

# Respuesta micorrizal de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad FSV-094 a la aplicación de diferentes inóculos micorrizales

## Response of cocoa seedlings (*Theobroma cacao* L.) variety FSV-094 to mycorrhizal inoculation under nursery conditions

Jorge A. Sierra-Escobar<sup>1</sup>, Hyeraldy Murcia-Morales<sup>1</sup>

Recibido para publicación: 26 de mayo de 2022 - Aceptado para publicación: 20 de junio de 2022

### RESUMEN

Se realizó un experimento en invernadero con el fin de evaluar la respuesta de plántulas cacao (*Theobroma cacao* variedad FSV-094) a la aplicación de inóculos micorrizales, para el efecto se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con cuatro tratamientos, tres fuentes de inóculos multiesporicos micorrizales comerciales, Ab (*Glomus* spp, *Scutellospora* spp y *Entrophospora* spp), Bs (*Glomus* spp, *Acaulospora* spp, *Entrophospora* spp, y *Scutellospora* spp) y BI (*Rhizophagus irregularis*, *R. clarus*, *R. aggregatus*, *R. proliferum* y *Claroideoglossum etunicatum*), más el control (sin inocular). Cada tratamiento se estableció en el mismo suelo que fue ajustado 0,02 mg L<sup>-1</sup> de fósforo (P). Se emplearon como variables respuesta la masa seca aérea (MSA), la masa seca de raíces (MSR), la colonización micorrizal, el contenido de P foliar, y la respuesta micorrizal fueron evaluados. Los resultados indicaron que todos los inóculos presentaron colonización, los mejores tratamientos fueron Ab y Bs con valores de 27 y 28% respectivamente, aunque no hubo diferencias significativas, los tratamientos Ab y Bs siempre estuvieron con valores por encima en cuanto a MSA (3,4 y 3,7 g) y P foliar (0,25 y 0,2%). En cuanto a respuesta micorrizal, se encontró que cuando se inoculó con Bs y Ab la respuesta fue moderada (25 - 50%), y con BI marginal (≤ 24%). Queda claro que el uso de HMA comerciales puede derivar en una respuesta diferencial de *T. cacao* variedad FSV-094, por lo cual se sugiere realizar una evaluación al inóculo micorrizal en relación con el genotipo antes de utilizarlo masivamente para la producción de plántulas de cacao bajo invernadero.

**Palabras clave:** Fósforo; Hongos micorrízico arbusculares (HMA); Respuesta micorrizal.

<sup>1</sup>Universidad Católica de Oriente. Rionegro, Antioquia, Colombia.

\*Autor para correspondencia: Jorge A. Sierra Escobar.

Email: [jsierra@uco.edu.co](mailto:jsierra@uco.edu.co)

### ABSTRACT

A greenhouse experiment was carried out to evaluate the mycorrhizal response of seedlings of cocoa (*Theobroma cacao* variedad FSV-094) to the application of different mycorrhizal inoculum. A complete randomized experimental design was used, with four treatments: three commercial mycorrhizal multisporic inoculum, Ab (*Glomus* spp, *Scutellospora* spp y *Entrophospora* spp), Bs (*Glomus* spp, *Acaulospora* spp, *Entrophospora* spp, y *Scutellospora* spp) y BI (*Rhizophagus irregularis*, *R. clarus*, *R. aggregatus*, *R. proliferum* y *Claroideoglossum etunicatum*), and the negative control (without inoculation). Each treatment was established in the same soil that was adjusted 0.02 mg L<sup>-1</sup> of phosphorus (P). Shoot and root dry weight (SDW y RDW), mycorrhizal colonization, leaf P content, and mycorrhizal response were measured. The results indicated that all the inoculum showed colonization, the best treatments were Ab and Bs with values of 27 and 28% respectively, although there were no significant differences, the Ab and Bs treatments always had higher values in terms of SDW (3,4 y 3,7 g) and leaf P (0,25 y 0,2%). Regarding to mycorrhizal response, it was found that when inoculated with Bs and Ab the response was moderate (25 - 50%), and with BI marginal (≤ 24%). The use of commercial AMF can lead to a differential response to *T. cacao* variety FSV-094, therefore, it is suggested to carry out an evaluation of the mycorrhizal inoculum in relation to the genotype before massively using it to produce cocoa seedlings under greenhouse.

**Key words:** Arbuscular mycorrhizal fungi; Mycorrhizal response; Phosphorus.

### Cómo citar

Sierra-Escobar, J.A. y Murcia-Morales, H. 2022. Respuesta micorrizal de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad FSV-094 a la aplicación de diferentes inóculos micorrizales. *Temas Agrarios* 27(1): 220-230  
<https://doi.org/10.21897/ta.v27i1.2975>



Temas Agrarios 2022. Este artículo se distribuye bajo los términos de la Licencia Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es>), que permite copiar, redistribuir, remezclar, transformar y crear a partir del material, de forma no comercial, dando crédito y licencia de forma adecuada a los autores de la obra.

## INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao*) tiene su origen en la cuenca alta del río Amazonas, en el triángulo formado entre Colombia, Ecuador y Perú, tuvo su florecimiento con los aztecas en Centroamérica y posteriormente fue llevado a Europa y el resto del mundo donde se masificó su consumo (Delgado-Ospina *et al.*, 2021). Los antepasados utilizaban el cacao para preparar bebidas, dulces y principalmente como dinero con el que se podía comprar otros productos. En la actualidad, entre 5 a 6 millones de pequeños agricultores de América Latina, África y Asia, producen cacao, lo que convierte a esta planta en pilar fundamental de la economía local (Nieves-Orduña *et al.*, 2021).

El cacao pertenece a la Familia Malvaceae de la especie *Theobroma cacao* L. Es un árbol de tamaño mediano (5-8 m) aunque puede alcanzar alturas de hasta 20 m cuando crece libremente bajo sombra intensa (Arvelo-Sánchez *et al.*, 2016). Las hojas son simples, alternas, enteras y de color verde bastante variable (color café claro, morado o rojizo, verde pálido). Las flores y frutos son caulinares, se observan en racimos pequeños sobre tronco y ramas. El fruto tiene tamaño, color y formas variables, pero generalmente tienen forma ovalo alargado, de 30 cm de largo y 10 cm de diámetro, siendo lisos o acostillados (FEDECACAO, 2014).

Según FEDECACAO, Colombia tiene tres tipos de cacao (criollos, forasteros o amazónicos, e híbridos), los criollos son cacaos de buen sabor y aroma, pero susceptibles a plagas y enfermedades, los forasteros tienen menor calidad en sabor y aroma, y son amargos, y los híbridos tienen mayor productividad y mejor respuesta en cuanto a plagas y enfermedades. En Colombia se ha producido cacao fino y de aroma acumulado por años (Gómez *et al.*, 2020), siendo una parte fundamental en la dieta desde entonces; además, ha sido importante en la producción y exportación en América Latina durante las últimas

décadas, dando como resultado avances en cuanto a la calidad de las semillas, que lo ha posicionado como uno de los mejores en el mercado internacional (Vargas-Álvarez, 2018).

Desde el punto de vista agronómico, es habitual, por parte de los productores e investigadores, utilizar microorganismos benéficos para mejorar el rendimiento y sanidad de los cultivos de cacao (Eris *et al.*, 2022; Nasaruddin y Ridwan, 2018; Oladele, 2015; Padjung *et al.*, 2019). Dentro de este grupo de microorganismos se encuentran los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), los cuales son ampliamente utilizados, porque generan un mejor desarrollo de la planta, debido a que ayudan a la toma de agua y nutrientes (Abarca, *et al.*, 2020; Ramirez *et al.*, 2016), además, inducen resistencia sistémica contra patógenos y condiciones ambientales severas (Delgado-Ospina *et al.*, 2021).

A pesar de la cantidad de estudios reportados en la literatura, en donde se presentan los beneficios de los HMA en cacao (Ballesteros-Possú *et al.*, 2004; Delgado-Ospina *et al.*, 2021; Eris *et al.*, 2022; Leblanc y Márquez, 2014; Ramirez *et al.*, 2016; Tuesta-pinedo *et al.*, 2017; Wagner *et al.*, 2021). Por lo general, estos estudios no especifican la relación de los HMA diferenciando la variedad o clon de cacao evaluada. Esto es muy importante porque la respuesta benéfica al hongo puede cambiar de una variedad a otra (Leblanc y Márquez, 2014) o de un inóculo de HMA a otro. En este sentido, Brundrett y Tedersoo (2018) sugieren, que los nuevos linajes de las plantas no se comportan como los viejos linajes, lo que podría generar cambios la relación simbiótica micorrizal. Además, para Walker y Trappe (1993) los HMA no tienen un mecanismo de reconocimiento de un grupo taxonómico de plantas en especial y aunque se pensaba que estos hongos eran generalistas, existe cierta afinidad entre planta y hongo por lo que se forma una simbiosis diferencial (Lovera y Cuenca, 2007; Vandenkoornhuyse *et al.*, 2002).

Existen en la literatura, diferentes formas de medir la relación de las plantas con los HMA, la más conocida es la dependencia micorrizal, que es definida como el grado en el cual una especie de planta depende de la condición micorrizal para alcanzar su máximo crecimiento o producción con base en tres concentraciones de fósforo (P) (0,002; 0,02 y 0,2 mg L<sup>-1</sup>) (Plenchette *et al.*, 1983), a partir de la metodología propuesta por Plenchette, Habte y Manjunath (1987) han propuesto clasificar la dependencia micorrizal en cinco categorías (independiente, marginal, moderada, alta, y muy alta). Otra forma de medición es la respuesta micorrizal, la cual es muy similar a la dependencia, la diferencia radica en que la respuesta micorrizal solo tiene en cuenta un nivel de P (0,02 mg L<sup>-1</sup>). Estas metodologías, han sido utilizadas previamente en Colombia por diferentes investigadores en especies de plantas de uso agrícola y forestal (Jaramillo y Osorio, 2009; Gonzalez y Osorio, 2008; Sierra *et al.*, 2015), lo que ha contribuido a una mejor utilización de los HMA.

Por lo anterior, lo que se busca en el presente estudio es determinar la respuesta de Cacao (*Theobroma cacao* variedad FSV-094) a la aplicación de diferentes inóculos micorrizales. Se resalta que, FSV-94 es una variedad de cacao nueva con desarrollos incipientes (no es un clon comercial), que tiene su origen en el departamento de Santander, municipio de San Vicente de chucuri, se ha perfilado con buen potencial en cuanto a rendimiento por planta, calidad del grano, resistencia a plagas y enfermedades, y destacadas propiedades organolépticas.

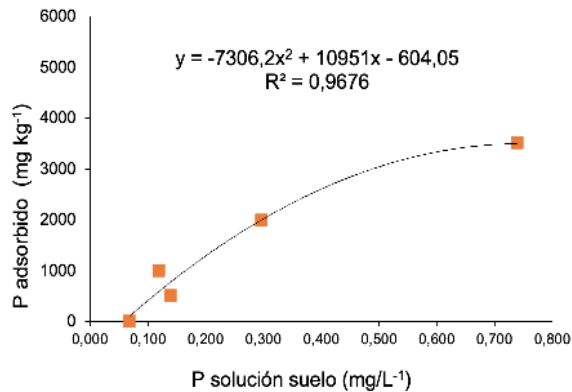
## MATERIALES Y MÉTODOS

**Localización.** El experimento principal y la técnica del NMP (número más probable de propágulos micorrizales infectivos) se realizaron en la finca las Mercedes perteneciente a la Universidad Católica de Oriente (6° 1'

32,3" N, 75° 10' 4,5" W, altitud de 1259 m), la cual está ubicada en el municipio de Cocorna (Antioquia - Colombia). Presenta una temperatura promedio 24°C y precipitación promedio anual de 4.200 mm, el sitio se encuentra ubicado en una zona de vida bosque húmedo premontano (Holdridge, 1967).

**Sustrato de crecimiento.** Como sustrato se utilizó suelo para todos los experimentos, el cual fue colectado de un perfil superficial de un inceptisol de la finca cacaotera La Porfía, ubicada en el municipio de San Vicente de Chucuri (Santander). Al cual se le realizó, análisis fisicoquímico de suelos en los laboratorios de la Universidad Católica del Oriente. Cuyos resultados fueron: Arena 56 %, Limo 30 %, Arcilla 14 %, textura Franco Arenoso (Boyucos), pH 7,0; materia orgánica 7,4 % (Por ignición); Calcio, Magnesio y Potasio, 19,61, 3,81 y 0,41 cmolckg<sup>-1</sup> respectivamente (acetato de amonio 1M, pH 7), Al 0,0 cmolckg<sup>-1</sup> (KCl 1M); Fosforo 97,76 mg kg<sup>-1</sup> (Bray II), Azufre 2,41 mg kg<sup>-1</sup> (Fosfato de Calcio 0,008M), Hierro, Manganeso, Cobre y Zinc 28, 33,7, 1,11 y 20,43 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente (Olsen modificado); Boro 0.83 mg kg<sup>-1</sup> (Agua caliente); Nitrato 112 mg kg<sup>-1</sup> (Sulfato de Aluminio 0,025M); Capacidad Intercambio Catiónico 24,26 cmolckg<sup>-1</sup>, conductividad eléctrica C.E 0,2506 dS/m. Este suelo se mejoró químicamente y se utilizó como materia prima tanto para el experimento principal como para la técnica del número más probable (NMP), que se explicará más adelante.

Para la adición de P, se realizó una isoterma de adsorción de P de acuerdo con método de Fox y Kamprath (1970) cuyos resultados se muestran en la (figura 1). De acuerdo con el resultado de la isoterma, se aplicó por cada kg de suelo 0,49 g de roca fosfórica, esto permitió llevarlo a 0,02 mg L<sup>-1</sup> (concentración ideal para la asociación micorrizal) (Habte y Osorio, 2001).



**Figura 1.** Isoterma de adsorción de fósforo *P* para la adicción de este elemento a los experimentos.

El suelo fue esterilizado en autoclave a 120 °C y 0,1 MPa, por una hora, proceso que se repitió a las 24 horas, esto con el fin de realizar un mejor vacío biológico.

**Material vegetal.** Las semillas de cacao variedad FSV-094 fueron obtenidas de la misma finca cacaotera de donde se extrajo el suelo. Las semillas fueron extraídas del fruto una vez cosechado, estas se limpiaron con aserrín para retirar el mucilago y se dejaron en este medio por 5 días, y en ausencia de luz hasta su pregerminación. Posteriormente, se sembraron las semillas cuando la radícula tuvo una longitud aproximada de 3 mm.

**Inóculos e inoculación con HMA.** Los inóculos de HMA, corresponden a tres sepas crudas procedentes de empresas comerciales. Sus características son: cepa Ab su presentación es sólida, y de acuerdo con el productor contiene los géneros *Glomus* spp, *Scutellospora* spp y *Entrophospora* spp. Inóculo Bs la presentación también es sólida y de acuerdo con su ficha técnica, está compuesta por los géneros *Glomus* spp, *Acaulospora* spp, *Entrophospora* spp, y *Scutellospora* spp. El último Inóculo evaluado fue BI, su presentación es líquida, compuesto por las especies *Rhizophagus irregularis*, *R. clarus*, *R. aggregatus*, *R. proliferum* y *Claroideoglomus etunicatum*.

Para conocer la calidad de los inóculos, todos fueron evaluados con la técnica del número más probable (NMP) de propágulos micorrizales infectivos propuesta por Porter (1979) para micorrizas, por un periodo de 60 días, para lo cual se emplearon las diluciones sugeridas por dicho autor (10<sup>-1</sup> a 10<sup>-5</sup> con 5 repeticiones por dilución), el sustrato para esta evaluación fue el mismo que para el experimento principal, mencionado anteriormente. Además se utilizó como especie indicadora *Leucaena leucocephala* var. K11 por ser altamente dependiente de la asociación micorrizal (Habte y Manjunath, 1987). De acuerdo con Habte y Osorio (2001), para que exista una buena colonización, se requiere como mínimo de 4 a 8 propágulos por gramo de suelo, en la práctica esto equivale a 50 g de inóculo por kilogramo de suelo o sustrato. En el presente estudio, para los inóculos sólidos, (Ab y Bs) se aplicarán 50 g de inóculo por unidad experimental. En el caso del inóculo líquido (BI) se siguieron las recomendaciones del fabricante, en las cuales se diluyen 3 ml del inóculo en un litro de agua, y se le aplicará a cada unidad experimental 50 ml de la solución. El NMP encontrado en los diferentes inóculos fue: BI (líquida) 2,6 propágulos/g/suelo, Bs (sólida) 2,7 propágulos/g/suelo y Ab (sólida) 3,6 propágulos/g/suelo.

Una vez evaluados los inóculos y con las semillas pregerminadas de cacao, se procedió al montaje del experimento principal.

**Diseño experimental.** El diseño experimental fue completamente al azar, con cuatro tratamientos y seis repeticiones por tratamiento. Para un total de 24 unidades experimentales. Los tratamientos estuvieron compuestos por tres inóculos comerciales multiesporicos, y el control (sin inóculo micorrizal) (tabla 1), a los cuales se les sembró una semilla pregerminada de cacao.

**Tabla 1.** Descripción de los tratamientos de micorrizas aplicados a semillas de cacao FSV 094.

Tratamientos	Composición
T1	<b>Ab</b> (solido) <i>Glomus</i> spp, <i>Scutellospora</i> spp y <i>Entrophospora</i> spp.
T2	<b>BI</b> (liquido) <i>Rhizophagus irregularis</i> , <i>R. clarus</i> , <i>R. aggregatus</i> , <i>R. proliferum</i> y <i>Claroideoglomus etunicatum</i>
T3	<b>Bs</b> (Solido) <i>Glomus</i> spp, <i>Acaulospora</i> spp, <i>Entrophospora</i> spp, y <i>Scutellospora</i> spp.
T4	<b>To</b> (control) solo sustrato sin inocular

La unidad experimental correspondió a una plántula de cacao FSV.094 sembrada en un recipiente de 945 ml de poliestireno que contenían 930g de suelo previamente ajustado y marcado de acuerdo con el tratamiento. Posteriormente, cada pote se colocó en una base con el fin de adicionar la solución nutritiva Hoagland (nutrientes NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub>, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub> y micronutrientes H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, MnCl<sub>2</sub>, ZnSO<sub>4</sub>, CuSO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, Fe EDTA) semanalmente y el agua por capilaridad.

### Variables de Respuesta

#### Masa seca aérea (MSA) y de raíces (MSR):

A los 90 días después de la siembra se cosecharon las plantas de cada unidad experimental, se llevaron al laboratorio, donde se cortó la parte aérea a nivel del cuello de la raíz, y se extrajeron las raíces del suelo. Posteriormente, se llevaron al horno para secar el material vegetal a una temperatura de 60 °C por un periodo de tiempo de 72 horas, posteriormente se pesó cada unidad experimental y se registraron datos para determinar la masa seca tanto aérea como radicular.

**Colonización micorrizal:** de parte de las raíces y antes de llevarlas al horno, se tomaron submuestras de raíces finas de cada planta. La cantidad mínima de raíces obtenida fue 0,6 g. Seguidamente, se colocaron en recipientes plásticos de 50 ml en

donde se sumergieron en una solución de KOH al 10% durante 24 h, lo que permitió vaciar el contenido citoplasmático (Phillips y Hayman, 1970), se acidificaron con HCl y luego se tiñeron con fucsina ácida al 0,15% en ácido láctico de acuerdo con la metodología propuesta por (Kormanik *et al.*, 1980). Finalmente, la colonización micorrizal se determinó por el método del intercepto de cuadrícula propuesto por Giovannetti y Mosse (1980).

**Contenido de P foliar:** también en el momento de la cosecha del experimento, se realizó la medición del contenido de P foliar, por medio de la metodología propuesta por Habte y Osorio (2001). Para esto se tomó una porción circular de hojas jóvenes totalmente formadas del tejido foliar con un perforador (6 mm de diámetro). El contenido de P se expresó en términos de µg por disco de hoja. El P fue determinado por el método del azul de molibdato (Murphy y Riley, 1962) luego de reducir los discos de hoja a cenizas en mufla a 500°C por 3 h. Este método de muestreo fue originalmente propuesto por Aziz y Habte (1987).

**Respuesta micorrizal:** con los datos obtenidos de masa seca aérea, se determinó la respuesta micorrizal usando para ello la fórmula propuesta por Plenchette *et al.* (1983), es de aclarar, que esta fórmula es utilizada para dependencia micorrizal, pero se puede usar para los resultados de respuesta micorrizal, la cual se presenta con la siguiente fórmula:

$$DM = \frac{MSA_{\text{plantas inoculadas}} - MSA_{\text{plantas sin inoculo}}}{MSA_{\text{plantas inoculadas}}} \times 100$$

Donde DM es dependencia micorrizal (que equivale para la presente investigación a respuesta micorrizal) y MSA es masa seca aérea.

Además, para categorizar la respuesta micorrizal de las plántulas de cada tratamiento, y

con el resultado de la fórmula de Plenchete, se utilizó la clasificación propuesta por Habte y Manjunath (1991), que como se mencionó presenta cinco categorías (independiente, marginal, moderada, alta, y muy alta).

**Análisis de datos:** Se realizaron análisis estadísticos y se comprobaron los supuestos, para verificar que los residuos estandarizados se distribuyan normalmente con media cero y varianza uno, se graficaron los residuos estandarizados con la variable independiente. Los datos fueron sometidos a la prueba de rangos múltiples de Tukey, para lo cual se empleó un nivel de significancia  $P \leq 0,05$ . Para estos análisis se utilizó el paquete estadístico JAMOV versión 2,2.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ninguna de las variables respuesta presentaron diferencias estadísticas cuando se les aplicó la prueba de Tukey, ( $P \leq 0.05$ ).

A pesar de esto, los inóculos sólidos (Bs y Ab) siempre estuvieron con valores por encima. Al analizar la masa de las plántulas, el promedio en MSA de Bs y Ab fue de 3,6 g y para los demás los tratamientos de 2,5 g. Además, la MSR fue de 2,6 para Ab. Los demás tratamientos arrojaron valores por debajo de 1,3 g. La mayor colonización micorrizal se dio en las plantas de los tratamientos Bs y Ab con porcentajes de 27 y 28 % de raíces colonizadas, respectivamente. La micorriza líquida (BI) obtuvo el menor porcentaje de colonización con un 12,2%, y To (control sin inocular) no se encontró colonización (tabla 2).

Los inóculos utilizados fueron Ab (*Glomus* spp, *Scutellospora* spp y *Entrophospora* spp), BI (*Rhizophagus irregularis*, *R. clarus*, *R. aggregatus*, *R. proliferum* y *Claroideoglossum etunicatum*), Bs (*Glomus* spp, *Acaulospora* spp, *Entrophospora* spp, y *Scutellospora* spp), To (control). N: repeticiones. SD; desviación estándar, (Shapiro-Wilks  $W=0.92$ ,  $p=.13$ ). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

**Tabla 2.** Colonización micorrizal, masa seca aérea en gramos MSA y masa seca de raíces en gramos MSR, en plantas de cacao variedad FSV-094, 90 días después de ser tratadas con diferentes cepas de micorrizas.

Variables	Tratamientos	N	Media	SD	Mínimo	Máximo	Shapiro-Wilk	
							W	p
Colonización	Ab	5	26,853 (a)	13,3932	3,2258	36,082	0,709	0,012
	BI	6	7,686 (a)	12,3538	0,0000	28,261	0,704	0,007
	Bs	6	28,578 (a)	3,2992	24,2424	33,000	0,970	0,890
	To	6	0,000	0,0000	0,0000	0,000	NaN	NaN
MSA	Ab	6	3,471 (a)	2,3311	0,5810	6,500	0,917	0,483
	BI	6	2,522 (a)	2,3247	0,1070	5,756	0,912	0,448
	Bs	6	3,765 (a)	2,0014	1,2710	5,766	0,826	0,100
	To	5	2,443 (a)	2,0896	0,0180	4,929	0,930	0,599
MSR	Ab	6	2,650 (a)	2,1705	0,6000	6,500	0,889	0,314
	BI	6	1,350 (a)	1,2771	0,2000	3,500	0,881	0,273
	Bs	6	1,117 (a)	1,1089	0,2000	2,800	0,842	0,136
	To	6	1,112 (a)	1,2498	0,0700	3,200	0,799	0,058

Los inóculos utilizados fueron Ab (*Glomus* spp, *Scutellospora* spp y *Entrophospora* spp), BI (*Rhizophagus irregularis*, *R. clarus*, *R. aggregatus*, *R. proliferum* y *Claroideoglossum etunicatum*), Bs (*Glomus* spp, *Acaulospora* spp, *Entrophospora* spp, y *Scutellospora* spp), To (control). N: repeticiones. SD; desviación estándar, (Shapiro-Wilks  $W=0,92$ ,  $p=.13$ ). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Los promedios de colonización aquí obtenidos coinciden con los datos de Ballesteros-Possú *et al.* (2004) en los cuales la colonización micorrizal de sus diferentes tratamientos en cacao, varió entre el 14 y 32%. Además, la baja colonización de BI puede ser debida a la poca afinidad de las especies de HMA presentes en este inóculo con las plantas de cacao, esto es consistente con lo presentado por Leblanc y Marquez (2014) donde encontraron porcentajes de colonización diferencial al utilizar diferentes clones de cacao inoculados con *Glomus intraradices*.

El *P foliar*, tuvo igual comportamiento a la MSA, ya que, en promedio Bs y Ab fue de 3,7 (ug /disco) contrario a los tratamientos BI y To que presentaron valores entre 3,1 y 3,5 respectivamente (tabla 3).

La concentración de *P foliar*, estuvo en el rango sugerido en la literatura para cacao en todos los tratamientos (tabla 3), incluso los tratamientos Ab y Bs estuvieron con porcentajes mayores (0,25 y 0,19% respectivamente), posiblemente por el efecto positivo de los HMA. De acuerdo con Osorio (2014) la concentración de *P foliar* adecuada para cacao debería estar entre 0,15 y 0,18%.

**Tabla 3.** Efecto de diferentes fuentes micorrizales en el contenido fósforo foliar ug /disco de hoja de cacao de la variedad FSV-094, 90 días después de su inoculación.

Variables	Tratamientos	N	Media	SD	Mínimo	Máximo	Shapiro-Wilk	
							W	p
P.ug/disco	Ab	5	3,737 (a)	1,2415	2,0626	5,339	0,966	0,851
	BI	5	3,167 (a)	0,9383	2,1839	4,307	0,912	0,479
	Bs	5	3,749 (a)	1,7284	1,5773	5,642	0,937	0,643
	To	5	3,519 (a)	1,2962	2,0019	5,096	0,916	0,504
Concentra P	Ab	5	0,259 (a)	0,1203	0,1086	0,411	0,978	0,925
	BI	5	0,167 (a)	0,0506	0,1092	0,239	0,973	0,893
	Bs	5	0,200 (a)	0,0714	0,0876	0,269	0,911	0,476
	To	5	0,163 (a)	0,0534	0,1001	0,222	0,894	0,378

Los inóculos utilizados fueron Ab (*Glomus* spp, *Scutellospora* spp y *Entrophospora* spp), BI (*Rhizophagus irregularis*, *R. clarus*, *R. aggregatus*, *R. proliferum* y *Claroideoglomus etunicatum*), Bs (*Glomus* spp, *Acaulospora* spp, *Entrophospora* spp, y *Scutellospora* spp), To (control). N: repeticiones. SD; desviación estándar, (Shapiro-Wilks W=0,92, p=.13). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

En cuanto a la respuesta micorrizal, y después de aplicar la fórmula de Plenche y las categorías propuestas por Habte y Manjunath (1991) a la MSA.

Se encontraron dos tendencias definidas, los tratamientos Ab y Bs obtuvieron una respuesta moderada, por el contrario, BI fue marginal con una respuesta micorrizal muy por debajo del 25% (tabla 4).

**Tabla 4.** Respuesta micorrizal con base en MSA de plántulas de cacao FSV-94, 90 días después de ser inoculadas con diferentes; fuentes micorrízicas.

Tratamiento	MSA	Plenche	Categoría
Ab	3,5	29,6	Moderada
Bs	3,8	35,1	Moderada
BI	2,5	3,1	Marginal

Tratamientos: Ab = *Glomus* spp, *Scutellospora* spp y *Entrophospora* spp; Bs = *Glomus* spp, *Acaulospora* spp, *Entrophospora* spp, y *Scutellospora* spp. ; BI = *Rhizophagus irregularis*, *Rt. clarus*, *R. aggregatus*, *R. proliferum* y *Claroideoglomus etunicatum*

Estos resultados explican que además de la variedad, tal como fue presentado en los trabajos de Leblanc y Márquez (2014) y Oyeneiyin (2018), en donde las variedades de cacao utilizadas respondieron de forma diferencial a la inoculación micorrizal. El inóculo micorrizal y las especies de HMA contenidas en él, podrían también generar una respuesta distinta a la inoculación (Tabla 3).

Esto se evidencia claramente en el tratamiento BI (inóculo micorrizal líquido), el cual, cuando fue evaluado con la técnica del NMP presentó 2,6 propagulos/g/suelo, suficientes para generar respuesta en las plántulas de cacao, lo cual no se evidenció en los resultados, se destaca que en la técnica del NMP se utilizó como planta hospedera *L. leucocephala* que es una especie altamente dependiente de la condición micorrizal.

Finalmente, se pudo apreciar que existe una relación entre el inóculo utilizado y la variedad o clon de cacao utilizado, para el presente experimento la variedad de cacao FSV-094, se comportó diferencialmente dependiendo de las especies de HMA aplicadas. Dando como resultado respuesta entre marginal y moderada. Lo mismo le ocurrió a Leblanc y Márquez (2014), pero con un mismo inóculo (*R. irregularis* antes *G. intraradices*) y diferentes clones de cacao, estos autores también aplicaron la fórmula de Plenchete y encontraron respuesta marginal y moderada. Esto quiere decir que, en la práctica, se deben evaluar varios inóculos micorrizales en la variedad de cacao de interés, antes de la propagación masiva de plántulas en vivero. Esto potenciaría la respuesta del inóculo, generando todas las ventajas de los hongos micorrizo arbusculares en la planta.

## CONCLUSIONES

Las plántulas de cacao, variedad FSV-094, respondieron positivamente a las diferentes fuentes de micorrizas empleadas; siendo los mejores tratamientos Ab con 27% y Bs con 28% de colonización, dando respuesta en el desarrollo de la plántula de categoría moderada, manifestándose en el incremento de la materia seca aérea.

## RECOMENDACIONES

Aunque no existieron diferencias estadísticas, los tratamientos Bs y Ab tuvieron los valores más altos en cuanto a MSA (3,7 y 3,4) y P foliar (0,26 y 0,2 %), es decir los inóculos sólidos, en la práctica esto representaría un aumento promedio de 31% en biomasa, lo que beneficiaría al productor.

## Agradecimientos

Agradecemos a la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Católica de Oriente, por la financiación del presente proyecto. Además, del grupo de Estudios Florístico y la Unidad de Sanidad Vegetal de la misma universidad por todo el apoyo prestado. También, agradecemos a las empresas BIOQUIRAMA SAS y ABONAMOS SAS por el suministro de los inóculos micorrizales. Los cuales fueron de gran utilidad para el montaje del experimento.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que es un trabajo original y no existió conflicto de intereses de ningún tipo en la elaboración y publicación del manuscrito.



## REFERENCIAS

- Abarca, X. A. y Gómez, S. E. 2020.** Efecto de la inoculación de micorrizas benéficas Mycoral® en patrones de cacao (*Theobroma cacao* L.) En la etapa de desarrollo vegetativo. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras, 19 p,
- Arvelo-Sánchez, M. Á., Delgado, T., Maroto, S., Rivera, J., Higuera, I. y Navarro, A. 2016.** Estado actual sobre la producción y el comercio del cacao en América.
- Aziz, T. and M. Habte. 1987.** Determining vesicular-arbuscular micorrizal effectiveness by monitoring P status of leaf disk. *Can. J. Microbiol*, 33: 1097-1101
- Ballesteros-Possú W., Unigarro A., Cadena-Ortega C.E. y Cadena-Ortega J. A. 2004.** Evaluación de hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares (MVA) en la etapa de almacigo de cacao (*Theobroma cacao* L.), en Tumaco, Nariño. *Revista de Ciencias Agrícolas - Volumen XXI - número I - II* .19 p
- Brundrett, M.C. and Tedersoo, L. 2018.** Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global plant diversity. *New Phytologist* 220:1108-1115.
- Delgado-Ospina, J., Molina-Hernández JB., Chaves-López, C., Romanazzi, G. and Paparella, A. 2021.** The role of fungi in the cocoa production chain and the challenge of climate change. *Journal of Fungi*, 7(3), 202  
Doi: [10.3390/jof7030202](https://doi.org/10.3390/jof7030202)
- Eris, F.R., Maida, H., Hastuti, D. and Denny, Y. R. 2022.** Effect of biofertilizer formulation with addition of consortium of microbes and biosurfactant DEA palm olein to growth of cacao seedling. *IOP Conference Series. Earth and Environmental Science*, 978(1).  
Doi: [10.1088/1755-1315/978/1/012013](https://doi.org/10.1088/1755-1315/978/1/012013)
- FEDECACAO. 2014.** Manual de buenas prácticas agrícolas BPA, en el cultivo del cacao. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Industrias Graficas.
- Fox, R. and Kamprath, E. 1970.** Phosphate sorption isotherms for evaluating the phosphate requirements of soils. *Soil Science Society of America Proceedings*, 34: 902-907.
- Giovannetti, M. and Mosse, B. 1980.** An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol*, 84: 489-500
- Gómez, S.R., Acevedo, L.J.G. and Guio, J.J.G. 2020.** Evaluación de la eficiencia de micorrizas arbusculares y plantas de vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) como agentes fitorremediadores para la reducción de cadmio en cultivos de cacao de la granja del centro de atención al sector agropecuario-SENA. *Revista INNDECOMM*, Volumen 2. 97-101
- Gonzalez, O. y Osorio, N.W. 2008.** Determinación de la dependencia micorrizal en lulo. *Acta biol. Colomb.*, Vol. 13 No. 2, 163 – 174.
- Habte, M. and Manjunath, A. 1987.** Soil solution phosphorus status and mycorrhizal dependency in *Leucaena leucocephala*. *Applied and Environmental Microbiology*, 53: 797-801.
- Habte, M. and Osorio, N.W. 2001.** Arbuscular Mycorrhizas: Producing and applying Arbuscular Mycorrhizal Inoculum. University of Hawaii, Honolulu, 47 p.
- Holdridge, L.R. 1967.** Life zone ecology. Tropical Science Center. San José de Costa Rica. (ed. rev.) 206 pp.

- Jaramillo, S. and Osorio, W. 2009.** Mycorrhizal dependency of coffee seedling at different levels of soil solution phosphorus. *Suelos Ecuatoriales* 39 (1): 100-10
- Kormanik, P.P., McGraw, A.C. and Schultz, R.C. 1980.** Procedure and equipment for staining a large number of plant samples for endomycorrhizal assay. *Can. J. Microbiol*, 26: 536-538
- Leblanc, H.A. y Márquez, E. 2014.** Efecto de los hongos formadores de micorrizas arbusculares en el desarrollo de plantas de cacao en vivero. *Tierra Tropical*. 10(2): 191-200.
- Lovera, M. y Cuenca, G. 2007.** Diversidad de hongos micorrizico arbusculares (HMA) del suelo de una sabana natural y sabana perturbada de la Gran Sabana. Venezuela. *Interciencia*. 32(2), 108-114.
- Murphy, J. and Riley, J.P. 1962.** A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27:31-35.
- Nasaruddin, and Ridwan, I. 2018.** Effectivity of azotobacter chroococcum and arbuscular mycorrhiza fungi on physiological characteristics and growth of cocoa seedlings. IOP Conference Series. *Earth and Environmental Science*, 157(1)  
Doi: [10.1088/1755-1315/157/1/012014](https://doi.org/10.1088/1755-1315/157/1/012014)
- Nieves-Orduña, H. E., Müller, M., Krutovsky, K. V. and Gailing, O. 2021.** Geographic patterns of genetic variation among cacao (*Theobroma cacao* L.) populations based on chloroplast markers. *Diversity*, 13(6), 249.  
Doi: [10.3390/d13060249](https://doi.org/10.3390/d13060249)
- Oladele, S.O. 2015.** Mycorrhizal fungus (*Glomus mossae*) inoculation effects on performance and root biomass development of cacao seedlings in the nursery. *Agriculture & Forestry*, 61 (3): 69-76.  
Doi: [10.17707/AgricultForest.61.3.07](https://doi.org/10.17707/AgricultForest.61.3.07)
- Osorio, N.W. 2014.** Manejo de suelo del trópico. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. Editorial L. Vieco SAS. 411 pp.
- Oyeneyin, E. 2018.** Effects of Watering Regime and Mycorrhizal Inoculation on Seedling Growth and Drought Tolerant Traits of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Varieties. *International Journal of Horticulture* ; Richmond 8(13). 1-12
- Padjung, R., Saad, S.H., Bahrin, A.H. and I. Ridwan. 2019.** Growth and development of *Theobroma cacao* seedlings as a response to different dosages of vermicompost and arbuscular mycorrhizal fungi. *Earth and Environmental Science* 343: 012017IOP Publishing.  
doi:[10.1088/1755-1315/343/1/012017](https://doi.org/10.1088/1755-1315/343/1/012017)
- Phillips, J.M. and D.S. Hayman. 1970.** improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-161.
- Plenchette, C., Fortin, A. and Furlan, V. 1983.** Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant and Soil*, 70: 191-209.
- Porter, W. 1979.** The “Most Probable Number” method for enumerating infective propagules of vesicular arbuscular micorrizal fungi in soil. *Australian Journal of Soil Research*, 17: 515-519.

- Ramirez, J.G., Osorno, L. and Nelson, W. O. 2016.** Presence of mycorrhizal fungi and a fluorescent pseudomonas sp. in the rhizosphere of cacao in two agroecosystems and their effects on cacao seedling growth. *Agronomía Colombiana*, 34(3), 385-392:  
[10.15446/agron.colomb.v34n3.57950](https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n3.57950)
- Sierra-Escobar, J.A., Castro-Restrepo, D. and Osorio, W. 2015.** Mycorrhizal Dependency of Alcaparro (*Senna pistaciifolia* Kunth) at Three Concentrations of Soil Solution Phosphorus. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín* 68(1): 7451-7458.
- Tuesta-Pinedo, A.L., Trigozo-Bartra, E., Cayotopa-Torres, J.J., Arévalo-Gardini, E., Arévalo-Hernández, C.O., Zúñiga-Cernadez, L.B. y Leon-Ttacca, B. 2017.** Optimización de la fertilización orgánica e inorgánica del cacao (*Theobroma Cacao* L.) con la inclusión de Trichoderma endófito y Micorrizas arbusculares. 30 (1): 67-78.  
DOI: [10.18845/tm.v30i1.3086](https://doi.org/10.18845/tm.v30i1.3086)
- Vandenkoornhuyse, P., Husband, R., Daniell, I.J., Watson, J.M., Duck, M., Fitter, A.H. and Young, J.P.W. 2002.** Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in grassland ecosystem. *Mol. Ecol.* 1555 - 1564.
- Vargas - Álvarez, E.A. 2018.** La producción y las exportaciones de cacao colombiano entre 2007 y el 2016: desafíos para lograr mayor competitividad en el mercado internacional (Bachelor's thesis, Fundación Universidad de América).
- Wagner, B., Pimentel, E., Marcano, I., Kabe C., Colin, B. y Núñez P. 2021.** Identificación de micorrizas asociadas con el cultivo de cacao en la Estación Experimental Engombe de la UASD. *APF -Vol 10, (01):* 53 - 68
- Walker, C. and J.M. Trappe. 1993.** Names and epithets in the Glomales and Endogonales. *Mycological Research*, 97: 339-344.