

**UNIVERSIDAD NACIONAL INTERCULTURAL DE LA AMAZONÍA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AMBIENTALES**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROFORESTAL ACUÍCOLA**



**Evaluación del hongo *Glomus intrarradices* (Glomus) en la fitoestabilización de Plomo (Pb) y su acumulación en los tejidos de plántones de *Theobroma cacao* L. (Cacao) en la etapa de vivero, Región Ucayali – Perú**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL  
DE INGENIERO AGROFORESTAL ACUÍCOLA**

**PRESENTADO POR:**

Bach. Leandro Gómez Ríos

**ASESOR:**

Ing. Ena Vilma Velazco Castro

Yarinacocha – Perú

2021

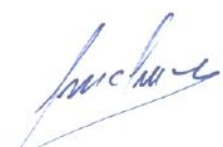


## ANEXO 16. ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUSTENTACIÓN DE LA TESIS

En la sala destinada para la sustentación de la tesis, Campus universitario de la Universidad Nacional Intercultural de la Amazonía, en el distrito de Yarinacocha Provincia de Coronel Portillo Ciudad de Pucallpa, a las 11 horas del día viernes 1 de octubre del 2021, se reunió el Jurado de Tesis presidido por el M.Sc. José Sánchez Choy Sánchez, e integrado por: Mg. Jhon Aviles Sandi y Dr. Juan Pérez Marín, en calidad de miembros, con la exclusiva finalidad de evaluar la sustentación de tesis titulada: « **Evaluación del hongo Glomus intrarradices (Glomus) en la Fitoestabilización de plomo (pb) y su acumulación en los tejidos de plantones de Theobroma cacao L. (Cacao) en la etapa de vivero, Región Ucayali -Perú**», cuya responsabilidad corresponde al Bachiller: **LEANDRO GOMEZ RIOS**; fin de optar el Título Profesional de **Ingeniero Agroforestal Acuícola**. Terminada la sustentación, el autor de la tesis respondió a las preguntas formuladas por los miembros del jurado. No participo durante la defensa de la tesis el miembro del Jurado Ing. Jhon Aviles Sandi. La evaluación se consolida según la tabla y parámetros cuantitativos que siguen:

<b>Presidente</b>	M.Sc. José Sánchez Choy Sánchez	26
<b>Miembro</b>	Mg. Jhon E. Avilés Sandi	-
<b>Miembro</b>	Dr. Juan L. Pérez Marín	26
<b>Promedio</b>		26

El Jurado después de deliberar y calibrar los aportes de la tesis y la fundamentación del sustentante, compatibilizo el resultado cuantitativo con la tabla cualitativa equivalente. sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como **APROBADO**, asignándole un calificativo de **26 puntos**, según el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Ambientales de la Universidad Nacional Intercultural de la Amazonía.

Siendo las 12:03 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad.

 Nombre: Msc. José Sánchez Choy Sánchez <b>Presidente</b>	 Nombre: Mg. Jhon Avilés Sandi <b>Miembro</b>
 Nombre: Dr. Juan Pérez Marín <b>Miembro</b>	

Nombre Asesor: Mg. Ena Velazco Castro



Distribución: Integrantes del Jurado de Tesis, tesista y archivo FICA (Todas con firmas en original).



“Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia”

## CONSTANCIA

N°0061

### ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACION SISTEMA ANTIPLAGIO TURNITIN

La Biblioteca Central, hace constar por la presente, que le informe Final (Tesis) titulado:

**EVALUACIÓN DEL HONGO GLOMUS INTRARRADICES (GLOMUS) EN LA FITOESTABILIZACIÓN DE PLOMO (PB) Y SU ACUMULACIÓN EN LOS TEJIDOS DE PLANTONES DE THEOBROMA CACAO L. (CACAO) EN LA ETAPA DE VIVERO, REGIÓN UCAYALI – PERÚ.**

Cuyo autor es : **GÓMEZ RÍOS, LEANDRO.**

Facultad : **FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AMBIENTALES**

Escuela Profesional : **INGENIERÍA AGROFORESTAL ACUÍCOLA.**

Después de realizado el análisis correspondiente en el Sistema Antiplagio, dicho documento presenta un porcentaje de similitud de 7%.

En tal sentido, de acuerdo a los criterios de porcentaje establecido en el **artículo 9 de la DIRECTIVA DE USO DEL SISTEMA ANTIPLAGIO**, aprobada con **RESOLUCIÓN N°164-2021-UNIA-CO**, el cual indica que no se debe superar el 24%. Se declara, que el trabajo de investigación: **SI contiene un porcentaje aceptable de similitud y/o plagio, por lo que SI se aprueba su originalidad.**

En señal de conformidad y verificación se FIRMA Y SELLA la presente constancia.

Fecha: 08/11/2021

 UNIVERSIDAD NACIONAL INTERCULTURAL  
DE UCAYALI  
  
**Dr. Jc. de Tovar Dávila Francia**  
Jefe de la Biblioteca Central

*La primera universidad intercultural del Perú*

## **DEDICATORIA**

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado la salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres por darme este valioso regalo y la oportunidad de poder desenvolverme en la sociedad.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional Intercultural de la Amazonía, por haberme dado la oportunidad de formarme profesionalmente.

A los docentes de la Carrera Agroforestal Acuícola, por su orientación académica e impartirme sus conocimientos y experiencias.

Al señor José Raúl Estrella Lozano, responsable del vivero de la Universidad Nacional Intercultural de la Amazonia, por el apoyo brindado en la parte experimental en la investigación realizada.

A mi asesora Ena Vilma Velazco Castro por la notable dirección de este estudio, su confianza depositada en mí y por sus atinados comentarios y sugerencias, para el desarrollo y culminación del trabajo de tesis.

Al Ing. M Sc. José Gerardo Sánchez Choy Sánchez, al Dr. Juan Luis Pérez Marín y al Ing. M Sc. Jhon Edwar Avilés Sandi; por la observación, recomendación y revisión del presente trabajo de investigación.

## ÍNDICE

	Pg.
DEDICATORIA .....	2
AGRADECIMIENTO .....	3
ÍNDICE .....	4
ÍNDICE DE CUADROS .....	6
ÍNDICE DE FIGURAS .....	7
RESUMEN .....	8
ABSTRACT .....	9
I. INTRODUCCIÓN .....	10
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	12
2.1 Antecedentes de la investigación .....	12
2.2 Bases teóricas .....	13
2.2.1 Generalidades del cacao .....	13
a. Clasificación taxonómica y descripción botánica.....	13
b. Distribución geográfica de la especie .....	14
c. Producción de cacao en vivero .....	15
d. Metales pesados en el cultivo de cacao .....	16
2.2.2 Hongos micorrizicos arbusculares (HMA) .....	17
a. Concepto .....	17
b. Clasificación de los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) ...	18
c. Ventajas de los Hongos Micorrizicos Arbusculares (HMA) .....	19
d. El hongo Glomus Intrarradices y la fitorremediación del Pb .....	20
2.3 Definición de términos básicos .....	23
III. MÉTODOS .....	25
3.1 Ubicación y descripción del área de estudio .....	25
3.2 Identificación y descripción del material experimental .....	25
3.3 Procedimientos .....	26
3.4 Variables .....	28
3.5 Población y muestra .....	29
3.6 Tratamientos .....	29
3.7 Recolección de datos .....	31
3.8 Procesamiento de los datos .....	32
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	33
4.1 Caracterización fisicoquímica del sustrato y efecto de la aplicación de	33

	<i>Glomus intrarradices</i> en la fitoestabilización de Pb .....	
4.2	Efecto de la aplicación de <i>Glomus intrarradices</i> en la acumulación de Pb en los plántones de cacao ( <i>Theobroma cacao</i> L.) en la etapa de vivero ....	36
V.	CONCLUSIONES .....	38
VI.	RECOMENDACIONES .....	39
VII.	BIBLIOGRAFÍA .....	40
VIII.	ANEXOS .....	45

## ÍNDICE DE CUADROS

En el texto:

	Pg.
1. Datos climáticos durante la etapa de vivero del experimento, año 2020-2021	25
2. Variables en estudio	29
3. Esquema del análisis de Varianza de los tratamientos (ANOVA)	30
4. Parámetros físico - químicos del sustrato preparado	33
5. Contenido inicial y final de Pb en el suelo (ppm)	34
6. Porcentaje (%) de Pb total retenido en el suelo	34
7. Acumulación de Pb promedio en los plántones de cacao	36

En el anexo:

	47
8. Análisis inicial del sustrato	47
9. Análisis final del sustrato	48
10. Análisis de Pb total en los tejidos	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

En el texto:

	Pg.
1. Descripción botánica de la especie <i>Theobroma cacao</i> L. (Dostert, 2011)	14
2. Distribución geográfica del cultivo de la especie <i>Theobroma cacao</i> L (Dostert, 2011)	15
3. El Proceso de infección del hongo micorriza (Hernández et al. 2003)	20
4. Acción de los HMA inoculados en las raíces de las plantas sobre el Pb. (González-Chávez et al., 2004)	22
5. Porcentaje de Pb retenido en el suelo	35
6. Acumulación de Pb en los plántones de cacao (ppm)	37

En el anexo:

7. Diseño experimental en campo	50
8. Producto comercial MYCOSYN TRI-TON (Frontal)	51
9. Producto comercial MYCOSYN TRI-TON (Reverso)	51
10. Preparación de la semilla (con aserrín)	52
11. Semillas de San Alejandro para el pre germinado	52
12. Recepcionamiento y acondicionamiento de semillas para el pre germinado	53
13. Parcela contaminada con Pb (Caserío mar de plata)	53
14. Colección de suelo contaminado con Pb.	54
15. Llenado de suelo contaminado de Pb. en sacos	54
16. Colocado del sustrato para la esterilización	55
17. Esterilización del sustrato a baño María	55
18. Preparación de muestra de sustrato para observar en el estereoscopio	56
19. Colocación de la muestra en el estereoscopio	56
20. Presencia de micorrizas nativas	57
21. Pesado de las arcillas volcánicas que contienen el <i>Glomus intrarradices</i>	57
22. Inoculación del hongo <i>Glomus intrarradices</i> y siembra	58
23. Instalación de todo el experimento	58
24. Plánton micorrizado por <i>Glomus intrarradices</i>	59
25. Raíz micorrizado por <i>Glomus intrarradices</i>	59

## RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de las dosis del hongo *Glomus intrarradices* (Glomus) en la fitoestabilización de plomo (Pb) y su acumulación en los tejidos de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en etapa de vivero. La investigación fue de tipo aplicado y de nivel experimental. Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con (4) tratamientos y (4) repeticiones y un total de 16 unidades experimentales, cada unidad experimental estuvo conformada por 10 plántulas dispuestas en bolsas, en total fueron 160 plántulas para todo el experimento. Se evaluaron 3 dosis del hongo 1, 3 y 5 g en el sustrato con las plantas de cacao. El Pb disponible en el suelo se determinó por el método del extractante (EDTA 0.05 M y pH 7), y la lectura en EAA. El Pb total en los tejidos se determinó por el Método EPA 3050 por vía húmeda realizando la lectura en el EAA. Según los resultados estadísticamente las dosis del *Glomus intrarradices* 1 y 3 g (T1 y T2) fueron mayores que el T0 para la variable fitoestabilización a los 90 días en el vivero, lo que indica que el hongo influyó en la inmovilización del Pb en el suelo. Así mismo el análisis estadístico al 0.05 mostro que ninguna dosis del *Glomus intrarradices* influyó en la acumulación de Pb en los tejidos de las plántulas a los 90 días y las razones pueden ser justificadas por las condiciones del sustrato y la variable genética del género.

**Palabras clave:** metal pesado, bioremediación, interacción, EAA.

## ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate the effect of the doses of the fungus *Glomus intraradices* (Glomus) on the phytostabilization of lead (Pb) and its accumulation in the tissues of cocoa seedlings (*Thebroma cacao* L.) in the nursery stage. The research was applied and experimental level. A Completely Random Design (DCA) was used with (4) treatments and (4) repetitions and a total of 16 experimental units, each experimental unit consisted of 10 seedlings arranged in bags, in total there were 160 seedlings for the entire experiment. 3 doses of the fungus 1, 3 and 5 g were evaluated in the substrate with the cocoa plants. The available Pb in the soil was determined by the extractant method (EDTA 0.05 M and pH 7), and the reading in EAA. The total Pb in the tissues was determined by the EPA Method 3050 by means of the wet way, making the reading in the EAA. According to the statistical results, the doses of *Glomus intraradices* 1 and 3 g (T1 and T2) were higher than the T0 for the phytostabilization variable at 90 days in the nursery, which indicates that the fungus influenced the immobilization of Pb in the soil. Likewise, the statistical analysis at 0.05 showed that no dose of *Glomus intraradices* influenced the accumulation of Pb in the tissues of the seedlings at 90 days and the reasons can be justified by the conditions of the substrate and the genetic variable of the genus.

**Keywords:** heavy metal, bioremediation, interaction, EAA.

## I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) desde hace varios años es una de las actividades agrícolas más importantes en todo el país, principalmente en la región selva, la misma que viene siendo desarrollada y promovida con mayor énfasis en la Región de Ucayali donde actualmente existe más de 20,000 ha, llegando a tener una producción anual de 2,904 t en promedio (Andina 2019).

La contaminación de los alimentos por metales pesados los cuales sobrepasan los límites permisibles estipulados en el CODEX ALIMENTARIUS y más grave aún el consumo de estos son las principales causas para que los países importadores (Estados Unidos, Holanda, Bélgica, Reino Unido, Alemania, Suecia, Francia, Suiza entre otros) de grano de cacao y los subproductos precisen que la materia prima y los productos a base de ella cumplan de forma rígida con los requisitos sanitarios que se imponen para los países productores, los que se encuentran establecidos en el reglamento (CE) 1881/2006. En aquel reglamento se especifica estrictamente el contenido máximo de metales pesados que los productos alimenticios pueden llegar a contener ya que es considerado como un requisito esencial para la exportación (MINAG-Perú 2012).

Los niveles máximos permisibles para el Pb varían de 0.5 a 2 ppm/ Kg de grano seco o producto derivado, siendo este valor muy pequeño según la demanda, lo que indica que el problema de la acumulación de este elemento en los tejidos de la planta debe ser uno de las actividades más importantes a ser resuelta puesto que la especie *Theobroma cacao* L. presenta un comportamiento fitoextractor y acumulador (Llatance *et al.* 2018), que puede incrementarse dependiendo el contenido de Pb presente en el suelo.

Según algunos estudios realizados hace unos años en la región de Ucayali los niveles de Pb encontrados en los suelos y granos fueron bastante altos, lo que llevo a los productores y distintos protagonistas de la cadena productiva del cacao a preocuparse por la amenaza de no poder exportar sus productos. Huamani *et al.* (2012) realizó un estudio en zonas productoras de cacao en las regiones de Huánuco y Ucayali, donde encontró un valor promedio de 3.02 ppm de Pb en el suelo. De igual forma, Campos y Flores (2016) realizaron un estudio en 15 parcelas de cacao en las provincias de Padre Abad y Coronel Portillo donde se encontraron niveles de 3.65 a 6.30 ppm de Pb en granos y en suelos un promedio de 6.5 ppm. Estos últimos resultados muestran claramente que los valores sobrepasan los límites permisibles por lo que es uno de los problemas que no tienen soluciones efectivas, las mismas que se vienen estudiando utilizando toda clase de insumos y microorganismos como los hongos micorrizicos arbusculares (HMA). Estos microorganismos son

considerados como agentes que intervienen directamente con los metales pesados y son utilizados en la remediación de suelos ya que es una de las alternativas más viables, sustentables y económicas dentro de las estrategias de solución para los suelos contaminados (Gaur y Adholeya 2004).

El hongo *Glomus intrarradices* demostró gran capacidad para desarrollarse y sobrevivir en un ambiente contaminado con metales pesados (Janousková *et al.* 2006) por lo que puede adaptarse a diferentes tipos de suelo y realizar su efecto fitoestabilizador el cual se evaluó en el presente proyecto, siendo de gran importancia puesto que mediante la investigación se buscó dar alternativas de solución a la amenaza impuesta por la Unión Europea en el año 2018 y ser de gran ayuda para los productores y las demás personas involucradas en el cultivo del cacao y su comercialización.

Por consiguiente, los hongos micorrizicos arbusculares pueden secuestrar o acumular el Pb en la vacuola de sus células que se desarrollan en las plantas micorrizadas inmovilizando al elemento mediante las secreciones que producen las raíces por acción del hongo (Muthukumar y Bagyaraj 2010; Janouskova y Pavlikova 2010; Göhre y Paszkowski 2006). Así mismo, debido a la practicidad y facilidad de manejo de las unidades experimentales, como de la gran estrategia que significa utilizar el hongo desde la etapa de vivero para que así se tenga plantas inoculadas en un futuro en el campo definitivo fueron las razones que llevaron a realizar el presente trabajo de investigación planteándose los siguientes objetivos:

**Objetivo general:**

Evaluar el efecto de las dosis del hongo *Glomus intrarradices* en la fitoestabilización de plomo (Pb) y su acumulación en los tejidos de plántulas de cacao (*Thebroma cacao* L.) en la etapa de vivero.

**Objetivos específicos:**

1. Determinar la evaluación de las diferentes dosis del *Glomus intrarradices* (Glomus) en la fitoestabilización del Pb en los tejidos de plántulas de cacao *Thebroma cacao* L. (cacao) en la etapa de vivero.
2. Determinar la evaluación de las diferentes dosis del *Glomus intrarradices* (Glomus) en la acumulación de Pb en los tejidos de plántulas de *Thebroma cacao* L. cacao en la etapa de vivero.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes de la investigación

Gaur y Adholeya (2004) realizaron un trabajo de investigación cuyo objetivo fue identificar el uso del hongo *Glomus intrarradices* como una de las principales estrategias de inmovilización de Pb siendo la inmovilización del Pb soluble mediante glicoproteínas secretadas por el hongo, y la adsorción del Pb en las paredes celulares las estrategias utilizadas por las plantas inoculadas con el hongo.

Gonzales *et al.* (2004) realizaron un trabajo de investigación cuyo objetivo fue evaluar la glomalina (glicoproteína secretada por el hongo del género *Glomus*), producida por el hongo del género *Glomus* en la adsorción de Pb. El experimento mostró que la glomalina extraída de suelos contaminados contenía 1.12 mg de Pb / g. En conclusión, la glomalina puede ser utilizada para la estabilización que conduce a la remediación de suelos contaminados con Pb.

Vodnik *et al.* (2008) realizaron un estudio cuyo objetivo fue determinar la relación entre la glomalina en el suelo secretada por el género *Glomus* y el contenido de Pb. La glomalina total relacionada al suelo representó 5.4 a 21.2% de la materia orgánica y se correlacionó positivamente con las concentraciones de Pb y Zn en el suelo, lo que indica que glomalina del suelo predominantemente se encuentra vinculada a la cantidad de Pb.

Hurtado (2012) realizó un trabajo de investigación cuyo objetivo fue evaluar diferentes enmiendas orgánicas para recuperar suelos cacaoteros contaminados con Cd, siendo una de las enmiendas hongos micorrizicos arbusculares nativos (HMA) de dos fincas (Santa Elena y Manabí, Ecuador) donde se registraron al final del experimento niveles de 1.05 a 0.91 y de 0.48 a 0.67 ppm de Cd en el suelo con la presencia de los hongos, concluyendo que los HMA alteran el movimiento del Cd en el suelo.

Janousková *et al.* (2006) realizaron un estudio cuyo objetivo fue evaluar la contribución de los hongos micorrizicos arbusculares (*Glomus sp*) en la inmovilización del Cd en el suelo. Se concluyó que el *Glomus sp* pueden reducir la toxicidad de Cd en las plantas, reduciendo la inmovilización del metal en el suelo.

Janousková *et al.* (2005) realizaron un trabajo de investigación cuyo objetivo fue evaluar el efecto del hongo *Glomus intraradices* en la fitoextracción de Cd en plantas de tabaco transgénico insertando la proteína metalothionina. El hongo favoreció el crecimiento de las plantas de tabaco y disminuyó la extracción de Cd en brotes y raíces.

Bartra (2019) realizó un estudio cuyo objetivo fue determinar el efecto de los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) de diferentes procedencias (Caserío Milagros, Universidad Nacional de Ucayali, Caserío Mar del plata y Caserío Tahuantinsuyo) y niveles de inoculación (25, 50 y 75 g/ planta) en el desarrollo de las plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.) durante la etapa de vivero. El diámetro y crecimiento de los plantones fueron influenciados positivamente por los HMA.

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1 Generalidad del cacao

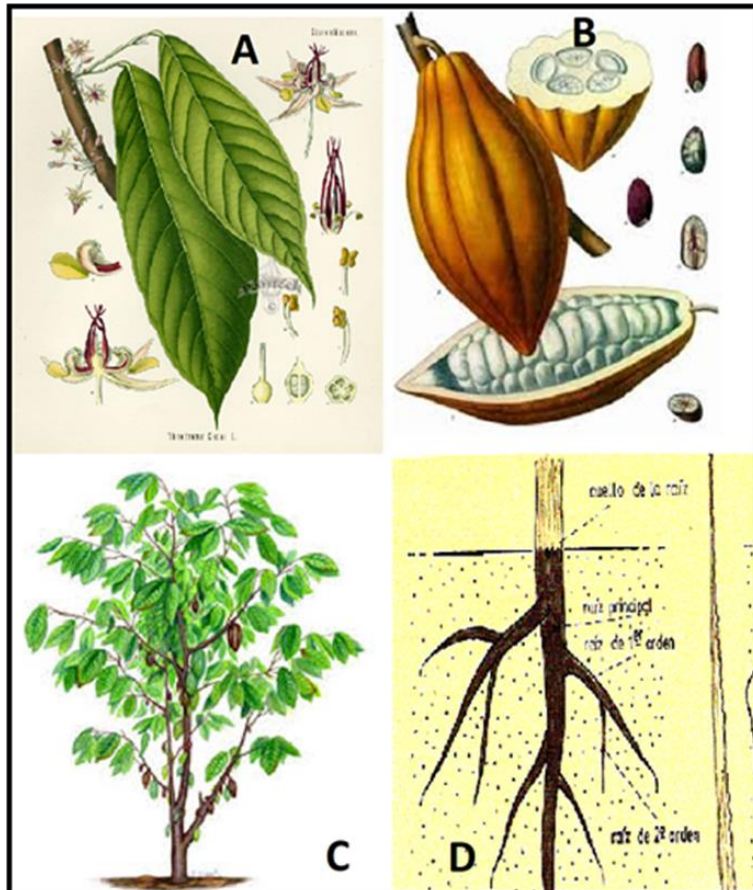
#### a. Clasificación Taxonómica y descripción botánica

De acuerdo con The International Plant Name Index (2021), la descripción taxonómica más actualizada de la especie *Theobroma cacao* L., es la siguiente:

**Reino:** *Plantae*  
**Subreino:** *Tracheobionta*  
**División:** *Magnoliophyta*  
**Clase:** *Magnoliopsida*  
**Subclase:** *Dilleniidae*  
**Orden:** *Malvales*  
**Familia:** *Sterculiaceae*  
**Subfamilia:** *Byttnerioideae*  
**Género:** *Theobroma*  
**Especie:** *Theobroma cacao* L.

En cuanto a su descripción botánica la especie *Theobroma cacao* L., es un árbol grande considerado como semicaducifolio de hasta 12 m de altura (Figura 1 C). El tallo es glabro y pubescente en todos los ejes que son más jóvenes. En cuanto a las hojas su base es redondeada a ligeramente cordada, con un peciolo largo de 14 a 27 cm aproximadamente y presentan el ápice apiculado debido a su forma. Las inflorescencias son de tipo cimosas (son aquéllas cuyo eje principal produce una flor igual que los ejes secundarios que van naciendo en su costado) en todas ellas. Las flores son de tipo pentámera, hermafrodita y actinomorfa (Figura 1 A). El fruto es lleva por nombre mazorca, es una baya grande (Figura 1 B), polimorfa, esférico a fusiforme, púrpura o amarillo en la madurez es de más o menos 10 a 35 cm de largo y 7 cm ancho, con un peso promedio es de 200 a 1000 g. La raíz

principal es pivotante, es decir la que se origina de una semilla. Las raicillas son numerosas en los primeros centímetros del suelo, formando un gran grupo que se llenan en la superficie del suelo (Figura 1 D). Las semillas son de color café a colores que van desde rojizos marrones, ovadas, ligeramente comprimidas de 20 a 50 mm de largo (Figura 1 B), 12—16 mm de ancho y 7—12 mm de grosor (Dostert 2011).



**Figura 1.** Descripción botánica de la especie *Theobroma cacao* L. (Dostert, 2011).

#### **b. Distribución geográfica de la especie**

La especie *Theobroma cacao* L., se distribuye a lo largo de la región Amazónica pasando por el territorio de las Guayanas hasta llegar al sur de centro América en México. El cultivo se expandió después de la llegada de los españoles en países del Caribe, en África y hasta Asia donde también se le cultiva sin problemas, debido a su adaptación a lo largo del tiempo (Figura 2). Costa de Marfil y Ghana en África e Indonesia en Asia son considerados los productores más importantes de cacao, así mismo en nuestro país es ampliamente cultivado en varias zonas. Actualmente existen como 11



aireación con una relación proporcional 1:1:1 o sea una de tierra, una de arena y una de materia orgánica es decir 30% de cada insumo. Para producir plantones de cacao se realizan las siguientes actividades:

- **Riego:** Esta actividad se realiza teniendo en cuenta la precipitación del lugar, además es importante mencionar que se debe regar (diario, preferible a las primeras horas de la mañana) a condiciones de capacidad de campo y nunca excesivamente hasta que se produzca un encharcamiento, ni tampoco que el suelo se reseque (López 2011).
- **Desmalezado:** Esta actividad se realiza cada 15 días, casi siempre se utiliza la metodología manual puesto que en las bolsas es muy incómodo utilizar algún instrumento (Gómez *et al.* 2014).
- **Poda de las raíces:** Se realiza esta actividad cuando las raíces sobresalen de las bolsas (2 meses), para ello se cortan cada vez que estas crecen desmesuradamente (Uday 2006).
- **Fertilización:** Esta actividad se realiza para aportar nutrientes (N, P, K, Ca, Mg y Zn) a la planta por si el sustrato no cubra todos los requerimientos. Se realiza a los 3 meses de estar en vivero (Aguirre *et al.* 2013).
- **Control Fitosanitario:** Esta actividad se realiza constantemente para evitar la aparición de (mosca minadora, diabroticas, saltamontes, chinches, etc.) y enfermedades (chupadera, marchitez, etc.) que puedan afectar el cultivo (Uday 2006).

#### **d. Metales pesados en el cultivo de cacao**

Los metales pesados o también llamados elementos pueden ocasionar problemas a la salud siempre y cuando estén presentes en concentraciones elevadas en él organismo pueden afectar los riñones, el sistema nervioso y son también responsables de varios tipos de cáncer (Rubio *et al.* 2004). En cuanto a la especie *Thebroma cacao* L., se refiere existe una situación muy complicada puesto que según algunas investigaciones en el tema presentó un comportamiento acumulador de metales pesados que se distingue otras especies (Latlance *et al.* 2018), por lo que se puede decir que presenta

bastante susceptibilidad a la absorción de estos elementos. Existen muchos estudios alrededor del mundo y también muchos de ellos se han llevado a cabo en nuestro país (Huánuco, Ucayali y San Martín) donde se registraron niveles altos de metales pesados en los granos como el Pb los cuales fueron mayores que los límites máximos permisibles (<7 ppm) y esto se evidencia en muchas zonas del Perú (Romero – Estévez et al. 2019; Arévalo-Gardini et al. 2017). Un punto muy importante al entender la problemática de los metales pesados en el cultivo es precisar que en los campos de producción existe un reciclaje natural que se da a partir de absorción por parte de la planta y la caída natural de las hojas, así mismo por el uso de residuos de cosechas que contiene estos elementos (Gramlich et al. 2017).

## **2.2.2 Hongos micorrizicos arbusculares (HMA)**

### **a. Concepto**

Los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) o llamados también micorrizas, son microorganismos que realizan una especie de asociación con varias especies de plantas donde se benefician del lugar que ocupan para poder desarrollarse a cambio de varias ventajas que estos proveen a esas plantas (Cuenca et al. 2007).

A la asociación que realizan los hongos con las plantas se le conoce como “asociación simbiótica mutualista”, la misma que tiene un efecto benéfico para la planta, puesto que el hongo se desarrolla en la raíces de esta (generalmente en las raíces secundarias), incrementando haciendo que la raíz aumente su diámetro formando las conocidas micorrizas, longevidad y se desarrolle eficientemente, permitiendo a la planta tener una mayor disponibilidad para absorber los nutrientes, así como también se anclarse con mayor fuerza en el suelo de donde se beneficiara más que si no estuviera colonizada por estos organismos (Chapín, 1980). Por otro lado, los HMA también tienen un efecto positivo para el suelo, lo que permite mejorar sus propiedades físicas y su estabilidad (Khan 2006).

## **b. Clasificación de los hongos micorrizicos arbusculares (HMA)**

Según las investigaciones realizadas por Read 1999, citado por Ruíz *et al.* (2011) los HMA se pueden clasificar según a la estructura que forman, en tal sentido esos pueden ser: 1) Ectomicorrizas o formadoras de manto; 2) Ectendomicorrizas, que incluye Arbutoides y Monotropoides; y las 3) Endomicorrizas, con sus subdivisiones: Ericoides, Orquidoides y Arbusculares.

### **• Ectomicorrizas**

Este tipo de hongos son los que desarrollan en la zona cortical (comprendida entre la rizodermis y el cilindro centraluna de la raíz) capa espesa de micelio fúngico en las raíces de las plantas donde suelen hospedarse, es allí donde sus hifas (filamento fúngico que se origina a partir de las esporas) penetran al interior de las raíces que van a colonizar. Estos organismos pueden observarse a simple vista formando dichas estructuras. Es común que colonicen especies de tallos leñosos y especies forestales, siendo bastante frecuente su aparición en hayas, robles, eucaliptus y pinos. Generalmente pertenecen a los grupos de Basidiomycota y Ascomycota (Vacacela 2012).

### **• Endomicorrizas**

Su colonización se especifica en el córtex radical, la cual también es su principal característica a diferencia del anterior tipo estos no pueden ser vistos a simple vista por la característica antes mencionada. Las hifas forman en el interior en la raíz estructuras que sirven que son como vesículas alimenticias y arbúsculos. Dentro de este puede decir que son considerados como los comunes entre los hongos micorrizicos arbusculares (HMA), los cuales realizan las asociaciones simbióticas que son mayoría en el ambiente. La división Glomeromycota es la que constituye principalmente este tipo de hongo, predominan en leguminosas. Son abundantes en las selvas tropicales de todas las partes del mundo (Vacacela 2012).

- **Orquidoides o micorrizas de ovillo**

Son consideradas como orquídeas y son importantes para su desarrollo y vida. Dentro de su asociación con otras especies transfieren carbonos orgánicos y nutrientes a las plantas que colonizan. La planta se independiza del hongo cuando crece y esta con todas las habilidades para desarrollarse sola (Camargo-Ricalde *et al.* 2012).

- **Ericoides**

Los hongos del grupo de Ascomicetos son los que predominan en este tipo. Forman ovillos en las raíces (generalmente en las raíces secundarias) de las plantas que coloniza, presentando una forma de micorrizas simple. Son los responsables de la movilidad de los nutrientes (N, P, K, Ca, Mg y Zn) cuando estos están de forma indisponible en suelos pobres. Este tipo de organismos predominan en zonas con climas fríos, en zonas altas (Camargo *et al.* 2012).

- **Ectendomicorrizas**

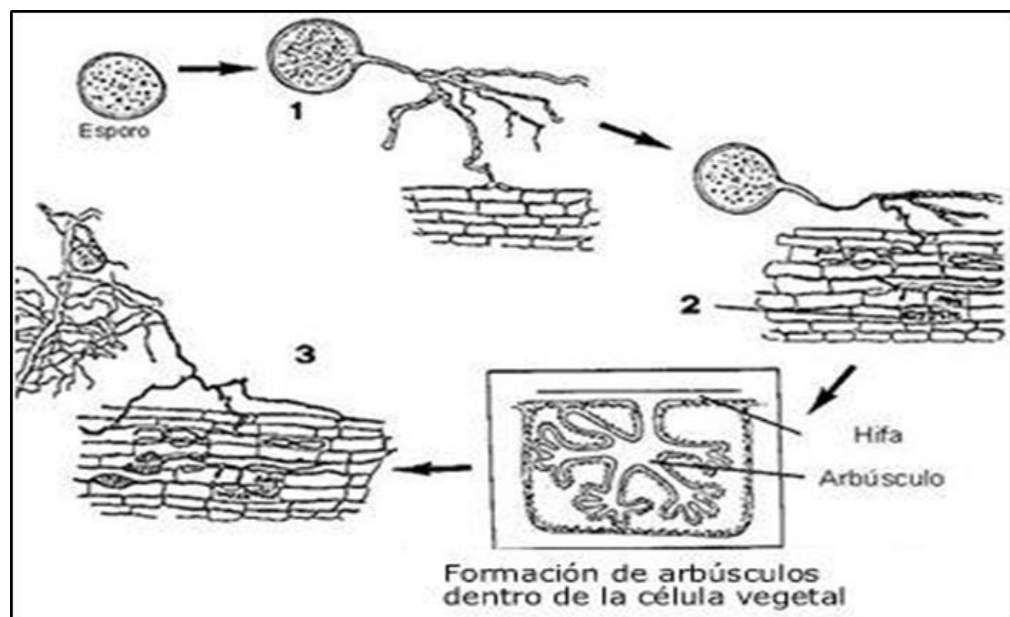
Presentan algunos rasgos que se parecen a las Ectomicorrizas y las Endomicorrizas en cuanto a su forma de actuar y estructura, su manto es como las Ectomicorrizas, y también el interior de sus células, pero no existen aquellas vesículas alimenticias. Los grupos de hongos como Basidiomycota y Ascomycota son los más comunes para este tipo, los cuales colonizan más a las angiospermas que en gimnospermas, pero presentan una distribución que no es tan común (Vacacela, 2012).

**c. Ventajas de los Hongos micorrizicos arbusculares (HMA)**

Los HMA ofrecen numerosas ventajas para las plantas micorrizadas. Pueden hacer que las plantas absorban con mayor eficiencia los nutrientes de los suelos (N, P, K etc), así como anclar más profunda a las raíces para una mejor estabilización en el suelo, por lo que la planta puede desenvolver su capacidad de captar estos elementos y el agua del suelo. También provee resistencia a la planta frente a los cambios de clima y a la acidificación del debido a la saturación de Al en el suelo. Los nutrientes desde el suelo presentan una movilidad constante por la acción de los HMA, sobre todo

cuando aquellos elementos se encuentran de forma indisponible en el suelo (Sierverding 1989).

La colonización de la raíz involucra varias etapas en las plantas colonizadas (Figura 3). Una de ellas es la formación de hifas intercelulares y arbusculos dentro de las células del parénquima de todas las plantas donde actúan. La acción principal de los HMA es el transporte eficiente de compuestos carbonados y nutrientes del suelo a las plantas (Hernández *et al.* 2003).



**Figura 3.** Proceso de infección del hongo micorriza. 1. Germinación del hongo en el suelo; 2. Desarrollo del hongo en la raíz; 3. Corte transversal de la raíz y observación de las estructuras formadas (Hernández *et al.* 2003).

#### d. El hongo *Glomus Intrarradices* y la fitorremediación del Pb

El plomo (Pb) es un elemento químico que presenta la forma sólida de un metal gris azulino la cual se le puede encontrar de forma natural de forma sólida en el suelo. Este elemento en altas concentraciones (< de 2 ppm) en los organismos vivos es tóxico y en lo seres humanos afecta el sistema nervioso y provoca desórdenes endocrinos. Este elemento se encuentra naturalmente en el suelo en las siguientes formas:  $Pb^0$ ,  $Pb^{2+}$  y  $Pb^{4+}$ . Su nivel máximo permisible en el cuerpo humano es de 10 a 100  $\mu\text{g/dL}$ , es cuando resulta ser toxico cuando existen contenidos altos.

Las raíces retienen el Pb que se pega a ella por el intercambio catiónico con las paredes celulares de las raíces (Gaur y Andholeya 2004). Como el Pb no se biodegrada se convierte en una grave amenaza para el medio ambiente en concentraciones altas. Las técnicas convencionales que se utilizan para remediar los suelos se basan en el lavado de suelos mediante excavaciones los cuales suelen ser muy costosos y que no son buenos para el medio, a parte que no se pueden lograr resultados contundentes. Razón por la cual se han buscado muchos métodos que tengan eficiencia y que sea ecoamigables así nace la fitorremediación una técnica ecológica, eficiente y de bajo precio (Peuke y Rennenberg 2005; Kramer 2005).

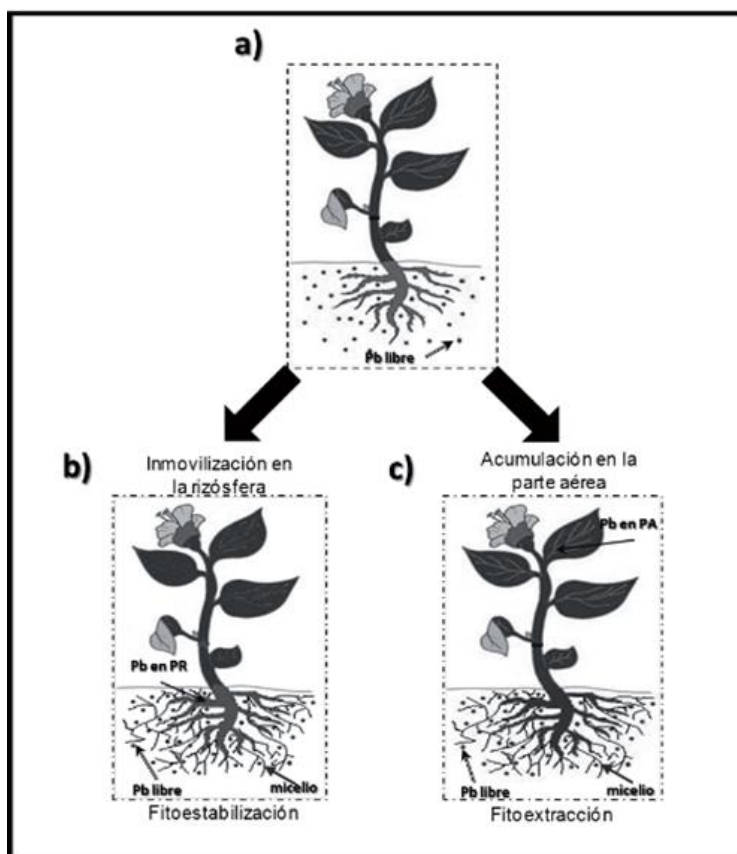
Los procesos por las cuales actúa esta técnica son dos, una de ellas es la fitoestabilización, donde el Pb es inmovilizado por acción de las raíces de las plantas y la otra técnica es la fitoextracción, en la que los metales pesados como el Pb son absorbidos en gran cantidad y acumulados en las partes aéreas como hojas y frutos (Shu *et al.* 2002).

Las plantas que presentan la capacidad de absorber y acumular metales pesados en gran cantidad se les denomina especies hiperacumuladoras (HA). El proceso de la simbiosis de la planta con los HMA, sirven también para fitorremediación puesto que presenta un efecto diferente al que si estuviera la planta sola. Existen estudios que demuestran que las plantas micorrizadas muestran una gran capacidad para absorber metales pesados y trasladarlos a las partes aéreas (hojas y frutos), dependiendo de la especie, así mismo otras especies puede tener un efecto de inmovilización del metal los cuales quedan retenidos en las raíces sin riesgo a ser absorbidos (Gaur y Andholeya 2004), también pueden permanecer retenidos en el suelo por acción de los HMA (González-Chávez *et al.* 2004) (fitoestabilización) (Figura 4).

Una de las estrategias más utilizadas es la inmovilización de Pb mediante las glicoproteínas secretadas por el hongo, en donde el Pb se queda retenido en las paredes celulares, luego se produce la quelación del Pb que ocurre al interior de la hifa (Gaur y Andholeya, 2004). La glicoproteína más común en muchas especies de HMA es la glomalina la misma que fue encontrada en el suelo por acción de muchas especies de hongos (Gaur y Andholeya 2004).

Existen estudios donde se han extraído del suelo hasta 1.12 mg de Pb por gramo de glomalina encontrado en el suelo, la misma que producida por

acción de los HMA (González-Chávez *et al.* 2004). Por otro lado, la pared celular de este micelio contiene quitina y esta sustancia es la responsable de presentar un efecto adsorbente de metales pesados en la superficie de las paredes celulares de estos hongos (González-Chávez *et al.* 2004).



**Figura 4.** Acción de los HMA inoculados en las raíces de las plantas sobre el Pb. (González *et al.*, 2004).

Así mismo, se demostró que la absorción e inmovilización del Pb es significativa en plantas que fueron colonizadas por los HMA en comparación con las raíces que no fueron micorrizadas por estos organismos (Gaur y Andholeya 2004). En tal sentido también se puede mencionar al hongo *Glomus intrarradices* el cual demostró gran capacidad para desarrollarse y sobrevivir en un ambiente contaminado con metales pesados como el Pb, Cd, As, etc (Janousková *et al.* 2006), así mismo es utilizado comercialmente para muchas especies, entre ellas el cacao, presentando referencias excelentes en cuanto a su efecto en el crecimiento y desarrollo de los plantones (Janousková *et al.* 2006).

## **2.3. Definición de términos básicos**

### **2.3.1. Metales pesados**

Los metales pesados son elementos que están presentes en forma natural en el suelo (generalmente de forma sólida) generalmente están en bajas concentraciones (> 1 ppm) por eso también se les denominan elementos traza. Estos elementos son indestructibles, pudiendo ser diluidos y también lixiviados (Al-Khashman 2004).

### **2.3.2. Fitoextracción**

Se define como absorción de metales pesados que las plantas realizan por medio de las raíces, que a su vez los acumulan en las partes como las raíces, hojas, tallos y frutos (Alvarado *et al.* 2011).

### **2.3.3. Fitoestabilización**

Mecanismo que poseen algunas especies de plantas en asociación con algún tipo de microorganismo y que inmovilizan metales pesados (Pb, Cd, As, Mo etc) en el suelo por las raíces (Alvarado *et al.* 2011).

### **2.3.4. Hiperacumulación**

Capacidad de ciertas especies de plantas para acumular metales pesados en hojas, tallos, raíces y frutos en cantidades superiores a las de otras plantas acumuladoras, sin presentar problemas de toxicidad (Alvarado *et al.* 2011).

### **2.3.5. Contaminación**

Introducción de sustancias u otros elementos físicos en un medio que provocan que esto sea inseguro o no apto para su uso (Encinas 2011).

### **2.3.6. Simbiosis**

Asociación benéfica entre dos organismos distintos, mientras que parásito y parasitismo se convirtieron casi en sinónimos con patógeno y patogénesis. (Alvarado *et al.* 2011).

### **2.3.7. Micorrizas**

Órganos de absorción que son como raicillas pequeñas y finas que se forman cuando los hongos simbiotes viven dentro de los órganos de absorción sanos (raíces, rizomas o tallos) de las plantas terrestres, acuáticas o epífitas” en donde la planta le proporciona al hongo carbohidratos como azúcares y un micro hábitat (ambiente pequeño, generalmente para microorganismos) para completar su ciclo de vida (Alvarado *et al.* 2011).

### **2.3.8. Inoculación**

Se define como la introducción de los hongos micorrizicos arbusculares a las raíces de la planta, para que estos microorganismos puedan crecer y desarrollarse (Alvarado *et al.* 2011).

### III. MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación y descripción del área de estudio

El trabajo de investigación se llevó a cabo en el vivero de la Universidad Nacional Intercultural de la Amazonia (UNIA), ubicado en la Carretera a San José km 0.5; geográficamente ubicado en las coordenadas UTM: 18L 544858, 9077199 y a 146 msnm, durante los meses de diciembre del 2020 a marzo del 2021. Políticamente el lugar de estudio pertenece al Distrito de Yarinacocha, Provincia de Coronel Portillo, Departamento de Ucayali.

Se describen los datos meteorológicos durante la ejecución del experimento en el vivero, el cual indica que ocurrió un clima cálido con lluvias constantes. La precipitación pluvial, temperatura y humedad relativa pueden observarse en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Datos climáticos durante la etapa de vivero del experimento, año 2020 - 2021

Variabes	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
Temperatura Máxima (°C)	30.2	30.7	31.3	30.9
Temperatura Promedio (°C)	26.5	26.9	27.2	26.8
Temperatura Mínima (°C)	22.7	23.1	23.1	22.7
Humedad Relativa (%)	83.1	85.7	84.4	84.4
Precipitación (mm)	109.5	112.1	141.9	272.5

**Fuente:** Estación Meteorológica de la Universidad Nacional de Ucayali, 2020 - 2021.

#### 3.2. Identificación y descripción del material experimental

El material experimental estuvo conformado por el hongo *Glomus intrarradices*, y las semillas de cacao y el suelo contaminado, los cuales se describen a continuación:

- **Hongo *Glomus intrarradices***

Se compró el producto MYCOSYM TRI-TON, que contiene el hongo *Glomus intrarradices* a la empresa MYCO Soluciones S.A.C, ubicada en la ciudad de Lima. El producto fue aplicado en todos los plantones de cacao según las dosis. El producto MYCOSYM TRI-TON, es una micorriza natural de venta comercial que tiene la propiedad de hacer que las plantas inoculadas queden de por vida micorrizadas. Es un concentrado de presentación en arcillas volcánicas que contiene el hongo *Glomus*

*intraradices*. Presenta una capacidad de abarcar aproximadamente unos 655 kg/m<sup>3</sup> de sustrato, también tiene un contenido promedio de esporas mayor a 150/g de producto.

#### ▪ **Semillas germinadas de cacao**

Las semillas germinadas de cacao para el vivero se compraron de la Asociación de Cacaoteros Tecnificados de Padre Abad (ACAPTA), que está ubicada en el distrito de San Alejandro, Provincia de Padre Abad, Región Ucayali. Se compraron 2.5 kg de semilla del Clon criollo las cuales estuvieron en su primera etapa de germinación. Las semillas tuvieron un peso promedio de 150 g, color marrón oscuro y de forma ovalada. Las semillas fueron trasladadas al lugar donde se realizó el experimento (Vivero de la Universidad Nacional Intercultural de Amazonia).

#### ▪ **Suelo contaminado con Pb**

El suelo contaminado con Pb se colectó de las parcelas de producción ubicadas en el Km 72, interior 15 en el Caserío “Mar del Plata” con coordenadas UTM 489733 E y 9035890 N donde anteriormente se determinaron altos niveles de Pb en sus suelos. Se colectaron 300 kg de suelo contaminado con Pb de forma manual con la ayuda de una pala a una profundidad de 30 cm (Anexo 10). Esta cantidad de suelo fue colocado en sacos para luego trasladarlos al lugar del experimento (Vivero de la Universidad Nacional Intercultural de Amazonia).

### **3.3. Procedimientos**

#### **3.3.1. Etapa de vivero**

Esta etapa se desarrolló de la siguiente manera:

##### **a. Preparación y esterilización del sustrato para los plantones de cacao**

Para la preparación del sustrato se realizó lo siguiente:

- Se utilizó suelo contaminado con Pb de las zonas cacaoteras (Distrito de San Alejandro), un 50%, compost un 30%, arena 20 % (Paredes 2003).

- Para el experimento completo se preparó un promedio 500 kg de sustrato para utilizar 3 kg para cada bolsa (160 plantones).
- Se utilizaron bolsas de polietileno de 3kg de 20 x 30 cm.
- Para esterilizar el sustrato se utilizó un cilindro grande de aluminio donde se colocó el sustrato para calentarlo lentamente. Luego en el laboratorio se comprobó mediante la visualización en el microscopio que no hubo la presencia de esporas de hongos micorrizicos nativos.

#### **b. Análisis físico – químico del sustrato preparado**

Luego de la preparación del sustrato para los plantones se procedió a coleccionar 1 kg de muestra compuesta para su análisis respectivo. Se realizó un análisis físico – químico donde se especificó el contenido de Pb (Anexo 8.3). El análisis se llevó a cabo en el Laboratorio de Suelos de La Universidad Nacional Agraria de La Selva en la Ciudad de Tingo María.

#### **c. Preparación y siembra de las semillas de cacao**

Para la preparación y siembra de las semillas se realizó lo siguiente:

- Luego de la compra de las semillas pregerminadas estas se colocaron en un recipiente con un 10% de humedad (Paredes 2003) para mantenerlas hasta el momento de la siembra.
- La siembra de las semillas se realizó colocando la radícula hacia abajo. Después de colocar las semillas en las bolsas se procedió a regar a todas las semillas.

#### **d. Aplicación del hongo *Glomus Intrarradices***

Para la aplicación de las dosis del hongo se realizó lo siguiente:

- Antes de la siembra de las semillas se colocaron las diferentes dosis del hongo *Glomus intrarradices* (1, 3 y 5 g) en las bolas con el sustrato previamente preparado.

- Realizando un pequeño hoyo donde seguidamente se aplicaron las dosis del hongo para después realizar la siembra.

#### **e. Riego de los plántones**

El riego se realizó de forma diaria y dependiendo de las condiciones del suelo, es decir si se encuentra en capacidad de campo.

### **3.3.2. Etapa de laboratorio**

#### **a. Análisis final de Pb en los plántones y el sustrato**

Luego de haber realizado las actividades del proyecto de investigación finalmente se colectó 400 g de sustrato de cada bolsa con los plántones y se las colocaron en bolsas con cierre hermético que luego fueron rotuladas. Se determinaron parámetros físicos y químicos (MO, C.I.C, pH, Textura), así como el contenido de Pb. De igual manera se realizó el análisis para determinar el contenido de Pb colectando los plántones de cacao de cada bolsa (160 plantas) para luego rotular las bolsas de plástico con cierre hermético. El análisis se realizó en el Laboratorio de Suelos de la Universidad Nacional Agraria de la Selva en la Ciudad de Tingo María. El Pb disponible en el suelo se determinó por el método del extractante (EDTA 0.05 M y pH 7), y la lectura en EAA (Weterman, citado por Huamaní *et al.* 2012). El Pb total en los plántones se determinó por el Método EPA 3050 (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos 1996), por vía húmeda y realizando la lectura en el espectrofotómetro de absorción atómica (EAA) (AOAC, citado por Huamaní *et al.* 2012).

### **3.4. Variables**

A continuación, en el cuadro 2 se muestran las variables en estudio y su descripción:

**Cuadro 2.** Variables en estudio

Variables	Definición	Dimensión	Indicadores	Instrumentos de medición
<b>Independiente</b>				
Dosis de <i>Glomus intrarradices</i> .	Cantidades del hongo <i>Glomus intrarradices</i> que fueron evaluadas en la estabilización del Pb en el suelo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0</li> <li>• 1 g</li> <li>• 3 g</li> <li>• 5 g</li> </ul>	Cantidades: Gramos/plantón de cacao.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Balanza analítica de precisión Merkel AP 200.</li> <li>• Experimentación</li> </ul>
<b>Dependiente</b>				
Fitoestabilización de Pb.	Niveles de Pb que estuvieron presente en el suelo antes y después de la aplicación del hongo <i>Glomus intrarradices</i> .	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pb disponible.</li> <li>• Pb total.</li> </ul>	Concentraciones: mg/kg <sup>-1</sup>	Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA)
Acumulación de Pb en los plántones.	Niveles de Pb que fueron acumulados en los tejidos de los plántones de cacao durante el experimento.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pb en los plántones de cacao.</li> </ul>	Concentraciones: mg/kg <sup>-1</sup>	Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA)

**Fuente:** Elaboración propia.

### 3.5. Población y muestra

La población son todas las semillas que se utilizan en la producción de plántones de cacao en el distrito de San Alejandro (Romero 2017). El tipo de muestreo que se utilizó fue el no probabilístico intencional, para lo cual se tomó una muestra 160 plántones para realizar el experimento de acuerdo al diseño estadístico planteado.

### 3.6. Tratamientos

Los tratamientos en estudio fueron los siguientes:

- Tratamiento (T0) = Suelo contaminado con Pb sin *Glomus intrarradices*.
- Tratamiento (T1) = Suelo contaminado con Pb + 1 g de *Glomus intrarradices*/ planta.
- Tratamiento (T2) = Suelo contaminado con Pb + 3 g de *Glomus intrarradices*/ planta.
- Tratamiento (T3) = Suelo contaminado + 5 g de *Glomus intrarradices*/ planta.

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con (4) tratamientos y (4) repeticiones y un total de 16 unidades experimentales. Cada unidad experimental estuvo conformada por 10 plantones dispuestos en bolsas, en total fueron 160 plantones para todo el experimento.

El modelo matemático utilizado para el análisis fue:

$$Y_{ij} = u + T_i + E_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Cualquier observación en estudio.

$u$  = Media general.

$T_i$  = Efecto de i – esimo tratamiento en estudio.

$E_{ij}$  = Efecto de la j – esima observación en el i – tratamiento en estudio.

**Cuadro 3.** Esquema del análisis de Varianza de los tratamientos (ANOVA)

<b>FV</b>	<b>GL</b>
Tratamientos	3
Repeticiones	3
Error	9
Total	15

Fuente: Salinas 2009

Dónde:

FV= Fuente de variación;

GI= Grado de libertad.

### 3.7. Recolección de datos

#### 3.7.1. Fuentes de información

La fuente de informaciones consultadas fue:

**a. Fuente primaria:**

Se obtuvo datos de campo midiendo las variables de crecimiento y cantidad de Pb por efecto de los HMA en plántones de cacao a nivel de vivero.

**b. Fuente secundaria:**

Se utilizó bibliografía digital en la web como artículos científicos, tesis, blogs, proyectos de investigación, libros y otros.

#### 3.7.2. Unidad experimental y de medición

La **unidad experimental** fueron los plántones de cacao y la **unidad de medición** fue un plánton de cacao. La variedad de cacao a utilizarse será el cacao criollo o común.

#### 3.7.3. Técnicas de recolección de datos

Las técnicas que se utilizaron en el proceso de investigación fueron las siguientes:

- a. Observación experimental:** cuando se aplicaron los diferentes tratamientos de *Glomus intrarradices*, será necesario observar el comportamiento de los plántones de cacao.
- b. Análisis documental:** revisión bibliográfica de estudios previos con el cual se determinó las dosis de *Glomus intrarradices*, así como las dosis de Pb.
- c. Análisis de metales pesados en laboratorio:** este proceso se realizó por medio de espectrofotometría de absorción atómica para el análisis de Pb en suelos y tejidos.

### **3.8. Procesamiento de los datos.**

Los datos fueron procesados mediante el Análisis de Varianza ( $p \leq 0.05$ ), para determinar el efecto de los factores y tratamientos, cuando hubo diferencias significativas se utilizó la prueba Tukey, con el 95 % de confianza para la comparación de medias, mediante el paquete estadístico IBM SPSS STATISTICS versión 19.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 4.1. Caracterización fisicoquímica del sustrato y efecto de la aplicación de *Glomus intrarradices* en la fitoestabilización de Pb.

En el cuadro 4 se observa la caracterización física y química del sustrato preparado para el experimento donde podemos notar que existe un pH neutro (7), de textura Franca (Fr) pero que es un sustrato con un valor medio de materia orgánica (Bot y Benítez 2005). Para los resultados de fitoestabilización es necesario mencionar que la sustancia encargada de dicho efecto es la proteína glomalina secretada por el hongo del género *Glomus* y esta puede ser producida en mayor o menor grado dependiendo de muchos factores, como la colonización del hongo en las raíces de la planta, la interacción con la planta, la eficiencia en la reproducción y también está ligada a factores edáficos como las propiedades del suelo como el Ph, C.I.C y M.O (Gonzales *et al.* 2004). En tal sentido en el suelo se determinó un valor medio de materia orgánica (2.13 %) por lo que esto pudo influir en la acción de la glomalina sobre el Pb manifestada en el porcentaje de Pb retenido en el suelo, puesto que esta proteína generalmente se localiza o se fija en la materia orgánica (Vodnik *et al.* 2008). Así mismo es necesario también mencionar que el Pb contenido en el sustrato (16.3 mg/kg<sup>-1</sup>) según la Unión Europea no sobrepasaron los límites máximos de Pb en el suelo que van desde 3 a 300 mg/kg<sup>-1</sup> (Huamani *et al.* 2012), por lo que esto también pudo a ver influenciado en los resultados sabiendo que no era un sustrato sumamente contaminado. Por otro lado, en el cuadro 5 se puede observar contenido inicial y final de Pb total de todos los tratamientos estudiados con las dosis del hongo *Glomus intrarradices* de donde se calculó en porcentaje de Pb retenido en el suelo (fitoestabilización).

**Cuadro 4.** Parámetros físico - químicos del sustrato preparado

Descripción	pH	M.O %	P mg/kg <sup>-1</sup>	K mg/kg <sup>-1</sup>	Textura	Disponible			
						Ca	Mg	Na	Pb total
Sustrato preparado	7.67	2.13	7.05	0.13	*Fr	20.80	1.56	0.08	16.30

**Fuente:** Elaboración Propia.

**Cuadro 5.** Contenido inicial y final de Pb total en el suelo (mg/kg<sup>-1</sup>)

<b>Contenido de Pb total (mg/kg<sup>-1</sup>)</b>			
<b>Tratamientos</b>	<b>Repeticiones</b>	<b>Contenido Inicial</b>	<b>Contenido final</b>
T <sub>0</sub>	I	16.3	8.08
T <sub>0</sub>	II	16.3	8.96
T <sub>0</sub>	III	16.3	9.08
T <sub>0</sub>	IV	16.3	9.52
T <sub>1</sub>	I	16.3	14.12
T <sub>1</sub>	II	16.3	13.24
T <sub>1</sub>	III	16.3	13.08
T <sub>1</sub>	IV	16.3	10.96
T <sub>2</sub>	I	16.3	9.92
T <sub>2</sub>	II	16.3	10.32
T <sub>2</sub>	III	16.3	9.96
T <sub>2</sub>	IV	16.3	10.84
T <sub>3</sub>	I	16.3	6.48
T <sub>3</sub>	II	16.3	6.6
T <sub>3</sub>	III	16.3	5.96
T <sub>3</sub>	IV	16.3	6.44

**Fuente:** Elaboración propia.

**Cuadro 6.** Porcentaje (%) de Pb total retenido en el suelo

<b>Repeticiones</b>	<b>Tratamientos</b>			
	<b>T<sub>0</sub></b>	<b>T<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>3</sub></b>
<b>I</b>	49.5	86.6	60.85	39.7
<b>II</b>	54.9	81.2	63.31	40.4
<b>III</b>	55.7	80.24	61.1	36.5
<b>IV</b>	58.4	67.23	66.5	39.5
<b>Promedio</b>	<b>54.60 b</b>	<b>78.81 a</b>	<b>62.94 b</b>	<b>39.02 c</b>

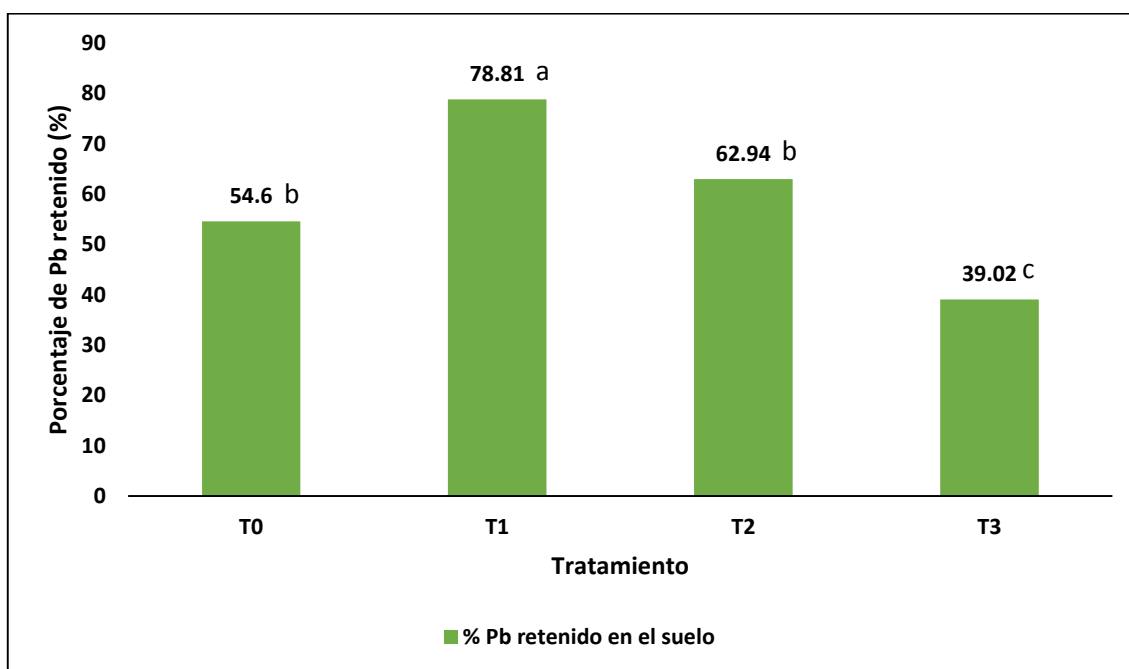
**Fuente:** Elaboración Propia.

\*Valores promedio en una misma columna seguida por diferente letra indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Como se puede observar en el cuadro 6 los tratamientos T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> son los que presentaron el mayor porcentaje de retención o fitoestabilización de Pb en el suelo con 78.81 y 62.94%, los cuales fueron mayores al T<sub>0</sub> con 54.60% y al T<sub>3</sub> con 39.02%. Según el análisis de varianza (ANOVA) para la variable fitoestabilización de Pb, los tratamientos T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub>

y T<sub>2</sub> presentaron diferencias significativas al 0.05 de nivel de significancia frente al tratamiento T<sub>3</sub> (Anexo 8.2), así mismo, el tratamiento T<sub>1</sub> estadísticamente muestra la mayor cantidad de Pb retenido en el suelo, lo que indica que la dosis de 1 g del hongo *Glomus intrarradices* muestra buenos resultados en la fitoestabilización de Pb. Por otro lado, también se observa que a mayores dosis (3 a 5 g) la cantidad de Pb retenido es menor, incluso que el tratamiento T<sub>0</sub> (testigo).

Los resultados antes mencionados indican que el hongo *Glomus intrarradices* en asociación con las raíces de las plantas de cacao presentaron un efecto fitoestabilizador, reteniendo al Pb en el suelo mediante la acción de los exudados del micelio que secreta una sustancia llamada glomalina que es la responsable de dicho efecto, tal como lo menciona Vodnik *et al.*, (2008), quien determinó la relación entre la glomalina en el suelo secretada por el género *Glomus* y el contenido de Pb. La glomalina total relacionada al suelo representó 5.4 a 21.2% de la materia orgánica y se correlacionó positivamente con las concentraciones de Pb y Zn en el suelo, lo que indica que esta sustancia influye en el contenido de Pb que está retenido por su acción inmovilizadora. En la figura 5 se puede observar claramente el porcentaje de Pb retenido en el suelo.



Fuente: Elaboración Propia.

Figura 5. Porcentaje de Pb retenido en el suelo.

Así mismo Gonzales *et al.* (2004), también realizaron un trabajo de investigación cuyo objetivo fue evaluar el efecto que presenta la glucoproteína llamada glomalina, producida por el hongo del genero *Glomus* en la adsorción de Pb. El experimento mostró que la glomalina extraída de suelos contaminados contenía 1.12 mg de Pb/g, por lo que se llegó a la conclusión que la glomalina puede ser utilizada para la estabilización que conduce a la

remediación de suelos contaminados con Pb. Otro autores como Gaur y Adholeya (2004); Janousková *et al.* (2006) y Hurtado (2012), realizaron trabajos de investigación donde determinaron la influencia de los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) como el *Glomus* en la inmovilización de metales pesados, lo que concuerda con los resultados obtenidos en el presente proyecto puesto que al menos una de las dosis (1 g/planta) se logró observar que se encontró cantidades de Pb retenido en el suelo, sobre todo en los tratamientos T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> que fueron estadísticamente mayores al tratamiento testigo (T<sub>0</sub>).

#### 4.2. Efecto de la aplicación de *Glomus intrarradices* en la acumulación de Pb en los plántones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la etapa de vivero

Como se puede observar en el cuadro 7 los tratamientos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub> presentaron menor acumulación de Pb en los plántones de cacao con 2.79, 2.61 y 2.60 mg/kg<sup>-1</sup> frente al tratamiento testigo T<sub>0</sub> que fue el que acumulo mayor cantidad de Pb con 2.86 mg/kg<sup>-1</sup>. Según el análisis de varianza (ANOVA) para la variable acumulación de Pb muestra que entre todos los tratamientos estudiados no presentaron diferencias significativas al 0.05 de nivel de significancia (Anexo 8.2), por lo tanto, no se realizó la prueba de promedios de Tukey. Este análisis estadístico indica que las dosis del hongo no influenciaron en la acumulación de Pb en los plántones de cacao. Este resultado se contradice con el estudio de Pérez *et al.* (2019), quien evaluó la absorción y acumulación de Cd en un patrón de cacao (IMC 67) con la presencia de los hongos micorrizicos arbusculares para determinar cómo inmovilizadores de Cd.

**Cuadro 7.** Acumulación de Pb promedio en los plántones de cacao (mg/kg<sup>-1</sup>)

Repeticiones	Tratamientos			
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
I	2.97	2.77	2.62	2.51
II	3.06	2.67	2.37	2.69
III	2.86	2.65	2.88	2.48
IV	2.56	3.1	2.58	2.72
<b>Total</b>	<b>2.86 a</b>	<b>2.79 a</b>	<b>2.61 a</b>	<b>2.6 a</b>

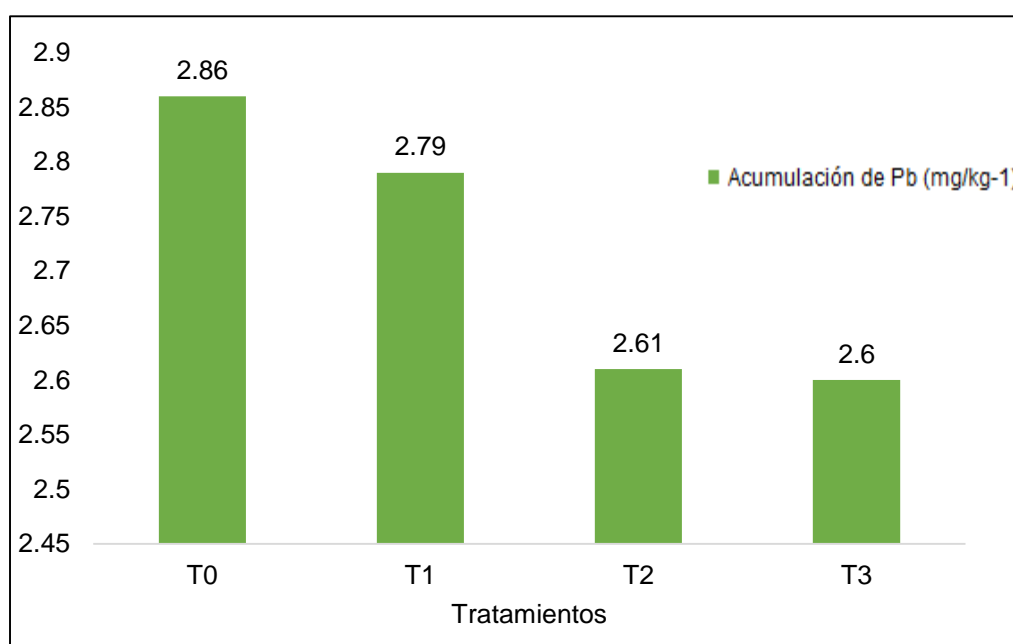
**Fuente:** Elaboración propia.

\*Valores promedio en una misma columna seguida por diferente letra indican diferencias significativas con la prueba de Tukey (p<0,05).

Los resultados del estudio mostraron que las plantas de cacao acumulan normalmente el Cd pudiendo crecer y desarrollarse bajo estas condiciones tal como lo describe Llatance *et al.* (2018), pero las plantas que micorrizadas disminuyeron significativamente la

acumulación de Cd en todos los órganos de los plantones, por lo que se observa que los resultados en el presente proyecto estén influenciados por un factor del suelo como el pH o la materia orgánica (Gonzales *et al.* 2004).

Así mismo cabe resaltar que las plantas colonizadas por los hongos micorrizicos arbusculares aumentan el área superficial de exploración del suelo por la gran cantidad de raíces que se producen en asociación con el hongo lo que permite una mayor absorción y acumulación de nutrientes por parte de las plantas entre los que también se absorben y acumulan metales pesados (Smith *et al.* 2010). Por lo tanto, cabe resaltar que según los resultados el tratamiento testigo ( $T_0$ ) acumulo más Pb en los tejidos que los plantones que fueron inoculados porque hubo otros factores que estuvieron involucrados en su normal funcionamiento (Figura 6).



**Fuente:** Elaboración Propia

**Figura 6.** Acumulación de Pb en los plantones de cacao.

Por otro lado, dentro del género *Glomus* existen muchas especies que pueden tolerar y tener un mejor efecto en cuanto a la inmovilización de los metales pesados en el suelo lo que, lo que indica que la variable genética también un papel importante en este proceso, así mismo cabe mencionar que la acumulación de metales pesados se da mayormente en las raíces y tallos de las plantas de cacao y una mínima acumulación en las partes aéreas (Bano y Ashfaq 2013; Campos y Flores 2016).

## V. CONCLUSIONES

Por todo lo expuesto anteriormente en el presente trabajo de investigación se concluye lo siguiente:

- Para la variable fitoestabilización las dosis del hongo *Glomus intrarradices* 1 y 3 g pertenecientes a los tratamientos T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> fueron los que mayor cantidad de plomo reteneron (fitoestabilizaron) a comparación del tratamiento testigo T<sub>0</sub>.
- Para la variable acumulación de Pb ninguna dosis (1, 3 y 5 g) del hongo *Glomus intrarradices* influencio en la acumulación de Pb en los plantones de cacao a los 90 días.

## VI. RECOMENDACIONES

De acuerdo a las evaluaciones y datos obtenidos se recomienda lo siguiente:

- Realizar trabajos de investigación utilizando otras variedades de hongos micorrizicos arbusculares.
- Realizar trabajos de investigación sobre la influencia de los sustratos en el desarrollo y acción de los hongos micorrizicos arbusculares.
- Realizar estudios sobre los componentes que secretan los micelios de varias especies de hongos micorrizicos arbusculares.
- Realizar trabajos de investigación con suelos más contaminados y con valores altos de materia orgánica.
- Realizar esta investigación en épocas de verano.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

### 7.1. Referencias bibliográficas físicas

- Al-Khashman, O. A. (2004). *Atmospheric environment*. 38, 6803-6812.
- Campos, F y Flores, C. (2016). Determinación de Cd y Pb en lo clones predominantes de cacao (*Theobroma cacao* L.) en las provincias de Padre Abad y Coronel Portillo. Universidad Nacional de Ucayali. Informe anual de proyecto de investigación docente.
- Chapín, F.S. (1980). The mineral nutrition of wild plants. *Annu Rev Ecol*.
- Hernández, S; Fernández, C; Baptista, L. (2008). Metodología de la investigación, cuarta edición. Pág. 100-1013.
- Sieverding, E. y Toro, S. (1989). Influence of soil water regime on VA mycorrhiza, performance of different VAM fungal species with cassava. *J. Agron. Crop Sci*. 161:322-332.

### 7.2. Referencias bibliográficas en línea (On Line)

- Aguirre, F. Yopez, D. (2013). Nutrición vegetal. Bogotá. (En línea). Consultado 15 ene. 2016. Disponible en: [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/302570/formato\\_modulos\\_unad\\_302570.pdf](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/302570/formato_modulos_unad_302570.pdf)
- Alvarado, C.J.; Dasgupta, S.N.; Ambriz, E.; Sanchez, Y.J.; Villegas, J. (2011). Hongos Micorrízicos Arbusculares Y La Fitorremediación De Plomo. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 27(4) 357-364, 2011. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v27n4/v27n4a8.pdf>
- Andina (Agencia Peruana de Noticias) (29 de diciembre del 2019). Cultivo de cacao en región Ucayali asciende a más de 20,000 hectáreas. Disponible: <https://andina.pe/agencia/noticia-cultivo-cacao-region-ucayali-asciende-a-mas-20000-hectareas-609323.aspx>
- Arévalo-Gardini, E.; Arévalo- Hernández, C.O.; Baligar, V.C. y He, Z.L. 2017. Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao in major cacao growing regions in Peru. *Scien of Total Environ*. 605 – 606, 792 – 800. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969717315267?via%3Dihub>
- Bano, S. A y D. Ashfaq. (2013). Role of mycorrhiza to reduce heavy metal stress. *Nat. Sci*. 5: 16-20. Doi: 10.4236/ns.2013.512A003.

- Bartra R.W. (2019). Efecto de la procedencia de HMA, dosis de inculcación y fertilización en el desarrollo de plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la etapa de vivero. Universidad Nacional Intercultural de la Amazonía. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. 7 p. Disponible en: <http://repositorio.unia.edu.pe/handle/unia/201>
- Bot, A. y Benites, J. 2005. *The Importance of Soil Organic Matter: Key to Drought-resistant*. Soil and sustained food production. 71-78 p. <http://www.fao.org/3/a0100e/a0100e00.htm>
- Camargo-Ricalde, S.L.; Montaña, N.M.; De la Rosa-Mera, C.J., Montaña Arias, S.A. (2012). Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. *Revista Digital Universitaria* 13, 1-19. Disponible en: <http://www.revista.unam.mx/vol.13/num7/art72/art72.pdf>
- Casallas, Arley. (2013). Establecimiento de vivero para la producción y comercialización de plántulas de cacao. (En línea). Consultado 08 Set. 2015. Disponible en: <http://es.slideshare.net/amor1859/vivero-de-cacao>.
- Cuenca, G.; Zita, A.; Milagros, L.; Laurie, F.; Meneses, E.; Márquez, M. y Machuca, R. (2002). El uso de arbustos nativos micorrizados para la rehabilitación de áreas degradadas de la Gran Sabana, Estado Bolívar, Venezuela. (En línea) Consultado 01 nov. 2015. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v61n1/a05v61n1.pdf>.
- Dostert, N. (2011). Hoja botánica cacao. (En línea). Consultado 10 Set. 2015. Disponible en: [http://www.botconsult.de/downloads/Hoja\\_Botanica\\_Cacao\\_2012.pdf](http://www.botconsult.de/downloads/Hoja_Botanica_Cacao_2012.pdf).
- Gaur A. y Adholeya A. (2004). Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Sci.* 86, 528-534. Disponible en: <https://www.jstor.org/stable/24107905?seq=1>
- Göhre, V. y U. Paszkowski. (2006). Contribution of the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis to Heavy Metal Phytoremediation. *Planta* 223 (6), 1115-1122 p. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00425-006-0225-0>
- Gómez, A.; García, B.; Tong, F.; González, H. (2014). Paquete tecnológico del cultivo de cacao fino de aroma. DEVIDA-Perú. (En línea). Consultado 15 ene. 2016. Disponible en: [http://www.devida.gob.pe/uploads/libros/Paquete\\_Tecnologico\\_Cultivo\\_Cacao.pdf](http://www.devida.gob.pe/uploads/libros/Paquete_Tecnologico_Cultivo_Cacao.pdf).
- González-Chávez M.C.; Carrillo-González R.; Wright S.F. y Nichols K.A. (2004). The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environ. Pollut.* 130, 317-323. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15182965/>

- González-Chávez, M. C.; Carrillo-González, S. F. Wright, and K. A. Nichols. (2004). The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environ. Pollut.* 130: 317-323. doi: 10.1016/j.envpol.2004.01.004
- Gramlich, A.; Tandy, S.; Gaugge, I.C.; López, M.; Perla, D.; González, V. y Schulina, R. 2017. Soil Cadmium uptake by cocoa in Honduras. *Scien of Total Environ.* 612, 370–378. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.145>
- Huamani, Y.H.; Huauya, R.M.; Mansilla, M.L.; Florida, R.N. y Neira, T.G. (2012). Presencia de metales pesados en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) orgánico. *Acta Agronómica.* 61 (4), 339 -344. <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v61n4/v61n4a06.pdf>
- Janouskova, M. and Pavlikova, D. (2010). Cadmium immobilization in the rhizosphere of arbuscular mycorrhizal plants by the fungal extraradical mycelium. *Plant Soil.* 332:511-520 p. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-010-0317-2>
- Janousková, M.; Pavlíková, D.; Macek, T.; Vosátka, M. (2005). Arbuscular mycorrhiza decreases cadmium phytoextraction by transgenic tobacco with inserted metallothionein. *Plant soil* 272:29-40 p. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-004-3847-7>
- Janousková, M.; Pavlíková, D.; Vosátka, M. (2006) Potential contribution of arbuscular mycorrhiza to cadmium immobilisation in soil. *Chemosphere* 65:1959-1965 p. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/6882620\\_Potential\\_contribution\\_of\\_arbuscular\\_mycorrhiza\\_to\\_cadmium\\_immobilisation\\_in\\_soil](https://www.researchgate.net/publication/6882620_Potential_contribution_of_arbuscular_mycorrhiza_to_cadmium_immobilisation_in_soil)
- Khan, A.G. (2006). Mycorrhizoremediation an enhanced form of phytoremediation. *J Zhejiang Univ Sci B* 7(7): 503-514 p. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16773723/>
- Kramer, U. (2005). Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. *Curr. Opin. Biotechnol.* 16, 133–141 p. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15831377/>
- Llatance, W.; Gonza Saavedra, C.; Guzmán Castillo, W y Pariente Mondragón, E. (2018). Bioacumulación de cadmio en el cacao (*Theobroma cacao*) en la Comunidad Nativa de Pakun, Perú. *Revista Forestal del Perú*, 33 (1): 63 – 75 p. Disponible: <https://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/rfp/article/view/1156>
- López, A. (2011). Paquete tecnológico cacao (*Theobroma cacao* L.) Producción de planta. (En línea). Consultado 15 ene. 2016. Disponible en: <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1289/>

- CALIDAD%20DE%20PLANTA%20EN%20VIVEROS%20FORESTALES%20E%20CLIMA%20TEMPLADO%20EN%20MICHOACAN.pdf?sequence=1
- MINAG (Ministerio de agricultura) (2012). El cultivo de cacao en la Amazonia Peruana. Perfil de Mercado y Competitividad Exportadora de Cacao. Lima-Perú. Disponible en: [file:///C:/Users/HP-USER/Downloads/estudio-cacao-peru-julio-2016%20\(5\).pdf](file:///C:/Users/HP-USER/Downloads/estudio-cacao-peru-julio-2016%20(5).pdf)
- Muthukumar, T. y D.J. Bagyaraj. (2010). Use of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soils. In Proceedings of The National 152 Academy of Sciences India Section Biological Sciences. Allahabad: *National Academy of Science, India*, 103-12 p. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/262179750\\_Use\\_of\\_arbuscular\\_myco\\_rrhizal\\_in\\_phytoremediation\\_of\\_heavy\\_metal\\_contaminated\\_soils](https://www.researchgate.net/publication/262179750_Use_of_arbuscular_myco_rrhizal_in_phytoremediation_of_heavy_metal_contaminated_soils)
- Pérez Moncada, U. A. M.; Ramírez Gómez, D. P.; Serralde Ordoñez, A. M.; Peñaranda Rolón, W. A.; Wilches Ortiz y Rengifo Estrada, G.A. (2019). Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) como estrategia para reducir la absorción de cadmio en plantas de cacao (*Theobroma cacao*). *Terra Latinoamericana* 37: 121-130. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0187-57792019000200121&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0187-57792019000200121&lng=es&nrm=iso)
- Peuke, A.D. y Rennenberg, H. (2005). Phytoremediation. *EMBO Rep.* 6, 497-501. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1369103/>
- Romero, L.J. (2017). Eficiencia en la Inmovilización de Plomo en el Suelo Mediante la Aplicación de Cantidades de Biocarbón en el Distrito San Mateo, Lima. Tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Ambiental. Universidad Cesar Vallejo. Facultad de Ingeniería. 58 p. Disponible en: <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/2975055>
- Romero-Estévez, D.; Yáñez-Jácome, G.S.; Simbaña-Farinango, K. y Navarrete, H. 2019. Content and the relationship between cadmium, nickel, and lead concentrations in Ecuadorian cocoa beans from nine provinces. *Food Control.* 106, 106750. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106750>
- Rubio, A.; Gutiérrez, A.J.; Martín Izquierdo, R.E.; Revert, C.; Lozano, G. y Hardisson, A. (2004). El plomo como contaminante alimentario. *Revista de Toxicología de España.* 21 (2), 72-80. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/919/91921303.pdf>
- Shu, W.S.; Xia, H.P.; Zhang, Z.Q.; Lan, C.Y. y Wong, M.H. (2002). Use of vetiver and three other grasses for revegetation of Pb/Zn mine tailings: field experiment. *Inter. J. Phyto.* 4, 47-57 p. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15226510208500072>

- Smith, S. E.; E. Facelli, S. Pope y F. A. Smith. (2010). Plant performance in stressful environments: Interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. *Plant Soil* 326: 3-20. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-009-9981-5>.
- Uday, M. (2006). Proyecto bosques del Chinchipe. (En línea). Consultado el 15 de Abril. 2015. Disponible en: <http://www.solucionespracticas.org.pe/bosques/documentos/chinchipe000015.pdf>.
- Vacacela Quizhpe, V. M. (2012). Micorrizas, Agronomía. Universidad de Pinar del Río "Hnos Saiz Montes de Oca", Ecuador. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/281807726\\_Simbiosis\\_de\\_micorrizas\\_arbusculares\\_en plantas\\_de\\_arroz\\_Oryza\\_sativa\\_L\\_en\\_condiciones\\_de\\_inundacion\\_y\\_secano](https://www.researchgate.net/publication/281807726_Simbiosis_de_micorrizas_arbusculares_en plantas_de_arroz_Oryza_sativa_L_en_condiciones_de_inundacion_y_secano).
- Vodnik, D.; Grcman, H.; Macek, I.; Van Elteren, J. T. y Kovacevic, M. (2008). The contribution of glomalin related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. *Sci. Total environ.* 392, 130-136. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969707012235>
- Salinas Flores, Jesus (2009). Cursos diseños experimentales. UNIA. Ucayali. Peru. 93pp.

## VIII. ANEXOS

### 8.1. Operacionalización de variables

#### 8.1.1. Variable dependiente

##### ✓ Fitoestabilización de Pb

La fitoestabilización es el mecanismo que emplea la planta de cacao en asociación con el hongo para retener o estabilizar el Pb en el suelo y evitar su absorción y acumulación en los plántones de cacao. Se determinó al inicio antes del trasplante de los plántones en las macetas con el análisis del sustrato y al final del experimento. Se calculó utilizando los datos del contenido de Pb en el sustrato inicial y luego se comparó con el análisis final del mismo luego de retirar los plántones y llevarlos al laboratorio (Hurtado, 2012). Se utilizó el siguiente cálculo mediante una regla de tres simples para determinar el porcentaje de Pb retenido en el suelo:

$$CF (100)/CI$$

- **CI:** contenido inicial
- **CF:** contenido final del sustrato

#### 8.1.2. Variable Independiente

##### ✓ Dosis del hongo *Glomus intraradices*

La acumulación de Pb en los tejidos de los plántones de cacao se determinó mediante la cuantificación del contenido de Pb en todos los plántones de cacao que fueron micorrizados al final del experimento a los 45 días después de haberlas inoculado (Hurtado, 2012).

## 8.2. Análisis estadístico

### 8.2.1. Fitoestabilización.

#### ANOVA

Porcentaje de Pb retenido (%)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3305,242	3	1101,747	48,288	,000
Intra-grupos	273,796	12	22,816		
Total	3579,038	15			

Fuente: SPSS versión 19.

#### Porcentaje de Pb retenido (%)

HSD de Tukey<sup>a</sup>

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
T <sub>3</sub>	4	39,0250		
T <sub>0</sub>	4		54,6250	
T <sub>2</sub>	4		62,9400	
T <sub>1</sub>	4			78,8175
Sig.		1,000	,118	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 4.000.

Fuente: SPSS versión 19.

### 8.2.2. Acumulación de Pb en los tejidos

#### ANOVA

Acumulación de Pb en los tejidos


	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,209	3	,070	1,863	,190
Intra-grupos	,449	12	,037		
Total	,658	15			

Fuente: SPSS versión 19.

8.3. Análisis de suelos



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
 Carretera Central Km 1.21 - Tingo Maria - CELULAR 944407531  
 Facultad de Agronomía - Laboratorio de Análisis de Suelos, Agua y Ecotoxicología  
[analisisdesuelosunas@hotmail.com](mailto:analisisdesuelosunas@hotmail.com)




## ANALISIS DE SUELOS

<b>SOLICITANTE: LEANDRO GOMEZ RIOS</b>												<b>PROCEDENCIA: UCAYALI</b>											
<b>CULTIVO: CACAO (SUELO)</b>																							

N°	DATOS		ANALISIS MECANICO			pH	M.O.	N	P	Pb	Pb	CIC	CAMBIABLES Cmol(+)/kg						CICe	%	%	%		
			Arena	Arcilla	Limo								Textura	1:1	%	%	disponible						total	Ca
	%	%	%	ppm	ppm	ppm																		
CODIGO DEL LAB.	REFERENCIA	%	%	%																				
1	SO114	To	59	20	21	Franco Arenoso	7.67	2.13	0.11	7.05	1.24	16.3	7.31	6.24	0.87	0.13	0.08	--	--	--	100.00	0.00	0.00	

**MUESTREADO POR EL SOLICITANTE  
TINGO MARIA, 16 DE MARZO 2021**



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
LAB. ANALISIS DE SUELOS



Ing. Luis G. Mapeilla Minave  
JEFE



Cuadro 8. Análisis inicial de sustrato.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

Carretera Central Km 1.21 - Tingo María - CELULAR 944407531

Facultad de Agronomía - Laboratorio de Análisis de Suelos, Agua y Ecotoxicología

[analisisdesuelosunas@hotmail.com](mailto:analisisdesuelosunas@hotmail.com)



## ANALISIS DE SUELOS

SOLICITANTE: LEANDRO GOMEZ RIOS	PROCEDENCIA: UCAYALI
MUESTRA: SUELOS	

N°	DATOS		PLOMO TOTAL
	CODIGO DEL LAB.	REFERENCIA	%
1	S0115	tor1	8.08
2	S0116	tor2	8.96
3	S0117	tor3	9.08
4	S0118	tor4	9.52
5	S0119	t1r1	14.12
6	S0120	t1r2	13.24
7	S0121	t1r3	13.08
8	S0122	t1r4	10.96
9	S0123	t2r1	9.92
10	S0124	t2r2	10.32
11	S0125	t2r3	9.96
12	S0126	t2r4	10.84
13	S0127	t3r1	6.48
14	S0128	t3r2	6.60
15	S0129	t3r3	5.96
16	S0130	t3r4	6.44

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
LAB. ANALISIS DE SUELOS

*Luis G. Maspillo Mineva*  
Ing° Luis G. Maspillo Mineva  
JEFE

MUESTREADO POR EL SOLICITANTE  
Tingo María, 16 de marzo 2021



**Cuadro 9.** Análisis final del sustrato.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

Facultad de Agronomía - Laboratorio de Análisis de Suelos, Agua y Ecotoxicología  
Carretera Central Km 1.21 - Tingo María - Celular 941332379

analisis@unase.edu.pe

**ANÁLISIS ESPECIAL**



SOLICITANTE:	LEANDRO GOMEZ RIOS
PROCEDENCIA	UCAYALI
MUESTRA	TEJIDO FOLIAR DE CACAO

DATOS		PLOMO
Código	Tipo	(ppm)
ME_0651	tor1	2.97
ME_0652	tor2	3.06
ME_0653	tor3	2.86
ME_0654	tor4	2.56
ME_0655	t1r1	2.77
ME_0656	t1r2	2.67
ME_0657	t1r3	2.65
ME_0658	t1r4	3.10
ME_0659	t2r1	2.62
ME_0660	t2r2	2.37
ME_0661	t2r3	2.88
ME_0662	t2r4	2.58
ME_0663	t3r1	2.51
ME_0664	t3r2	2.69
ME_0665	t3r3	2.48
ME_0666	t3r4	2.72

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
L.R. ANÁLISIS DE SUELOS

*Luis G. Mapella Minerva*  
Ing. Luis G. Mapella Minerva  
JEFE

MUESTREADO POR EL SOLICITANTE  
TINGO MARIA, 16 DE MARZO 2021

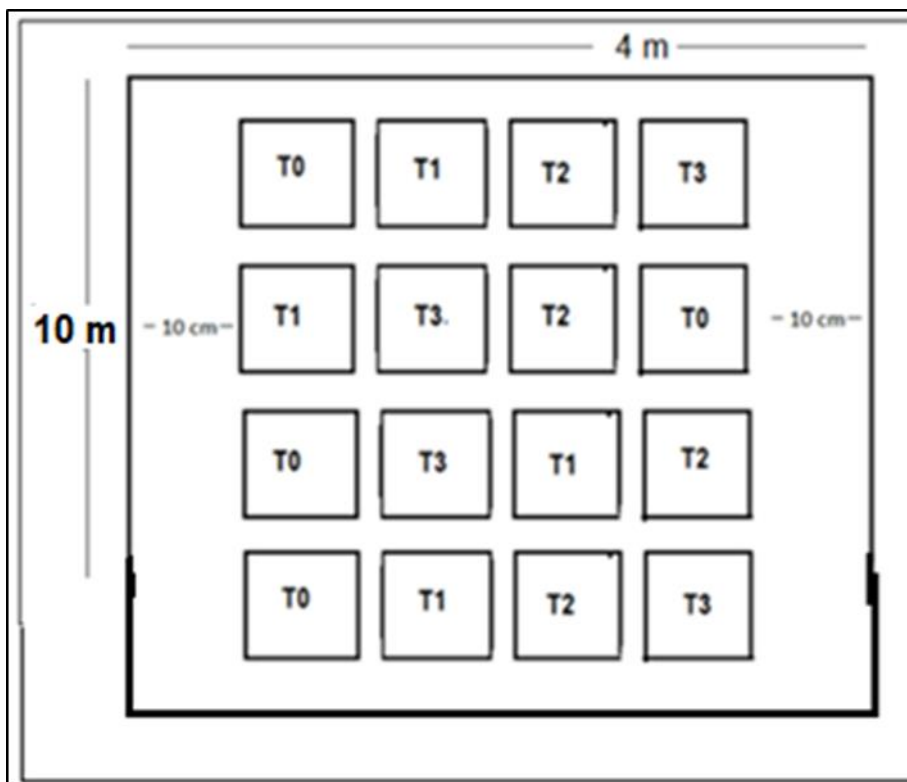


**Cuadro 10.** Análisis de Pb total en los tejidos.

#### 8.4. Iconografía.

Medidas:

- **Área total:** 10 m x 40 m: 40 m<sup>2</sup>.
- **Área de la Unidad Experimental:** 1 m x 1 m: 1 m<sup>2</sup>.



**Figura 7.** Diseño Experimental aplicado en campo.



Figura 8. Producto comercial MYCOSYM TRI-TON (Frontal).



Figura 9. Producto comercial MYCOSYM TRI-TON (Reverso).



**Figura 10.** Preparación de las semillas (con aserrín).



**Figura 11.** Semillas de San Alejandro para el pre germinado.



**Figura 12.** Recepcionamiento y acondicionamiento de semillas para el pre germinado.



**Figura 13.** Parcela contaminada con Pb (Caserío Mar de Plata)



**Figura 14.** Colección de suelo contaminado con Pb.



**Figura 15.** Llenado de suelo contaminado con Pb. en sacos.



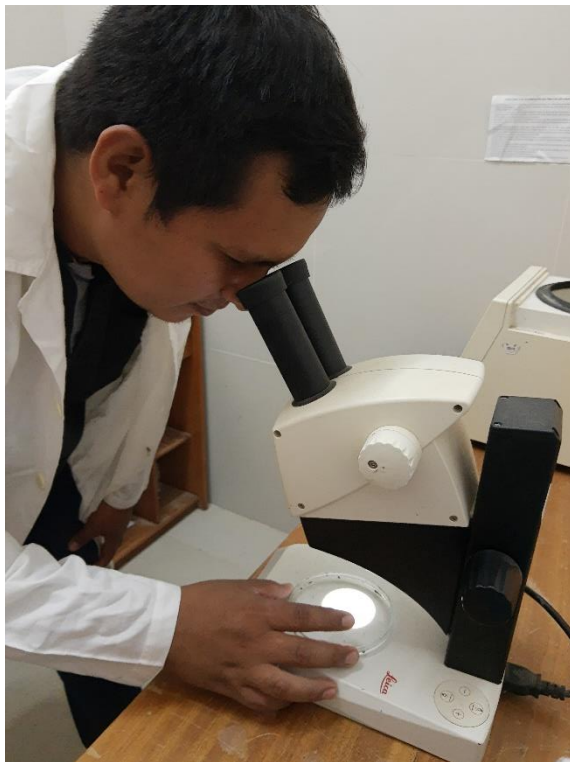
**Figura 16.** Colocado del sustrato para la esterilización.



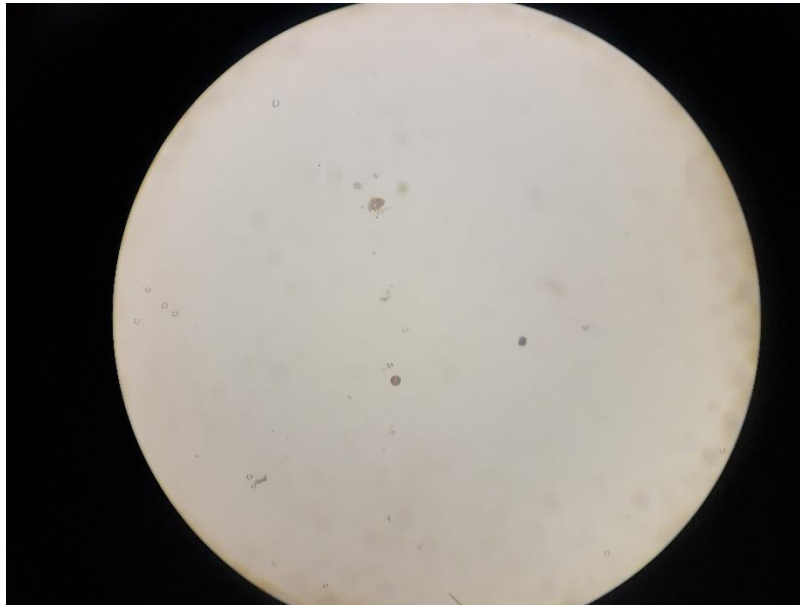
**Figura 17.** Esterilización del sustrato a baño María.



**Figura 18.** Preparación de muestra de sustrato para observar en el Estereoscopio.



**Figura 19.** Colocación de la muestra en el estereoscopio.



**Figura 20.** Presencia de micorrizas nativas.



**Figura 21.** Pesado de las arcillas volcánicas que contiene el *Glomus intrarradices*.



**Figura 22.** Inoculación del hongo *Glomus intrarradices* y siembra.



**Figura 23.** Instalación de todo el experimento



**Figura 24.** Plantón micorrizado por *Glomus intrarradices*.



**Figura 25.** Raíz micorrizado por *Glomus intrarradices*.