COMPLEJOS MICORRÍCICOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE PLÁNTULAS DE CACAO (THEOBROMA CACAO L.)

MYCORRHIZAL COMPLEXES ASSOCIATED WITH THE CULTIVATION OF COCOA SEEDLINGS (THEOBROMA CACAO L.)

Evelin Beatriz Dorado Gutiérrez¹
 Humberto Robinson Gavilanes Muñoz²
 Ricardo Andrés Viera Aguilera³
 Fernando Javier Morejón Troya⁴
 Alex Francisco Bajaan Sánchez⁵

Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar los complejos micorrízicos asociados al cultivo de cacao. Se investigaron 5 tratamientos con 4 repeticiones, distribuidos en un diseño de bloques completamente al azar. Para la evaluación de medias se utilizó la prueba de Tukey al 5 % de significancia. A los 30, 60 y 90 días se evaluó la altura de planta, diámetro de tallo, longitud de hoja, emisión foliar, área foliar. A los 120 días se evaluó longitud de raíz, biomasa radical. Se realizaron análisis para determinar el porcentaje de colonización y conteo de esporas. Los resultados determinaron que la aplicación de Ecofungi en dosis de 3 g de sustrato/planta, aumentó el crecimiento con incrementos del 35 - 45 % con relación a los otros tratamientos. La aplicación de Ecofungi, influyó sustancialmente sobre el crecimiento y desarrollo de plántulas de cacao en vivero. Mayor diámetro de tallo se obtuvo aplicando Ecofungi en las plantas tratadas. Mayor área foliar se encontró con la aplicación de las cepas Ecofungi y Mycobacter. La longitud radicular fue mayor con la aplicación de la cepa Faciag. La biomasa radical fue mayor aplicando a las plántulas las cepas de micorrizas Faciag y Ecofungi. Mayor porcentaje de colonización se alcanzó con las cepas Faciag y Ecofungi. La mayor población de esporas se encontró aplicando la cepa Ecofungi. La correlación mostro un valor muy alto entre longitud radicular y porcentaje de colonización.

Palabras clave: Micorrizas, plántula, cacao, vivero, esporas.

Abstract

Recepción: 4 de Marzo de 2024 / Evaluación: 5 de Abril de 2024 / Aprobado: 6 de mayo de 2024

¹Ingeniera Agrónoma por la Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador. Técnico Agrícola. Email: doradoevelin@hotmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-6518-6072>.

²Magister en Agroecología y Agricultura Sostenibles por la Universidad Agraria del Ecuador. Docente en la Universidad Agraria del Ecuador campus Dr. Jacobo Bucaram Ortiz - Milagro. Email: hgavilanes@uagraria.edu.ec. ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-6518-6072>.

³Magister en Administración de Empresas mención en Sostenibilidad de Sectores por la Universidad Tecnológica ECOTEC. Docente en la Universidad Agraria del Ecuador campus Milagro Dr. Jacobo Bucaram Ortiz. Email: Rviera@uagraria.edu.ec. ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-6601-4854>.

⁴Magister en Manejo Forestal Sostenible por la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Docente en la Universidad Agraria del Ecuador campus Dr. Jacobo Bucaram Ortiz- Milagro. Email: fimorejon@uagraria.edu.ec. ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-7568-6655>.

⁵Ingeniero Agropecuario por la Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador. Candidate de la Maestría en Producción Animal, con Mención a Rumiantes y Monogástricos por la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario (Agrocalidad), Guayaquil,. Email: alex_junior17@outlook.es. ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-1871-552X>.

The objective of this research was to evaluate the mycorrhizal complexes associated with cocoa cultivation. 5 treatments with 4 repetitions were investigated, distributed in a completely randomized block design. To evaluate means, the Tukey test was used at 5% significance level. At 30, 60 and 90 days, plant height, stem diameter, leaf length, leaf emission, and leaf area were evaluated. At 120 days, root length and root biomass were evaluated. Analyzes were performed to determine the percentage of colonization and spore count. The results determined that the application of Ecofungi at a dose of 3 g of substrate/plant increased growth with increments of 35 - 45% in relation to the other treatments. The application of Ecofungi substantially influenced the growth and development of cocoa seedlings in the nursery. Greater stem diameter was obtained by applying Ecofungi to the treated plants. Greater leaf area was found with the application of the Ecofungi and Mycobacter strains. The root length was greater with the application of the Faciag strain. The root biomass was greater when applying the Faciag and Ecofungi mycorrhizal strains to the seedlings. The highest percentage of colonization was achieved with the Faciag and Ecofungi strains. The largest population of spores was found applying the Ecofungi strain. The rating shows a very high value between root length and percentage of colonization.

Keywords: Mycorrhizas, seedling, cocoa, nursery, spores.

Introducción

El cacao es uno de los cultivos más antiguos e importantes del mundo, siendo el cultivo que sostiene la economía de muchos países en el mundo. En Ecuador es el tercer rubro de exportación del PIB y el segundo en el PIB agrícola. Este cultivo de siembra en algo más de sesenta países, siendo consumido como alimento básico por más del 30 % de la población de cada uno de ellos. La cultura del cacao en Ecuador es antigua, se sabe que, a la llegada de los españoles en la costa del Pacífico, ya se observaban grandes árboles de cacao que demostraban el conocimiento y la utilización de esta especie en la región costera, antes de la llegada de los europeos (Anecacao, 2024).

Según el Ministerio de Agricultura y Ganadería de Ecuador, se cultivan alrededor de 543.546 hectáreas de cacao, de las cuales el 77 % se ubica en la costa, el 3 % en la sierra y el 10 % en la Amazonía; las mayores zonas productoras de cacao son Los Ríos con 117.929 hectáreas; Manabí con 105.479 hectáreas; y Guayas con 101.949 hectáreas (Freire y Díaz, 2022).

En el Ecuador actual se cultivan algunos tipos de cacao, pero la variedad conocida como NACIONAL es la más buscada entre los fabricantes de chocolate, por la calidad de sus granos y la finura de su aroma. Sin embargo, la llegada de enfermedades severas como la monoliosis o la escoba de bruja, hace unos 100 años, engendró la introducción masiva de cacao extranjero, proveniente particularmente de Venezuela. (Anecacao, 2024).

Estos cacaos se cruzaban con la variedad local, dando híbridos vigorosos y productivos, pero cuyos frutos tenían una calidad aromática menor que la original. Se pensó entonces que se debería poder encontrar los representantes de esta variedad ancestral, que se estaba paulatinamente perdiendo en el proceso de hibridación y poder así volver a recrear las variedades productivas con un gusto equivalente a la variedad nativa Nacional. El uso de fertilizantes es escaso o nulo, por lo que se ha visto otras alternativas, como el uso de abonos orgánicos y se tiene conocimiento que, hace 400 millones de años, las plantas desarrollaron una relación simbiótica con los hongos micorrízicos, una relación que en la actualidad sigue siendo crítica para la salud de las plantas. Las micorrizas son nativas de todos los suelos tropicales, y de todos los ecosistemas terrestres (Aguilar, 2024).

Los hongos micorrízicos son especies con la capacidad de colonizar el exterior o interior de las raíces de absorción de plantas, para obtener compuestos orgánicos esenciales. Las

micorrizas son capaces de absorber, acumular y transferir los principales macros y micro nutrientes, y el agua a la planta más rápidamente que las raíces sin micorrizas. Décadas de investigación muestran que las micorrizas incrementan la tolerancia de las plantas a la sequía, compactación, altas temperaturas del suelo, metales pesados, salinidad, toxinas orgánicas e inorgánicas y extremos de pH del suelo (Sieverding, 2017).

El principal beneficio que las plantas obtienen de las micorrizas es el incremento en la adquisición de nutrimentos de baja movilidad y disponibilidad como el fósforo. Sin embargo, los últimos estudios han demostrado, que el beneficio es más amplio y complejo, indicando que las plantas micorrizadas pueden tolerar ambientes adversos, bióticos y abióticos. Las micorrizas son deseables en suelos afectados por metales pesados, ya que se ha comprobado que, en suelos afectados por estos metales, las plantas micorrizadas poseen mayor resistencia, gracias a la capacidad que obtiene para inmovilizar los metales en la raíz, con lo cual impiden que dichos metales pasen a la parte aérea de la planta (Intagri, 2024).

Herrera et al. (2018), expresan que una asociación micorrízica parasítica se puede presentar en una condición o estado particular en el desarrollo de la asociación. Por ejemplo, la formación de micorrizas en árboles puede disminuir el crecimiento de las plántulas en las primeras semanas siguientes a la germinación, la extensión del periodo depende del tamaño de la semilla y de las condiciones ambientales desfavorables (por ejemplo, debido a altas aplicaciones de fósforo). La explicación de la extensión de la fase parasítica cuando las semillas son grandes, se debe, a que el carbono que el hongo requiere para su crecimiento proviene de las reservas de las semillas y las plántulas también dependen de estas reservas de carbono para crecer, ya que su capacidad fotosintética no es suficiente para mantener su crecimiento y el desarrollo del hongo.

Gosling (2020), señala que la micorriza tiene ventaja sobre la raíz no micorrizada por que el micelio externo se extiende a mayor distancia que los pelos radicales. Además, les imparten otros beneficios como: mejoran la agregación del suelo, incrementan la tasa fotosintética, reducen la proporción raíz: parte aérea, aumenta la actividad microbiológica del suelo, aumenta la fijación de nitrógeno por bacterias simbióticas, incrementa la resistencia a plagas y a estrés ambiental, estimula la actividad de sustancias reguladoras de crecimiento, aumenta la tolerancia a la sequía.

Según Castillo y Cueva (2019), en un estudio sobre caracterización de micorrizas se enfocaron a la clasificación morfológica de los hongos que forman este tipo y están asociadas a las raíces de tomate de árbol (*Solanum betaceum*, Solanáceas) especie endémica del sur del Ecuador, frecuentemente cultivada en los valles interandinos. La muestra de estudio fue colectada en dos cultivos de la ciudad de Loja. Se analizaron raíces de tomate de árbol de 5 individuos de la Estación Agroecológica Zamora Huayco y raíces de 10 individuos (*Solanum cajanumensis*) pertenecientes al Bosque de Santiago; bajo dos condiciones. Finas raíces de + 2 cm de longitud fueron teñidas con azul de metileno para estudiar anatomía de micelio. Microscopía de luz reveló visiblemente grandes cantidades de micelio, conexiones de la raíz colonizada, apresorios que se forman al penetrar a la raíz, vesículas con sus formas regulares e irregulares, coils, arbuscúlos con sus diversas formas y tamaño.

Estas características en combinación con el micelio supraradical y micelio intraradical permitieron identificar 15 morfotipos que recopilan caracteres indicativos de dos posibles géneros (*Glomus* y *Acaulospora*), predominando el género *Glomus* en plantas de tomate de árbol *Solanum cajanumensis*, en cambio los géneros *Glomus*, *Acaulospora* y *Scutellospora*, predominan en las plantas de tomate de árbol *Solanum betacea* (Castillo y Cueva, 2019).

La interacción de la micorriza y microorganismos implicados en el control biológico suponen una integración de mecanismos benéficos para la sanidad vegetal, lo cual se considera como principal objetivo en el campo de la sustentabilidad agrícola (Alarcon y Ferrara, 2000).

En toda simbiosis mutualista existe un beneficio para sus componentes, lo que permite su supervivencia por selección natural. Por un lado, la planta obtiene varios beneficios. Un incremento en la disponibilidad de nutrientes poco móviles, sobre todo fósforo (también Cu, Zn, K, Fe, Ca y otros), y una mejor captación y asimilación de nitrógeno. Pero la razón principal es que el micelio del hongo, normalmente muy ramificado, permite aumentar el volumen de suelo explotable (cada centímetro de raíz puede sostener varios metros de hifas). El hongo puede proteger a la planta frente al ataque de microorganismos patógenos (Universidad de Almería, 2024).

Poco estudio ha evidenciado el efecto de tienen las condiciones ambientales sobre el establecimiento de las HMA en diferentes ecosistemas. Los estudios realizados se convierten entonces en casos que muestran como ciertos parámetros físico-químicos (pH, Fósforo, Nitrógeno y sodio) de suelos de fincas ganaderas tienen un efecto sobre el establecimiento de HMA sobre raíces de cultivos. Es importante evaluar in situ, los efectos de condiciones ambientales sobre la colonización de estos microorganismos en diferentes nichos ecológicos con pasturas (CIRAD, 2020).

Las micorrizas son un recurso biológico, cuyo manejo y conservación, además de los efectos sobre la productividad vegetal, genera beneficios ambientales al mejorar las condiciones físico-químicas y biológicas del suelo. Los beneficios desde el punto de vista biológico, se derivan de su interacción con los diversos grupos de macro y microorganismos de la rizósfera, tales como aquellos implicados en el ciclaje de nutrientes (bacterias fijadoras de nitrógenos y los microorganismos solubilizadores de fosfatos). Así mismo, dichos hongos interactúan con hongos implicados en el control biológico de patógenos presentes en el suelo, demostrando que existen diferentes tipos de interacciones con las micorrizas arbusculares (Perez y Vertel, 2019).

Gonzales (2024), manifiesta que las micorrizas cumplen funciones muy importantes en el ecosistema: Mejoran la absorción de nutrientes en el suelo: pueden usar formas orgánicas e inorgánicas de nitrógeno y fósforo, pueden aprovechar el amonio y los nitratos y acceden a fuentes de fósforo no disponibles para las plantas. Aumentan la absorción de agua, protegen a la raíz frente a parásitos, interactúan con otros microorganismos, como consecuencia se produce una mejora en el crecimiento y en la nutrición vegetal. Las plantas que no tienen micorrizas son más débiles y pequeñas que aquellas que presentan estas asociaciones.

Según Brundrett et al. (2019), publicaron que la presencia del hongo en las raíces modifica su morfología, promoviendo su bifurcación, ramificación y ensanchamiento y aumentando con esto su superficie de absorción. Las hifas que se proyectan al exterior de la raíz exploran un volumen mayor de suelo, algunas especies pueden formar cordones miceliares o rizomorfos, los cuales tienen una mayor capacidad exploratoria y pueden tolerar condiciones adversas más fácilmente y su periodo de vida es más largo que el de las hifas individualizadas.

El proceso de germinación se inicia cuando las esporas de micorrizas están presentes en el suelo, y las raíces envían la señal. El crecimiento de las hifas o micelio antes de la “infección” a las plantas es el paso siguiente. Al penetrar a las raíces, se forma una estructura llamada apresorio, con la cual se sostienen en las raíces, y posteriormente se inicia la penetración. A continuación, se produce la colonización en raíces, el crecimiento de micelios, y la formación de los arbusculos y vesículas (esporas); de tal manera que, al existir condiciones adecuadas para las micorrizas, éstas se establecen y ayudan a una mejor absorción de nutrientes en las plantas (Camargo y Guerrero, 2024).

Se pudo confirmar la presencia de estructuras de hongos micorrízicos arbusculares en las raíces de palma aceitera como arbusculos, vesículas e hifas. Con la presencia de estas, se pudo comprobar que existen altos valores para la tasa de infección en raíces y población de esporas en los suelos de las zonas estudiadas lo que sugiere que existe un alto grado de asociación de

las raíces de palma aceitera con las micorrizas arbusculares. Además, esta asociación se relaciona a factores que promueven la colonización y esporulación micorrízicos como: contenido de materia orgánica, precipitación y cobertura vegetal. En las zonas estudiadas se identificaron los géneros de micorrizas: *Glomus* spp., *Acaulospora* spp. *Archaeospora* spp. y *Gigaspora* spp (Maldonado et al. 2018).

En un estudio realizado por Bolleta et al. (2018), se encontró que las plantas de trigo inoculadas con hongos micorrízicos mejoraron la absorción de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, cobre y zinc en el estadio de espigamiento. Este incremento fue más importante con menor disponibilidad de agua en el suelo. Además, en los tratamientos inoculados se observaron mayor número de espigas m², peso de mil granos y rendimiento; estas respuestas fueron similares al tratamiento fertilizado. Por otro lado, las plantas micorrizadas mejoraron la eficiencia en el uso de agua del suelo en los años con bajas precipitaciones. Por último, los hongos micorrízicos cumplen un rol importante en condiciones de campo, incrementando la habilidad competitiva de las plantas hospedantes durante momentos de déficit hídrico.

Ecoaccion Bolivia (2024), Ecofungi es un concentrado de esporas de 8 cepas de micorrizas. Por cada gramo de producto, tiene una concentración mínima garantizada de 280 esporas de endomicorrizas y 2,7 x 10⁶ esporas de ectomicorrizas. Ecofungi estimula la propagación de bacterias fijadoras de nitrógeno, como *Rizobium*, promueve el crecimiento de bacterias que se asocian a las raíces de las plantas y estimulan el crecimiento de estas (rizobacterias), así como también de cepas de Trichodermas y de Bacilos con habilidades de biocontrol de organismos patógenos.

Glumix es un inoculante y mejorador de suelos, formulado con esporas de *Glomus geosporum*, *G. Fasciculatum*, *G. constrictum*, *G. tortuosum*, *G. intraradices*, cepas seleccionadas de hongos micorrízicos vesículo arbusculares (VAM). Altamente eficientes en la asimilación de fósforo y otros nutrimentos, además de proporcionar resistencia a las plantas bajo condiciones de estrés por sequía, salinidad, heladas, exceso de lluvias y mayor tolerancia a enfermedades. GLUMIX® invade las raíces al momento que éstas emiten exudados o compuestos químicos que estimulan la germinación de las esporas. Las hifas y el micelio de las micorrizas penetran la raíz de la planta, entrando en íntimo contacto con las células radiculares, específicamente con los ribosomas. Externamente a las raíces, las micorrizas emiten gran cantidad de micelio o hifas quienes se extienden explorando un volumen de suelo mucho mayor, al que lo harían las raíces en condiciones normales (Dipo, 2024).

Fenecsa (2024), es un concentrado de Endo y Ectomicorrizas. Por cada litro de producto, tiene una concentración mínima garantizada de 8 x 10 UFC (Unidades formadoras de colonias) de Endomicorrizas y 7 x 10 UFC de Ectomicorrizas. Estas asociaciones son otro de los mecanismos con los cuales las micorrizas ayudan al control de enfermedades radiculares. Las micorrizas alimentan la red trófica del suelo al ser consumidas principalmente por lombrices, insectos y por otros hongos. MICOR 9® contiene esporas de nueve especies de micorrizas elegidas por su compatibilidad con gran variedad de plantas, alto grado de colonización, adaptación a diversos suelos y a diferentes condiciones ambientales; contiene 4 cepas de Endomicorrizas (*Glomus* spp.) y 5 cepas de Ectomicorrizas (*Pisolithus* spp. y *Rhizopogon* spp.).

Materiales y métodos

El presente trabajo experimental se realizó en la Finca “La Victoria” perteneciente al Sr. Elio Gutiérrez Domínguez, ubicada en el Kilómetro 17 ½ de la Vía Babahoyo - San Juan. Con coordenadas geográficas de 672 797 UTM de longitud oeste y 9 797 208 UTM de latitud sur, altitud 8 msnm. Se utilizaron materiales campo y material vegetal clon EET – 544, con una edad de cinco años de establecida. Se estudiaron dos factores; a) comportamiento agronómico

de plántulas de cacao y, b) fuentes de micorrizas. Se evaluaron los tratamientos como se indica en la siguiente Tabla 1:

Tabla 1. *Tratamientos estudiados*

	Tratamiento	Dosis de aplicación g/planta	Época de aplicación d.d.t
T1	Cepa Ecofungi	3,0	0-30-60-90
T2	Cepa Micobacter	3,0	0-30-60-90
T3	Cepa Glumix	3,0	0-30-60-90
T4	Cepa ANCUPA	3,0	0-30-60-90
T5	Cepa FACIAG	3,0	0-30-60-90

Para el desarrollo y evaluación estadística del ensayo se aplicó el diseño bloques completos al azar, con 5 tratamientos y 4 repeticiones. Se empleó la prueba de significancia estadística de Tukey al 95 % de probabilidades para determinar la diferencia estadística entre las medias de los tratamientos.

Para el establecimiento del ensayo se realizó la instalación del vivero utilizando caña guadua para realizar los puntales y en la parte superior y alrededor se colocó una cobertura de polisombra (saram) con 50 % de luminosidad. El espaciamiento entre cada bloque será de 2 metros para facilitar el trabajo de manejo agronómico. El distanciamiento entre tratamiento será de 50 cm. Cada tratamiento estuvo conformado por 20 fundas de polipropileno color negro para vivero con perforaciones de 0,3 cm, para escurrir los excesos de agua y con un tamaño de 6" x 8". El sustrato se realizó mezclando con una pala metálica dos porciones de suelo agrícola (60 %), una porción de tamo de arroz (20 %) y una de arena (20 %), siendo este proceso realizado bajo sombra. Se realizó un semillero y se utilizó un espeque de mano de 20 cm aproximadamente para hacer el hoyo, donde se coloca la semilla del clon EET - 544, posteriormente se tapó la semilla ligeramente para evitar la compactación y así puedan germinar con mayor facilidad.

Después que las plantas ya presentaron de dos a tres hojas verdaderas se procedió a realizar su trasplante a las fundas con el debido cuidado para que no se lastimen sus raíces. Para el llenado de fundas se utilizó una pala jardinera para completar el volumen totalmente hasta su borde. Luego se compacto con ligeros golpes para evitar bolsas de aire en su interior antes del riego, todo el material se llenará en seco para evitar que las fundas quedaran mal llenadas. Posteriormente se procedió a regar para que el aire existente disminuya y se compacte el sustrato. El control de malezas se realizó de manera manual en cada una de las fundas. En los espacios entre parcelas y tratamientos se utilizó un control manual con rabón. La plantación presento ataque por pulgones, en la cual se realizó la aplicación de Cipermetrina en dosis de 2 cc/ L de agua. El riego se realizó en función de las necesidades hídricas de las plántulas del cultivo y nivel de humedad del sustrato, en evaluaciones diarias del mismo. Se realizó un riego semanal con aproximadamente 0,5 L/funda en horas de la mañana. La fertilización se realizó con el fin de lograr un adecuado crecimiento se hizo la aplicación del fertilizante con las fórmulas completas 8-20-20, en dosis de 10 gramos por planta al mes. La primera aplicación se la efectuó a los 45 días después de la siembra. En la poda se realizó la eliminación de plántulas que no presentaron buenas características en su enraizamiento. Se dejaron aquellas

que por sus características están libres de daños, enfermedades, con buen crecimiento y coloración.

La altura de planta se midió desde el nivel del suelo hasta el ápice o punto de crecimiento vegetativo (yema), a partir de los 60 días después de la siembra en 10 plantas al azar por tratamientos. Posteriormente se realizó la medición a los 120 días después de la siembra. Los valores se expresaron en cm.

La emisión foliar se evaluó en 10 planta al azar por tratamiento, para el efecto se contó el número de hojas emitidas por la plántula en el vivero y el intervalo entre la aparición de una hoja nueva con una vieja, expresando el valor en días. Se evaluó a los 60 y 120 días después de la siembra.

El diámetro del tallo se tomó en el tercio medio de la planta a los 30 días después de la siembra. Posteriormente se evaluó en 120 días después de la siembra, en 10 plantas al azar por tratamiento. Para el efecto se utilizará un calibrador, expresando el valor obtenido en milímetros.

La longitud de hojas se determinó en las hojas jóvenes y se procedió a medir la longitud de cada una de las 10 plantas al azar por tratamientos a los 30 y 120 días después de la siembra.

El área foliar se determinó a los 60 y 120 días después de la siembra, midiendo la longitud y ancho de las hojas recién emitidas. Se lo hizo en 10 plantas al azar por tratamiento, calculando el área con la siguiente fórmula (Cordoica, 1999):

$$A = \pi x a x b$$

A: área foliar en milímetros.

π: pi

a: largo de la hoja en milímetros.

b: ancho de la hoja en milímetros.

En las mismas 10 plantas de la variable anterior se evaluó la amplitud del crecimiento de las raíces dentro del sustrato (colonización y crecimiento de raíces). Para el efecto se utilizó la siguiente escala visual subjetiva utilizada por la ICCO (2024):

1= Longitud de raíz menor a 5 cm de profundidad, no ramificada.

2= Longitud de raíz mayor a 5 cm de profundidad, ramificada.

3= Longitud de raíz menor de 6-10 cm de profundidad, no ramificada.

4= Longitud de raíz mayor de 6-10 cm de profundidad, ramificada.

5= Longitud de raíz mayor de 11 cm de profundidad, ramificada.

La biomasa radical se tomó a los 120 días, después de la siembra, midiendo con una probeta de 100ml en donde se sumergió la raíz y el volumen desplazado se lo registro como el volumen de la biomasa radical.

El porcentaje de colonización de micorrizas estuvo definido con el crecimiento de las micorrizas en planta tratada a determinado proceso de fertilización contra plantas no tratadas, para el efecto se utilizará la siguiente formula:

$$DM = (M - NM) / NM \times 100$$

M: Crecimiento de la planta tratada

NM: Crecimiento de la planta no tratada

Para la determinación de la población de esporas micorrízicas de suelo, se empleó el método de “tamizado en húmedo y decantación” de Nicolson y Gerdemann (1968), se expresará en g/100 gss (gramos de suelo seco). El método se detalla a continuación:

- Se toma una muestra de un kilogramo de suelo de los sitios de muestreo. Se seca a 17 C° durante 5 días.
- Se tamiza el suelo para liberar materiales extraños (piedras, arenas), se mezcla y se toma 50 g de suelo.
- En 500 ml de agua corriente se licua el suelo por espacio de 5 segundos y se deja reposar por 30 segundos, repitiendo la operación 3 veces.
- Se pasó esta suspensión a través de tres tamices en serie de 0,425, 0,25 y 0,045 mm. En este último se recoge el suelo limoso, mediante un chorro de agua que pasa el papel de filtro
- De la cantidad de suelo obtenido se toma un gramo de suelo el cual se repartió en 4 tubos de ensayo, se adiciono 300 mL de agua destilada y se centrifugo a 250 revoluciones por minuto durante 5 minutos.
- La suspensión se pasó por un papel filtro y se observaron en el estereoscopio para realizar la respectiva lectura.⁴

Resultados

Los registros de la altura de planta evaluada a los 60 y 120 días después del trasplante, se registran en Tabla 2. El análisis de varianza presentó altas diferencias significativas para las aplicaciones en todas las evaluaciones realizadas, siendo los coeficientes de variación fue 20,34, 17,38 %; respectivamente. La estimación realizada a los 60 días después del trasplante determinó mayor altura con la aplicación de la cepa Ecofungi (26,14 cm), siendo estadísticamente igual a la cepa Micobacter (21,12 cm), pero superior al resto de tratamientos. El menor valor se presentó en la cepa Ancupa (16,55 cm). A los 120 días después del trasplante, se obtuvo comportamientos similares, teniendo mayor altura las plantas tratadas con la cepa Ecofungi (28,07 cm), siendo estadísticamente igual a Micobacter (23,13 cm), pero superior a los demás tratamientos. Menor altura se reportó en la cepa Ancupa (18,90 cm).

Tabla 2. *Altura de plántulas de cacao con la aplicación de diferentes cepas de micorrizas en vivero.*

Tratamientos	Altura de planta cm	
	60 d.d.t	120 d.d.t
T1 Cepa Ecofungi	26,14 a	28,07 a
T2 Cepa Micobacter	21,12 ab	23,13 ab
T3 Cepa Glumix	16,93 b	19,34 b
T4 Cepa ANCUPA	16,55 b	18,90 b
T5 Cepa FACIAG	19,54 ab	21,97 ab
Promedio	20,07	22,28
Significancia	**	**
Coefficiente de variación	20,34	17,38

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, según la prueba de Tukey al 5 % de significancia. ** = altamente significativo
d.d.t.: días después del trasplante.

La variable emisión foliar mostró diferencias en los tratamientos a los 60 y 120 días después del trasplante, siendo los coeficientes de variación de 19,63 y 18,46, respectivamente (Tabla 3). La mejor cepa a los 60 días del trasplante en la emisión foliar fue Ancupa con 3,33 hojas, siendo igual estadísticamente a Micobacter (3,30 hojas), pero superior a los demás tratamientos, estando la menor cantidad de hojas emitidas en la cepa Faciag con 2,58. La mayor cantidad de hojas a los 120 días se presentó en las plántulas tratadas con Ancupa, las mismas tuvieron un promedio de 6,48 hojas. La media de 5,48 hojas presentó Ecofungi que tuvo el menor valor.

Tabla 3. Emisión Foliar de plántulas de cacao con la aplicación de diferentes cepas de micorrizas en vivero.

Tratamientos	Numero de hojas	
	60 d.d.t	120 d.d.t
T1 Cepa Ecofungi	2,73 a	5,48 a
T2 Cepa Micobacter	3,30 a	5,88 a
T3 Cepa Glumix	2,73 a	5,63 a
T4 Cepa ANCUPA	3,33 a	6,48 a
T5 Cepa FACIAG	2,58 a	6,35 a
Promedio	2,93	5,96
Significancia	Ns	Ns
Coefficiente de variación	19,63	18,46

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, según la prueba de Tukey al 5 % de significancia. Ns = no hay significancia
d.d.t.: días después del trasplante.

La variable diámetro del tallo presentó alta variabilidad estadística en las evaluaciones realizadas a los 30 y 120 días después del trasplante, existiendo significancia al momento del trasplante, con coeficientes de variación de 15,60 y 7,45 %; a los 30 y 120 días respectivamente (Tabla 4). En la valoración hecha a los 30 días después del trasplante se tuvo una mayor altura cuando se aplicó Ecofungi (0,19 mm), siendo estadísticamente igual a la cepa Ancupa (0,18 mm), pero superior al resto de tratamientos. El menor valor se presentó en la cepa Ancupa y Faciag con 0,15mm. Cuando se evaluó en los 120 días, se manifestaron valores afines, encontrando la mayor altura en plantas tratadas con la cepa Micobacter y Glumix (0,43 mm), siendo estadísticamente similar a Ecofungi (0,42 mm), pero superior a los demás tratamientos. La menor altura se consiguió en la cepa Ancupa (0,39 mm).

Tabla 4. *Diámetro del Tallo de plántulas de cacao con la aplicación de diferentes cepas de micorrizas en vivero.*

Tratamientos	Diámetro del Tallo mm	
	30 d.d.t	120 d.d.t
T1 Cepa Ecofungi	0,19 a	0,42 a
T2 Cepa Micobacter	0,18 a	0,43 a
T3 Cepa Glumix	0,17 a	0,43 a
T4 Cepa ANCUPA	0,15 a	0,39 a
T5 Cepa FACIAG	0,15 a	0,40 a
Promedio	0,17	0,41
Significancia	Ns	Ns
Coefficiente de variación	15,60	7,45

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, según la prueba de Tukey al 5 % de significancia. Ns = no hay significancia
d.d.t.: días después del trasplante.

Los valores presentados para la variable longitud de hojas alcanzaron diferencias significativas a los 30, 60 y 90 días después del trasplante; con coeficientes de variación de 12,62 y 8,12, en su orden (Tabla 5). A los 30 días del trasplante se encontró mayor longitud de hoja con la aplicación de la cepa Glumix (11,52 mm), siendo estadísticamente igual a la cepa Ancupa (11,42 mm), pero superior al resto de tratamientos. El menor valor se presentó en la cepa Ecofungi con 9,89 mm. Glumix (14,01 mm) a los 120 días después del trasplante obtuvo los mayores promedios de altura, el mismo fue estadísticamente igual a la cepa Ancupa (13,86 mm) y Faciag (13,32 mm), pero superior a los otros tratamientos. Se tuvo menor altura en la cepa Micobacter con 10,96 mm.

Tabla 5. *Longitud de Hojas de plántulas de cacao con la aplicación de diferentes cepas de micorrizas en vivero.*

Tratamientos	Longitud de Hoja	
	60 d.d.t	120 d.d.t
T1 Cepa Ecofungi	9,89 a	12,36 ab
T2 Cepa Micobacter	10,45 a	10,96 b
T3 Cepa Glumix	11,52 a	14,01 a
T4 Cepa ANCUPA	11,42 a	13,86 a
T5 Cepa FACIAG	10,61 a	13,32 ab
Promedio	10,77	12,90
Significancia	Ns	**
Coefficiente de variación	12,62	12,62

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, según la prueba de Tukey al 5 % designificancia. ** = altamente significativo

Ns = no hay significancia

d.d.t.: días después del trasplante.

La variable área foliar mostró diferencias en los tratamientos a los 60 y 120 días después del trasplante, siendo los coeficientes de variación de 26,16 y 12,40, respectivamente (Tabla 6). La mejor cepa a los 60 días del trasplante en el Área foliar fue Ecofungi con 201,07 cm², siendo igual estadísticamente a Micobacter (150,93 cm²) y Faciag (134,85 cm²), pero superior a los demás tratamientos, estando la menor cantidad en la cepa Ancupa con 115,78 mm. La mayor cantidad de hojas a los 120 días se presentó en las plántulas tratadas con Micobacter, las misma tuvieron un promedio de 153,90 cm², siendo estadísticamente igual a Ecofungi (150,13 cm², respectivamente) y superior a los otros tratamientos. La media de 122,65 cm² presento la cepa de Ancupa que tuvo el menor valor.

Tabla 6. Área Foliar de plántulas de cacao con la aplicación de diferentes cepas de micorrizas en vivero.

Tratamientos	Área Foliar cm ²	
	60 d.d.t	120 d.d.t
T1 Cepa Ecofungi	201,07 a	150,13 a
T2 Cepa Micobacter	150,93 a	153,90 a
T3 Cepa Glumix	133,63 a	145,48 a
T4 Cepa ANCUPA	115,78 a	122,65 a
T5 Cepa FACIAG	134,85 a	145,20 a
Promedio	147,25	143,47
Significancia	Ns	Ns
Coefficiente de variación	26,16	12,40

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, según la prueba de Tukey al 5 % de significancia. Ns = no hay significancia
d.d.t.: días después del trasplante.

Los valores presentados para la variable longitud radicular alcanzaron diferencias significativas a los 120 días después del trasplante; con coeficiente de variación de 12,60 (Cuadro 8). Faciag (15,40 cm) a los 120 días después del trasplante obtuvo los mayores promedios de altura, siendo estadísticamente iguales a Ancupa y Glumix (8,30 y 7,85 cm) superior a los otros tratamientos. Se tuvo menor altura en la cepa Ecofungi con 4,58 cm.

Tabla 7. Longitud Radicular de plántulas de cacao con la aplicación de diferentes cepas de micorrizas en vivero.

Tratamientos	Longitud Radicularcm
T1 Cepa Ecofungi	4,58 c
T2 Cepa Micobacter	4,85 c

T3	Cepa Glumix	7,85 b
T4	Cepa ANCUPA	8,30 b
T5	Cepa FACIAG	15,40 a
Promedio		8,20
Significancia		**
Coeficiente de variación		12,60
Promedios con la misma letra no difieren significativamente, según la prueba de Tukey al 5 % de significancia. ** = altamente significativo d.d.t.: días después del trasplante.		

En la variable biomasa radical mediante el análisis de varianza presentó que no hay significancia para las plantas tratadas con micorrizas, con un coeficiente de variación 12,57 %. Ecofungi como fuente de hongos micorrízicos tuvo 69,63 ml siendo estadísticamente superior y diferente a los otros tratamientos. Se registró en la cepa Ancupa la menor cantidad con 63,63 ml (Tabla 8).

Tabla 8. Biomasa Radical de plántulas de cacao con la aplicación de diferentes cepas de micorrizas en vivero.

Tratamientos		Biomasa Radical ml
T1	Cepa Ecofungi	69,63 a
T2	Cepa Micobacter	65,25 a
T3	Cepa Glumix	66,88 a
T4	Cepa ANCUPA	63,63 a
T5	Cepa FACIAG	69,50 a
Promedio		66,97
Significancia		Ns
Coeficiente de variación		12,57
Promedios con la misma letra no difieren significativamente, según la prueba de Tukey al 5 % de significancia. Ns = no hay significancia d.d.t.: días después del trasplante.		

En porcentaje de colonización de las micorrizas, el análisis de varianza detectó diferencias altamente significativas para los valores, siendo el coeficiente de variación 7,17 % con una dependencia de 4,15% (Tabla 9). En las plantas tratadas con Ecofungi se encontró la mayor colonización con un 54 % (29 %), siendo estadísticamente igual a la cepa Faciag con 49 % (26 %), pero superior a los demás tratamientos, Se registró en Micobacter la menor cantidad con 31 % (12 %).

Tabla 9. Porcentaje de colonización de plántulas de cacao con la aplicación de diferentes cepas de micorrizas en vivero.

Tratamientos		Porcentaje %	Dependencia %
T1	Cepa Ecofungi	29 a	54 a
T2	Cepa Micobacter	12 b	31 b
T3	Cepa Glumix	15 b	32 b
T4	Cepa ANCUPA	15 b	38 b
T5	Cepa FACIAG	26 a	49 a
Promedio		18,4	43,2
Significancia		**	**
Coeficiente de variación		7,17	4,15
Promedios con la misma letra no difieren significativamente, según la prueba de Tukey al 5 % de significancia. ** = altamente significativo d.d.t.: días después del trasplante.			

Ecofungi como fuente de hongos micorrízicos tuvo un conteo de esporas con 1324 esporas/gss, siendo estadísticamente superior y diferente a los otros tratamientos. Se registró en Micobacter la menor cantidad con 515 esporas/gss (Tabla 10).

Tabla 10. Conteo de esporas de cacao con la aplicación de diferentes cepas de micorrizas en vivero.

Tratamientos		Esporas de <i>Glomus</i> spp. /gde suelo seco
T1	Cepa Ecofungi	1324
T2	Cepa Micobacter	515
T3	Cepa Glumix	657
T4	Cepa ANCUPA	789
T5	Cepa FACIAG	896
Promedio		836,2
Significancia		
Coeficiente de variación		
Promedios con la misma letra no difieren significativamente, según la prueba de Tukey al 5 % de significancia. ** = altamente significativo d.d.t.: días después del trasplante.		

Discusión

Las aplicaciones de las cepas de micorrizas tuvieron una influencia sustancialmente sobre el crecimiento y desarrollo de plántulas de cacao en vivero, especialmente sobre las variables evaluadas como: altura de planta, biomasa Radical, emisión foliar, área foliar, diámetro del tallo, porcentaje de colonización y conteo de esporas, considerando lo evidenciado por Brundrett et al. (2019) quienes publicaron que la presencia del hongo en las raíces modifica su morfología, promoviendo su bifurcación, ramificación y ensanchamiento y aumentando con esto su superficie de absorción, donde las hifas que se proyectan al exterior de la raíz exploran un volumen mayor de suelo, algunas especies pueden formar cordones miceliares o rizomorfos, los cuales tienen una mayor capacidad exploratoria y pueden tolerar condiciones adversas más fácilmente y su periodo de vida es más largo que el de las hifas individualizadas. Además, Gonzales (2024) manifiesta que las micorrizas cumplen funciones muy importantes en el ecosistema como: mejoran la absorción de nutrientes en el suelo, aumentan la absorción de agua, protegen a la raíz frente a parásitos, interactúan con otros microorganismos, como consecuencia se produce una mejora en el crecimiento y en la nutrición vegetal; las plantas que no tienen micorrizas son más débiles y pequeñas que aquellas que presentan estas asociaciones.

Conclusiones

Mediante los resultados obtenidos en este trabajo de investigación se concluye lo siguiente:

- La aplicación de la cepa Ecofungi, influyó sustancialmente sobre el crecimiento y desarrollo de plántulas de cacao en vivero, especialmente sobre las variables evaluadas como Altura de planta, Biomasa Radical, Porcentaje de colonización y Conteo de esporas a los 120 días.
- Con la aplicación de la cepa Mycobacter existió mayor emisión foliar, área foliar y diámetro del tallo.
- La longitud radicular con la aplicación de la cepa Faciag obtuvo un mayor valor que con las otras cepas aplicadas
- Las plantas tratadas con la cepa Ancupa generaron una mayor longitud de hojas con relación a las otras cepas.
- La cepa Ecofungi presentó una alta población de las esporas de *Glomus* spp. (1,324 g. de suelo seco), mayor a lo alcanzado por *Glumix* (515 g. de suelo seco).

Referencias bibliográficas

- Aguilar, M. (12 de 1 de 2024). Estimación de rendimientos en el sector agropecuario. México. Obtenido de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/upsesp/reader.action?docID=3222348yquery=cultivo+de+cacaoyppg=6>
- Alarcón, A. & Ferrara, R. (2000). Fisiología y biotecnología de las micorrizas arbusculares. En Ecología. México D.F: Mundi-presna. p 125.
- Anecacao. (12 de 1 de 2024). Historia del cacao, Asociación Nacional de Exportadores de Cacao - Ecuador. Obtenido de <https://anecacao.com/cacao-en-el-ecuador/historia-del-cacao/>
- Anecacao. (12 de 1 de 2024). Tipos del cacao, Asociación Nacional de Exportadores de Cacao - Ecuador. Obtenido de <https://anecacao.com/cacao-en-el-ecuador/tipos-de-cacao/>
- Bolleta, A., Rodríguez, C., Kruger, H. (2018). Interacciones entre hongos micorrizicos y estrés hídrico: Su efecto sobre el rendimiento de trigo. *Revista tecnica INTA*, 28-32.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., Malajczuk, N. (2019). Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. ACIAR monograph, 374.

- Camargo, S. & Guerrero, J. (10 de 2 de 2024). Use micorrizas para mejorar la nutrición vegetal en producción de hortalizas. Obtenido de <http://www.hortalizas.com/nutricion-vegetal/use-micorrizas-para-mejorar-la-nutricion-vegetal-en-produccion-comercial-de-hortalizas/>
- Castillo, M. & Cueva, V. (2019). Caracterización morfológica de micorrizas arbusculares asociadas en raíces de tomate de árbol silvestres (*Solanum cajaniense*) cultivado en dos sectores (Tesis de Pregrado, Universidad Técnica de Loja).
- CIRAD. (2020). Manejo de previvero del cacao, Centro de Cooperación Internacional en Investigación Agronómica para el Desarrollo. FAO, Francia.
- Cordoica. (1999). Manual del cultivo de cacao.
- Dipo. (10 de 2 de 2024). Diccionario de Insumos para la Producción Orgánica y manejo de plagas. Obtenido de <http://www.agroquimicos-organicosplm.com/glumix-25-27-9521-139-9>
- Ecoaccion Bolivia. (10 de 2 de 2024). Ecoaccion Bolivia. Obtenido de www.ecoaccionbolivia.com/wordpress/ecofungi/
- Fenecsa. (10 de 2 de 2024). Productos Orgánicos. Obtenido de www.fenecsa.com
- Freire, D., Díaz, D. 2022. Método de fermentación y secado para el beneficio de la obtención del chocolate blanco a partir del cacao criollo (*Theobroma cacao* L.), ecuatoriano. *Revista Universidad y Sociedad*, 14(S2), 323-329.
- Gonzales, V. (10 de 2 de 2024). La Guía Biológica de las Micorrizas y su importancia en los ecosistemas. Obtenido de <https://biologia.laguia2000.com/hongos/las-micorrizas-y-su-importancia-en-los-ecosistemas>
- Gosling, P. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *En Agriculture ecosystems and environment*, 113, 17-35.
- Herrera, R., Valdés, A., Torres, R., & Furrázola, E. (2018). Study of VA mycorrhizal dependency for recognizing parasitic and mutualistic of neotropical tree seedlings. USA. <http://search-pdf-books.com>
- ICCO. (12 de 1 de 2024). Parámetros agronómicos del cultivo de cacao. Obtenido de <https://www.icco.org/wp-content/uploads/2019/07/Abstracts.compressed.pdf>
- Intagri. (12 de 1 de 2023). Beneficios de las micorrizas sobre el estrés de las plantas. Obtenido de www.intagri.com/articulos/suelos/beneficios-de-las-micorrizas-sobre-el-estres-en-plantas
- Maldonado, L., Morales, R., Bravo, V., & Bernal, G. (2018). Determinación del grado de asociación micorrizica y la evaluación de su eficiencia en la absorción de fósforo en fase de vivero. In XII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo, (págs. 45-48). Cuenca-Ecuador.
- Nicolson, T. & Gerdemann, J. (1968). Mycorrhizal Endogone species. *Mycologia*, 60, 313-325.
- Pérez, A., Vertel, M. (2019). Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pestusa*. *Revista MVZ Córdoba*, 15, 1-15.
- Sieverding, E. (2017). En Vesicular-arbuscular mycorrhizal management in tropical agrosystems. Technical Cooperation Federal Republic of Germany. p 371.
- Universidad de Almería. (10 de 3 de 2024). Micorrizas, características de la relación simbiótica. Obtenido de <http://www.ual.es/GruposInv/myco-ual/micorr.htm>