevamente hasta cubrir la muestra. Dejar que la muestra se aclare.
- Colocar en baño maría a 90 °C por 60 minutos. Eliminar el KOH de tubos. Agregar HCl al 1 % por 2 – 3 minutos. Eliminar HCl al 1%.
- Agregar tinta Pelikan® (azul o negra) en una solución de vinagre blanco al 5 %. Calentar en baño maría a 90 °C por 60 minutos. Eliminar el excedente de tinta en el tubo de ensayo. Lavar las raíces de dos a tres veces con agua destilada.
- Luego verter las raicillas ya teñidas en una placa Petri cuadrículada. Distribuir las homogéneamente por la placa y contar las intersecciones que tienen micorrizas entre las totales.

#### **4.4.3. Identificación de géneros de micorrizas arbusculares**

Se identificaron los géneros de micorrizas arbusculares en los departamentos de Madre de Dios y Ucayali. Se identificaron los géneros en base a la metodología de INVAM

(*International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi*) de acuerdo al procedimiento de Shenck y Perez, (1990) modificado.

#### **Procedimiento (Montaje de esporas para identificación de géneros)**

- Pesar 10 g del suelo colectado, en el estado que se encuentre, tratando de que sea lo más representativo posible.
- Realizar el procedimiento de extracción de esporas propuesto (7.5.1). Luego separar las esporas por similitudes (morfotipos) y colectar 20 esporas.
- En dos láminas portaobjetos limpias verter una gota de lactoglicerol.
- Cuidadosamente colocar el cubreobjetos en las láminas portaobjetos tratando de no formar burbujas de aire.
- Aplicar una ligera presión en el cubreobjetos de forma que se logre romper y abrir las esporas. Esperar 30 segundos y luego aplicar una presión en forma circular con la ayuda de un lápiz para lograr romper las paredes de esporas y se abran más. Este proceso debe hacerse bajo un estereoscopio o microscopio.
- Identificar los géneros.
- 

#### **4.5. Diseño de investigación**

Para la interpretación de los resultados obtenidos se utilizó el análisis de variancia, bajo el diseño completo al azar con diferente número de repeticiones a partir de la lectura de tres sub muestreos; para la comparación de medias, se utilizó el test de *Skot Knott*. Se realizó correlaciones entre los indicadores micorrizícos y las propiedades físicas y químicas del suelo utilizándose la correlación de Pearson, también se realizó un análisis de conglomerados para relacionar las zonas en base a atributos de suelo y presencia de micorrizas. Los datos fueron procesados en el programa Infostat (Di Renzo et al., 2008).

## V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 5.1. Análisis descriptivo de suelos

Las características del suelo fueron altamente variables con excepción del pH y saturación de bases, donde el CV fue menor a 30% (Cuadro 2). Los valores de pH fueron en promedio de 5.42 y 5.79 para Ucayali y Madre de Dios, respectivamente, con valores mínimos y máximos de 4.32 y 8.82 indicando la presencia de suelos alcalinos, estos valores indican que no existe un límite en el desarrollo de micorrizas. Sin embargo, suelos con menores valores podrían afectar el micelio extraradical afectando la nutrición de la planta (van Aarle, 2002). Todos los valores de fósforo (ver anexos) se encontraron en concentraciones menores a  $4 \text{ mg dm}^{-3}$ , debido a problemas de precisión de instrumento no se pudo usar valores inferiores a  $4 \text{ mg dm}^{-3}$  por la confiabilidad de los mismos, que pueden llevar a conclusiones erradas. Los valores de arcilla fueron mayores para el departamento de Ucayali y los valores de arena fueron superiores en Madre de Dios. La CIC fue semejante en ambos departamentos. La saturación de bases fue alta, con valores promedio de 96.76 y 91.10 para los departamentos de Madre de Dios y Ucayali respectivamente. Los otros atributos de suelo estudiados fueron semejantes entre sí a excepción del hierro, que tuvo mayores concentraciones en el departamento de Ucayali.

**Cuadro2.** Análisis descriptivo de principales características químicas y físicas de suelos muestreados en los departamentos de Madre de Dios y Ucayali.

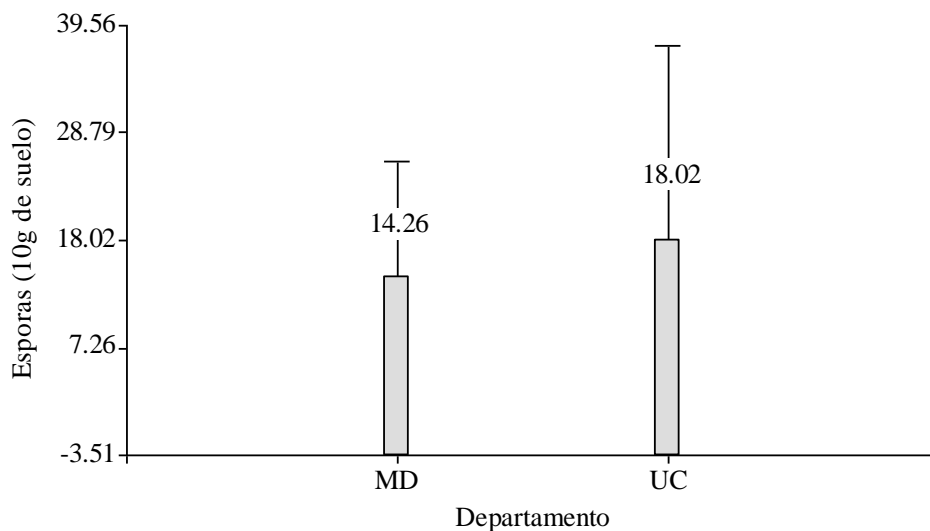
Variable/	Arena	Limo	Arcilla	pH	M.O	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Al <sup>3+</sup>	CIC efectiva	Fe	Cu	Zn	Mn
Medidas	-----g kg <sup>-1</sup> -----				--g kg <sup>-1</sup> --	-----mmol dm <sup>-3</sup> -----				-----mg dm <sup>-3</sup> -----				
<b>Madre de Dios</b>														
Media	495	220	285	5.79	23.9	82.1	21.6	2.6	1.8	10.84	33.29	1.05	1.11	6
D.E.	16	14	10	0.76	1.41	5.75	0.99	0.13	0.64	6.58	24.31	0.3	0.77	5
CV (%)	32	65	35	13.18	59.12	70.01	45.95	48.85	349.5	60.69	73.04	29.1	68.93	83.22
Min	37	23	100	4.51	4.2	2.7	6.7	0.6	0	1.11	7.6	0.6	0.5	1.5
Máx	797	523	480	7.42	62.7	258.7	45.4	5.9	37.2	29.99	126.2	1.8	3.4	23.3
<b>Ucayali</b>														
Media	281.1	387.2	331.7	5.42	19.2	87.6	19.4	1.9	7.4	11.65	76.24	1.32	1.37	13.6
D.E.	18.99	9.48	11.87	1.12	0.53	4.23	1.12	0.13	1.13	4.81	47.03	0.51	0.97	10.44
CV (%)	67.54	24.48	35.78	20.62	27.52	48.29	57.67	66.67	152.65	41.28	61.68	38.49	71.15	76.77
Min	64	207.2	148.8	4.32	12.7	35.2	3	1	0	5.55	10.9	0.8	0.6	3.1
Máx	624	507.2	508.8	8.82	34.2	169.8	45.4	5.5	30.1	22.15	193.7	2.4	4.2	36.2

## **5.2. Densidad de esporas en departamentos y zonas.**

La Amazonia es muy diversa, con gran variabilidad de características del suelo y microclimas. Así, puede crear provincias ecológicas distintas o regiones con comunidades bióticas que reflejan sus eventos históricos (Martiny et al. 2006). Existen factores que afectan la distribución de especies de HMA y, consecuentemente, la densidad de esporas y su colonización.

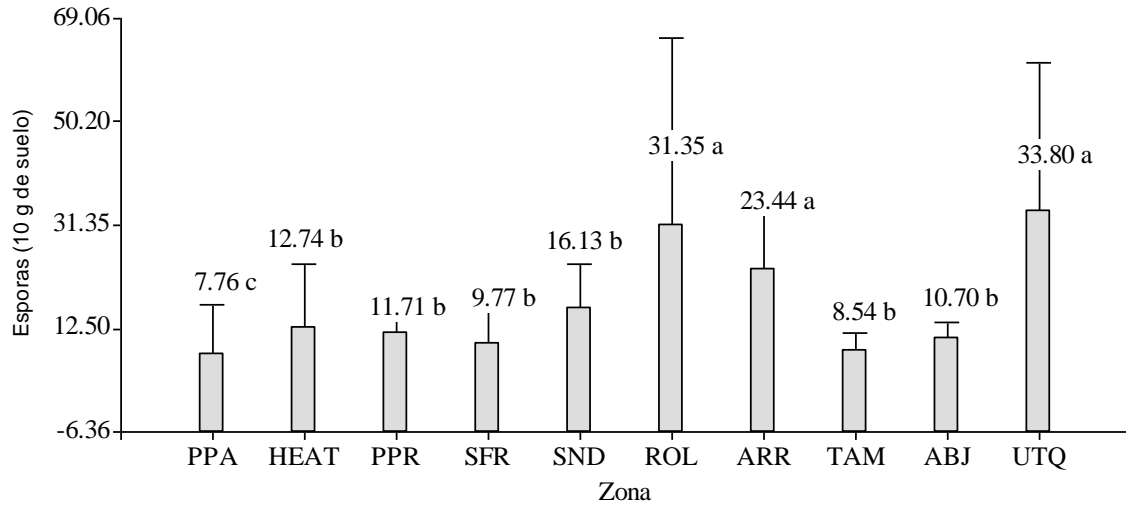
Varma (2008) presenta un modelo de distribución espacial, donde considera: clima, factores edáficos, latitud, separación espacial, historia de manejo, comunidades de plantas hospedantes, interacciones interespecíficas e intraespecíficas, todo esto, asociado a la habilidad de dispersión, especiación y extinción de las especies de AM. Por lo expuesto anteriormente existirían variaciones geográficas en la distribución de densidad de esporas. En la figura 5, se muestra la comparación de densidad de esporas por departamento, donde no se encontraron diferencias significativas, pero con una tendencia del departamento de Ucayali a presentar un mayor valor en comparación a Madre de Dios.

A pesar de presentar un clima parecido, los suelos provenientes de Ucayali tienen un contenido de arcilla mayor a los de Madre de Dios y, debido a la menor lixiviación de esporas, favorece valores superiores en comparación al departamento de Madre de Dios. En Ucayali, en los sitios aledaños a los lugares de muestreo, existe mayor presencia humana en contraste con Madre de Dios, indicando una selección de especies vegetales y una mayor presencia de residuos de actividad pesquera, que podrían representar un incremento localizado de niveles de fósforo en el suelo, logrando un número diferenciado de esporas en el suelo por crecimiento de micelio y efecto de plantas sobre la producción de esporas (Smith y Read, 2008).



**Figura 5.** Valores promedio de densidad de esporas de HMA en suelo en los departamentos de Madre de Dios y Ucayali. Las barras de error representan la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los departamentos estudiados.

Con respecto a las zonas estudiadas (Figura 6), se encontraron diferencias significativas, siendo las zonas ROL, UTQ, ARR, SND las que presentaron valores superiores de densidad de esporas para las zonas muestreadas. Estos resultados, se corroboran con Panwar y Tarafdar (2006) que evaluó la densidad de esporas en 3 especies medicinales de China, en diferentes zonas, observando que no había diferencias significativas en *Mitragyna parvifolia* en las zonas evaluadas. Pero si encontró diferencias significativas con las otras dos especies (*Leptadenia reticulata* y *Withania coagulans*). Guo et al. (2012) también evaluó la densidad de esporas usando una sola especie, en diferentes sitios, encontrando diferencias significativas, donde las zonas Eryangdian y Taipusiqi presentaron valores superiores. Indicando las diferencias existentes por distribución geográfica en la densidad de esporas en el suelo. En los trabajos mencionados no se encontró diferencias significativas a pesar de la gran distancia entre sitios, siendo así, que en lugares con menor distancia se esperaría que esta variabilidad sea menor debido a factores climáticos y pedogenéticos semejantes.



**Figura 6.** Valores promedio de densidad de esporas de HMA en suelo por zonas en los departamentos de Madre de Dios y Ucayali. Las barras de error representan la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las zonas estudiadas.

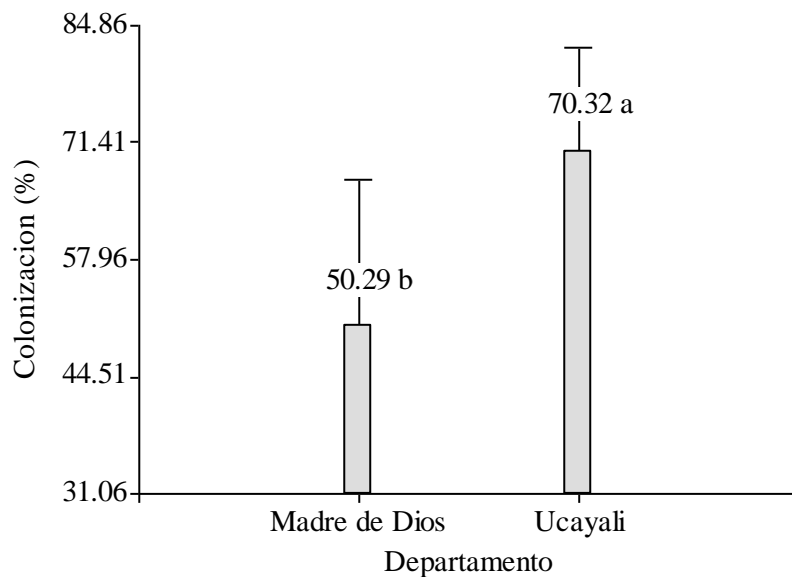
Sin embargo Titus y Tzuyuzaki (2002), en una zona volcánica, evaluaron la densidad de esporas en micrositios, diferenciándose en características como presencia de rocas o vegetación, encontrando densidades bajas pero con diferencias significativas. Estos resultados indican que la ubicación geográfica no tuvo un efecto significativo pues existen zonas que presentan valores similares aun estando en departamentos diferentes y, zonas que encontrándose a menor distancia, presentan resultados distintos, esto podría ser debido a la gran variabilidad existente en los suelos y especies amazónicas que generan microecosistemas modificando estos valores, así la semejanza de especies vegetales podría haber influido para que no existan grandes diferencias en la densidad de esporas.

### 5.3. Colonización de cacao silvestre en departamentos y zonas

La colonización es una de las variables más importantes en el estudio de micorrizas, pues determina una presencia real de la micorriza en el hospedante, ya que una densidad alta de esporas, no implica una colonización exitosa. Las principales fuentes de inóculo para la colonización micorrizica son: las esporas, hifas y fragmentos de raíz colonizados (Smith y Read, 2008). Hay factores ambientales importantes que afectan la colonización siendo los más

investigados: la densidad de inóculo, temperatura, disponibilidad de nutrientes (principalmente fósforo), luz y elevado CO<sub>2</sub> (Smith y Read 2008).

La colonización por departamentos, presentó diferencias significativas. Siendo el departamento de Ucayali (70.32%), donde se observó un mayor valor promedio en comparación con Madre de Dios, que alcanzó 50.29% (Figura 7)

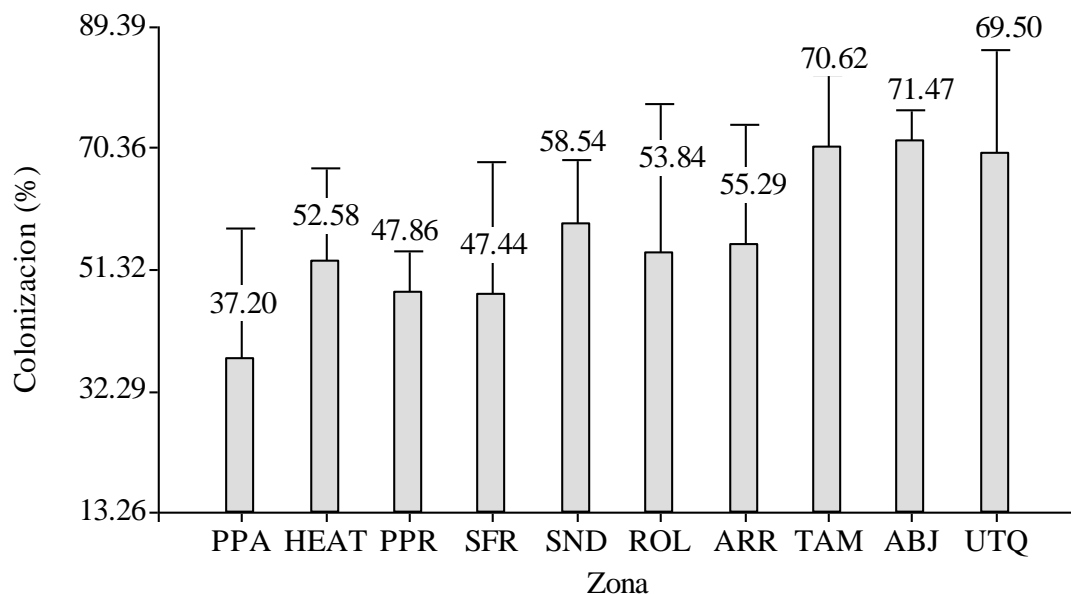


**Figura 7.** Valores promedio para la colonización con HMA en raíces de cacao en los departamentos de Madre de Dios y Ucayali. Las barras de error representan la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los departamentos estudiados.

Estos resultados son debido a la diferencia de atributos del suelo que afectan la cantidad de inóculo presente. Tomando como referencia, el modelo propuesto por Varma (2008), la mayor densidad de esporas y mayor contenido de arcilla pueden haber influenciado decisivamente en la mayor colonización. Debido a que, la cantidad de inóculo fue mayor y la arcilla favorece mejores condiciones de humedad de suelo, lo que permite una mayor dispersión y exploración del micelio en el suelo (Smith y Read, 2008), incrementando las probabilidades de colonización. En cuanto a la colonización por zonas, no se observó



diferencias significativas, a pesar de las grandes diferencias numéricas entre TAM, ABJ e UTQ con el resto de zonas en especial PPA.



**Figura 8.** Valores promedio para la colonización con HMA en raíces de cacao por zonas en los departamentos de Madre de Dios y Ucayali.

Pawar y Tarafdar (2006) y Guo et al. (2012) evaluaron la colonización por zonas, donde no encontraron diferencias significativas; sin embargo Mutukhumar et al. (2003) evaluó las diferencias en la colonización de 3 tipos de bosques encontrando diferencias significativas, observándose que el bosque primario alcanzó el mayor valor de colonización, los autores explican que es debido a la gran cantidad de inoculo primario y la falta de disturbancia. A su vez, Titus y Tzuyuzaki (2002) al evaluar la colonización, en micrositos, encontraron diferencias significativas para el porcentaje de vesículas, hifas y arbusculos en las zonas estudiadas. En otro estudio, en áreas desérticas con diferentes especies vegetales, se evaluó el porcentaje de colonización encontrándose diferencias significativas (Shi et al., 2006).

Los estudios mencionados corroboraron lo encontrado en las zonas de los departamentos de Madre de Dios y Ucayali. Aunque, las zonas de Ucayali y Madre de Dios no presentaron diferencias significativas entre ellas, se debe indicar que los valores más bajos de

colonización se encontraron en Madre de Dios. Los trabajos anteriores y los resultados obtenidos para este confirman que hay diferencias en la colonización en cuanto a la distribución geográfica aun en un mismo hospedero.

#### **5.4. Correlación de densidad de esporas y colonización con factores físico-químicos de suelo**

Se encontraron una diversidad de correlaciones altas al comparar la colonización y esporas con factores físico químicos de los suelos, esta comparación preliminar se hace con el fin de lograr encontrar los factores más influyentes en el comportamiento de estos hongos en relación al suelo, para realizar un análisis multivariado con las cada una de las muestras y ver la variabilidad de la misma, además de permitir el futuro modelaje del ecosistema y predicción de estos valores en base a los atributos del suelo. En caso de la colonización esta tuvo una correlación significativa con la cantidad de esporas (0.52) mientras que Xueli et al. (2010) encontró una correlación significativa de 0.35, esto es de esperarse ya que a una mayor cantidad de propágulos en el suelo habrá una mayor probabilidad de colonización de raíces por parte de las micorrizas.

En cuanto a la densidad de esporas tuvo una correlación altamente significativa con el pH (0.88), pues el pH es un factor importante en el desarrollo de muchos microorganismos de suelo así mismo Panwar y Tarafdar (2006) encontró una correlación positiva de 0.85 del pH con la población de esporas siendo altamente significativo ( $p < 0.01$ ). Sin embargo Guo et al. (2012) encontró una baja correlación del pH con la densidad de esporas (0.151). Mientras que la misma variable para el caso de colonización tuvo una correlación no significativa (0.1) esto corroborado por Guo et al (2012) que obtuvo una correlación de hifas (-0.068), vesículas (-0.074) y arbusculos (0.24) baja. Esto indica que la densidad de esporas está más relacionada al pH que la colonización, además el pH se encuentra dentro de los factores que influyen en la germinación de las esporas (pH, humedad, temperatura, nutrientes orgánicos o minerales, hospedantes y microorganismos) (Koltai y Kapulnik, 2010).

**Cuadro 3.** Correlación de Pearson entre atributos de suelo, colonización y densidad de esporas de HMA

	<b>Colonización</b>	<b>Densidad de esporas</b>
<b>Colonización</b>	1	0.11 ns
<b>Densidad de esporas</b>	0.52 *	1
<b>pH</b>	0.1 ns	0.88 ***
<b>M.O (%)</b>	0.27 ns	0.41 ns
<b>N (%)</b>	0.27 ns	0.4 ns
<b>K (ppm)</b>	0.02 ns	0.94 ***
<b>Arena</b>	0.05 ns	0.58 *
<b>Limo</b>	0.07 ns	0.54 *
<b>Arcilla</b>	0.36 ns	0.92 ***
<b>CIC efectiva</b>	0.65 **	0.79 ***
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	0.62 **	0.99 ***
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	0.47 ns	0.51 *
<b>Na<sup>+</sup></b>	0.09 ns	0.94 ***
<b>Al<sup>3+</sup></b>	0.26 ns	0.00097 ns
<b>Fe (ppm)</b>	0.07 ns	0.18 ns
<b>Cu (ppm)</b>	0.81 ***	0.34 ns
<b>Zn (ppm)</b>	0.4 ns	0.74 ***
<b>Mn (ppm)</b>	0.56 *	0.43 ns

ns (No significativo); \* significativo a 0.05; \*\* significativo a 0.01; \*\*\* significativo a 0.001

Otro factor importante en la correlación fue el contenido de materia orgánica (%) que nos da una estimación del carbono total al dividirlo por el factor 1.724. se hallaron correlaciones de 0.27 y 0.41 para la colonización y densidad de esporas respectivamente en este caso la correlación encontrada no fue significativa, esto fue sorprendente sin embargo, este parámetro está asociado más que todo a las esporas o propágulos ya que el carbono es uno de los recursos necesarios para los HMA (Varma et al., 2008), los HMA dependen de los fotosintatos recientes suplidos por el autótrofo y utilizan una considerable proporción del

carbono asimilado (Smith y Read, 2007) y por tanto un mayor contenido de carbono está relacionado directamente con la supervivencia de los propágulos pues los hospedantes son fuentes temporales de carbono para los hongos simbiotes; especialmente durante el periodo de crecimiento (Varma , 2008) contribuyendo así al mayor valor de colonización. Guo et al. (2012) encontró una correlación altamente significativa entre el carbono orgánico y la densidad de esporas (0.944). Panwar y Tarafdar (2006) por su parte encontraron una correlación significativa con un valor de 0.68. Mientras que Xueli et al. (2011) encontró una baja correlación (0.145) así como Rathore y Sing (1995) que encontraron una correlación de 0.1 en relación a la densidad de esporas. Este valor encontrado puede deberse a que el mayor contenido de carbono y por consecuencia de materia orgánica incrementan la retención de humedad logrando condiciones de humedad más favorables para los HMA. (Panwar y Tarafdar, 2006). Con la CIC efectiva se logró una correlación altamente significativa, con la densidad de esporas (0.79) siendo la CIC dependiente de la cantidad de arcilla y materia orgánica (coloides del suelo en general), al realizar la correlación entre densidad de esporas y arcilla se obtuvo una correlación de 0.92 implicando una relación directa con la cantidad de esporas en el suelo. Panwar y Tarafdar (2006) también encontraron una buena correlación de la cantidad de esporas y la CIC (0.53) mientras que Rathore y Singh (1995) encontraron una correlación negativa entre los propágulos de micorriza y la CIC (-0.42) y, arcilla(-0.56). La colonización también tuvo valores de correlación significativa con la CIC (0.62) esto probablemente debido a que con una mayor CIC existe una mayor densidad de esporas lo que influye positivamente en la probabilidad de colonización del hongo hacia el hospedero. Esta alta correlación con la CIC también se debe a la mayor retención de nutrientes en el suelo, propiciando mejores condiciones para el desarrollo del hongo y posterior colonización del hospedero.

En caso de los macronutrientes se obtuvo una correlación altamente significativa con algunos macro nutrientes para el caso de densidad de esporas como el potasio (0.94), mientras que con nitrógeno (0.41) no se encontró una correlación significativa. Guo et al. (2012) encontraron una correlación altamente significativa entre la densidad de esporas y el nitrógeno (0.94) en tanto Xueli et al. (2010) encontró una correlación baja con el nitrógeno disponible (-0.010). En caso de la colonización la correlación fue baja (0.27) esto corroborado por Guo et al. (2012) quienes obtuvieron correlaciones de 0.061, 0.313, 0.306, para hifas, vesículas y

arbúsculos respectivamente. También Xueli et al. (2011) encontró una correlación baja (0.155). Estos resultados indican que las correlaciones entre el Nitrógeno y la densidad de esporas es variable y dependerá de muchos factores bióticos como abióticos. Los HMA tienen enzimas necesarias para la absorción de nitrato y amonio (Smith y Read 2008) siendo el tipo de nitrógeno necesario para la formación de aminoácidos y compuestos estructurales en hongos. Para el caso del potasio, Rathore y Singh (1995) encontraron una correlación de 0.46, el potasio es un ion muy móvil, los AM pueden producir un efecto indirecto en la toma de potasio en plantas deficientes en fósforo (Rhodes y Gerdenman, 1978) favoreciendo la toma de potasio en caso de suelos deficientes de fósforo, esto se corrobora con lo encontrado pues la mayoría de suelos donde se realizó el muestreo se encontraban deficientes en fósforo. El fósforo a pesar de ser el macro nutriente más relacionado con el estudio de los hongos micorrizicos debido a su escasa presencia en los suelos muestreados y valores semejantes entre sus valores, se optó por no realizar la correlación pues se podrían generar datos erróneos y afectar la posterior distribución de las muestras en el análisis multivariado pero la literatura siempre reporta una mayor colonización a menor niveles de fósforo (Varma, 2008).

Otro macronutriente que tuvo una correlación altamente significativa fue el calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) con la colonización (0.62). En caso de la formación de micorriza con los hongos micorrizicos, la forma como hongos y plantas perciben y traducen las señales simbióticas no está del todo entendida (Koltai y Kapulnik, 2010). Tomando la simbiosis de leguminosas-*rhizobium* como analogía, se puede pensar que el  $\text{Ca}^{2+}$  participa en la traducción de mensajes de AM para la formación de la micorriza. Elevaciones de las concentraciones del  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico libre, pasando por estreses bióticos y abióticos puede ser grabada y, codificar la información traduciéndola en una cascada de eventos celulares (Sanders et al., 2002) Las oscilaciones de  $\text{Ca}^{2+}$  fueron grabadas en pelos radiculares de *Medicago truncatula* en la presencia, pero no en el contacto de las hifas de AM. (Kosuta et al., 2008). Estos resultados confirmaron la relación del calcio en la simbiosis con AM. Con lo anterior se confirman la importancia del calcio en la colonización de las plantas.

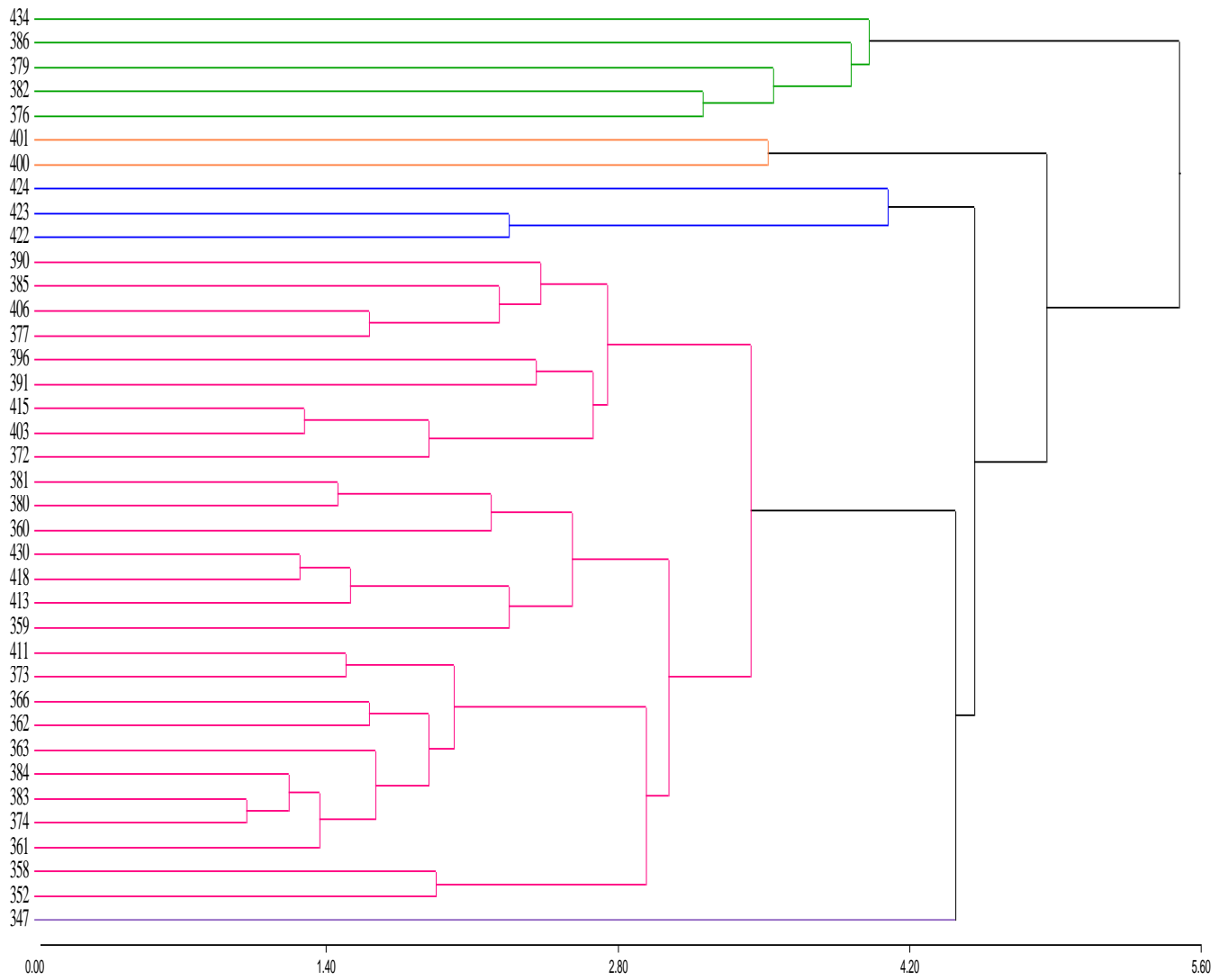
En cuanto a los micronutrientes los más importantes fueron el zinc (0.74) y cobre (0.34) en cuanto a densidad de esporas. Para la colonización las correlaciones encontradas fueron Cu (0.81) y Zn (0.40) es probable que las micorrizas tengan un efecto acumulativo o

necesidades de estos elementos para el correcto desempeño de su fisiología. No existen mayores datos en cuanto a micronutrientes en el suelo y su relación con la densidad de esporas y colonización, las investigaciones están más enfocadas a la concentración de estos elementos en el tejido de las plantas. Existe evidencia consistente que hay una mayor toma de zinc y cobre del suelo en plantas micorrizadas (Smith y Read, 2008). Sin embargo, en las zonas muestreadas, los niveles de cobre y zinc, se encuentran debajo de lo normal. Liu (2000), reporto que hubo una mayor longitud de hifa en suelos sin fertilización de micronutrientes encontrando diferencias significativas entre los tratamientos aplicados, esto debido a la menor cantidad de micronutrientes. La disposición espacial de los micronutrientes es muy variable formando manchas sin la presencia de estos elementos alrededor de la raíz, por lo cual la longitud de hifa se incrementa, aumentando el radio de absorción de la raíz y la distancia de difusión (Liu, 2000); así el micelio e hifas son propágulos responsables para la ocurrencia de colonización naturalmente en muchos ecosistemas (Smith y Read, 2008) se encuentra una alta correlación con la colonización de plantas.

Sintetizando lo encontrado se podría deducir que las esporas podrían estar relacionadas más con factores del suelo por que las correlaciones más altas se encontraron con pH, CIC, contenido de arcilla, K mientras que la colonización podría estar más relacionada con factores fisiológicos de la planta que factores del suelo como en el caso de la señalización del  $\text{Ca}^{2+}$ .

#### **5.5. Distribución de muestras en base a características físico químicas del suelo, densidad de esporas y colonización**

Después de realizar las correlaciones respectivas se procedió a realizar el análisis multivariado tomando en cuenta la densidad de esporas, colonización, pH, CIC, contenido de arcilla,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$ . Todos estos factores del suelo estuvieron correlacionados con la colonización y densidad de esporas de micorrizas arbusculares.



**Figura 9.** Análisis de conglomerados de muestras, relacionando las principales variables encontradas en el análisis de correlación, para encontrar semejanza entre muestras

Al realizar el análisis multivariado se encuentran que la muestra más alejada es la 347 y se formaron 5 grupos donde se aprecia que muchas de estas muestras por las características físico-químicas de los suelos, la densidad de esporas y colonización son similares a muestras que se encuentran en departamentos distintos. Tomando en cuenta el modelo de Varma (2008) en distribución geográfica se puede pensar que en esas zonas se pueden encontrar especies similares de micorrizas pudiendo así realizar predicciones en base a las características edafo-climáticas del sitio, para un mapeo adecuado de las micorrizas existentes en nuestros ecosistemas tomando como referencia las especies en otros países con climas similares. Este método fue propuesto para variables ambientales por Prescott (1938) pero también puede ser aplicable para microorganismos.

### 5.6. Identificación de géneros entre departamentos

La identificación de los géneros se hizo en base a las esporas obteniéndose los siguientes géneros para cada departamento:

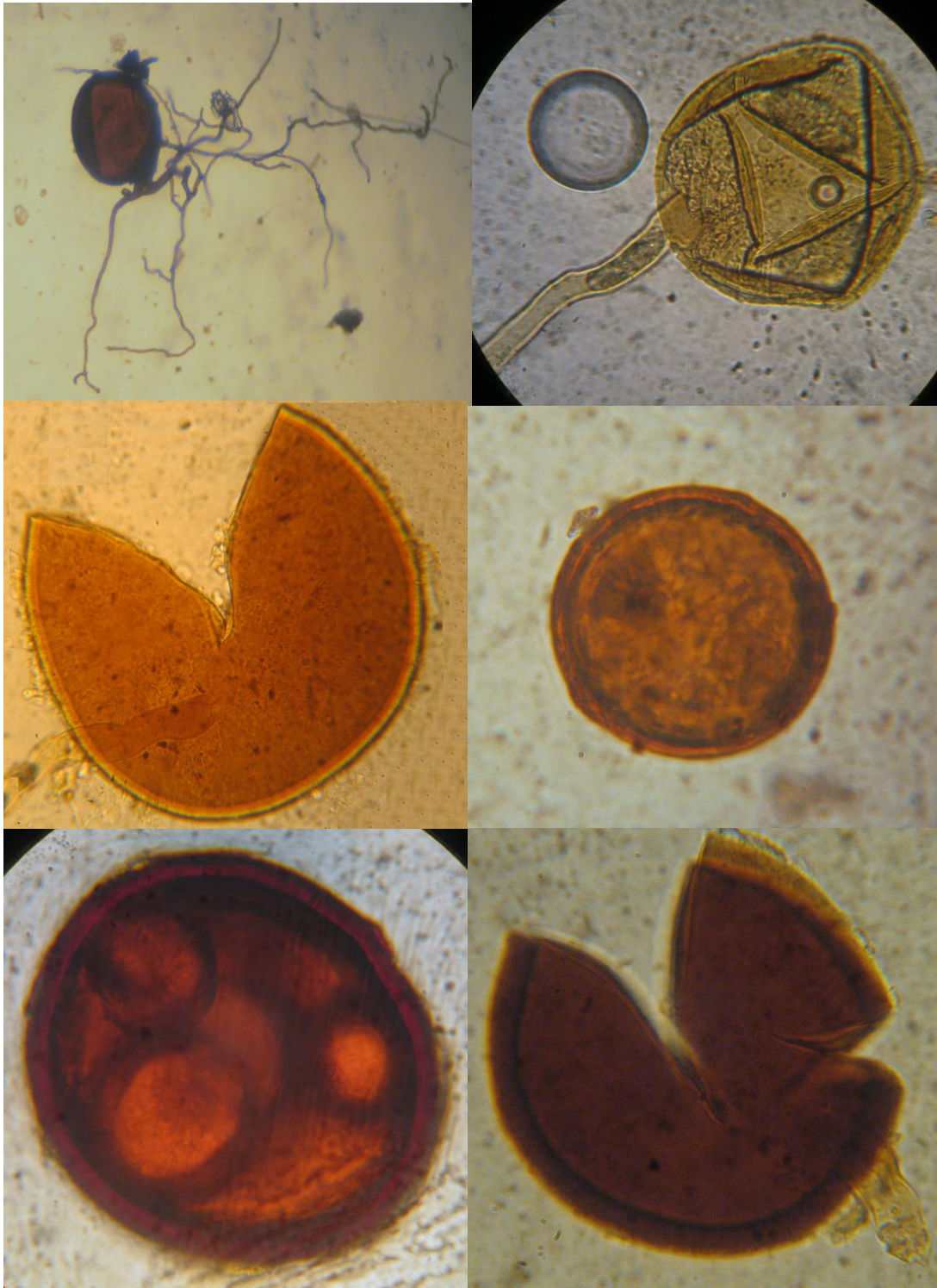
**Cuadro 4.** Relación de géneros de HMA encontrados en cada departamento evaluado

<b>Madre de Dios</b>	<b>Ucayali</b>
<i>Glomus</i> sp. m1	<i>Glomus</i> sp. m1
<i>Glomus</i> sp. m2	<i>Glomus</i> sp. m2
<i>Glomus</i> sp. m3	<i>Glomus</i> sp. m3
<i>Glomus</i> sp. m4	<i>Glomus</i> sp. m6
<i>Glomus</i> sp. m5	<i>Glomus</i> sp. m7

Se identificaron siete morfotipos para el género *Glomus*, y son mostrados en la Figura 8. Debido a que el muestreo se realizó en la época seca puede haber existido un estrés por sequía y usualmente la esporas quedan en latencia hasta tener las condiciones adecuadas de humedad del suelo lo que podría haber dificultado la identificación de más géneros, en un ecosistema considerado altamente diverso, sin embargo, el género *Glomus* es uno de los grupos más dispersos y ubicuos dentro de las micorrizas encontrándose asociado a condiciones de estrés explicando lo encontrado en las muestras analizadas. Además se encontraron altos niveles de



colonización pero una baja densidad de esporas indicando que existe una buena presencia de hongos micorrizicos dentro de las raíces de plantas, pues para el caso del genero *Glomus* en la mayoría de especies la esporulación no es requerida para la colonización por lo que las esporas en suelos nativos puede ser infrecuente (Jasper et al., 1991; Clapp et al., 1995). La clasificación morfológica muchas veces presenta inconvenientes debido a la escasa presencia de esporas y similitudes significativas entre especies por lo que es recomendable para otros trabajos, relacionados con identificación de géneros o incluso especies, realizar un análisis molecular.



**Figura 10.** Fotos de esporas de micorrizas encontradas en departamentos Madre de Dios y Ucayali. A. *Glomus sp* m1 (10x) B. *Glomus sp*.m6 (100x) C. *Glomus sp*.m4 (100x) D. *Glomus sp*.m5 (100x) E. *Glomus sp*. m7 (100x) F. *Glomus sp*. m2 (100x).

## VI. CONCLUSIONES

- Existe dependencia geográfica para la densidad de esporas en el suelo y la colonización de raíces de cacao silvestre por HMA.
- La densidad de esporas estuvo más correlacionada con factores edáficos mientras que la colonización con factores fisiológicos de la planta.
- La diversidad de géneros de HMA en las zonas estudiadas fue baja, encontrándose al género *Glomus* como único asociado a las raíces del cacao silvestre.

## VII. RECOMENDACIONES

- Son requeridos mayores estudios de las características de las micorrizas arbusculares en sus hábitats naturales y así se tener una mayor comprensión de estos hongos y su modo de acción en los ecosistemas naturales de la amazonia peruana.
- Para el estudio de la interacción de HMA con cacao, con fines productivos, seria de especial interés el uso del género *Glomus*, una vez que fue la única especie de HMA encontrada asociada al cacao silvestre en la presente investigación.
- Para nuevos estudios en micorrizas es necesario tomar en cuenta la cuantificación de glomalina, pues su uso potencial como indicador de calidad del suelo es de gran importancia.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, L.K., Robson, A.D. (1991) Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, Ecosystem and Environment*. 35:121-150.
- Alvim, P.T. (1959) Water requirements of Cacao. First FAO Technical Cacao Meeting. Acera, Ghana.
- Anwar, Z., Sayeed, M., Futai, K. (2008) *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*. Springer. 365 p.
- Arévalo G., E., Zúñiga C., L., Arévalo A., C., Adriazola A., J. (2004) Cacao: Manejo Integrado del Cultivo y Transferencia de Tecnología. Edit Instituto de Cultivos Tropicales. Tarapoto, Perú. 184p.
- Augé, R.M. (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11:3-42.
- Azcón-Aguilar, C., Barea, J.M. (1996) Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne pathogens—an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6:457-464.
- Bartley, B.G.D. (2005) The genetic diversity of cacao and its utilization. CABI International, Wallingford, Oxford, UK.
- Bearden, B.N., Petersen, L. (2000) Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on soil structure and aggregate stability of a vertisol. *Plant and Soil*. 218:173-183.
- Bthlenfalvay, G.J., Franson, R.L. (1989) Manganese toxicity alleviated by mycorrhizae in soybean. *Journal of Plant Nutrition* 12:953-970
- Bowen, G.D., Theodorou C. (1979) Interactions between bacteria and ectomycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry* 11:119-126.
- Braunberger, P.G., Abbott, L.K., Robson, A.D. (1996) Infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi after wetting and drying. *New Phytologist* 134:673-684
- Cardoso, I.M., Kuyper, T.W. (2006) Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture, Ecosystems and Enviroment* 116:72-84.

- Carling, D.E., Brown M.F. (1982) Anatomy and physiology of vesicular-arbuscular and nonmycorrhizal roots. *Phytopathology* 72:1108-1114.
- Cheesman, E.E. (1944) Notes on the nomenclature, classification and possible relationships of cocoa populations. *Tropical Agriculture* 21:144–159
- Chulan, A.H., Ragu, P. (1986) Growth response of *Theobroma cacao* L. seedlings to vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation. *Plant and Soil* 96:279-285.
- Clapp, J.P., Young, J.P.W., Merryweather, J.W., Fitter, A.H. (1995) Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. *New Phytologist* 130:259-265
- Cuatrecasas, J. (1964) Cacao and its allies. A taxonomic revision of the genus *Theobroma*. Contributions from the United States National Herbarium, vol 35. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, pp 375–614
- Cuenca, G., Meneses, E. (1996) Diversity patterns of arbuscular mycorrhizal fungi associated with cacao in Venezuela. *Plant and Soil*, 183:315-322.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W. (2008) *Infostat, versión 2008*, Grupo Infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Enríquez, G.A., Salazar, C. (1987) Manual del cacao para agricultores. 1ra Edición San José, Costa Rica. EUNED. 150p.
- Gange, A.C., West, H.M. (1994) Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and foliar feeding insects in *Plantago lanceolata* L. *New Phytologist* 128:79-87.
- Garbaye, J. (1994) Mycorrhiza helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* 128:197-210
- Guo, H., He, X., Li, Y. (2012) Spatial distribution of arbuscular mycorrhiza and glomalin in the rhizosphere of *Caragana korshinskii* Kom. In the Otindag sandy land, China. *African Journal of Microbiology Research* 6(28):5745-5753.

- Gupta, R., Kumar P. (2000) Mycorrhizal plants in response to adverse environmental conditions. In: Mukerji KG, Chamola BP, Singh J (eds) Mycorrhizal biology. Kluwer, New York, 67-84.
- Hosny, M., Gianinazzi-Pearson, V., Duliéu H. (1998) Nuclear DNA content of 11 fungal species in Glomales. *Genome* 41:422–428.
- Hungria, M.; Araujo, R. S. (1994) Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília: Embrapa-SPI. p 387-411
- International Cocoa Organization (ICCO). (2014) Annual Report. London, UK. 72p
- Instituto Nacional de Estadística e Informática del Perú (INEI). (2012) IV Censo Nacional Agropecuario. Lima-Perú.
- International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM)  
Consultado el 22 de setiembre de 2013: “<http://invam.wvu.edu/the-fungi/classification/>”
- Jasper, D.A., Abbott, L.K., Robson, A.D. (1991) The effect of soil disturbance on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soils from different vegetation types. *New Phytologist* 118:471-476
- Jaramillo, P., S.P., Silva B., J.M., Osorio V., N.W. (2004) Potencial simbiótico y efectividad de hongos micorrizo arbusculares de tres suelos sometidos a diferentes usos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía* 57:2203-2214
- Kiers ET, Lovelock CE, Krueger EL y Herre EA (2000) Differential effects of tropical arbuscular mycorrhizal fungal inocula on root colonization and tree seedling growth: implications for tropical forest diversity. *Ecology Letters* 3:106–113
- Koltai, H., Kapulnik, Y. (2010) Arbuscular mycorrhizas: Physiology and Function. 2<sup>nd</sup> edition. Springer.
- Kokalis-Burelle, N., Kloepper, J.W., Reddy, M.S. (2006) Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms. *Applied Soil Ecology* 31:91-100

- Kosuta, S., Hazledine, S., Sun, J., Miwa, H., Morris, R.J., Downie, J.A., Oldroyd, G.E.D. (2008) Differential and chaotic calcium signatures in the symbiosis signaling pathway of legumes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:9823–9828
- Linderman, R.G. (1994) Role of VAM fungi in biocontrol. In: Pflieger FL, Linderman RG (eds) *Mycorrhizae and plant health*. APS Press, St Paul, p 1-26.
- Liu, R.J. (1995) Effect of Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on verticillium wilt of cotton. *Mycorrhiza* 5:293-297.
- Liu, A., Hamel, C., Hamilton, R.I., Ma, B.L., Smith, D.L. (2000) Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. *Mycorrhiza* 9:331-336
- Lu, X.H., Koide, R.T. (1994) The effect of mycorrhizal infection on components of plant growth and reproduction. *New Phytologist* 128:211-218.
- Michereff, S. J., Andrade, D., Menezes, M. (2005) *Ecología e Manejo de Patogenos Radiculares em Solos Tropicais*. Universidade Federal Rural de Pernambuco. p 188
- Mejías, L., E. Palencia. (2005) *Abono orgánico manejo y uso en el cultivo de cacao (en línea)*. Corpoica, Centro de Investigación Turipana, CO. Disponible en “[http://www.turipana.org.co/abono\\_cacao.htm](http://www.turipana.org.co/abono_cacao.htm) pp.1-17”.
- Muthukumar, T., Sha, L., Yang, X., Cao, M., Tang, J., Zheng, Z. (2003) Distribution of roots and arbuscular mycorrhizal associations in tropical forest types of Xishuangbanna, southwest China. *Applied Soil Ecology* 22: 241-253.
- Olsson, P.A., Thingstrub, I., Jakobsen, I., Baath, E. (1999) Estimation of the biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in a linseed field. *Soil Biology Biochemistry* 31:1879-1887.
- Ministerio de Agricultura y Riego del Perú (MINAGRI). (2014) *Dinámica Agropecuaria 2004-2013*. 72p
- Paul, E. (2007) *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press Inc. Elsevier. p 179-183.



- Panwar, J., Tarafdar, J.C. (2006) Distribution of three endangered medicinal plant species and their colonization with arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Arid Environments* 65: 337-350
- Peterson, R. L., Mássicotte, H.B., Melville, L.H. (2004) Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology. CABI Publishing, Wallingford, UK. 169p
- Prescott, J.A. (1938) The climate of tropical Australia in relation to possible agricultural occupation. *Transactions of the Royal Society of South Australia* 62:229–240.
- Rathore, V.P., Singh, H.P. (1995) Quantification and correlation of vesicular-arbuscular mycorrhizal propagules with soil properties of some mollisols of northern India. *Mycorrhiza* 5: 201-203.
- Remy W., Taylor, T.N., Hass H., Kerp H. (1994) Four hundred million year old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91:11841-11843.
- Rhodes, L.H., Gerdenman, J.W. (1978) Translocation of calcium and Phosphate by external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Soil Science* 126:125-126.
- Ruiz, P., Rojas, K., Sieverding, E. (2011) La distribución geográfica de los hongos de micorriza arbuscular: una prioridad de investigación en la Amazonia peruana. *Espacio y Desarrollo* N° 23: 47-63.
- Sánchez, M. (1999). Endomicorrizas en agroecosistemas colombianos. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia. p 92-95.
- Sanders, D., Pelloux et al. (2002) Calcium at the crossroads of signaling. *Plant Cell Supplement* 14:401-417
- Schenck, N.C., Perez, Y. (1990) A manual for identification of vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi. INVAM University of Florida, Gainesville, FL, 286 pp.
- Schüßler, A., Schwarzott, D., Walker, C. (2001) A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105:1413-1421.
- Shanti, S., Vittal, B. P. R. (2010) Fungi associated with decomposing leaf litter of cashew (*Anacardium occidentale*). *Mycology*, 1(2):121-129.

- Shi, Z.Y., Zhang, L.Y., Li, X.L., Feng, G., Tian, C., Christie, P. (2006) Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with deser ephemerals in plant communities of Junggar Basín, northwest China. *Applied Soil Ecology* 35(1):10-20.
- Sieverding, E. (1983) Manual de métodos para la investigación en micorrizas vesículo-arbuscular en el laboratorio. Palmira, CIAT. Colombia.
- Simon, L., Levesque, R.C., Lalinde, M. (1993) Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*. 363:67-69.
- Smith, S.E. Read, Dj (2008) Mycorrhizal symbiosis, Third edition. Academic, London. Elsevier.
- Titus, J.H., Tsuyuzaki, S. (2002) Arbuscular mycorrhizal distribution in relation to microsites on recent volcanic substrates of Mt. Koma, Hokkaido, Japan. *Mycorrhiza* 12:271-275
- Tobar, R. M., Azcon, R, Barea, J. M. (1994) The improvement of N acquisition from ammonium treated, drought-stressed soil by the fungal symbiont in arbuscular mycorrhizae. *Mycorrhiza* 4:105-108.
- Valle R R. (2012) Ciência, Tecnologia e Manejo do Cacaoeiro. Segunda Edição. 2. ed. Brasilia: Vital v. 5000. 688p.
- van Aarle I.M., Olsson, P.A., Söderström, B. (2002) Arbuscular mycorrhizal fungi respond to the substrate pH of their extraradical mycelium by altered growth and root colonization. *New Phytologist* 155:173–182.
- Varma, A. (2008) Mycorrhiza: State of the Art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics. Noida, India. Springer.
- Vierheilig, H., Coughlan, A.P., Wyss, U., Piche, Y. (1998) Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 5004–5007.
- Wehner, J., Antunes, P.M., Powell, J.R., Mazukatow, J., Rillig, M.C. (2009). Plant pathogen protection by arbuscular mycorrhizas: A role for fungal diversity? *Pedobiología* 53:197-201

- Xavier, L.J.C., Germida, J.J. (2002) Response of lentil under controlled conditions to co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia varying in efficacy. *Soil Biology & Biochemistry* 34:181-188.
- Xueli, H.E., Jing, Y., Zhao, L. 2011. Spatial distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in *Salix psammophila* root zone soil in Inner Mongolia desert. *Acta Ecologica Sinica* 31(8):2159-2168.
- Zhang, D., Arévalo G. E., Mischke, S., Zuñiga, C. L., Barreto-Chavez, A., Adriazola, J. (2006) Genetic Diversity and structure of Managed and Semi-Natural Populations of Cocoa in the Huallaga and Ucayali Valleys of Peru. *Annals of Botany* 98:647-655.

## IX. ANEXOS

### a. REFERENCIACION GEOGRAFICA DE PUNTOS DE MUESTRA

<b>CODIGO OFICIAL</b>	<b>FECHA</b>	<b>CENTRO POBLADO</b>	<b>DISTRITO</b>	<b>PROVINCIA</b>	<b>RIO</b>	<b>ALTITUD m.s.n.m</b>	<b>LAT. SUR</b>	<b>LONG. OESTE</b>
PPA-346	11.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Madre de Dios	171	12°35'26.9"	68°42'42"
PPA-347	11.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Madre de Dios	172	12°28'46.7"	68°43'0.28"
PPA-348	11.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Madre de Dios	175	12°28'47.5"	68°43'1.2"
PPA-349	11.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Madre de Dios	180	12°28'34.1"	68°43'11.8"
PPA-350	11.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Madre de Dios	184	12°28'52.7"	68°43'11.5"
PPA-351	11.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Madre de Dios	184	12°28'51.3"	68°43'11.2"
PPA-352	11.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Madre de Dios	184	12°28'49.4"	68°43'09.4"
PPA-353	11.05.12	Puerto Pardo	Tambopata	TAMBOPATA	Madre de Dios	183	12°28'49.3"	68°43'08.4"
PPA-354	11.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Madre de Dios	184	12°28'48.7"	68°43'08.5"
PPA-355	11.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Madre de Dios	185	12°28'48.5"	68°43'07.1"
PPA-356	11.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Madre de Dios	186	12°28'46.3"	68°43'03.5"
PPA-357	11.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Madre de Dios	182	12°28'46.1"	68°43'03.2"
HIT-358	12.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Heat	172	12°31'19.3"	68°39'35.5"
HIT-359	12.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Heat	175	12°31'19.7"	68°39'36"
HIT-360	12.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Heat	176	12°31'18.9"	68°39'37.3"
HIT-361	12.05.12	Puerto Pardo	Tambopata		Heat	176	12°31'18.2"	68°39'37.8"

HIT-362	12.05.12	Puerto Pardo	Tambopata	Heat	178	12°31'17.7"	68°39'37.9"
HIT-363	12.05.12	Puerto Pardo	Tambopata	Heat	179	12°31'15.4"	68°39'39.9"
HIT-364	12.05.12	Puerto Pardo	Tambopata	Heat	179	12°31'14.7"	68°39'40.4"
PPR-365	12.05.12	Comunidad Nativa Palma Real	Tambopata	Madre de Dios	183	12°28'38.5"	68°44'53.8"
PPR-366	12.05.12	Comunidad Nativa Palma Real	Tambopata	Madre de Dios	183	12°28'38.8"	68°44'57.3"
PPR-367	12.05.12	Comunidad Nativa Palma Real	Tambopata	Madre de Dios	189	12°28'38.1"	68°44'58.4"
PPR-368	12.05.12	Comunidad Nativa Palma Real	Tambopata	Madre de Dios	190	12°28'38"	68°44'59"
PPR-369	12.05.12	Comunidad Nativa Palma Real	Tambopata	Madre de Dios	190	12°28'35.6"	68°45'03.8"
SFR-370	12.05.12	San Francisco	Tambopata	Madre de Dios	180	12°30'03.5"	68°49'48.9"
SFR-371	12.05.12	San Francisco	Tambopata	Madre de Dios	181	12°30'04.1"	68°49'48.6"
SFR-372	12.05.12	San Francisco	Tambopata	Madre de Dios	183	12°30'05.4"	68°49'49.6"
SFR-373	12.05.12	San Francisco	Tambopata	Madre de Dios	184	12°30'05.2"	68°49'47.4"
SFR-374	12.05.12	San Francisco	Tambopata	Madre de Dios	183	12°30'05.9"	68°49'46.2"
SFR-375	12.05.12	San Francisco	Tambopata	Madre de Dios	182	12°30'07.4"	68°49'47.3"
SFR-376	12.05.12	San Francisco	Tambopata	Madre de Dios	183	12°30'06.8"	68°49'46.1"
SFR-377	12.05.12	San Francisco	Tambopata	Madre de Dios	178	12°30'08.1"	68°49'44.6"
SFR-378	12.05.12	San Francisco	Tambopata	Madre de Dios	177	12°30'09"	68°49'43.4"
SND-379	13.05.12	Puerto Maldonado	Tambopata	Madre de Dios	181	12°35'55.3"	69°04'11"

SND-380	13.05.12	Puerto Maldonado	Tambopata		Madre de Dios	188	12°35'57"	69°04'10.1"
SND-381	13.05.12	Puerto Maldonado	Tambopata		Madre de Dios	192	12°35'58.8"	69°04'10.1"
SND-382	13.05.12	Puerto Maldonado	Tambopata		Madre de Dios	195	12°35'39.1"	69°04'10.9"
SND-383	13.05.12	Puerto Maldonado	Tambopata		Madre de Dios	197	12°36'0.0"	69°04'11.8"
SND-384	13.05.12	Puerto Maldonado	Tambopata		Madre de Dios	186	12°35'53"	69°04'10.9"
ROL-385	13.05.12	Puerto Maldonado	Tambopata		Madre de Dios	190	12°34'48.6"	69°03'28.5"
ROL-386	13.05.12	Puerto Maldonado	Tambopata		Madre de Dios	201	12°34'48"	69°03'29.4"
ROL-387	13.05.12	Puerto Maldonado	Tambopata		Madre de Dios	202	12°34'48.1"	69°03'32.4"
ROL-388	13.05.12	Puerto Maldonado	Tambopata		Madre de Dios	208	12°34'49.1"	69°03'29.5"
ROL-389	13.05.12	Puerto Maldonado	Tambopata		Madre de Dios	186	12°35'38.7"	69°10'32.6"
ARR-390	14.05.12	Puerto Maldonado	Tambopata		Madre de Dios	299	11°18'41.1"	69°24'58.3"
ARR-391	14.05.12	Arrozal	Iberia		Tahuaranu	304	11°19'25"	69°24'52.7"
ARR-392	14.05.12	Arrozal	Iberia		Tahuaranu	306	11°19'18.6"	69°24'53.3"
ARR-393	14.05.12	Arrozal	Iberia		Tahuaranu	308	11°19'17.3"	69°24'53"
ARR-394	14.05.12	Arrozal	Iberia		Tahuaranu	311	11°19'16"	69°24'52.9"
ARR-395	14.05.12	Arrozal	Iberia		Tahuaranu	311	11°19'15.9"	69°24'52.7"
ARR-396	14.05.12	Arrozal	Iberia	TAHUAMANU	Tahuaranu	312	11°19'12.2"	69°24'53.4"
ARR-397	14.05.12	Arrozal	Iberia		Tahuaranu	312	11°19'12"	69°24'53.5"
ARR-398	14.05.12	Arrozal	Iberia		Tahuaranu	307	11°19'08.2"	69°24'51.2"
ARR-399	14.05.12	Arrozal	Iberia		Tahuaranu	316	11°19'05"	69°24'51.4"
ARR-400	14.05.12	Arrozal	Iberia		Tahuaranu	316	11°19'00.4"	69°24'51.8"
TAM-401	17.05.12	Puerto Alegre	Macicea		Taraya	165	08°41'54.2"	74°11'03.5"
TAM-402	17.05.12	Puerto Alegre	Macicea	CORONEL	Taraya	170	08°41'53.1"	74°11'01.1"
TAM-403	17.05.12	Puerto Alegre	Macicea	PORTILLO	Taraya	169	08°41'52.9"	74°11'00.1"
TAM-404	17.05.12	Puerto Alegre	Macicea		Taraya	170	08°41'52.4"	74°10'59.6"

TAM-405	17.05.12	Puerto Alegre	Macicea	Taraya	173	08°41'53.5"	74°10'57.5"
TAM-406	17.05.12	Puerto Alegre	Macicea	Taraya	177	08°41'48.4"	74°11'01.4"
TAM-407	17.05.12	Puerto Alegre	Macicea	Taraya	173	08°41'50.4"	74°11'00.6"
TAM-408	17.05.12	Puerto Alegre	Macicea	Taraya	172	08°41'51.2"	74°11'01.0"
TAM-409	17.05.12	Puerto Alegre	Macicea	Taraya	172	08°41'53.1"	74°11'00.1"
TAM-410	17.05.12	Puerto Alegre	Macicea	Taraya	170	08°41'55.4"	74°11'01.5"
TAM-411	17.05.12	Puerto Alegre	Macicea	Taraya	162	08°40'35.5"	74°10'05.5"
TAM-412	17.05.12	Puerto Alegre	Macicea	Taraya	161	08°40'34.2"	74°10'04.7"
TAM-413	17.05.12	Puerto Alegre	Macicea	Taraya	161	08°40'34.6"	74°10'04.2"
TAM-414	18.05.12	Puerto Alegre	Macicea	Taraya	141	08°39'49.7"	74°11'30.5"
TAM-415	18.05.12	Puerto Alegre	Macicea	Taraya	145	08°39'47.6"	74°11'30.1"
TAM-416	18.05.12	Puerto Alegre	Macicea	Taraya	150	08°39'45.2"	74°11'30.5"
TAM-417	18.05.12	Puerto Alegre	Macicea	Taraya	155	08°39'48.7"	74°11'31.2"
ABJ-418	18.05.12	Santa Rosa	Macicea	Abujao	159	08°30'17.8"	74°14'19.8"
ABJ-419	18.05.12	Santa Rosa	Macicea	Abujao	158	08°30'36"	74°14'27.6"
ABJ-420	18.05.12	Santa Rosa	Macicea	Abujao	159	08°30'46.2"	74°14'32.1"
ABJ-421	18.05.12	Santa Rosa	Macicea	Abujao	160	08°30'47.5"	74°14'32.7"
ABJ-422	18.05.12	Santa Rosa	Macicea	Abujao	162	08°30'17.8"	74°14'26"
UTQ-423	19.05.12	Nuevo Utuquinina	Yarinacocha	Utuquinina	152	08°15'06.7"	74°24'12.7"
UTQ-424	19.05.12	Nuevo Utuquinina	Yarinacocha	Utuquinina	160	08°13'07.9"	74°19'56.4"
UTQ-425	19.05.12	Nuevo Utuquinina	Yarinacocha	Utuquinina	160	08°13'06.5"	74°19'56.6"
UTQ-426	19.05.12	Nuevo Utuquinina	Yarinacocha	Utuquinina	160	08°13'05.9"	74°20'02.2"
UTQ-427	19.05.12	Nuevo Utuquinina	Yarinacocha	Utuquinina	163	08°13'07.1"	74°20'01.7"

UTQ-428	19.05.12	Nuevo Utuquinina	Yarinacocha	Utuquinina	161	08°12'29.8"	74°20'07.8"
UTQ-429	19.05.12	Nuevo Utuquinina	Yarinacocha	Utuquinina	164	08°12'32.3"	74°20'08.2"
UTQ-430	19.05.12	Nuevo Utuquinina	Yarinacocha	Utuquinina	164	08°12'31.3"	74°20'06.4"
UTQ-431	19.05.12	Nuevo Utuquinina	Yarinacocha	Utuquinina	162	08°12'26.3"	74°19'58.5"
UTQ-432	19.05.12	Nuevo Utuquinina	Yarinacocha	Utuquinina	161	08°12'25.9"	74°19'53.7"
UTQ-433	19.05.12	Nuevo Utuquinina	Yarinacocha	Utuquinina	161	08°12'26.1"	74°19'55.4"
UTQ-434	19.05.12	Nuevo Utuquinina	Yarinacocha	Utuquinina	162	08°12'26"	74°19'57.3"

---



## b. ANÁLISIS DE SUELO

Nº Solicitud	AS0078-12	FECHA DE MUESTREO	varios
SOLICITANTE	4ta Expedición (Ing. Enrique Arévalo Gardini)	FECHA DE RECEP. LAB	15/06/2012
PROCEDENCIA	Varios-Varios-Madre de Dios	FECHA DE REPORTE	06/07/2012
Experim./cultivo ac	cacao silvestre		

Número de la muestra		pH	C.E. dS/m	CaCO <sub>3</sub> (%)	M.O. (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO				C.I.C. efectiva	C.I.C.	CATIONES CAMBIABLES					Suma de bases	% Sat.
Lab.	Campo								Arena	Limo	Arcilla	CLASE TEXTURAL			Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Al <sup>3+</sup> +H <sup>+</sup>		
12_06_0157	346	6.61	0.08	0.00	2.04	0.09	<4	192	17.68	46.28	36.04	Fra-Arc-Lim	13.59	11.32	10.83	2.22	0.49	0.05	0.00	13.47	99.08
12_06_0158	347	4.97	0.10	0.00	0.42	0.02	<4	32	63.68	24.28	12.04	Fra-Arc	3.80		2.75	0.67	0.08	0.00	0.30	3.50	92.07
12_06_0159	348	5.11	0.12	0.00	0.72	0.03	<4	44	59.68	28.28	12.04	Fra-Arc	4.85		3.65	0.89	0.11	0.00	0.20	4.65	95.86
12_06_0160	349	4.95	0.06	0.00	2.05	0.09	<4	56	3.68	48.28	48.04	Arc-Lim	8.19		5.89	1.86	0.14	0.00	0.30	7.89	96.32
12_06_0161	352	5.16	0.04	0.00	1.33	0.06	<4	108	49.68	16.28	34.04	Fra-Arc-Arc	7.96		5.50	1.88	0.28	0.00	0.30	7.66	96.21
12_06_0162	356	6.43	0.11	0.00	4.58	0.21	<4	142	13.68	52.28	34.04	Fra-Arc-Lim	17.76	16.04	14.53	2.83	0.36	0.04	0.00	17.64	99.30
12_06_0163	358	4.60	0.06	0.00	1.68	0.08	<4	70	55.68	4.28	40.04	Arc-Arc	9.15		5.87	2.49	0.18	0.00	0.60	8.54	93.41
12_06_0164	359	5.95	0.09	0.00	2.43	0.11	<4	106	49.68	10.28	40.04	Arc-Arc	13.63	12.00	10.92	2.40	0.27	0.04	0.00	13.50	99.08
12_06_0165	360	4.51	0.05	0.00	1.24	0.06	<4	44	49.68	8.28	42.04	Arc-Arc	9.00		3.81	1.36	0.11	0.00	3.72	5.28	58.70
12_06_0166	361	6.36	0.09	0.00	2.39	0.11	<4	114	65.68	8.28	32.04	Fra-Arc-Arc	13.74	12.20	10.74	2.68	0.29	0.03	0.00	13.62	99.09
12_06_0167	362	6.21	0.08	0.00	1.98	0.09	<4	164	59.68	8.28	32.04	Fra-Arc-Arc	12.27	9.05	8.97	2.85	0.42	0.03	0.00	12.14	98.98
12_06_0168	363	6.64	0.10	0.00	2.15	0.10	<4	116	51.68	22.28	26.04	Fra-Arc-Arc	12.27	11.12	9.22	2.73	0.30	0.03	0.00	12.15	98.98
12_06_0169	364	6.41	0.09	0.00	2.34	0.11	<4	122	47.68	24.28	28.04	Fra-Arc-Arc	11.64	9.74	8.73	2.57	0.31	0.03	0.00	11.51	98.93
12_06_0170	366	5.74	0.06	0.00	1.68	0.08	<4	176	27.68	44.28	28.04	Fra-Arc	10.18	8.66	7.88	1.81	0.45	0.04	0.00	10.05	98.77
12_06_0171	368	5.65	0.03	0.00	0.67	0.03	<4	110	67.68	6.28	26.04	Arc-Arc	5.53	5.31	4.03	1.18	0.28	0.03	0.00	5.41	97.74

**MÉTODOS :**

TEXTURA : HIDROMETRO

pH : POTENCIOMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 12.5

CONDUC. ELECTRICA : CONDUCTIMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 12.5

CARBONATOS : GAS- Volumétrico

FOSFORO : OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO<sub>3</sub> 0.5M , pH8.5 Esp. Vis

POTASIO : OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO<sub>3</sub> 0.5M o Acetato de Amonio 1N , pH8.5 Esp. Absorción Atómica

MATERIA ORGANICA : WALKLEY y BLACK y sobrelimite por gravimetría (>10%)

CALCIO Y MAGNESIO : EXTRACT. KCl 'N' o Acetato de Amonio 'N' Esp. Absorción Atómica

ACIDES INTERC. : EXTRACT. KCl 'N', Volumetría

Ing. MSc. Luis Zúñiga Cernades

Especialista Suelos ICT

Nota: el laboratorio no se responsabiliza por la metodología aplicada para la toma de la muestra del presente reporte

Nº Solicitud	AS0078-12	FECHA DE MUESTREO	varios
SOLICITANTE	4ta Expedición (Ing. Enrique Arévalo Gardini)	FECHA DE RECEP. LAB	15/06/2012
PROCEDENCIA	Varios-Varios-Madre de Dios	FECHA DE REPORTE	06/07/2012
Experim./cultivo ac	cacao silvestre		

Número de la muestra		pH	C.E. dS/m	CaCO <sub>3</sub> (%)	M.O. (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO				C.I.C. efectiva	C.I.C.	CATIONES CAMBIABLES					Suma de bases	% Sat.
Lab.	Campo								Arena	Limo	Arcilla	CLASE TEXTURAL			Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Al <sup>3+</sup> +H <sup>+</sup>		
12_06_0172	369	6.71	0.04	0.00	0.60	0.03	<4	138	57.68	20.28	22.04	Fra-Arc-Arc	4.64	4.43	3.16	1.10	0.35	0.03	0.00	4.52	97.31
12_06_0173	370	5.92	0.08	0.00	2.60	0.12	<4	134	43.68	40.28	16.04	Fra	12.65	8.76	9.60	2.66	0.34	0.04	0.00	12.52	99.01
12_06_0174	371	6.08	0.08	0.00	2.66	0.12	<4	118	79.68	10.28	10.04	Fra-Arc	12.59	9.74	9.61	2.65	0.30	0.03	0.00	12.47	99.01
12_06_0175	372	5.51	0.05	0.00	1.61	0.07	<4	72	59.68	20.28	20.04	Fra-Arc-Arc	8.01		6.00	1.72	0.18	0.00	0.10	7.91	98.75
12_06_0176	373	5.76	0.06	0.00	2.21	0.10	<4	122	57.68	12.28	30.04	Fra-Arc-Arc	11.89	11.61	8.81	2.73	0.31	0.04	0.00	11.77	98.95
12_06_0177	374	5.97	0.08	0.00	2.36	0.11	<4	118	57.68	8.28	34.04	Fra-Arc-Arc	12.61	10.53	9.66	2.62	0.30	0.04	0.00	12.49	99.01
12_06_0178	376	7.02	0.20	0.88	5.69	0.26	6.0	104	49.68	22.28	28.04	Fra-Arc-Arc	24.68	24.68	21.64	2.75	0.27	0.03	0.00	24.55	99.49
12_06_0179	377	5.49	0.09	0.00	2.29	0.10	<4	71	47.68	28.28	24.04	Fra-Arc-Arc	7.01		5.51	1.32	0.18	0.00	0.00	7.01	100.00
12_06_0180	379	7.42	0.18	1.32	2.77	0.12	<4	146	59.68	14.28	26.04	Fra-Arc-Arc	20.97	20.97	16.03	4.54	0.37	0.03	0.00	20.85	99.40
12_06_0181	380	5.36	0.07	0.00	3.08	0.14	<4	35	65.68	6.28	28.04	Fra-Arc-Arc	10.15		7.75	2.20	0.09	0.00	0.10	10.05	99.01
12_06_0182	381	5.04	0.06	0.00	3.07	0.14	<4	37	45.68	14.28	40.04	Arc-Arc	8.70		6.19	2.21	0.09	0.00	0.20	8.50	97.69
12_06_0183	382	7.37	0.21	2.20	6.27	0.28	<4	130	51.68	4.28	44.04	Arc-Arc	29.99	29.99	25.87	3.75	0.33	0.03	0.00	29.86	99.58
12_06_0184	383	5.65	0.06	0.00	3.95	0.18	<4	110	57.68	6.28	36.04	Arc-Arc	15.40	13.48	12.17	2.91	0.28	0.04	0.00	15.28	99.19
12_06_0185	384	5.65	0.08	0.00	3.34	0.15	<4	112	22.40	42.72	34.88	Fra-Arc	13.79	12.00	10.29	3.17	0.29	0.03	0.00	13.66	99.09
12_06_0186	385	4.71	0.10	0.00	2.47	0.11	<4	24	32.40	40.72	26.88	Fra	1.11		0.27	0.68	0.06	0.00	0.10	1.01	90.98

**MÉTODOS :**

TEXTURA : HIDROMETRO

pH : POTENCIOMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 12.5

CONDUC. ELECTRICA : CONDUCTIMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 12.5

CARBONATOS : GAS- Volumétrico

FOSFORO : OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO<sub>3</sub> 0.5M , pH8.5 Esp. Vis

POTASIO : OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO<sub>3</sub> 0.5M o Acetato de Amonio 1N , pH8.5 Esp. Absorción Atómica

MATERIA ORGANICA : WALKLEY y BLACK y sobrelimite por gravimetría (>10%)

CALCIO Y MAGNESIO : EXTRACT. KCl 'N' o Acetato de Amonio 'N' Esp. Absorción Atómica

ACIDES INTERC. : EXTRACT. KCl 'N', Volumetría

Ing. MSc. Luis Zúñiga Cernades

Especialista Suelos ICT

Nota: el laboratorio no se responsabiliza por la metodología aplicada para la toma de la muestra del presente reporte

Nº Solicitud	AS0078-12	FECHA DE MUESTREO	varios
SOLICITANTE	4ta Expedición (Ing. Enrique Arévalo Gardini)	FECHA DE RECEP. LAB	15/06/2012
PROCEDENCIA	Varios-Varios-Madre de Dios	FECHA DE REPORTE	06/07/2012
Experim/cultivo ac	cacao silvestre		

Número de la muestra		pH	C.E dS/m	CaCO <sub>3</sub> (%)	M.O (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO				C.I.C efectiva	C.I.C	CATIONES CAMBIABLES					Suma de bases	% Sat. de bases		
Lab.	Campo								Arena	Limo	Arcilla	CLASE TEXTURAL			Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Al <sup>3+</sup> +H <sup>+</sup>				
12	06	0187	386	6.84	0.19	0.00	5.25	0.24	6.38	230	22.40	34.72	42.88	Arc	21.78	18.60	16.98	4.18	0.59	0.04	0.00	21.78	100.00
12	06	0188	390	4.83	0.06	0.00	1.06	0.05	<4	33	54.40	28.72	16.88	Fra-Are	1.87		0.90	0.69	0.08	0.00	0.20	1.67	89.28
12	06	0189	391	5.51	0.07	0.00	1.85	0.08	<4	31	44.40	34.72	20.88	Fra	4.16		2.85	1.13	0.08	0.00	0.10	4.06	97.59
12	06	0190	396	5.66	0.07	0.00	1.42	0.06	<4	136	52.40	28.72	18.88	Fra-Are	3.83	5.02	2.08	1.38	0.35	0.03	0.00	3.83	100.00
12	06	0191	400	5.83	0.06	0.00	0.97	0.04	<4	164	56.40	28.72	14.88	Fra-Are	2.64	3.64	1.31	0.87	0.42	0.04	0.00	2.64	100.00
12	06	0192	401	4.47	0.06	0.00	1.34	0.06	<4	48	62.40	20.72	16.88	Fra-Are	5.55		3.52	0.90	0.12	0.00	1.00	4.54	81.89
12	06	0193	403	5.06	0.08	0.00	1.94	0.09	43.1	86	58.40	22.72	18.88	Fra-Are	7.22		5.39	1.41	0.22	0.00	0.20	7.02	97.22
12	06	0194	406	5.41	0.07	0.00	1.66	0.07	<4	61	56.40	28.72	14.88	Fra-Are	7.85		5.86	1.74	0.16	0.00	0.10	7.75	98.72
12	06	0195	411	5.86	0.07	0.00	1.99	0.09	<4	130	16.40	50.72	32.88	Fra-Arc-Lim	17.18	16.63	14.18	2.62	0.33	0.05	0.00	17.18	100.00
12	06	0196	413	5.24	0.10	0.00	2.18	0.10	<4	44	16.40	46.72	36.88	Fra-Arc-Lim	16.58		13.53	2.83	0.11	0.00	0.10	16.48	99.39
12	06	0197	415	5.19	0.05	0.00	1.27	0.06	<4	60	22.40	48.72	28.88	Fra-Arc	7.72		6.15	1.32	0.15	0.00	0.10	7.62	98.70
12	06	0198	418	5.56	0.06	0.00	1.74	0.08	<4	60	14.40	44.72	40.88	Arc-Lim	11.99		9.60	2.13	0.15	0.00	0.10	11.88	99.16
12	06	0199	420	6.24	0.07	0.00	1.76	0.08	<4	132	28.40	42.72	28.88	Fra-Lim	15.68	13.87	12.18	3.11	0.34	0.06	0.00	15.68	100.00
12	06	0200	422	5.47	0.07	0.00	2.47	0.11	<4	54	12.40	36.72	50.88	Arc	11.68		9.75	1.69	0.14	0.00	0.10	11.58	99.14
12	06	0201	423	4.80	0.04	0.00	1.77	0.08	8.7	43	14.40	42.72	42.88	Arc-Lim	9.88		5.50	1.36	0.11	0.00	2.91	6.97	70.51

**MÉTODOS :**

TEXTURA : HDROMETRO

pH : POTENCIOMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 12.5

CONDUC. ELECTRICA : CONDUCTIMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 12.5

CARBONATOS : GAS - Volumétrico

FOSFORO : OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO<sub>3</sub> =0.5M . pH8.5 Esp. Vis

POTASIO : OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO<sub>3</sub> 0.5M o Acetato de Amonio 1N . pH8.5 Esp. Absorción Atómica

MATERIA ORGANICA : WALKLEY y BLACK y sobrelimite por gravimetría (>10%)

CALCIO Y MAGNESO : EXTRACT. KCl 1N o Acetato de Amonio 1N Esp. Absorción Atómica

ACIDES INTERC. : EXTRACT. KCl 1N. Volumetría

Ing. MSc. Luis Zúñiga Cernades  
Especialista Suelos ICT

Nota: el laboratorio no se responsabiliza por la metodología aplicada para la toma de la muestra del presente reporte

Nº Solicitud	AS0078-12	FECHA DE MUESTREO	varios
SOLICITANTE	4ta Expedición (Ing. Enrique Arévalo Gardini)	FECHA DE RECEP. LAB	15/06/2012
PROCEDENCIA	Varios-Varios-Madre de Dios	FECHA DE REPORTE	06/07/2012
Experim/cultivo ac	cacao silvestre		

Número de la muestra		pH	C.E dS/m	CaCO <sub>3</sub> (%)	M.O (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO				C.I.C efectiva	C.I.C	CATIONES CAMBIABLES					Suma de bases	% Sat. de bases		
Lab.	Campo								Arena	Limo	Arcilla	CLASE TEXTURAL			Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Al <sup>3+</sup> +H <sup>+</sup>				
12	06	0202	424	4.44	0.04	0.00	1.72	0.08	<4	49	34.40	40.72	24.88	Fra	8.23		5.50	0.30	0.13	0.00	2.31	5.92	71.93
12	06	0203	425	4.32	0.04	0.00	1.82	0.08	<4	38	38.40	30.72	30.88	Fra-Arc	7.88		4.11	0.67	0.10	0.00	3.01	4.87	61.77
12	06	0204	430	5.05	0.07	0.00	1.74	0.08	4.43	41	6.40	44.72	48.88	Arc-Lim	13.52		10.41	2.60	0.10	0.00	0.40	13.12	97.03
12	06	0205	434	8.82	0.11	0.00	3.42	0.15	4.08	216	12.40	40.72	46.88	Arc-Lim	22.15	22.15	16.98	4.54	0.55	0.08	0.00	22.15	100.00

**MÉTODOS :**

TEXTURA : HDROMETRO

pH : POTENCIOMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 12.5

CONDUC. ELECTRICA : CONDUCTIMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 12.5

CARBONATOS : GAS - Volumétrico

FOSFORO : OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO<sub>3</sub> =0.5M . pH8.5 Esp. Vis

POTASIO : OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO<sub>3</sub> 0.5M o Acetato de Amonio 1N . pH8.5 Esp. Absorción Atómica

MATERIA ORGANICA : WALKLEY y BLACK y sobrelimite por gravimetría (>10%)

CALCIO Y MAGNESO : EXTRACT. KCl 1N o Acetato de Amonio 1N Esp. Absorción Atómica

ACIDES INTERC. : EXTRACT. KCl 1N. Volumetría

Ing. MSc. Luis Zúñiga Cernades  
Especialista Suelos ICT

Nota: el laboratorio no se responsabiliza por la metodología aplicada para la toma de la muestra del presente reporte

La Banda de Shicayo, 6 de Julio del 2012

Número de la muestra			Fe (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)	B (ppm)	S (ppm)	
Lab.	Campo								
12	06	0172	369	27.90	0.90	<0.5	2.70	<0.4	<10
12	06	0173	370	7.60	0.60	<0.5	1.50	<0.4	<10
12	06	0174	371	16.30	0.80	<0.5	2.20	<0.4	<10
12	06	0175	372	20.80	0.80	0.60	2.10	<0.4	<10
12	06	0176	373	29.00	0.90	0.50	2.10	<0.4	<10
12	06	0177	374	25.10	1.00	0.60	2.30	<0.4	<10
12	06	0178	376	33.20	1.20	0.60	2.80	<0.4	<10
12	06	0179	377	37.10	1.40	2.40	3.60	<0.4	<10
12	06	0180	379	53.10	1.50	1.10	4.60	<0.4	<10
12	06	0181	380	10.20	0.90	0.50	3.50	<0.4	<10
12	06	0182	381	23.80	1.00	0.90	4.80	<0.4	<10
12	06	0183	382	23.60	0.90	0.50	8.40	<0.4	<10
12	06	0184	383	11.20	0.90	1.00	3.10	<0.4	<10
12	06	0185	384	22.20	0.90	0.90	4.90	<0.4	<10
12	06	0186	385	29.60	1.00	2.70	10.00	<0.4	<10

**METODOLOGIA :**

Fe, Cu, Zn y Mn : OLSEN Modificado extrac. NaHCO<sub>3</sub> =0.5M , pH8.5 y lectura en Abs. Atómica  
 BORO : Extraccion / Espectroscopia UV-Vis (λ=555 nm)  
 AZUFRE : Extraccion / Turbidimetria

Número de la muestra			Fe (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)	B (ppm)	S (ppm)	
Lab.	Campo								
12	06	0157	346	30.50	0.70	<0.5	7.90	<0.4	<10
12	06	0158	347	38.00	1.80	0.50	5.20	<0.4	<10
12	06	0159	348	17.70	0.90	<0.5	2.60	<0.4	<10
12	06	0160	349	18.50	1.00	<0.5	3.10	<0.4	<10
12	06	0161	352	62.20	1.50	0.60	7.60	<0.4	<10
12	06	0162	356	46.70	1.60	<0.5	5.20	<0.4	<10
12	06	0163	358	32.50	1.20	0.74	3.60	<0.4	<10
12	06	0164	359	126.20	1.60	1.20	12.30	<0.4	<10
12	06	0165	360	63.30	1.20	1.00	6.80	<0.4	<10
12	06	0166	361	96.80	1.30	1.00	10.10	<0.4	<10
12	06	0167	362	27.10	0.80	0.50	2.80	<0.4	<10
12	06	0168	363	31.40	0.90	0.60	4.70	<0.4	<10
12	06	0169	364	22.50	0.70	<0.5	3.00	<0.4	<10
12	06	0170	366	32.30	0.80	0.60	3.50	<0.4	<10
12	06	0171	368	37.10	1.10	<0.5	3.10	<0.4	<10

**METODOLOGIA :**

Fe, Cu, Zn y Mn : OLSEN Modificado extrac. NaHCO<sub>3</sub> =0.5M , pH8.5 y lectura en Abs. Atómica  
 BORO : Extraccion / Espectroscopia UV-Vis (λ=555 nm)  
 AZUFRE : Extraccion / Turbidimetria

Número de la muestra			Fe (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)	B (ppm)	S (ppm)	
Lab.	Campo								
12	06	0187	386	40.60	0.90	1.00	8.50	<0.4	<10
12	06	0188	390	29.00	1.40	1.80	5.80	<0.4	11.90
12	06	0189	391	13.30	0.80	1.80	23.30	<0.4	<10
12	06	0190	396	14.80	0.60	1.90	16.70	<0.4	18.25
12	06	0191	400	11.20	0.80	3.40	17.60	<0.4	<10
12	06	0192	401	10.90	1.00	4.20	25.00	<0.4	<10
12	06	0193	403	95.30	1.00	1.10	11.20	<0.4	23.81
12	06	0194	406	126.80	1.10	2.30	7.50	<0.4	<10
12	06	0195	411	54.10	0.80	0.80	3.10	<0.4	<10
12	06	0196	413	53.80	1.10	1.40	7.20	<0.4	<10
12	06	0197	415	38.70	1.00	1.00	7.00	<0.4	<10
12	06	0198	418	57.80	1.10	1.00	8.10	<0.4	<10
12	06	0199	420	56.50	1.90	0.70	6.00	<0.4	<10
12	06	0200	422	44.80	2.40	1.20	4.20	<0.4	<10
12	06	0201	423	77.80	2.20	1.00	13.60	<0.4	<10

**METODOLOGIA :**

Fe, Cu, Zn y Mn : OLSEN Modificado extrac. NaHCO<sub>3</sub> =0.5M , pH8.5 y lectura en Abs. Atómica

BORO : Extraccion / Espectroscopia UV-Vis (λ=555 nm)

AZUFRE : Extraccion / Turbidimetria

Número de la muestra			Fe (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)	B (ppm)	S (ppm)	
Lab.	Campo								
12	06	0202	424	129.20	1.40	0.60	14.50	<0.4	<10
12	06	0203	425	193.70	0.90	<0.5	14.20	<0.4	<10
12	06	0204	430	80.40	1.00	0.70	36.20	<0.4	<10
12	06	0205	434	47.60	1.60	1.80	32.60	<0.4	<10

**METODOLOGIA :**

Fe, Cu, Zn y Mn : OLSEN Modificado extrac. NaHCO<sub>3</sub> =0.5M , pH8.5 y lectura en Abs. Atómica

BORO : Extraccion / Espectroscopia UV-Vis (λ=555 nm)

AZUFRE : Extraccion / Turbidimetria

**c. DATOS DE DENSIDAD DE ESPORAS**

Departamento	Zonas	Muestra	Esporas			Volumen	Total
			r1	r2	r3		
Madre de Dios	PPA		5	6	4		5.00
		347	1	1	0	17.5	3.89
			1	2	1	14.8	6.58
			0	1	0	18.2	2.02
		348	2	1	2	16.1	8.94
			1	1	0	20	4.44
			1	1	1	11.5	3.83
		349	1	0	0	18.4	2.04
			0	0	0	0	0.00
			1	1	2	14.8	6.58
		350	1	0	0	14.7	1.63
			1	0	1	23	5.11
			12	10	10		10.67
		351	2	2	2	23	15.33
			2	3	3	14.2	12.62
			5	6	5		5.33
		352	1	0	1	14.5	3.22
			0	0	0	0	0.00
			5	7	6		6.00
		353	6	6	5		5.67
			4	5	5		4.67
			1	1	1	17.4	5.80
		354	2	2	2	19.3	12.87
			2	1	1	19.2	8.53
			17	18	15		16.67
		355	18	20	19		19.00
			3	3	2	19.1	16.98
			5	4	4	17.5	25.28
		356	3	4	5	17.6	23.47
			4	3	3	20.1	22.33
	3	4	3		3.33		
	HIT	358	1	1	1	1.00	
			4	4	5	4.33	

		1	1	1	18	6.00
	<b>359</b>	2	3	2	16.9	13.14
		3	3	3	15.4	15.40
		4	5	5	20	31.11
	<b>360</b>	5	6	6	19	35.89
		7	6	6	20.4	43.07
		15	13	12		13.33
	<b>361</b>	0	1	1	16	3.56
		0	2	3	17	9.44
		1	1	0	20	4.44
	<b>362</b>	0	0	0	0	0.00
		0	1	0	17.7	1.97
		16	20	18		18.00
	<b>363</b>	18	15	16		16.33
		2	3	2	16.5	12.83
		13	14	16		14.33
	<b>364</b>	10	9	10		9.67
		10	11	10		10.33
		10	11	12		11.00
	<b>366</b>	14	13	13		13.33
		2	1	1	16.7	7.42
		3	3	2	16.1	14.31
<b>PPR</b>	<b>368</b>	3	3	3	15.5	15.50
		1	0	0	11.7	1.30
		3	4	3	17.6	19.56
	<b>369</b>	2	1	1	19.5	8.67
		3	2	1	21.4	14.27
		16	15	14		15.00
	<b>370</b>	2	4	3	17.5	17.50
		4	4	4	17.5	23.33
		2	1	1	16.2	7.20
	<b>371</b>	2	1	0	17.7	5.90
		1	0	0	18.6	2.07
		7	7	6		6.67
<b>SFR</b>	<b>372</b>	1	0	0	15.3	1.70
		1	1	0	20.1	4.47
		7	8	7	7.33	7.33
	<b>373</b>	7	8	7	7.33	7.33
		4	5	5	4.67	4.67
	<b>374</b>	9	12	11		10.67
		8	7	7		7.33

		17	18	16		17.00
		20	18	20		19.33
	<b>376</b>	2	1	2	21.4	11.89
		3	4	3	17.9	19.89
		0	1	0	17.6	1.96
	<b>377</b>	2	1	0	23	7.67
		1	1	1	19	6.33
		4	3	3	18	20.00
	<b>379</b>	6	7	6.5	15.7	34.02
		4	6	5	17	28.33
		16	15	15		15.33
	<b>380</b>	5	4	4	18.3	26.43
		4	4	3	20.2	24.69
		2	2	2	20	13.33
	<b>381</b>	3	2	1	18.8	12.53
		4	4	3	17.2	21.02
		7	8	7		7.33
	<b>382</b>	4	6	5	14	23.33
		0	1	0	19.7	2.19
		5	3	3	20.5	25.06
	<b>383</b>	2	2	3	22	17.11
		2	1	0	22	7.33
		3	2	3		2.67
	<b>384</b>	7	8	7		7.33
		2	3	2		2.33
		8	7	7		7.33
	<b>385</b>	6	5	6		5.67
		9	8	8		8.33
		15	16	15	13	66.44
	<b>386</b>	6	7	8	19.1	44.57
		9	8	9	19.3	55.76
	<b>ROL</b>	10	9	8		9.00
	<b>387</b>	8	6	7		7.00
		6	7	6		6.33
		1	3	2	18	12.00
	<b>389</b>	14	13	12		13.00
		16	18	15		16.33
		14	13	12		13.00
	<b>390</b>	12	13	12		12.33
	<b>ARR</b>	8	9	9	19.2	55.47
	<b>391</b>	5	5	5	16	26.67

		3	6	5	18.1	28.16
		3	4	3	20.6	22.89
		6	5	5		5.33
	<b>396</b>	7	6	5		6.00
		11	9	10		10.00
		5	4	4	17	24.56
	<b>400</b>	9	8	9	17.8	51.42
		9	7	8	19	50.67
		2	2	2	18	12.00
	<b>401</b>	0	1	0	15.3	1.70
		2	1	2	22.7	12.61
		2	1	1	15.9	7.07
	<b>403</b>	1	0	0	14.5	1.61
		1	0	0	18	2.00
		20	16	15		17.00
	<b>406</b>	3	3	3	16.9	16.90
		3	4	3	17	18.89
	<b>TAM</b>	1	1	1	17.2	5.73
	<b>411</b>	1	1	1	14.8	4.93
		2	1	1	14.9	6.62
		12	9	10		10.33
	<b>413</b>	7	8	7		7.33
		3	2	2		2.33
		2	3	2	15.1	11.74
<b>Ucayali</b>	<b>415</b>	0	1	0	11.9	1.32
		1	0	0	16.9	1.88
		2	2	2	16.6	11.07
	<b>418</b>	1	2	1	19.5	8.67
		4	3	3	13.2	14.67
		10	11	8		9.67
	<b>ABJ</b>	6	7	7		6.67
		0	0	0	16	0.00
		4	3	3	14.5	16.11
	<b>422</b>	1	2	1	17.5	7.78
		2	1	1	19	8.44
		3	4	4	17.5	21.39
	<b>423</b>	3	3	3	15.9	15.90
		0	0	0	19.6	0.00
	<b>UTQ</b>	13	13	14	17.5	77.78
	<b>424</b>	16	18	16	16	88.89
		17	16	15	21.1	112.53



	42	39	43		41.33
<b>425</b>	12	10	10	15	53.33
	11	12	10	17	62.33
	8	6	5		6.33
<b>430</b>	4	3	3	13.6	15.11
	0	3	1	13.1	5.82
	9	10	9		9.33
<b>434</b>	8	10	11		9.67
	2	0	1	19.5	6.50

**d. DATOS DE COLONIZACION DE MICORRIZAS**

Código	Conteo intersecciones			Número total de intersecciones	%Colonización
	r1	r2	r3		
347	-	-	-	-	-
348	15	10	12	52	23.72
349	27	30	28	52	54.49
350	36	35	32	48	71.53
351	24	26	25	38	65.79
352	8	10	8	42	20.63
354	22	24	21	52	42.95
355	24	22	25	52	45.51
356	35	32	33	52	64.10
358	25	21	23	52	44.23
359	36	34	31	52	64.74
360	42	38	40	52	76.92
361	27	24	25	52	48.72
362	35	19	18	52	36.00
363	20	19	23	52	39.74
364	29	31	30	52	57.69
366	28	25	26	52	50.64
368	21	19	23	52	40.38

369	27	29	26	52	52.56
370	13	15	16	52	28.21
371	17	19	16	52	33.33
372	25	28	26	52	50.64
373	40	38	40	52	75.64
376	10	15	11	52	23.08
377	39	37	38	52	73.08
379	28	25	22	52	48.08
379	40	38	38	52	74.36
380	32	29	31	52	58.97
381	35	28	27	52	57.69
382	34	32	33	52	63.46
383	24	21	34	52	50.64
383	24	19	22	52	41.67
384	24	28	27	52	50.64
385	36	39	35	52	70.51
386	22	19	17	52	37.18
387	41	42	41	52	79.49
389	31	37	34	52	65.38
390	41	44	42	52	81.41
391	23	18	20	52	39.10
396	28	31	29	52	56.41
400	23	25	21	52	44.23
401	30	27	29	52	55.13
403	35	37	39	52	71.15
406	35	32	34	52	64.74
411	35	33	34	52	65.38
413	44	46	42	52	84.62
415	45	41	43	52	82.69
418	38	40	39	52	75.00
420	-	-	-	-	-

422	34	39	33	52	67.95
423	28	33	30	52	58.33
424	37	38	35	52	70.51
425	46	43	45	52	85.90
430	44	42	46	52	84.62
434	21	23	21	45	48.15

---