
EFECTO DE LA BIOFERTILIZACIÓN EN VIVERO DEL CACAO

(*Theobroma cacao* L.) CON *Azospirillum brasilense* TARRAND, KRIEG ET

DÖBEREINER Y *Glomus intraradices* SCHENK ET SMITH

Juan F. Aguirre-Medina, Alexander Mendoza-López, Jorge Cadena-Iñiguez
y Carlos H. Avendaño-Arrazate

RESUMEN

Theobroma cacao L. es una especie originaria de América y ha estado ligada al desarrollo de diversas culturas indígenas en las regiones tropicales húmedas. Su semilla se utiliza para la elaboración de alimentos, bebidas y golosinas y su demanda se ha incrementado cuando se cultiva sin agroquímicos. La nutrición de la planta mediante biofertilizantes microbianos es una alternativa para incrementar la oferta de cacao orgánico. En este trabajo se identificó el aporte de dos microsimbiontes en el desarrollo vegetal y nutricional del cacao en dos condiciones de suelo del Soconusco, Chiapas, México, uno de ellos tratado con bromuro de metilo y otro sin tratar. Las semillas de cacao

se inocularon con *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices*, solos o combinados al momento de la siembra. Se registraron variables morfológicas y fisiológicas del rendimiento y el contenido de N₂, P y Ca²⁺ en el tejido vegetal cada 30 días durante seis meses. Los resultados indicaron una respuesta diferencial entre condiciones de suelo y microsimbiontes en la asignación de materia seca. Los órganos de la planta más modificados fueron la raíz y la lámina foliar. Las plantas inoculadas mostraron mayor concentración de N₂ en suelo no tratado. *G. intraradices* fue más efectivo en promover la incorporación de P en suelo no tratado y de Ca²⁺ en ambas condiciones del suelo.

EFFECT OF COCOA (*Theobroma cacao* L.) BIOFERTILIZATION IN NURSERY WITH *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner AND *Glomus intraradices* Schenk et Smith

Juan F. Aguirre-Medina, Alexander Mendoza-López, Jorge Cadena-Iñiguez and Carlos H. Avendaño-Arrazate

SUMMARY

Theobroma cacao L. originated in America and has been associated with the development of various Indian cultures in the tropical forest. Its beans are used for the production of food, beverages and sweets. The demand of cocoa cultivated without agrochemical products has increased. Plant nutrition with microbial fertilizers is an alternative for increasing its organic production. In this experiment the contribution of two micro organisms to the development and nutritive characteristics of cocoa was determined under two soil conditions, treated with methyl bromide or untreated, in the Soconusco region, Chiapas,

Mexico. The cocoa beans were inoculated with *Azospirillum brasilense* and *Glomus intraradices*, alone or in combination at sowing. Morphological and physiological characters, and the N₂, P and Ca²⁺ content in the vegetal tissue were recorded every 30 days for six months. The results indicate a differential response for soil condition and micro organisms in the production of dry matter. Root and foliar lamina were the most affected organs. The inoculated plants showed a higher N₂ concentration. *G. intraradices* translocated more P in the untreated soil and more Ca²⁺ under either soil conditions.

Introducción

El cacao (*Theobroma cacao* L.) fue domesticado por los Mayas y su fruto simbolizó riqueza, poder y origen divino. Actualmente, en México existen plantaciones cacaoteras en las que pre-

dominan los materiales tipo forastero de edad avanzada, los cuales se explotan solos o asociados con diversas especies maderables, frutales u ornamentales mediante un manejo basado en fertilizantes inorgánicos y agroquímicos. Para la renovación de

estas plantaciones se requiere propagar nuevas plantas en condiciones de vivero, para lo que se hace necesario disponer de sustratos con buenos niveles de fertilidad, a fin de inducir un rápido y vigoroso desarrollo de las plantas. El uso de algunos recursos

microbiológicos del suelo se postula como alternativa para nutrir por la vía biológica el cacao. La biofertilización en viveros, entendida como la inoculación microbiana a las plantas, favorece su nutrición manteniendo el equilibrio ecológico del agroecosistema

PALABRAS CLAVE / Cacao / Componentes del Rendimiento / Contenido de N, P y Ca²⁺ /

Recibido: 10/07/2006. Modificado: 25/06/2007. Aceptado: 26/06/2007.

Juan Francisco Aguirre-Medina. Ingeniero Agrónomo, Universidad de Sonora, México. Maestría y Doctorado en Botánica, Colegio de Postgraduados (COLPOS), México. Investigador Titular, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Chiapas, México.

Alexander Mendoza-López. Ingeniero Agrónomo, Universidad Autónoma de Chiapas (UACHIAPAS), México. Técnico Unión Mundial para La Naturaleza, Chiapas, México.

Jorge Cadena-Iñiguez. Ingeniero Agrónomo, UACHIAPAS, México. Maestría y Doctorado en Botánica, COLPOS, México.

Profesor Investigador, Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México A.C., Texcoco, México. Dirección: Agustín Melgar 10, Col. Las Salinas, Texcoco, Estado de México, C. P. 56153 México. e-mail: jocadena@colpos.mx

Carlos Hugo Avendaño-Arrazate. Ingeniero Agrónomo, Universidad Autónoma de Chapingo, México. Maestría y Doctorado en Genética, COLPOS, México. Profesor Investigador, Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México A.C., Texcoco, México.

EFEITO DA BIOFERTILIZAÇÃO EM VIVEIRO DE CACAU (*Theobroma cacao* L) COM *Azospirillum brasilense* TARRAND, KRIEG ET DÖBEREINER E *Glomus intraradices* SCHENK ET SMITH

Juan F. Aguirre-Medina, Alexander Mendoza-López, Jorge Cadena-Iñiguez e Carlos H. Avendaño-Arrazate.

RESUMO

Theobroma cacao L. é uma espécie originária de América e tem estado relacionada ao desenvolvimento de diversas culturas indígenas nas regiões tropicais úmidas. Sua semente se utiliza para a elaboração de alimentos, bebidas e guloseimas e sua demanda tem se incrementado quando se cultiva sem agroquímicos. A nutrição da planta mediante biofertilizantes microbianos é uma alternativa para incrementar a oferta de cacau orgânico. Neste trabalho se identificou a contribuição de dois microsimbiontes no desenvolvimento vegetal e nutricional do cacau sob duas condições de solo do Soconusco, Chiapas, México, um deles tratado com bromuro de metilo e o outro sem tratar. As sementes de cacau foram inoculadas com *Azospirillum brasilense*

e *Glomus intraradices*, sozinhos ou combinados no momento da plantação. Registraram-se variáveis morfológicas e fisiológicas do rendimento e o conteúdo de N₂, P e Ca²⁺ no tecido vegetal a cada 30 dias durante seis meses. Os resultados indicaram uma resposta diferencial entre condições de solo e microsimbiontes na designação de matéria seca. Os órgãos da planta mais modificados foram a raiz e a lâmina foliar. As plantas inoculadas mostraram maior concentração de N₂ em solo não tratado. *G. intraradices* foi mais efetivo em promover a incorporação de P em solo não tratado e de Ca²⁺ em ambas as condições do solo.

(Reganold *et al.*, 1990), y reduce costos de producción y pérdidas de plantas (Sieverding, 1989). Existen evidencias de las bondades de la asociación planta-microorganismo en diferentes cultivos, favoreciendo el incremento del rendimiento y reduciendo el uso de fertilizantes de origen sintético (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 2000). La inoculación con micorriza arbuscular de plántulas de café (*Coffea arabica* L.); Zasoski, 1991; Saggin *et al.*, 1992) y cítricos (*Citrus* spp.; Vinayak y Bagyaraj, 1990) redujo hasta en 50% su permanencia en vivero. Los efectos benéficos de la inoculación micorrízica no se limitan a la etapa de vivero, sino que continúan en el sitio definitivo, reducen el porcentaje de mortalidad después del trasplante (Sieverding, 1989) y disminuyen los requerimientos de fertilización química de origen sintético (Siqueira *et al.*, 1993). Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la biofertilización con *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices* en dos condiciones de suelo, evaluando el rendimiento a través del desarrollo de algunos componentes morfológicos y fisiológicos en plántulas de *Theobroma cacao* L., así como el contenido de N, P y Ca²⁺.

Materiales y Métodos

Sitio de estudio y material biológico

El estudio se realizó en el campo experimental Rosario Izapa, en el Soconusco, Chiapas, México, durante el verano de 2001, en condiciones de invernadero con una temperatura media máxima de 34°C y mínima de 17°C, y 85% de humedad relativa. El suelo utilizado pertenece al grupo de los andosoles mólicos, típico de la región cacaotera del Soconusco, con las siguientes características: textura migajón arenosa; 2,3% de materia orgánica; pH de 5,7; 17,0mg·kg⁻¹ de NO₃⁻; 14,0mg·kg⁻¹ de NH₄⁺; 7,0mg·kg⁻¹ de P (Olsen) y 1893mg·kg⁻¹ de Ca²⁺. La mitad del suelo utilizado fue tratada con bromuro de metilo (bromurado) a razón de 1lb cada 2m³. Se llenaron macetas de 5l de capacidad, perforadas en la parte inferior para favorecer el drenaje, con el suelo tratado o sin tratar. Se usaron semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) procedentes de la colección del banco de germoplasma del campo experimental Rosario Izapa-INIFAP-México.

Inoculación microbiana y tratamientos

Las semillas se lavaron e impregnaron con un adherente a base de carboximetil celulo-

sa, sobre el cual se integraron la bacteria *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner y el hongo *Glomus intraradices* Schenk et Smith. Se utilizaron 1×10⁹ células de *A. brasilense* por g de turba, y el hongo micorrizógeno fue producido en suelo estéril como sustrato con ≥2000 esporas por 100g de suelo. La planta hospedante fue *Allium poro*, con 95% de infección en su sistema radical al momento de la cosecha. Se usó un diseño experimental completamente al azar, con ocho tratamientos que consideraron efectos simples de los inoculantes y las combinaciones de los mismos, un testigo sin inocular en las dos condiciones de suelo y cuatro repeticiones por tratamiento. La unidad experimental consistió de una maceta con dos plantas. Se realizaron seis muestreos destructivos, uno por mes, usando tres macetas de cada tratamiento. Los riegos fueron con agua destilada.

Variables

Altura, número de hojas y biomasa. La altura (cm) fue registrada cada 30 días desde la corona radical hasta la yema apical en el vástago principal de la planta y se cuantificó el número de hojas totales por planta durante cada muestreo. La biomasa se obtuvo mediante el peso (g) de los componentes

fisiológicos de las plantas en báscula analítica (Ohaus) después de secado en estufa de aire forzado a 75-80°C hasta peso constante.

Área foliar. Se registró en cm² con un integrador de área foliar (LI-COR, LI 3100).

Análisis foliar. El análisis vegetal se realizó con un equipo ICP-AES para P y Ca²⁺, y el contenido de N₂ fue determinado por el método de Kjeldhal.

Infección micorrízica en raíz

Únicamente para los tratamientos con *G. intraradices* se cuantificó el porcentaje de colonización con la técnica de Phillips y Hayman (1970), observando al microscopio óptico con objetivo de inmersión en 100 segmentos de raíz con longitud de ~1,5-1,6cm a los 150 días después de la siembra.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza, con el procedimiento PROC ANOVA. Posteriormente se aplicó una comparación de medias Tukey con $\alpha = 0,05$ utilizando el programa SAS versión 5.0. (SAS, 1985).

Resultados y Discusión

La altura de la planta fue mayor en las plántulas de cacao biofertilizadas, las cuales

TABLA I
COMPARACIONES DE MEDIAS DE ALTURA DE PLANTA, NÚMERO DE HOJAS,
BIOMASA SECA DE RAÍZ Y TALLO DE PLÁNTULAS DE CACAO (*Theobroma cacao* L.)
INOCULADAS CON *A. brasilense* Y *G. intraradices* EN DOS CONDICIONES DE UN SUELO
ANDOSOL-MÓLICO DEL SOCONUSCO, CHIAPAS, MÉXICO

Días Tratamiento		Altura de planta (cm)		Número de hojas		Peso seco (g/planta)			
		Suelo tratado*	Suelo sin tratar	Suelo tratado*	Suelo sin tratar	Raíz		Tallo	
						Suelo tratado*	Suelo sin tratar	Suelo tratado*	Suelo sin tratar
30	Testigo	15,98 ab	16,83 ab	4,00 ab	4,00 ab	0,25 bc	0,29 ab	0,17 b	0,22 a
	A.b.	14,89 b	18,70 a	3,75 b	4,50 a	0,24 c	0,35 a	0,13 b	0,26 a
	G.i.	15,79 ab	17,96 ab	4,25 ab	4,30 ab	0,26 c	0,30 ab	0,14 b	0,25 a
	A.b. + G.i.	15,10 ab	17,99 ab	3,75 ab	4,00 ab	0,24bc	0,28 ab	0,17 b	0,25 a
		CV= 8,4%		CV= 9,%		CV= 7,5%		CV= 8,7%	
60	Testigo	18,56 a	19,07 a	6,00 c	7,00 abc	0,29 c	0,52 ab	0,23 c	0,51 a
	A.b.	19,59 a	18,69 a	6,14 bc	7,10 abc	0,28 c	0,54 a	0,28 bc	0,51 a
	G.i.	18,39 a	20,11 a	6,50abc	7,20 ab	0,30 c	0,46 b	0,27 bc	0,51 a
	A.b. + G.i.	17,88 a	19,85 a	7,46 a	7,15 abc	0,27 c	0,54 a	0,29 b	0,54 a
		CV= 10,3%		CV= 12,9%		CV=10,3%		CV= 9,9%	
90	Testigo	21,51 b	25,77 a	9,13 bc	9,20 bc	0,40 c	1,09 b	0,52 b	1,03 a
	A.b.	21,94 ab	24,69 ab	8,63 c	10,80 ab	0,50 c	1,18 a	0,58 b	1,13 a
	G.i.	23,23 ab	25,31 ab	9,38 bc	12,37 a	0,49 c	0,96 b	0,63 b	1,13 a
	A.b. + G.i.	22,80 ab	23,49 ab	9,15 bc	11,25 a	0,48 c	1,23 a	0,63 b	1,21 a
		CV= 11,0%		CV= 9,5%		CV= 13,3%		CV =11,2%	
120	Testigo	25,66 c	32,40 ab	11,25 c	14,90 abc	0,94 c	1,79 ab	1,08 d	1,71 b
	A.b.	29,13 bc	34,17 a	11,75 bc	16,56 a	0,97 c	2,01 a	1,26 cd	2,13 a
	G.i.	27,58 c	33,17 a	11,25 c	15,40 ab	1,25 bc	1,44 b	1,32 cd	1,65 c
	A.b. + G.i.	27,34 c	31,65 ab	12,00 bc	14,40 abc	1,05 bc	2,00 a	1,29 cd	1,91 b
		CV= 8,2%		CV=17,5%		CV= 17,6%		CV= 9,9%	
150	Testigo	32,04 de	40,44 ab	14,88 a	16,25 a	1,56 c	3,14 ab	1,89 b	3,47 a
	A.b.	36,95 bcd	41,28 ab	15,00 a	17,60 a	1,68 bc	3,30 a	2,29 b	3,62 a
	G.i.	35,04 cde	41,47 a	15,13 a	18,33 a	1,63 c	2,43 b	2,21 b	3,36 a
	A.b. + G.i.	33,16 de	39,63 abc	15,99 a	17,65 a	1,71 c	3,26 a	2,17 b	3,60 a
		CV= 8,1%		CV= 17,0%		CV= 19,6%		CV= 11,1%	
180	Testigo	37,14 d	49,76 ab	16,38 c	22,90 a	1,86 c	4,38 a	2,30 c	5,08 a
	A.b.	43,63 bcd	51,35 a	16,88 bc	23,70 a	1,97 bc	4,83 a	2,52 bc	5,86 a
	G.i.	40,36 d	49,92 ab	20,5 abc	23,80 a	2,56 bc	4,65 a	2,61 bc	5,26 a
	A.b. + G.i.	40,53 cd	47,03 abc	18,04 abc	21,90 a	2,71 b	4,69 a	2,96 b	4,97 a
		CV= 9,9%		CV= 17,7%		CV= 15,9%		CV= 12,4%	

T: testigo, A.b.: *Azospirillum brasilense*, G.i.: *Glomus intraradices*, CV: coeficiente de variación.

* Suelo tratado con bromuro de metilo (1lb/2m³).

Valores con la misma letra dentro de cada factor y columna son iguales (prueba de Tukey, P≤0,05)

crecieron en promedio 9cm más y produjeron cinco hojas más, cuando crecieron en el suelo sin tratar en comparación con el suelo tratado (bromurado), y las diferencias fueron más evidentes a partir de los 120 días después de la siembra (Tabla I). A los 180 días de la siembra, las plantas biofertilizadas produjeron en promedio 12,4% más materia seca, en comparación con el testigo (Tabla I). Chulan y Martin (1992), consignaron resultados semejantes a la inoculación de micorriza arbuscular en cacao. En otras plantas, la ino-

culación de *Azospirillum* y *Glomus* ha resultado en interacción positiva para estimular el crecimiento vegetal (Pacovsky, 1988). Diversos autores han encontrado efectos positivos de la simbiosis entre algunos cultivos perennes tales como cítricos (González-Chávez y Ferrera-Cerrato, 1996), papaya (Sánchez-Espíndola *et al.*, 1996), aguacate (Azcón-Aguilar *et al.*, 1992), y diversos cultivos anuales (Irizar-Garza *et al.*, 2003). Con relación a la biomasa, la mayor asignación de materia seca a partir de 120 días fue con *A. brasilen-*

se y cuando se combinó con *G. intraradices* (Tabla I); en cambio, las plantas inoculadas únicamente con *G. intraradices* produjeron menor peso seco de raíz, en comparación con los tratamientos con *Azospirillum* y el testigo.

En el suelo sin tratar las diferencias más contrastantes se presentaron después de los 90 días de siembra en plantas inoculadas con *A. brasilense*. El crecimiento de las raíces es uno de los aportes más resaltantes de los microorganismos en simbiosis con las plantas (Rovira *et al.*, 1983).

El efecto de *A. brasilense* en inducir mayor desarrollo radical ha sido consignado en diferentes plantas anuales cuando se inocula solo (Okon y Kapulnik 1986), o bien con la simbiosis de *Azospirillum-Glomus* en frijol (Andreeva *et al.*, 1992), o *Glomus-Rhizobium* en *Leucaena* (Aguirre y Velasco, 1994). En algunas plantas anuales tales como el frijol, Aguirre y Kohashi (2002) obtuvieron el mismo resultado. Al parecer, la hifa del hongo sustituye los pelos radicales (Azcón-Aguilar y Barea, 1980); de lo contrario, se esperaría que los tratamientos con mayor sistema radical, como los inoculados con *Azospirillum* y el testigo, tuvieran mayor absorción de nutrientes del suelo, pero en este caso sucede lo contrario. Al respecto, Böhm (1979) advirtió que el peso seco de la raíz y su actividad no están correlacionados porque la cantidad de raíces finas que realizan la absorción es una fracción pequeña del total. Bowen *et al.* (1975), en cambio, confirmaron que las raíces micorrizadas incrementan el poder de absorción a través de sus hifas externas. En la presente investigación el porcentaje promedio de infección micorrizica fue del 36%.

La asignación de materia seca a la raíz y el tallo principal fue contrastante al comparar las dos condiciones del suelo. Durante el primer mes, en el suelo tratado, las plantas de cacao asignaron a la raíz en promedio el 36% del total de la materia seca, frente a 27% en el suelo sin tratar. En los muestreos subsiguientes la asignación en promedio fue de 22% a este órgano en el suelo tratado y 24% en el suelo sin tratar. Este comportamiento podría reflejar la limitación inicial en la interacción de los microsimbiontes con la raíz y su efecto en la síntesis de carbohidratos, o bien la utilización de energía para favorecer los mecanismos de reconocimiento planta-bacteria que promueven el establecimiento de la simbiosis.

Con relación al peso seco del tallo principal en las dos

TABLA II
COMPARACIONES DE MEDIAS DEL ÁREA FOLIAR Y BIOMASA SECA DE HOJA Y PECÍOLO DE PLÁNTULAS DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) INOCULADAS CON *A. brasilense* Y *G. intraradices* EN DOS CONDICIONES DE UN SUELO ANDOSOL-MÓLICO DEL SOCONUSCO, CHIAPAS, MÉXICO

Días	Tratamiento	Peso seco (g/planta)				Área foliar (cm ²)	
		Lámina foliar		Pecíolo		Suelo tratado*	Suelo sin tratar
		Suelo tratado*	Suelo sin tratar	Suelo tratado*	Suelo sin tratar		
30	Testigo	0,30 b ^Y	0,56 a	0,01 b	0,02 a	143,23 b	213,80 a
	A.b.	0,24 b	0,57 a	0,01 b	0,02 a	126,28 b	229,46 a
	G.i.	0,28 b	0,59 a	0,01 b	0,02 a	133,95 b	219,68 a
	A.b. + G.i.	0,31 b	0,61 a	0,01 b	0,02 a	135,00 b	222,34 a
		CV= 5,9%		CV=13,2%		CV= 13,2%	
60	Testigo	0,67 c	1,14 a	0,03 c	0,07 a	304,99 c	381,13 ab
	A.b.	0,78 b	1,15 a	0,05 b	0,07 a	349,03 bc	380,13 b
	G.i.	0,80 b	1,20 a	0,05 b	0,08 a	330,72 bc	425,50 a
	A.b. + G.i.	0,81 b	1,18 a	0,05 b	0,08 a	333,39 bc	393,96 ab
		CV= 7,8%		CV= 11,0%		CV= 11%	
90	Testigo	1,36 d	2,05 ab	0,10 b	0,16 a	470,51 c	577,11 b
	A.b.	1,57 cd	2,36 a	0,11 b	0,18 a	547,36 bc	674,74 a
	G.i.	1,60 cd	2,09 ab	0,13 b	0,16 a	554,84 bc	539,93 bc
	A.b. + G.i.	1,47 cd	2,13 a	0,12 b	0,17 a	520,72 bc	584,88 b
		CV= 9,6 5%		CV= 11,1%		CV= 11,1%	
120	Testigo	2,26 de	3,29 b	0,19 c	0,29 ba	643,91 a	896,67 a
	A.b.	2,10 e	4,11 a	0,20 c	0,37 a	740,67 a	1006,16 a
	G.i.	2,38 d	3,47 b	0,23 c	0,24 c	754,42 a	773,62 a
	A.b. + G.i.	2,43 de	3,55 b	0,23 bc	0,33 a	827,43 a	908,79 a
		CV= 6,3%		CV= 20,1%		CV= 20,12%	
150	Testigo	2,87 d	5,23 a	0,29 d	0,54 a	817,32 c	1245,57 b
	A.b.	3,27 cd	5,77 a	0,34 d	0,57 a	933,98 c	1408,90 a
	G.i.	3,25 cd	4,97 b	0,35 d	0,47 bc	953,99 c	1213,13 b
	A.b. + G.i.	3,84 c	5,42 a	0,39 cd	0,5326 ab	1105,63 b	1304,05 ab
		CV= 10,7%		CV= 11,9%		CV= 11,9%	
180	Testigo	3,90 c	8,60 a	0,36 e	0,90 ab	1000,91 e	1960,25 a
	A.b.	4,05 c	10,35 a	0,40 e	0,93 a	1214,08 de	2322,54 a
	G.i.	5,65 b	8,55 a	0,55 de	0,74 c	1543,19 bcd	1783,32 abc
	A.b. + G.i.	5,83 b	8,39 a	0,55 d	0,79 bc	1487,43 cd	1888,38 ab
		CV= 9,5%		CV= 15,6%		CV= 15,6%	

T: testigo, A.b.: *Azospirillum brasilense*, G.i.: *Glomus intraradices*, CV: coeficiente de variación.

* Suelo tratado con bromuro de metilo (1lb/2m³).

Valores con la misma letra dentro de cada factor y columna son iguales (prueba de Tukey, P≤0,05)

condiciones de suelo, la mayor asignación de materia seca fue con *Glomus* y cuando se combinó con *Azospirillum* (Tabla I). En este caso, los microsimbiontes inoculados fueron eficaces en inducir mayor crecimiento del tallo principal, efecto que según O' Keefe y Sylvia (1992) se debe al incremento en la superficie de absorción externa que se presenta con el crecimiento del micelio.

El peso seco de la lámina foliar y del pecíolo fue superior con *Glomus* en el suelo tratado; mientras que, en el suelo sin tratar lo fue con *Azospirillum* (Tabla II). En

otras plantas como *Leucaena*, se incrementan estos mismos componentes del rendimiento con la simbiosis *Glomus-Rhizobium* (Aguirre y Velasco, 1994). En relación al área foliar, las plantas biofertilizadas en el suelo sin tratar presentaron los mayores valores (Tabla II). Resultados semejantes han sido obtenidos en otras plantas micorrizadas como papaya (Sánchez-Espíndola, et al., 1996), *Citrus volkameriana* (González-Chávez y Ferrera-Cerrato, 1996) y en diversas leguminosas forrajeras (Aguirre et al., 1988). De los microorganismos inoculados, *A. brasilense* promo-

vió la mayor área foliar y en el suelo tratado este efecto se observó con la simbiosis doble, alcanzando la mayor asignación de materia seca a la lámina foliar.

El contenido de N₂ en el tejido vegetal fue mayor en las plantas que crecieron en el suelo tratado durante los dos primeros meses de evaluación, observándose posteriormente diferencias entre tratamientos (Figura 1). En la condición natural del suelo las plantas biofertilizadas presentaron mayor contenido de N₂ en comparación con el testigo. Este hecho fue más contrastante durante los pri-

meros 120 días de la evaluación. *G. intraradices*, solo o cuando fue aplicado junto con *Azospirillum* indujo el mayor contenido de N₂ en el tejido vegetal del cacao. En condiciones de alta fertilidad, como en este caso, la micorrización a través de su efecto físico en la extensión del sistema de absorción de las plantas, aumenta la capacidad de transporte de nutrientes (Barea y Azcón-Aguilar, 1983), como el caso del N₂ (Ames y Bethlenfalvay, 1987; Kucy y Paul, 1982), donde la micorriza arbuscular absorbe NH₄⁺ a menores concentraciones que la raíz, pero también lo puede hacer con el NO₃⁻ (Ames y Bethlenfalvay, 1987). En cambio, la bacteria fijadora de N₂, *Azospirillum*, promovió mayor contenido de N₂ que el testigo solamente al inicio de la evaluación. La respuesta anterior supone la reducción en la fijación de N₂ por la bacteria ante la presencia de fuentes nitrogenadas en el suelo (Aguirre, 2004).

Las plantas micorrizadas promovieron mayor contenido de P en el tejido vegetal del cacao (Figura 2). Existen evidencias del transporte de P por los hongos micorrizógenos hacia la planta (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1986; Godbold, 1999), por lo que es prudente considerar las bondades agronómicas de este proceso en el desarrollo de las plantas, especialmente en los suelos tropicales donde el P es un factor limitante (Fairhurst et al., 1999). El contenido de Ca²⁺ fue también mayor en los tratamientos biofertilizados (Figura 3). Para estos tres elementos, N₂, P y Ca²⁺, los valores más altos se obtuvieron en el suelo no tratado a partir de los 90 y 180 días de la siembra con *G. intraradices*. Este mismo comportamiento se observó en el suelo tratado, pero en menor proporción que el anterior; sin embargo, en la última evaluación, el tratamiento micorrizado mostró mayor contenido de Ca²⁺ en el tejido del cacao.

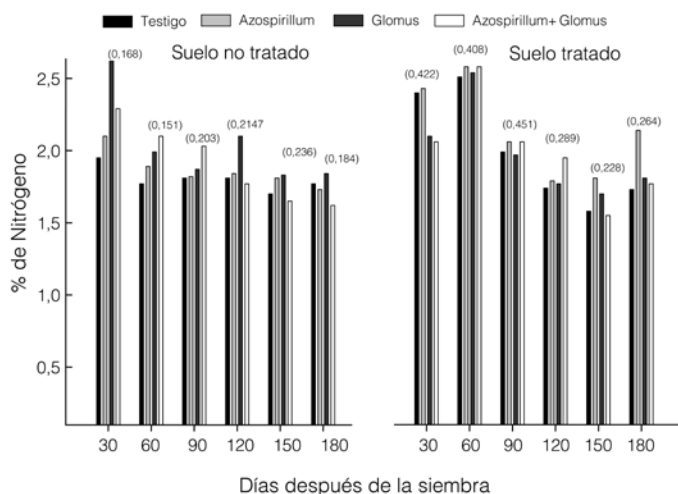


Figura 1. Contenido de nitrógeno en plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) biofertilizadas con *A. brasilense* y *G. intraradices* en dos condiciones de un suelo andosol-mólico del Soconusco, Chiapas, México. Los valores son promedios de ocho plantas por tratamiento y muestreo. Cada tratamiento muestra el intervalo de confianza a través de la diferencia mínima significativa (DMS).

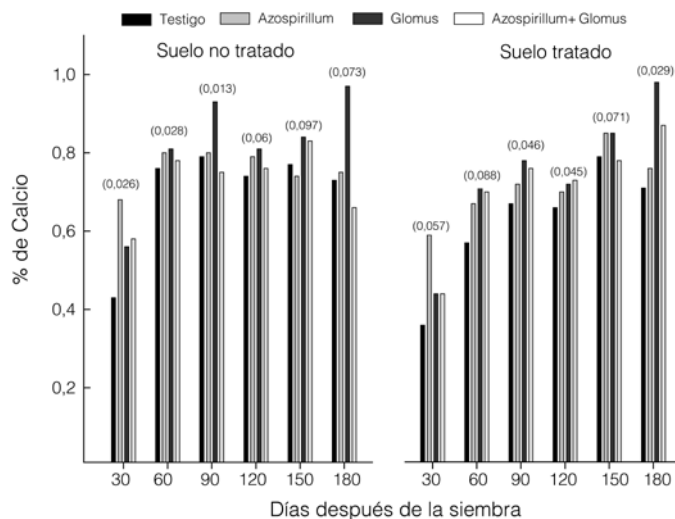


Figura 3. Contenido de calcio en plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) biofertilizadas con *A. brasilense* y *G. intraradices* en dos condiciones de un suelo andosol-mólico del Soconusco, Chiapas, México. Los valores son promedios de ocho plantas por tratamiento y muestreo. Cada tratamiento muestra el intervalo de confianza a través de la diferencia mínima significativa (DMS).

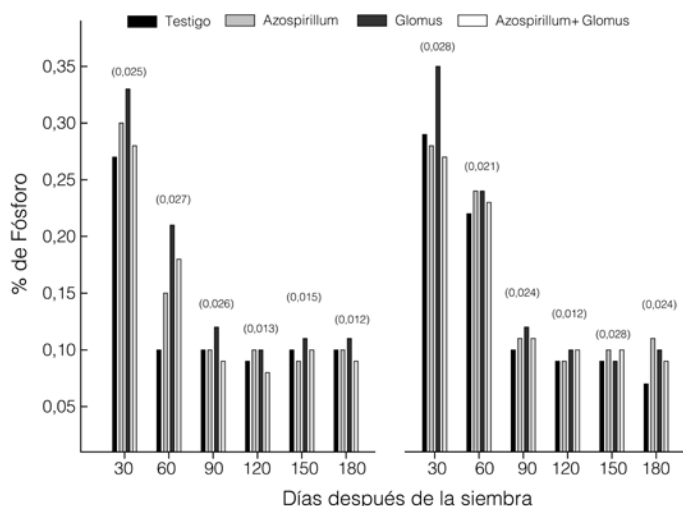


Figura 2. Contenido de fósforo en plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) biofertilizadas con *A. brasilense* y *G. intraradices* en dos condiciones de un suelo andosol-mólico del Soconusco, Chiapas, México. Los valores son promedios de ocho plantas por tratamiento y muestreo. Cada tratamiento muestra el intervalo de confianza a través de la diferencia mínima significativa (DMS).

Conclusiones

La biofertilización del cacao en vivero con los microorganismos utilizados, solos o combinados, favorece el desarrollo y la asignación de materia seca de los componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento de la planta. Los órganos con mayor efecto fueron la raíz y la lámina foliar. La respuesta del cacao a los microsimbiontes en el suelo tratado y sin tratar sugiere la

interacción con otros microorganismos en la inducción de su desarrollo vegetal. La mayor respuesta de las plántulas de cacao a la biofertilización en suelo tratado, se indujo con *Glomus intraradices*, solo o en combinación con *Azospirillum brasilense* en el suelo no tratado. En general, las plantas inoculadas presentaron en el tejido vegetal los valores más altos de N_2 , P y Ca^{2+} en suelo no tratado en comparación con el testigo.

REFERENCIAS

- Aguirre MJF (2004) Biofertilizantes microbianos: antecedentes del programa y resultados de validación en México. En *Simpósio de Biofertilizantes: La biofertilización como tecnología sostenible*. Campo Experimental Río Bravo-INIFAP-México. pp. 71-86.
- Aguirre MJF, Velasco ZME (1994) Componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento de *Leucaena leucocephala* al inocularse con micorriza VA y/o *Rhizobium loti*. *Agric. Tec. Mex.* 20: 43-54.
- Aguirre MJF, Kohashi Shibata J (2002) Componentes Morfológicos y Fisiológicos del Rendimiento, Dinámica de la Colonización Micorrízica y contenido de Fósforo en Frijol *Phaseolus vulgaris* L. *Agric. Tec. Mex.* 28: 23-33.
- Aguirre MJF, Valdés M, Silvestre-Bradley R (1988) Simbiosis entre rizobios y cuatro leguminosas tropicales adaptadas en Chiapas, México. *Pasturas Tropicales* 10: 18-21.
- Alarcón A, Ferrera-Cerrato R (2000) Biofertilizantes: Importancia y utilización en la agricultura. *Agric. Tec. Mex.* 26: 191-203.
- Ames RN, Bethlenfalvay G (1987) Localized increase in nodule activity but no competitive interactions of cowpea rhizobia due to pre-establishment of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytol.* 106: 207-215.
- Andreeva IN, Mandkhan K, Re'kina TV, Mishustin EN, Izmailnov SF (1992) Effect of *Azospirillum brasilense* on formation and nitrogen-fixing activity of bean and soybean nodules. *Soviet Plant Physiol.* 38: 646-651.
- Azcón-Aguilar C, Barea JM (1980) Micorrizas. *Investigación y Ciencia.* 47: 8-16.
- Azcón-Aguilar C, Barcelo A, Vidal MT, Delavina G (1992) Further studies on the influence of mycorrhiza on growth and development of micropropagated avocado plants. *Agronomie* 12: 837-840.
- Barea JM, Azcón-Aguilar C (1983) Mycorrhiza and their significance on nodulating nitrogen fixing plants. *Adv. Agron.* 36: 1-54.
- Böhmer W (1979) *Methods of Studying Root Systems*. Springer, Berlín, Alemania. pp. 127-139.
- Bowen GD, Bevege DG, Mosse B (1975) Phosphate physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizas. En Sander FE, Mosse B, Tinker PB (Eds.) *Endomycorrhizas*. Academic Press. Nueva York, EEUU. pp. 241-260.
- Chulan HA, Martín K (1992) The vesicular-arbuscular (V-A) mycorrhiza and its effects on growth of vegetatively propagated *Theobroma cacao*. *Plant Soil* 144: 227-233.
- Fairhurst T, Lefroy R, Mutert E, Batjes N (1999) The importance, distribution and causes of phosphorus deficiency as a constraint to crop production in the tropics. *Agrofor. Forum* 9: 2-8.
- Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S (1986) The physiology of improved phosphorus nutrition in mycorrhizal plants. En Gianinazzi-Pearson V, Gian-

- nazzi S (Eds.) *Physiological and Genetics aspect of Mycorrhizae*. INRA. París, Francia. pp 101-109.
- Godbold DL (1999) The role of mycorrhiza in phosphorus acquisition. *Agrofor. Forum* 9: 25-27.
- González-Chávez MC, Ferrera-Cerrato R (1996) Efecto de diferentes dosis de inoculo endomicorrízico en la dinámica de crecimiento de *Citrus volkameriana*. En Pérez-Moreno J, Ferrera-Cerrato R (Eds.) *Agroecología y Desarrollo Sostenible*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp. 374-376.
- Irizar-Garza MBG, Vargas-Vázquez P, Garza-García D, Tut y Couoh C, Rojas-Martínez I, Trujillo-Campos A, García-Silva R, Aguirre-Montoya D, Martínez-González JC, Alvarado-Mendoza S, Grajeda-Cabrera O, Valero-Garza J, Aguirre-Medina JF (2003) Respuesta de cultivos agrícolas a los biofertilizantes en la región central de México. *Agric. Tec. Mex.* 29: 213-225.
- Kucey RMN, Paul EA (1982) Carbon flow photosynthesis and N₂ fixation on mycorrhizal and nodulated faba beans (*Vicia faba* L.). *Soil Biol. Biochem.* 14: 407-412.
- O'keefe DM, Sylvia DM (1992) Chronology and mechanisms of P uptake by mycorrhizal sweet potato plants. *New Phytol.* 122: 651-659.
- Okon Y, Kapulnik Y (1986) Development and function of *Azospirillum* inoculated roots. *Plant Soil* 90: 3-16.
- Pacovsky RS (1988) Influence of inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Glomus fasciculatum* on sorghum nutrition. *Plant Soil* 110: 275-282.
- Phillips JM, Hayman DJ (1970) Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
- Reganold JP, Papendick RI, Parr JF (1990) Sustainable agriculture. *Sci. Am.* 262: 111-120.
- Rovira AD, Bowen GD, Foster RC (1983) The significance of rhizosphere microflora and mycorrhiza in plant nutrition. En *Encyclopedia of Plants*. New Series 15. Springer. Berlín, Alemania. pp. 61-95.
- Saggin OJ, Siqueira JO, Colozzi-Filho A, Oliveira E (1992) A infestação do solo com fungos micorrízicos no crescimento post-transplante de mudas de caféiro não micorrizadas. *Rev. Bras. Cienc. Solo* 16: 39-46.
- Sánchez-Espindola ME, González-Chávez MC, Ferrera-Cerrato R (1996) Manejo de micorriza arbuscular en plantas de papaya. En Pérez-Moreno J, Ferrera-Cerrato R (Eds.) *Agroecología y Desarrollo Sostenible*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp. 405-407.
- SAS (1985) SAS User's Guide: Statistics. Vers. 5. SAS Institute Cary, NC, EEUU. 208 pp.
- Sieverding E (1989) Ecology of VAM fungi in tropical agrosystems. *Agr. Ecosyst. Env.* 29: 369-390.
- Siqueira JO, Colozzi-Filho A, Saggin OJ, Guimarães TG, Oliveira E (1993) Crescimento de mudas e produção do caféiro sob influencia de fungos micorrízicos e superfosfato. *Rev. Bras. Cienc. Solo* 17: 53-60.
- Vinayak K, Bagyaraj DJ (1990) Vesicular-arbuscular mycorrhizae screened for Troyer Citrange. *Biol. Fertil. Soil.* 9: 311-314.
- Zasoski RJ (1991) Effects of nitrogen sources and mycorrhizal inoculation with different species on growth and nutrient composition of young coffee seedlings. *Café Cacao Thé* 35: 121-129.