



**Por un Desarrollo
Agrario Integral
y Sostenible**

Universidad Nacional Agraria

Facultad de Agronomía

Trabajo de Graduación

**Respuesta de Cacao (*Theobroma cacao*
L.) y Teca (*Tectona grandis* L.f) a la
micorrización durante la etapa de vivero,
Kukra Hill, RACCN, Nicaragua, 2017**

Autora

Ing. Jael Bildad Cruz Castillo

Asesores

Dra. Carolina Vega-Jarquín

Dr. Jorge Ulises Blandón

MSc. Rodolfo Munguía

Managua, Nicaragua

Diciembre, 2017



Universidad Nacional Agraria

Facultad de Agronomía

Trabajo presentado como requisito para obtener el grado
de Máster en Agroecología y Desarrollo Sostenible

**Respuesta de Cacao (*Theobroma cacao* L.) y
Teca (*Tectona grandis* L.f) a la micorrización
durante la etapa de vivero, Kukra Hill, RACCN,
Nicaragua, 2017**

Autora

Ing. Jael Bildad Cruz Castillo

Asesores

Dra. María Carolina Vega-Jarquín

Dr. Jorge Ulises Blandón

MSc. Rodolfo Munguía

Managua, Nicaragua

Diciembre, 2017



Universidad Nacional Agraria

Facultad de Agronomía

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable tribunal examinador designado por la Decanatura de la Facultad de Agronomía como requisito parcial para optar al título profesional de:

Máster en Agroecología y Desarrollo Sostenible

Miembros del tribunal examinador

Presidente

Dr. Víctor Aguilar Bustamante

Secretaria

MSc. Yanet Gutiérrez Gaitán

Vocal

MSc. Isaías Sánchez Gómez

Managua, Nicaragua

Diciembre, 2017

ÍNDICE DE CONTENIDO

N°	Sección	Página
	DEDICATORIA	i
	AGRADECIMIENTOS	ii
	ÍNDICE DE CUADROS	iii
	ÍNDICE DE FIGURAS	iv
	ÍNDICE DE ANEXOS	v
	RESUMEN	vi
	ABSTRACT	vii
I	INTRODUCCIÓN	1
II	OBJETIVOS	3
	2.1. Objetivo general	3
	2.2. Objetivos específicos	3
III	MATERIALES Y MÉTODOS	4
	3.1. Ubicación del área de estudio	4
	3.2. Diseño metodológico	5
	3.2.1. Recolección de muestras	5
	3.2.2. Manejo del experimento bajo condiciones no controladas	5
	3.2.3. Manejo del experimento bajo condiciones de vivero	6
	3.2.4. Variables evaluadas en el experimento bajo condiciones no controladas	8
	3.2.5. Variables evaluadas en el experimento bajo condiciones de vivero	8
	3.2.6. Manejo agronómico del experimento bajo condiciones de vivero	10
	3.2.7. Aislamiento e identificación de géneros de HFM	10
	3.2.8. Porcentaje de colonización de HFM en raíces de plántulas de <i>T. cacao</i> y <i>T. grandis</i> en condiciones no controladas y condiciones de vivero	12
	3.3. Análisis de los datos	13
IV	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
	4.1. Efecto de la micorrización en el crecimiento de plántulas de <i>T. cacao</i> y <i>T. grandis</i>	14
	4.1.1. Respuesta de dos clones de <i>T. cacao</i> a sustratos con inóculos y sin inóculos bajo condiciones no controladas	14
	4.1.2. Respuesta de <i>T. cacao</i> y <i>T. grandis</i> a diferentes inóculos bajo condiciones de vivero	15
	4.1.3. Condiciones edáficas de los suelos versus requerimientos edáficos para <i>T. cacao</i> y <i>T. grandis</i>	21
	4.2. Identificación de géneros de HFM nativos provenientes de suelos bajo <i>T. cacao</i>	22
	4.3. Porcentaje de colonización de HFM en raíces de plántulas de <i>T. cacao</i> y <i>T. grandis</i>	27
V	CONCLUSIONES	33
VI	RECOMENDACIONES	34
VII	LITERATURA CITADA	35
VIII	ANEXOS	39

DEDICATORIA

¡A **Jehová**, mi amparo y fortaleza, mi pronto auxilio en las tribulaciones!

¡A mi familia: **Aura Belia Castillo, Eleuterio Cruz, Jackeline Elieth Cruz, Josine Rodríguez Cruz** y mi amado esposo **Carlos Francisco Carmona**; quienes en todo momento me han apoyado y animado a culminar esta meta!

Ing. Jael Bildad Cruz Castillo

AGRADECIMIENTOS

A **Jehová** por darme la vida y las fuerzas necesarias en todo momento

A mi familia: **Aura Belia Castillo, Eleuterio Cruz, Jackeline Elieth Cruz, Josine Rodríguez Cruz** y **Carlos Francisco Carmona**, por la motivación constante en los buenos y malos momentos.

A mis asesores: **Dra. María Carolina Vega, Dr. Jorge Ulises Blandón** y **MSc. Rodolfo Munguía** por guiarme en este arduo y provechoso trabajo de investigación.

A **Urley Adrián Pérez, Chritel Baum, Isaías Sánchez, Fulgencio Marín, César Reynosa, Danilo Valle, Lucía Romero, Efraín Acuña, Bismarck Mendoza, Markelyn Rodríguez, Eliezer Lanuza, Danessa Ramírez, Marisol Vanegas, Heyddy González, Teresa Morales, Isabel González, Miguel Garmendia, Heraldo Salgado** por compartir sus conocimientos y tiempo dedicado.

A **EDUNABIO** por el apoyo financiero y la oportunidad de desarrollar habilidades, destrezas en los laboratorios de **CORPOICA/Colombia** y la **Universidad de Rostock/Alemania**.

A la **Universidad Nacional Agraria** por la formación integral y la oportunidad de superarme profesionalmente.

A la **Dirección de Investigación, Extensión y Postgrado/UNA** y **Empresa Ritter Sport** por el apoyo económico y logístico para el desarrollo de ésta investigación.

Gracias y Bendiciones a tod@s

Ing. Jael Bildad Cruz Castillo

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Lotes muestreados según subgrupo taxonómico de suelo para análisis bajo condiciones no controladas	5
2	Lotes muestreados según subgrupo taxonómico de suelo para análisis bajo condiciones de vivero	7
3	Tratamientos evaluados para <i>T. cacao</i> y <i>T. grandis</i>	7
4	Período de medición de las variables del estudio para ambas especies	10
5	Efecto de la micorrización sobre el crecimiento de las plántulas de <i>T. cacao</i> bajo condiciones no controladas	14
6	Condiciones edáficas de los suelos estudiados en finca El Cacao	21
7	Requerimientos edáficos para <i>T. cacao</i> y <i>T. grandis</i>	22
8	Interpretación de resultados (Quintana <i>et al.</i> , 1992)	22
9	Total de esporas de HFM/10 gramos de suelo bajo condiciones no controladas	23
10	Total de esporas de HFM/10 gramos de suelo bajo condiciones de vivero	23
11	Porcentaje de esporas por géneros de HFM bajo condiciones no controladas	26
12	Porcentaje de esporas por géneros de HFM bajo condiciones de vivero	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Ubicación de la finca El Cacao, Comarca La Fonseca, Municipio de Kukra Hill, RACCS.	4
2	Diagrama de flujo del manejo del experimento bajo condiciones no controladas	6
3	Procedimiento para cuantificar el número de esporas de HFM en 10 gramos de suelo	11
4	Procedimiento para determinar porcentaje de colonización de raíces micorrizadas	13
5	Efecto de la micorrización sobre la altura total (cm), número de hojas verdaderas y diámetro de tallo (mm) para <i>T. cacao</i> y <i>T. grandis</i>	16
6	Efecto de la micorrización sobre el peso fresco aéreo (g), peso seco aéreo (g), peso fresco raíz (g) y peso seco raíz (g) para <i>T. cacao</i> y <i>T. grandis</i>	17
7	Efecto de la micorrización sobre el área foliar (cm ²) para <i>T. cacao</i> y <i>T. grandis</i> en etapa de vivero	18
8	Efecto de la micorrización sobre el Índice de Esbeltez y el Índice de calidad de Dickson para <i>T. cacao</i> y <i>T. grandis</i>	19
9	Géneros de HFM identificados: A) <i>Glomus</i> , B) <i>Acaulospora</i> y C) <i>Scutellospora</i>	25
10	Porcentaje de colonización en raíces de <i>T. cacao</i> bajo condiciones no controladas	28
11	Porcentaje de colonización en raíces de <i>T. cacao</i> bajo condiciones de vivero	29
12	Raíces de <i>T. cacao</i> mostrando colonización micorrícica	30
13	Porcentaje de colonización en raíces de <i>T. grandis</i> bajo condiciones de vivero	31
14	Raíces de <i>T. grandis</i> mostrando colonización micorrícica	32

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Formato para la determinación del porcentaje de colonización	40
2	Análisis de varianza para las variables en estudio de <i>T. cacao</i> a los 90 días	41
3	Análisis de varianza para las variables en estudio de <i>T. grandis</i> a los 120 días	45

RESUMEN

Considerando la importancia que en el contexto agroecológico, ha cobrado en la actualidad la utilización de hongos formadores de micorrizas (HFM) al ser usados como complementos de las actividades agrícolas, resulta fundamental ampliar el conocimiento que se tiene hasta el momento de los efectos benéficos de estos microorganismos. Por lo tanto la presente investigación tiene como objetivo generar información relacionada al efecto de HFM nativos, sobre el crecimiento y desarrollo de plántulas de *Theobroma cacao* L. y plántulas de *Tectona grandis* L.f. las cuales se cultivaron en bolsas de vivero por 90 y 120 días respectivamente, las plántulas se evaluaron en once tratamientos de los cuales cinco tenían la población nativa de HFM, un tratamiento fue el sustrato de la finca y los demás fueron mezcla de 50 % de sustrato de la finca + 50 % de suelo con población nativa de HFM. El efecto de la micorrización se evaluó a través de parámetros de crecimiento como: altura total, número de hojas verdaderas, diámetro del tallo, peso fresco aéreo y de raíces, peso seco aéreo y de raíces, área foliar, índice de esbeltez, índice de calidad de Dickson, población total de esporas y porcentaje de colonización. La micorrización favoreció el crecimiento de las plantas en la etapa de vivero, para ambas especies el tratamiento sustrato de la finca presentó los mayores resultados en cuanto a peso seco aéreo y el tratamiento *Fluentic Hapludepts* mostró los mayores resultados en cuanto a peso seco de raíz e índice de calidad de Dickson. Los análisis indican la presencia de los géneros de micorrizas: *Glomus*, *Scutellospora* y *Acaulospora*, los cuales están colonizando el sistema radicular de plántulas de *T. cacao* y *T. grandis* en valores promedios entre 43 % y 75 %. Las respuestas anotadas evidencian el potencial benéfico de las micorrizas en el crecimiento de *T. cacao* y *T. grandis*.

Palabras claves: Agroecología, *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora*, suelos.

ABSTRACT

Considering the importance of the use of mycorrhizal fungi (AMF) in the agroecological context when used as complements to agricultural practices, it is essential to expand the knowledge that we have up to the moment of the effects beneficial of these microorganisms. Therefore, the present research aims to generate information related to the effect of native mycorrhizal fungi on the growth and development of *Theobroma cacao* L. seedlings and *Tectona grandis* L.f., which were cultivated in nursery bags for 90 and 120 days respectively. Were used eleven treatments, of which five had a native population of mycorrhizal fungi, one treatment was the substrate of the farm and the others were mixed of 50% of farm substrate + 50% soil with native population of mycorrhizal fungi. Was evaluated the effect of the micorrization through growth parameters such as total height, number of true leaves, stem diameter, aerial and root fresh weight, aerial and root dry weight, leaf area, Slenderness index, Dickson quality, total spore population and percentage of colonization. The micorrization favored the growth of the plants in the nursery stage for both species, the substrate treatment of the farm presented the highest results in terms of aerial dry weight and the *Fluventic Hapludepts* treatment showed the highest results in terms of root dry weight and Dickson's quality index. The results indicate the presence of mycorrhizal genera: *Glomus*, *Scutellospora* and *Acaulospora*, which are colonizing the root system of *T. cacao* and *T. grandis* seedlings in average values between 43% and 75%. The answers noted demonstrate the beneficial potential of mycorrhizae in the growth of *T. cacao* and *T. grandis*.

Keywords: Agroecology, *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora*, soils.

I. INTRODUCCIÓN

Existe una región del suelo definida como rizósfera donde se ponen de manifiesto numerosas interacciones entre las raíces de la planta y los microorganismos propios de este microcosmo, especialmente bacterias y hongos. Estas interacciones raíz- microorganismos resultan, a veces, muy complejas e implican en muchos casos la invasión de la raíz por dichos microorganismos, o bien permanecen libres en el suelo. En cualquier caso, las interacciones pueden producir un beneficio a la planta o bien lesiones o enfermedades (Clavijo, 2012).

En este sentido, el estudio de los Hongos Formadores de Micorrizas (HFM) ha demostrado su importante papel en la nutrición mineral de numerosas familias de plantas, tanto de interés agrícola como en silvicultura. El uso de estos hongos, permite que la planta incremente la tolerancia al estrés hídrico, se aumenta la producción, la calidad biológica, resistencia a enfermedades y que la fertilización sea más eficiente, es por ello que en el caso de los cultivos se podría ahorrar cantidades importantes de fertilizantes minerales e igualmente lograr una absorción de los nutrientes disponibles en el suelo (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Estos HFM interactúan simbióticamente con cerca del 90% de las plantas terrestres formando diferentes tipos de asociaciones micorrícicas tales como ectomicorrizas y endomicorrizas en función de las especies fúngicas y vegetales entre las que se establece la asociación (Honrubia, 2009). En Nicaragua el cultivo de *T. cacao* está en expansión y el país recientemente fue distinguido como productor de cacao fino o de aroma (Vega-Jarquín, 2017), es en la actualidad un rubro de alto potencial de exportación y hoy en día se fomenta la inclusión de nuevas áreas para el establecimiento del cultivo, con el fin de incrementar la producción y a su vez garantizar plantas de calidad.

Por su parte, *T. grandis* es una especie de valor comercial que se ha expandido por toda Nicaragua ya que genera grandes ganancias por ser cotizada y exportada a países como la India, China, Taiwán y Costa Rica. La plantación de *T. grandis* es un negocio muy rentable a largo plazo; sin embargo no deben obviarse la existencia de diversos factores limitantes para su crecimiento.

Aunque en Nicaragua se reconoce el valor de los principios agroecológicos como base para aumentar la productividad y contribuir con la soberanía alimentaria, se requiere incrementar el conocimiento y aplicación de tecnologías con enfoque agroecológico que respalden el desarrollo agrícola sostenible de la nación.

Por lo anterior expuesto, el uso de HFM es una alternativa de fertilización que facilita el manejo del agua en el sistema de producción, mejora la absorción y la fertilidad del suelo. Algunos países de América Latina han hecho estudios sobre ellos: en Colombia Morell, (2009), determinó que la actividad biológica de los hongos micorrícicos arbusculares juegan un papel importante en la estructura del suelo y la formación de agregados estables a través de diferentes mecanismos; en Costa Rica, Salas (S.f.) señala que la viabilidad de restaurar la simbiosis micorrícica influencia la restauración de paisajes perturbados.

En Cuba, los resultados obtenidos por Ruiz, (2005), mostraron alta respuesta de los cultivos a la micorrización, lográndose incrementos importantes en la masa seca, colonización de las raíces y extracción de nutrientes, encontrándose una alta especificidad suelo-especie de HFM. En Perú, Rojas *et al.*, (2014) determinó la abundancia y diversidad de HFM en tres agroecosistemas de cacao, determinó su potencial y detectó prácticas y asociaciones que contribuyan al incremento de la población micorrícica.

La literatura da indicios de diversos intentos en Nicaragua para realizar caracterización, aislamiento, multiplicación de cepas nativas, validación de cepas certificadas así como sus posibles aplicaciones forestales e interés comercial (FENIAGRO, 2010).

Teniendo en cuenta la importancia que en el contexto agroecológico, ha cobrado en la actualidad la utilización de HFM al ser usados como complementos de las actividades agrícolas, resulta fundamental ampliar el conocimiento que se tiene hasta el momento de la respuesta de plantas a la micorrización, observada ésta en los potenciales efectos benéficos que los HFM estimulan y los cuales pueden ser evaluados por cambios en las variables de crecimiento del vegetal. Por lo tanto la presente investigación pretende corroborar la simbiosis endomicorrícica de ellos con plantas de *Theobroma cacao* L. y *Tectona grandis* L.f.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- ✓ Generar información relacionada al efecto de Hongos Formadores de Micorrizas (HFM) nativos, sobre el crecimiento y desarrollo de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) y plántulas de teca (*Tectona grandis* L.f)

2.2. Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de diferentes sustratos portadores de Hongos Formadores de Micorrizas nativos sobre el crecimiento inicial de plántulas de calidad de *T. cacao* y *T. grandis* en etapa de vivero
2. Identificar géneros de Hongos Formadores de Micorrizas presentes en suelos bajo producción de cacao
3. Determinar el porcentaje de colonización de Hongos Formadores de Micorrizas en raíces de plántulas de *T. cacao* y *T. grandis* en condiciones de vivero

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del área de estudio

El estudio se realizó en la finca El Cacao propiedad de la empresa Ritter-Sport, ubicada en la comarca La Fonseca en las coordenadas UTM 171113 y 1357514, Municipio de Kukra Hill (Región Autónoma Costa Caribe Sur), dicha finca cuenta con 1,500 ha establecidas bajo sistemas agroforestales con cacao. La zona se caracteriza por tener un clima del trópico húmedo y precipitaciones que oscilan entre 3000 mm a 3600 mm anuales (Reynosa y Díaz, 2016).

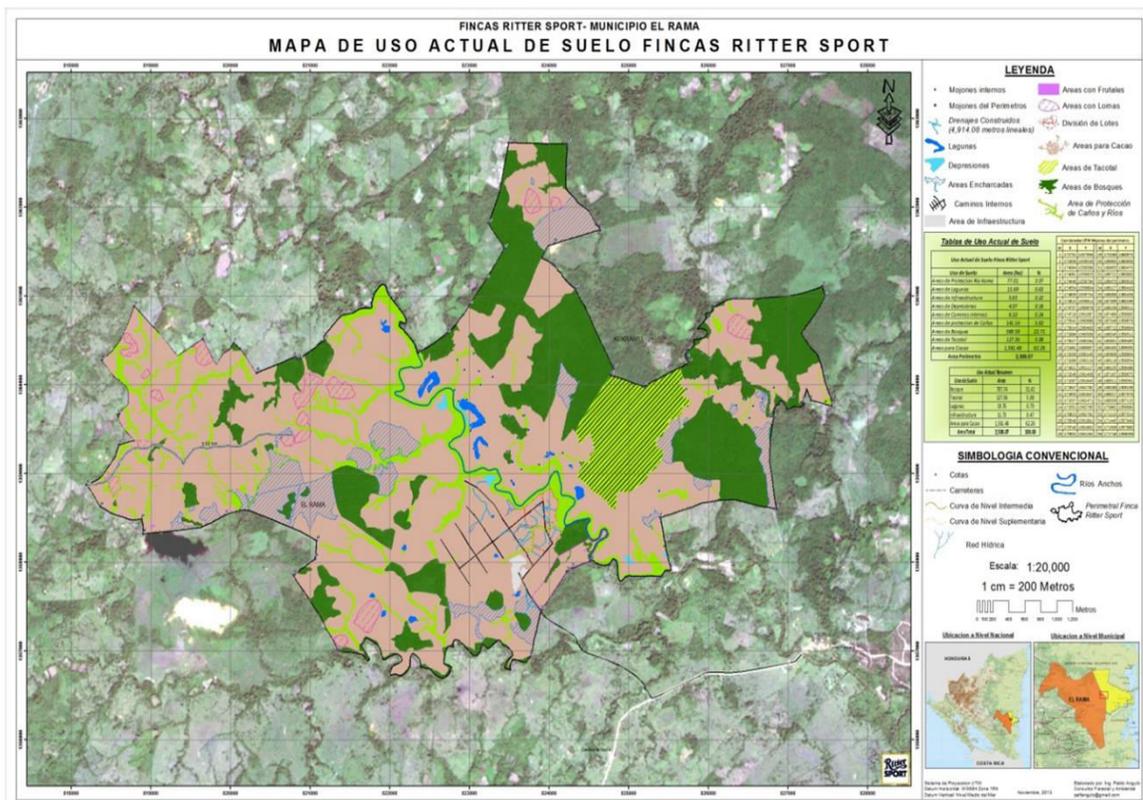


Figura 1. Ubicación de la finca El Cacao, Comarca La Fonseca, Municipio de Kukra Hill, RACC. Fuente: Reynosa y Díaz, (2016)

3.2. Diseño metodológico

3.2.1. Recolección de muestras

En la finca se seleccionaron 5 sitios en los cuales el cacao está manejado bajo sistema agroforestal, pertenecientes a cuatro diferentes subgrupos taxonómicos de suelos descritos por Reynosa y Díaz, (2016) y que se denominan: *Typic Hapludults* (TH), *Fluventic Hapludepts* (FH), *Fluventic Humic Dystrudepts* (FHD) y *Plinthaquic Hapludults* (PH). El sitio denominado “suelo virgen”, fue tomado en cuenta porque no ha sido intervenido desde hace 13 años, sin embargo pertenece al subgrupo *Fluventic Hapludepts* (Cuadro 1).

En cada sitio se extrajeron al azar seis muestras de suelo (tres árboles de cacao por 2 muestras de aproximadamente 22679.6 gramos de suelo de cada árbol) a una profundidad de 20 cm. Se recolectó muestras en dos momentos: Agosto 2016 y Febrero 2017. El suelo recolectado en 2017 fue utilizado como sustrato portador de HFM de acuerdo a los tratamientos enunciados en el Cuadro 3. Para este estudio se evaluó a *T. cacao* bajo condiciones no controladas y en condiciones de vivero; en cambio a *T. grandis* sólo se evaluó en condiciones de vivero.

3.2.2. Manejo del experimento bajo condiciones no controladas

El ensayo de *T. cacao* bajo condiciones no controladas se realizó en el Laboratorio de Semillas de la Universidad Nacional Agraria, con muestras de suelo de la finca El Cacao recolectadas en Agosto 2016, con el objetivo de evaluar *in vivo* mediante un Diseño Completo al Azar unifactorial, la efectividad de la micorrización en plántulas de los clones GS36 y TSH565 con interés comercial, las cuales se cultivaron en vasos de propoplast por 30 días.

Cuadro 1. Lotes muestreados según subgrupo taxonómico de suelo para análisis bajo condiciones no controladas

Subgrupo taxonómico de suelo	Lote muestreado
<i>Plinthaquic Hapludults</i> (PH)	50
<i>Typic Hapludults</i> (TH)	58
<i>Fluventic Hapludepts</i> (FH)	Suelo virgen

Para realizar este ensayo se utilizaron como sustrato portador de HFM los suelos provenientes de los subgrupos taxonómicos mencionados en el Cuadro 1. El ensayo fue realizado como prueba preliminar con la intención de corroborar la simbiosis micorrícica al evaluar después del período de tiempo mencionado la respuesta de la planta, identificar y cuantificar esporas así como el porcentaje de colonización (Figura 2).

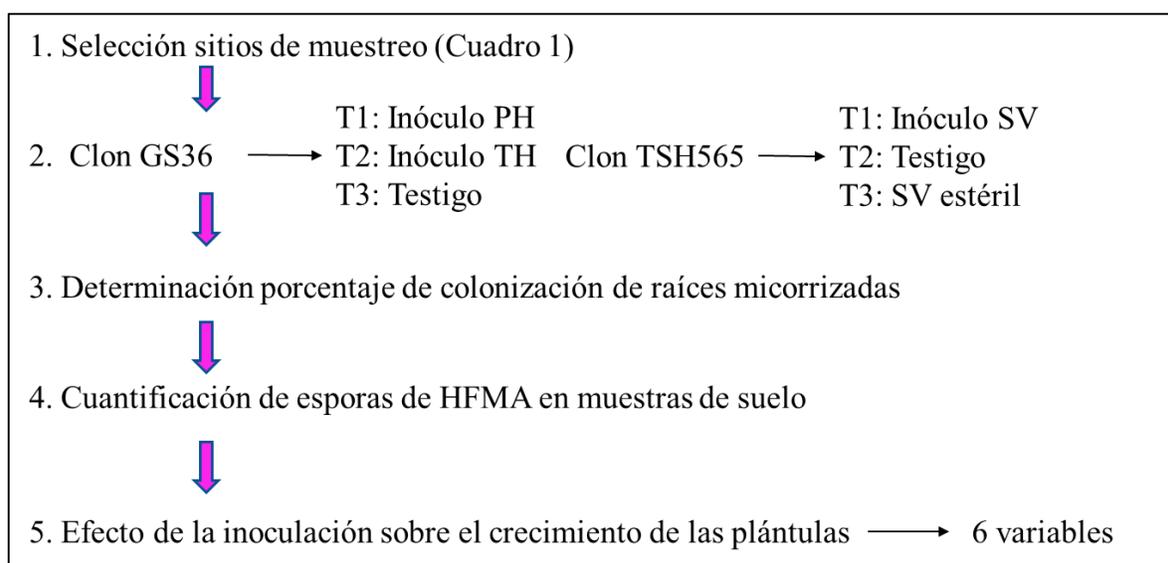


Figura 2. Diagrama de flujo del manejo del experimento bajo condiciones no controladas

3.2.3. Manejo del experimento bajo condiciones de vivero

El ensayo para ambas especies en condiciones de vivero se estableció con muestras de suelo de la finca El Cacao recolectadas en Febrero 2017; para este experimento *T. cacao* se estableció en el vivero 1 y *T. grandis* en el vivero 2, ambos propiedad de Ritter Sport. A continuación se detallan las actividades realizadas para el establecimiento de los viveros de las especies en estudio:

Preparación de sustrato utilizado como inóculo de HFM y llenado de Bolsa: En cada sitio muestreado se extrajeron 136078 gramos de suelo de diferentes lotes (Cuadro 2). Se prepararon 11 tipos de sustratos, los cuales representan los tratamientos evaluados para ambas especies (Cuadro 3) en la presente investigación.

Cuadro 2. Lotes muestreados según subgrupo taxonómico de suelo para análisis bajo condiciones de vivero

Subgrupo taxonómico de suelo	Lotes muestreados
<i>Typic Hapludults</i>	52 y 58
<i>Fluventic Hapludepts</i>	1, 2 y 27
<i>Fluventic Humic Dystrudepts</i>	20 y 46
<i>Plinthaquic Hapludults</i>	8 y 24

Para cada tratamiento se emplearon 12 bolsas de polietileno de 8 x 12 pulgadas, desinfectadas utilizando fungicida para el control de posibles brotes de enfermedades, se aseguró un llenado completo de la bolsa y se alinearon en bloques de dos. Estableciendo así el diseño experimental completamente al azar, con 11 tratamientos y 6 repeticiones por corte evaluativo.

Cuadro 3. Tratamientos evaluados para *T. cacao* y *T. grandis*

Tratamientos	Descripción
T1	100% Sustrato de la finca
T2	100% <i>Typic Hapludults</i> (TH)
T3	100% <i>Fluventic Hapludepts</i> (FH)
T4	100% <i>Fluventic Humic Dystrudepts</i> (FHD)
T5	100% Suelo virgen (SV)
T6	100% <i>Plinthaquic Hapludults</i> (PH)
T7	50 % Sustrato + 50 % TH
T8	50 % Sustrato + 50 % FH
T9	50 % Sustrato + 50 % FHD
T10	50 % Sustrato + 50 % SV
T11	50 % Sustrato + 50 % PH

El tratamiento 1 representaba el testigo y se utilizó el sustrato de la finca; en los tratamientos 2 al 6 se utilizó el 100% del inóculo traído de campo de los diferentes lotes. En los tratamientos del 7 al 11 se utilizó el 50% del sustrato de la finca y el otro 50% del inóculo traído de los lotes.

Sustrato de la finca: éste contenía suelo con buenas condiciones físicas (textura media), colado de la tierra en maya metaliza de 1/4 de pulgada, agregados 5 kg de cal para asegurar un pH de 5.5 a 6; 4 kg de Bical por metro cúbico de tierra, 136 kg de abono orgánico por metro cúbico de tierra.

Siembra de semilla pregerminada: La semilla utilizada para *T. cacao* fue del clon TSH-565 sembrada el 18 de febrero del 2017 y la semilla de *T. grandis* fue sembrada el 11 de abril del 2017.

3.2.4. Variables evaluadas en el experimento bajo condiciones no controladas

Porcentaje de colonización: Para evaluar el porcentaje de colonización micorrícica de las especies, se consideraron los segmentos de raíces colonizados y los no colonizados (Phillips y Hayman, 1970). Se obtuvo la relación del total de segmentos colonizados con respecto a los totales evaluados, considerando todas las estructuras fúngicas (hifas, vesículas, arbusculos).

Población total de esporas: Para el recuento total de esporas y el porcentaje de esporas por géneros de HFM por 10 gramos de suelo húmedo se realizó un análisis cuantitativo (Brundrett *et al.*, 1996).

Altura total: se midió con una regla de 30 cm

Número de hojas verdaderas: se contabilizaron las hojas verdaderas de las plantas

Diámetro del tallo: se midió con Vernier a 4 cm de la base

Área foliar: se calculó con la fórmula $AF = \text{largo (cm)} * \text{ancho (cm)} * \text{factor de corrección}$
El factor de corrección utilizado fue 0.75 (Cárdenas *et al.*, 2010).

Peso fresco: se determinó con una balanza analítica 3S/New Su-15

Peso seco: se determinó con una balanza analítica 3S/New Su-15 después de 48 horas en el horno Binder a una temperatura promedio de 65 °C.

3.2.5. Variables evaluadas en el experimento bajo condiciones de vivero

Para evaluar la efectividad de la micorrización en el crecimiento durante la fase de vivero de las 132 plántulas de cada una de las especies en estudio, se midieron las siguientes variables:

Altura total: se midió con una regla de 30 cm

Número de hojas verdaderas: se contabilizaron las hojas verdaderas de las plantas

Diámetro del tallo: se midió con Vernier a 4 cm de la base

Peso fresco aéreo y de raíces: se determinó con una balanza analítica 3S/New Su-15

Peso seco aéreo y de raíces: se determinó con una balanza analítica 3S/New Su-15 después de 48 horas en el horno Binder a una temperatura promedio de 65 °C.

Área foliar: se calculó con la fórmula $AF = \text{largo (cm)} * \text{ancho (cm)} * \text{factor de corrección}$
El factor de corrección utilizado para *T. cacao* fue 0.75 (Cárdenas *et al.*, 2010); en cambio para *T. grandis* fue de 0.6 (Tondjo *et al.*, 2015).

Índice de Esbeltez: se estimó a partir del cociente de la altura (cm) entre el diámetro del tallo (mm), utilizando la fórmula (Tinoco y Ramírez, 2014):

$$IE = \frac{\text{Altura (cm)}}{\text{diámetro tallo (mm)}}$$

Índice de calidad de Dickson: se calculó a partir de la fórmula (Tinoco y Ramírez, 2014):

$$ID = \frac{\text{Peso seco total (g)}}{\frac{\text{altura (cm)}}{\text{diámetro tallo (mm)}} + \frac{\text{peso seco aéreo (g)}}{\text{peso seco raíz (g)}}}$$

Porcentaje de colonización: Para evaluar el porcentaje de colonización micorrícica en las raíces de las especies, se consideraron los segmentos colonizados y los no colonizados (Phillips y Hayman, 1970). Se obtuvo la relación del total de segmentos colonizados con respecto a los totales evaluados, considerando todas las estructuras fúngicas (hifas, vesículas, arbusculos).

Número total de esporas y Porcentaje de esporas por géneros: Para el recuento total de esporas y el porcentaje de esporas por géneros de HFM por 10 gramos de suelo húmedo se realizó un análisis cuantitativo (Brundrett *et al.*, 1996).

El período de evaluación (Cuadro 4) fue de 3 meses para *T. cacao* y 4 meses para *T. grandis*. Se utilizaron 12 plantas por tratamiento: de las cuales 6 plantas seleccionadas al azar se sacrificaron a los 30 días en ambas especies y las otras 6 plantas se sacrificaron a los 90 días en el caso de *T. cacao* y a los 120 días a *T. grandis*.

Cuadro 4. Período de medición de las variables del estudio para ambas especies

Variables	<i>T. cacao</i>	<i>T. grandis</i>
Altura total	A partir de 15 días	A partir de 15 días
Número de hojas verdaderas	A partir de 15 días	A partir de 15 días
Diámetro del tallo	A partir de 15 días	A partir de 60 días
Peso fresco aéreo	A los 30 y 90 días	A los 30 y 120 días
Peso fresco raíces	A los 90 días	A los 120 días
Peso seco aéreo	A los 30 y 90 días	A los 30 y 120 días
Peso seco raíces	A los 90 días	A los 120 días
Área foliar	A los 90 días	A los 120 días
Índice de Esbeltez	A los 90 días	A los 120 días
Índice de calidad de Dickson	A los 90 días	A los 120 días
Porcentaje de colonización	A los 90 días	A los 120 días
Número total de esporas	A los 90 días	A los 120 días
Porcentaje de esporas por género	A los 90 días	A los 120 días

3.2.6. Manejo agronómico del experimento bajo condiciones de vivero

El manejo aplicado para ambas especies en vivero fue el que se utiliza en la finca El Cacao; que consiste en una primera fertilización a los 15 días después de la siembra (dds), se aplicó foliar la fórmula Ferticacao 13-40-13 usando una bomba de mochila, en una dosis de 2 kg en 200 litros de agua. Una segunda aplicación foliar con bomba de motor, se aplicó a los 21 dds, a razón de 500 cc de Zinc, Boro 750 cc, Magnesio 750 cc, Hierro 1000 cc y Fungicida Biozyme 400 cc, todos diluidos en 200 litros de agua.

La tercera aplicación fue a los 30 dds y una cuarta aplicación a *T. cacao* a los 90 dds y a *T. grandis* a los 120 dds, en ambos momentos se aplicó fertilizante Solufeed 20-30-10 con bomba de mochila, a una dosis de 2 kg en 200 litros de agua.

El manejo de malezas se realizó manualmente haciéndose limpias cada 15 días después de la siembra y el riego se realizó por medio de aspersión.

3.2.7. Aislamiento e identificación de géneros de HFM

El aislamiento y conteo de esporas de HFM presentes en los cuatro diferentes subgrupos taxonómicos de suelos así como en el denominado “suelo virgen” y en el sustrato de la finca o testigo, se realizó usando el método de tamizado húmedo, decantación y centrifugación en agua y sacarosa (Figura 3) (modificado de Brundrett *et al.*, 1996).

La identificación de los HFM a nivel de género se efectuó con la ayuda de la clave taxonómica de González, (1989).

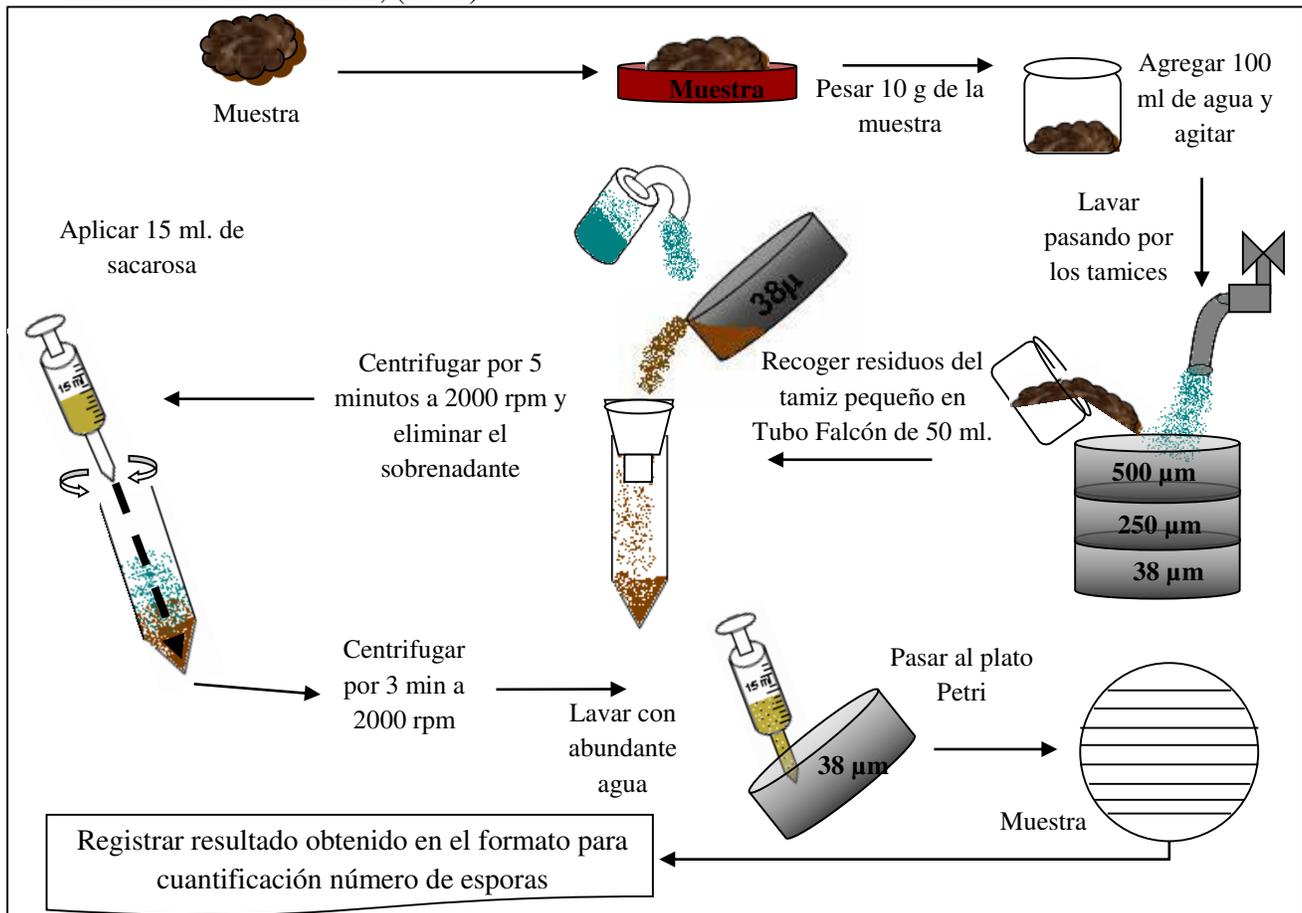


Figura 3. Procedimiento para cuantificar el número de esporas de HFM en 10 gramos de suelo (Modificado de Brundrett *et al.*, 1996).

A continuación se detalla el proceso de laboratorio para cuantificar el número total de esporas y el porcentaje de esporas por géneros de HFM (modificado de Brundrett *et al.*, 1996): fueron pesados 10 g de suelo, posteriormente se les adicionó 100ml de agua corriente mientras la muestra fue agitada. Después de un tiempo de sedimentación, el sobrenadante fue filtrado secuencialmente a través de los tamices de 500, 250 y 38 micras. Antes de recolectar en tubos Falcón el procedimiento descrito fue repetido 3 veces.

La muestra colectada en el tubo fue centrifugada a 2000 rpm por 5 minutos, se eliminó el sobrenadante, se agregaron 15 ml de Sacarosa al 50% (p/v). Luego se centrifugó a 2000 rpm por 3 minutos, se pasó el sobrenadante por el tamiz de 38 micras y se enjuagó con abundante agua, al final la muestra se colectó en un plato Petri para su visualización en el estereoscopio; con ayuda de un contador manual se contabilizó el número total de esporas observadas.

Para determinar el porcentaje de esporas en la muestra de suelo, fueron succionadas éstas con una pipeta, colocadas en el portaobjetos y se continuó este proceso hasta alcanzar un total de 50 esporas observadas en el microscopio óptico; este número sirvió de base para cuantificar el porcentaje de esporas por género. El cuál fue identificado con ayuda de la clave taxonómica de González, (1989).

3.2.8. Porcentaje de colonización de HFM en raíces de plántulas de *T. cacao* y *T. grandis* en condiciones no controladas y condiciones de vivero

El porcentaje de colonización micorrícica existente en las raíces de las especies estudiadas se evaluó mediante el método de despigmentación y tinción de raíz (Modificado de Phillips y Hayman, 1970). Éste se determinó tomando las muestras a partir de las raíces secundarias de cada uno de los tratamientos (Figura 4), en los dos cortes evaluativos detallados en el Cuadro 4. A continuación se detalla el proceso de laboratorio para determinar el porcentaje de colonización de raíces micorrizadas:

Se seleccionaron raíces finas en un plato Petri, se lavaron las raíces con agua corriente, se cortaron a 1.5 cm aproximadamente y se colocaron en tubos Falcón, se cubrieron las raíces con KOH al 10% (v/v) por 24 horas a temperatura ambiente, se enjuagaron con agua corriente, se agregó KOH al 10% (v/v) a punto de ebullición y se colocaron en baño maría a 80°C por 30 minutos, se enjuagaron con agua corriente, se agregó H₂O₂ al 10% (v/v) y se colocó en baño maría a 80°C por 15 minutos.

Luego se enjuagaron las raíces con agua corriente, se agregó HCl al 10% (v/v) y se colocaron en baño maría a 80°C por 30 minutos, se decantó el HCL, se cubrieron las raíces con Azul de tripán al 0.05% (p/v) y se colocaron en baño maría a 80°C por 40 minutos, se enjuagaron con agua corriente y se guardaron las raíces en Lactoglicerol (1:10) hasta su revisión.

Después se decantó el contenido de raíces en un plato Petri y se seleccionaron 10 segmentos de raíces, se colocaron los segmentos a lo ancho del portaobjetos y se colocó el cubreobjetos evitando la producción de burbujas. Se observaron los segmentos con el objetivo de 40X, dividiendo mentalmente cada segmento en 10 fragmentos para obtener 100 campos; utilizando el formato para la determinación del porcentaje de colonización (Anexo 1), se anotó un signo positivo cuando se observó estructuras micorrícicas y al final se contabilizó el número de campos positivos y el resultado fue el porcentaje de colonización para esa muestra.

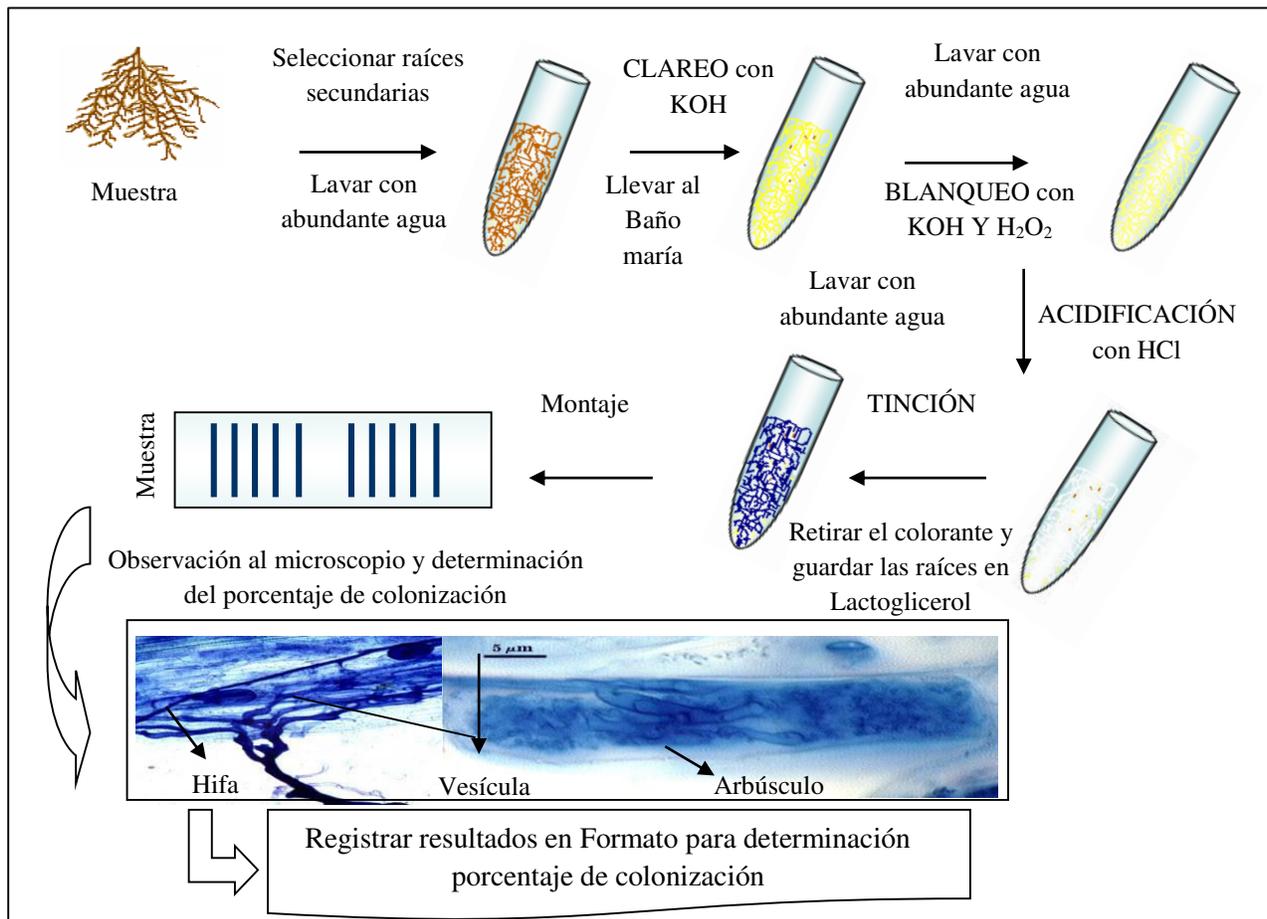


Figura 4. Procedimiento para determinar porcentaje de colonización de raíces micorrizadas. (Modificado de Phillips y Hayman, 1970)

3.3. Análisis de los datos

Los datos fueron sometidos a análisis estadístico utilizando las herramientas de estadística descriptiva, análisis de varianza y pruebas de medias de rangos múltiples de Tukey ($P \leq 0,05$) con el programa estadístico InfoStat versión 2008.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto de la micorrización en el crecimiento de plántulas de *T. cacao* y *T. grandis*

4.1.1. Respuesta de dos clones de *T. cacao* en sustratos con inóculos y sin inóculos bajo condiciones no controladas

El uso práctico de los HFM es considerado como una buena práctica agrícola, son aceptados como biofertilizante por ser un producto natural, que encaja dentro de una gestión biológica en la fertilidad del suelo dirigida a obtener una productividad sostenida y respetuosa del entorno (MAG, 2013).

En cuanto al efecto de la micorrización sobre el crecimiento de las plántulas de *T. cacao* (Cuadro 5), tanto para el clon GS36 como para TSH565, las variables altura total, diámetro del tallo y peso fresco no mostraron diferencias estadísticas (ANDEVA, $P < 0.05$), por su parte número de hojas verdaderas, área foliar y peso seco mostraron diferencias significativas.

Las respuestas anotadas evidencian el potencial benéfico de los HFM en el crecimiento del cultivo de *T. cacao* ya que ellos promovieron formación de hojas verdaderas que a su vez incrementó el área foliar y por ende el peso seco aéreo; por lo cual se confirma que estos HFM favorecen el crecimiento y desarrollo de la especie, al incrementar la cantidad de biomasa.

Cuadro 5. Efecto de la micorrización sobre el crecimiento de las plántulas de *T. cacao* bajo condiciones no controladas

Clon	Tratamientos	Alt total (cm)	Hojas verdaderas	Diám tallo (mm)	Área foliar (cm ²)	P fresco (g)	P seco (g)
GS36	T1: PH	10.81 a	0 b	3.1 a	0 b	4.16 a	1.80 b
	T2: TH	17.0 a	4.20 a	3.6 a	84.69 a	5.77 a	1.98 a
	T3: Testigo	15.14 a	0.75 b	3.9 a	14.09 b	5.52 a	1.84 b
	ANDEVA	NS	*	NS	*	NS	*
TSH565	T1: SV	16.48 a	4.20 a	3.60 a	60.70 ab	5.50 a	1.30 a
	T2: Testigo	12.71 a	2.20 b	2.45 a	30.48 b	3.90 a	0.66 b
	T3: SV estéril	15.85 a	3.90 a	2.80 a	83.40 a	4.90 a	1.04 ab
	ANDEVA	NS	*	NS	*	NS	*
ANDEVA: Análisis de varianza		NS: No significativo		*: Significativo			
PH: <i>Plinthaquic Hapludults</i>		TH: <i>Typic Hapludults</i>		SV: Suelo Virgen			

4.1.2. Respuesta de *T. cacao* y *T. grandis* a diferentes inóculos bajo condiciones de vivero

La Agroecología propone un enfoque integral y sustentable de los sistemas de producción agrícola, los HFM se muestran como una alternativa muy útil para una agricultura sustentable. Sin embargo, existe escaso desarrollo tecnológico para su producción como biofertilizante, su escasa promoción y divulgación, así como una capacitación no suficiente a productores agrícolas, lo cual se constituye en retos a superar para consolidar a esta alternativa ecológicamente amigable (Cué y Torres, 2014).

El análisis estadístico de altura total, hojas verdaderas y diámetro de tallo para *T. cacao* muestra que no hay diferencias significativas para estas variables; sin embargo en cuanto a altura total ($p=0.7770$) el T6 fue el mejor, alcanzando 16.64 cm y el menor fue T1 con 13.37 cm (Figuras 5a, 5b, 5c). El T2 presentó ocho hojas verdaderas ($p=0.7843$) y el T1 solamente seis hojas. Para el diámetro de tallo ($p=0.7246$), el T2 fue mayor (3.9 mm) y el T7 el menor (3 mm).

En cambio, para *T. grandis* (Figuras 5d, 5e, 5f), el análisis estadístico muestra que no hay diferencias significativas para las variables hojas verdaderas y diámetro de tallo; sin embargo, sí hay diferencias significativas para la altura total ($p=0.0018$), la mayor altura la presentó el T1 con 8.56 cm y la menor altura 5.53 cm el T9. El T1 presentó nueve hojas verdaderas ($p=0.7273$) y el T6 ocho hojas. En cuanto al diámetro de tallo ($p=0.7545$), el T1 fue mayor (3.32 mm) y el T5 el menor (2.36 mm).

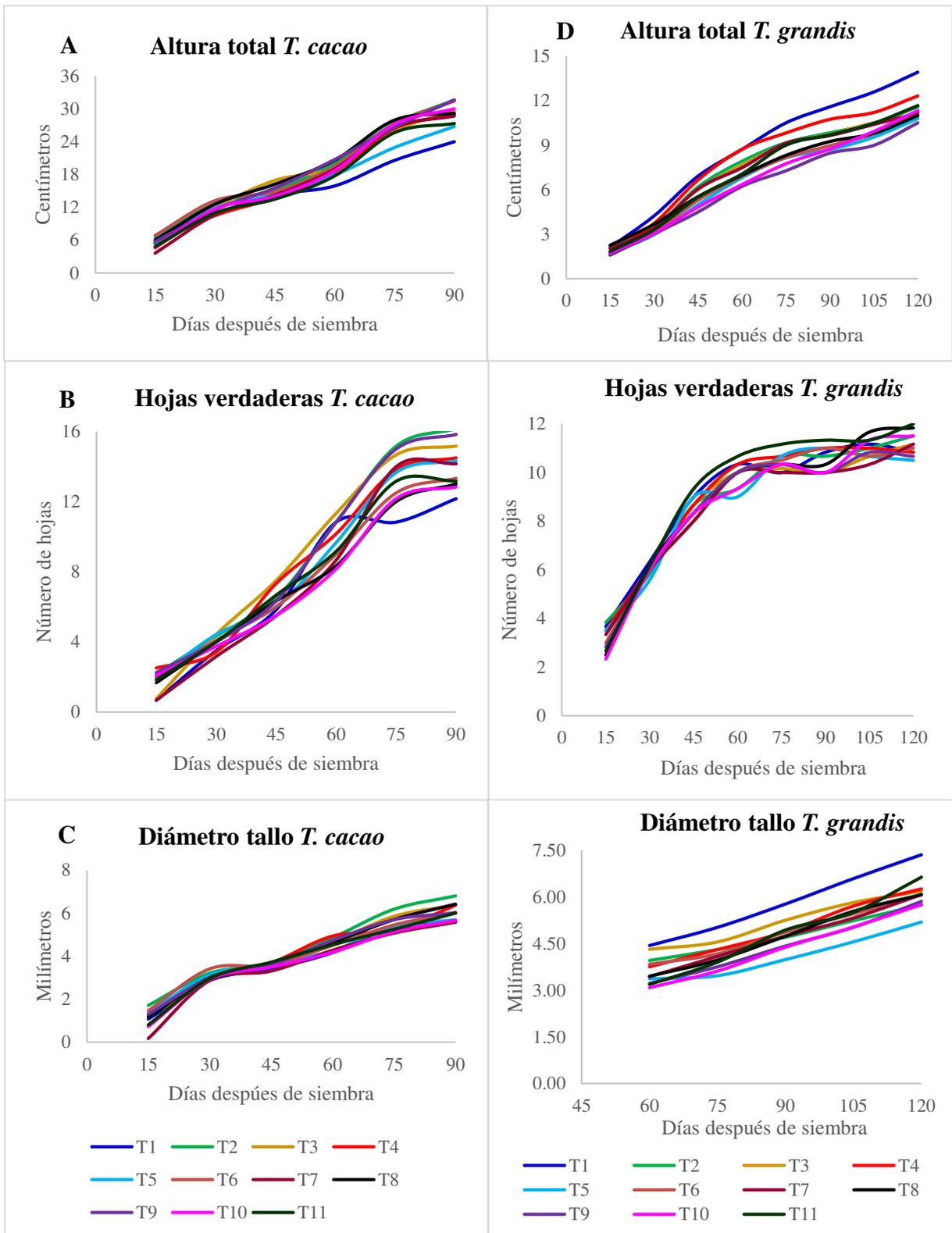


Figura 5. Efecto de la micorrización sobre la altura total (cm), número de hojas verdaderas y diámetro de tallo (mm) para *T. cacao* (a, b, c) y *T. grandis* (d, e, f)

Por su parte *T. cacao* (Figura 6a, 6b), no muestra diferencias significativas en peso fresco aéreo ($p=0.0477$) donde el tratamiento con el mejor peso fue T2 y el de menor peso el T5 con 14.48 g. La variable peso seco o biomasa aérea no muestra diferencias significativas ($p=0.3009$) aunque el mejor tratamiento fue T2 con un peso de 6.60 g y el de menor peso fue T5 (4.08 g). Para las variables peso fresco aéreo y peso seco aéreo analizado para *T. grandis* (Figura 6d, 6e), se muestran diferencias significativas, con probabilidades de 0.0001 y <0.0001 respectivamente. En ambos casos el T1 obtuvo los mayores resultados.

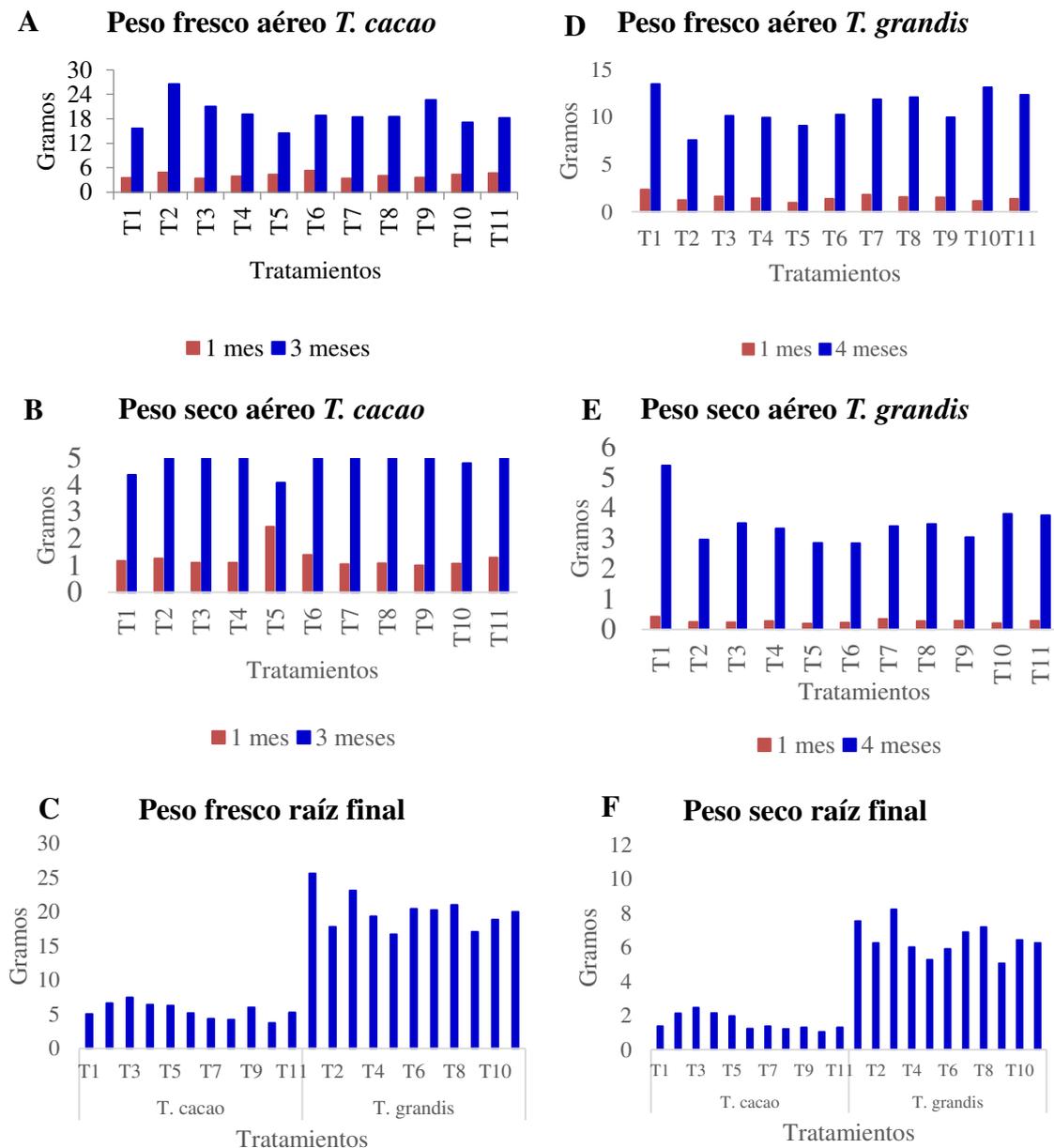


Figura 6. Efecto de la micorrización sobre el peso fresco aéreo (g), peso seco aéreo (g), peso fresco raíz (g) y peso seco raíz (g) para *T. cacao* y *T. grandis*

T. cacao no muestra diferencias significativas en las variables peso fresco de raíz ($p=0.0912$) e índice de Esbeltez ($p=0.4032$); sin embargo sí hay diferencias significativas para área foliar con una probabilidad de 0.0397, peso seco de raíz ($p=0.0097$) e índice de calidad de Dickson ($p=0.0342$). El T3 mostró mayores resultados en cuanto a peso fresco de raíz, peso seco de raíz e índice de calidad de Dickson; el T2 presentó los mayores valores de área foliar (Figura 7) y el T9 el mejor índice de Esbeltez.

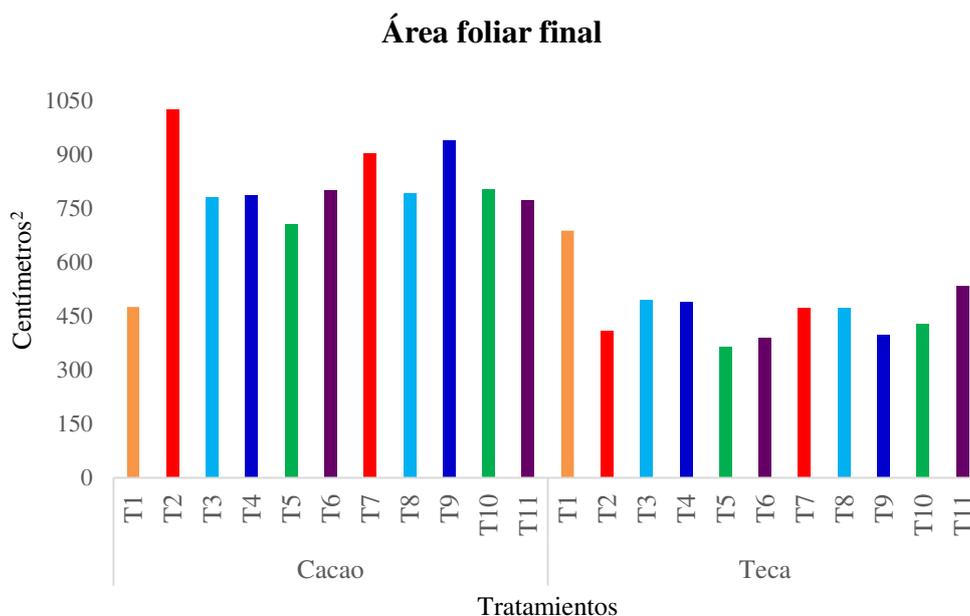


Figura 7. Efecto de la micorrización sobre el área foliar (cm²) para *T. cacao* y *T. grandis* en etapa de vivero

Para las variables peso fresco de raíz, peso seco de raíz, área foliar e índice de calidad de Dickson analizado para *T. grandis* se muestran diferencias significativas no así para el índice de Esbeltez; con probabilidades de 0.0145, 0.0150, <0.0001, 0.0064 y 0.2927 respectivamente. El T1 obtuvo los mayores resultados en peso fresco de raíz y área foliar, por su parte, el T3 obtuvo los mayores resultados en peso seco de raíz e índice de calidad de Dickson (Figura 8); el mayor índice de Esbeltez lo presentó el T5 con 2.11.

En la comparación del efecto de diferentes sustratos portadores de HFM, durante el crecimiento inicial en la etapa de vivero de plántulas de calidad de *T. cacao* y *T. grandis* se observa que para ambas especies estudiadas, el T1 presentó los mayores resultados en cuanto a peso seco aéreo y el T3 mostró los mayores resultados en cuanto a peso seco de raíz e índice de calidad de Dickson; por lo cual se puede asegurar que se produjeron plantas de calidad.

Resultados similares a los observados en este estudio, han sido encontrados en condiciones de vivero para *T. cacao* por González, (2014) encontrando a los 90 días una altura total de 19.98 cm, 8.5 hojas verdaderas, 6.7 mm de diámetro de tallo y 1.2 g de peso seco raíz. Por su parte, Cárdenas *et al.*, (2010) encontraron un área foliar de 380 cm².

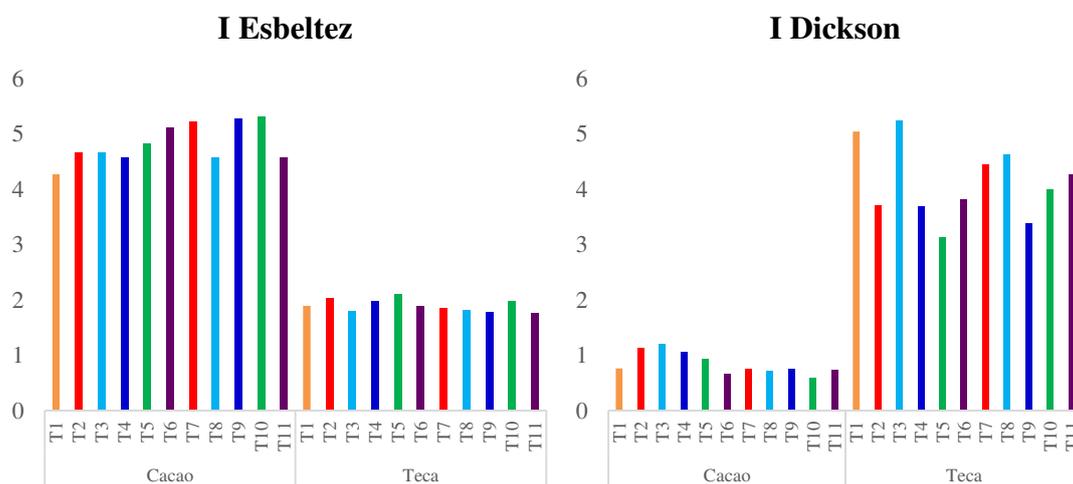


Figura 8. Efecto de la micorrización sobre el Índice de Esbeltez y el Índice de calidad de Dickson para *T. cacao* y *T. grandis*

En la literatura revisada no se reportan datos de índice de Esbeltez e índice de calidad de Dickson, no obstante, Arizaleta y Pire (2008), encontraron para *Coffea arabica* L. un índice de Esbeltez que varió entre 3.02 a 3.56 y un índice de calidad de Dickson con valores que variaron entre 1.60 a 1.79. De manera que para *T. cacao* los datos productos de este estudio se constituyen en un precedente para el manejo de esta especie.

En el caso de *T. grandis*, valores similares a los determinados en este estudio, fueron reportados en el año 2011 por Rodríguez *et al.*, a los 120 días en condiciones de vivero: una altura total de 20 cm, 8.4 hojas verdaderas, un diámetro de tallo de 8.9 mm, peso seco aéreo de 0.53 g y peso seco de raíz de 0.99 g. Tondjo *et al.*, (2015) encontraron valores de área foliar que variaron entre 497.6 a 838.8 cm²; Escamilla *et al.*, (2015) encontraron valores de índice de Esbeltez entre 1.7 a 3.3 y un índice de calidad de Dickson que varió entre 2.6 a 5.3.

El papel de los HFM en la rizósfera de las plantas favorece la nutrición mineral, principalmente en cuatro aspectos: fisiología y desarrollo de la planta, crecimiento y morfología de las raíces, procesos de absorción y disponibilidad de nutrimentos (Blanco y Salas, 1997; Medina y Azcón, 2010). En contraste, en los cultivos fuertemente abonados, tanto en invernaderos, viveros o al aire libre, la simbiosis se ve notablemente inhibida. Por otro lado, todo aquello que afecte a la fotosíntesis influirá sobre la micorrización (Gallego y Sánchez, S.f.).

El crecimiento de una planta se representa gráficamente como un aumento del peso seco en función del tiempo. Este crecimiento como todo proceso fisiológico sufre modificaciones debido a los factores ambientales y depende directamente de la energía liberada durante la respiración. El área foliar puede dar una idea del crecimiento de la planta o se puede relacionar con la acumulación de materia seca (Benedetto y Tognetti, 2016). Por tal razón, la micorrización es beneficiosa al estimular el crecimiento inicial de muchas especies de plantas (Pérez *et al.*, 2011).

Por lo tanto, los resultados indican que hubo una respuesta positiva en cuanto a crecimiento en las plantas que estaban en los sustratos con más esporas, lo que indica que los HFM son eficientes tanto en condiciones no controladas como en condiciones de vivero. En vista de que la respuesta de las plantas de ambas especies para las dos condiciones evaluadas fue positiva, la recomendación de utilizar HFM en las primeras etapas del crecimiento es válida, para obtener plantas con mayor capacidad de establecimiento y supervivencia.

4.1.3. Condiciones edáficas de los suelos versus requerimientos edáficos para *T. cacao* y *T. grandis*

Al contrastar las características fisicoquímicas de los suelos estudiados así como del sustrato de la finca (Cuadro 6) con las características que necesitan las especies en estudio (Cuadro 7), se concluye que *T. grandis* no es apta para los suelos estudiados porque no se aproximan a los criterios edáficos que requiere ella; aunque *Fluventic Hapludepts* se acerca a un nivel intermedio de sus preferencias. Entre los factores limitantes para su crecimiento están: suelos poco profundos, mal drenados, compactados, de textura arcillosa y los sitios bajos con alta precipitación (Fonseca, 2014).

El suelo más apto para *T. cacao* es el *Fluventic Hapludepts* ya que se acerca más a las características edáficas que exige esta especie; aunque todos los suelos en estudio tienen de limitante la capacidad de intercambio catiónico la cual puede ser solucionada modificando la fuente de materia orgánica; el suelo menos apto para ambas especies es *Fluventic Humic Dystrudepts*.

En cuanto a la textura, ésta podría influir en la presencia de HFM, posiblemente por la disponibilidad de oxígeno y la velocidad de infiltración natural del suelo. En un suelo arcilloso hay poca disponibilidad de oxígeno y bajo drenaje lo cual afecta la viabilidad de esporas de HFM y por consiguiente el porcentaje de colonización en las raíces de las plantas.

Cuadro 6. Condiciones edáficas de los suelos estudiados en finca El Cacao (Valle, 2017; Reynosa y Díaz, 2016)

Orden	Inceptisols		Ultisols		Sustrato de la finca
	<i>Fluventic Humic Dystrudepts</i>	<i>Fluventic Hapludepts</i>	<i>Typic Hapludults</i>	<i>Plinthaquic Hapludults</i>	
Textura	arcilloso	franco arcilloso	arcilloso	arcilloso	franco arenoso
pH	4.4	5.2	5.3	5	6.3
Capacidad de intercambio catiónico (meq/100g suelo)	2.2	14.5	6.6	4.9	13.8
Materia orgánica (%)	7.34	4.17	5.9	6.78	5.03
Área en la finca (%)	13.40	11.52	24.89	26.66	-

Cuadro 7. Requerimientos edáficos para *T. cacao* y *T. grandis* (MAGAP, 2012; Fonseca, 2014)

Especie	pH	Capacidad de intercambio catiónico (meq/100g suelo)	Materia orgánica (%)
<i>T. cacao</i>	5 - 8	13	3
<i>T. grandis</i>	6.5 - 7.5	16	4

Cuadro 8. Interpretación de resultados (Quintana *et al.*, 1992)

Característica química	Valores	Clasificación
pH	< 4.6	Extremadamente ácido
	4.6 – 5.2	Muy fuertemente ácido
	5.2 – 5.6	Fuertemente ácido
	6.2 – 6.6	Ligeramente ácido
Capacidad de intercambio catiónico	<5 meq/100g suelo	Muy baja
	5 - 15 meq/100g suelo	Baja
Contenido de materia orgánica	< 2	Bajo
	4	Medio
	> 4	Alto

4.2. Identificación de géneros de HFM nativos provenientes de suelos bajo producción de *T. cacao*

Considerando que los HFM colonizan aproximadamente el 90 % de las plantas vasculares se realizó prueba preliminar con clones de cacao de interés comercial GS36 y TSH565 bajo condiciones no controladas con la finalidad de asegurar que los inóculos establecían la simbiosis.

Encontrándose resultados positivos, puesto que para el clon GS36 el inóculo *Typic Hapludults* muestra los mejores resultados (Cuadro 9). Para el clon TSH565 no se muestran diferencias amplias entre el suelo virgen (suelo sin laboreo por más de 13 años) y el suelo virgen esterilizado a una temperatura de 105 °C. Frioni (2005), propone que la temperatura a la que mueren la mayoría de los microorganismos es a 121°C, siendo entonces posible la presencia de esporas viables tal como muestran los resultados obtenidos. Por su parte, acorde con lo esperado, el sustrato arena por ser inerte no mostró población de esporas de HFM en el suelo.

Cuadro 9. Total de esporas de HFM / 10 gramos de suelo bajo condiciones no controladas

Clon	Tratamientos	N° total de esporas
GS36	<i>Typic Hapludults</i> (TH)	124
	<i>Plinthaquic Hapludults</i> (PH)	40
	Arena (Testigo)	0
TSH565	Suelo virgen (SV)	160
	Suelo virgen esterilizado	141
	Arena (Testigo)	0

Gallego y Sánchez (S.f.), afirman que aunque los HFM están presentes en casi todas partes, ciertas actividades humanas como las prácticas agrícolas o la erosión pueden dar lugar a suelos o sustratos desprovistos de hongos adecuados, o éstos pueden hallarse en muy escasa cantidad. No obstante, si es lo esperable que, la simbiosis se vea favorecida en ambientes pobres en nutrientes o sometidos a estrés, donde las plantas no serían competitivas si careciesen del hongo.

En cuanto al ensayo de *T. cacao* y *T. grandis* bajo condiciones de vivero, los resultados muestran (Cuadro 10) que el suelo virgen tiene la mayor cantidad de esporas y *Typic Hapludults* los menores valores; lo cual estaría relacionado con factores que influyen en la micorrización como son: pH, compactación de suelo, densidad aparente, porosidad y manejo agronómico, entre otros (Acuña, 2017; Mendoza, 2017; Pérez *et al.*, 2011).

Cuadro 10. Total de esporas de HFM / 10 gramos de suelo bajo condiciones de vivero

Orden	Tratamientos	pH	N° total de esporas
Inceptisoles	Suelo virgen	4.4	173
	<i>Fluventic Hapludepts</i>	4.6	130
	<i>Fluventic Humic Dystrudepts</i>	4.7	104
	Sustrato de la finca	6.3	100
Ultisoles	<i>Plinthaquic Hapludults</i>	4.9	65
	<i>Typic Hapludults</i>	4.3	36

Además, los subgrupos de suelos del orden Ultisoles estudiados son de baja fertilidad; *Plinthaquic Hapludults* tiene plintita y mal drenaje y por su parte *Typic Hapludults* tiene presencia de óxidos de hierro y aluminio; estas condiciones de suelo influyen en el desarrollo de HFM. A partir de estos resultados se podría suponer que hay una tendencia a que en suelos Inceptisoles se encuentren mayores cantidades de esporas de lo que se encontrarían en suelos Ultisoles.

Las cantidades de esporas encontradas tienen semejanza con lo encontrado por Prieto *et al.*, 2012, quienes identificaron micorrizas arbusculares en sistemas agroforestales con *T. cacao* del Trópico Húmedo Ecuatoriano y encontraron un promedio de 162 esporas por cada 10 g de suelo. Para Gallego y Sánchez (S.f.), los HFM se consideran acidófilos, con pH óptimo entre 4 y 6 aunque algunos crecen bien a pH 3,0; éstos son aerobios y sensibles a la falta de agua.

Los porcentajes de esporas por géneros de HFM presentes en suelos con cultivo de *T. cacao* bajo condiciones no controladas (Cuadro 11), muestran que el género *Glomus* presenta los mayores porcentajes de esporas por ser ubicuo, en cambio los géneros *Scutellospora* y *Acaulospora* se presentan en menores porcentajes. En la Figura 9, se muestran los géneros de HFM identificados a partir de características morfológicas.

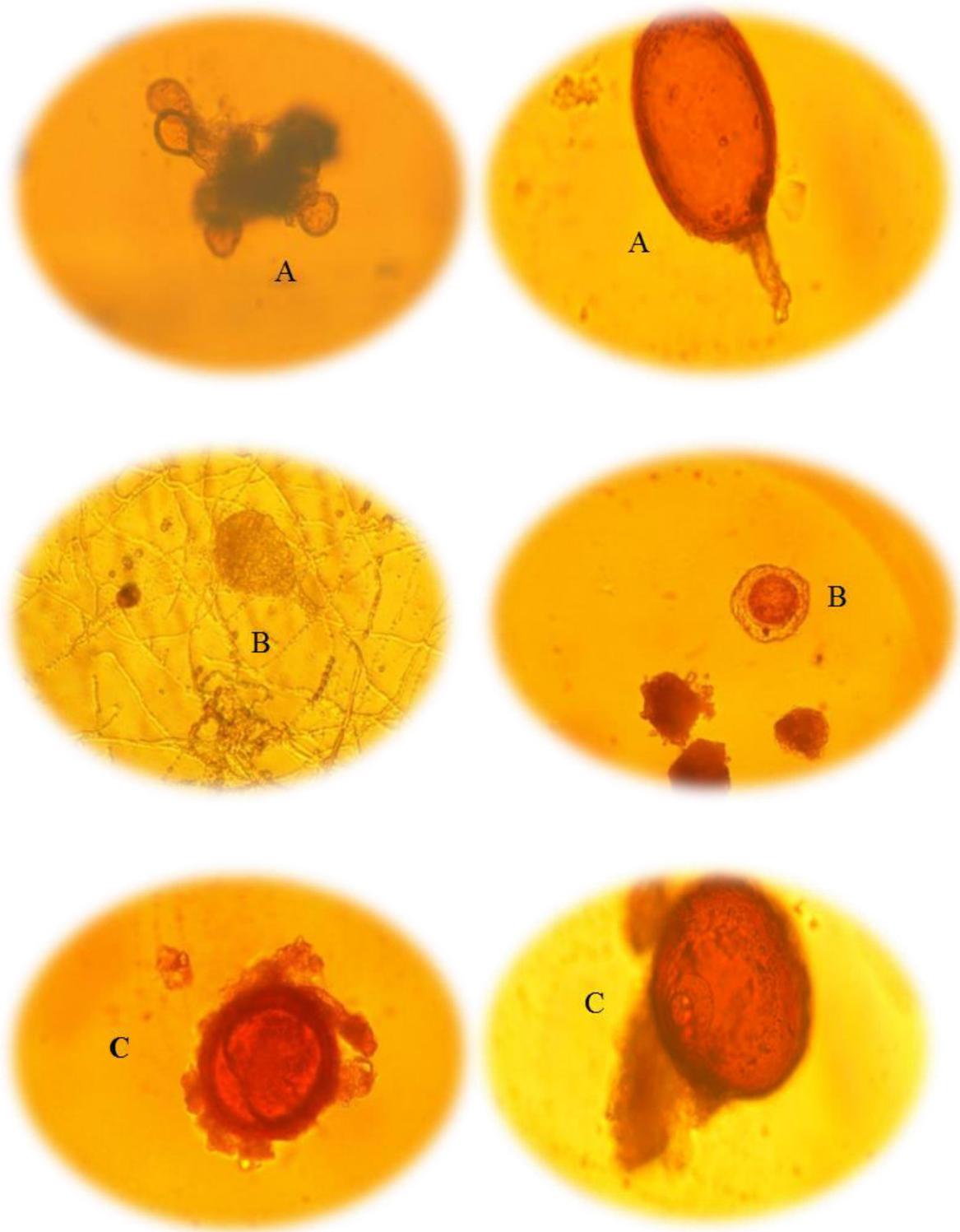


Figura 9. Géneros de HFM identificados: A) *Glomus*, B) *Acaulospora* y C) *Scutellospora*

Cuadro 11. Porcentaje de esporas por géneros de HFM bajo condiciones no controladas

Clon	Tratamientos	%		
		<i>Glomus</i>	<i>Scutellospora</i>	<i>Acaulospora</i>
GS36	<i>Plinthaquic Hapludults</i>	98	0	2
	<i>Typic Hapludults</i>	90	10	0
	Arena (testigo)	0	0	0
	Suelo virgen	92	0	8
TSH565	Suelo virgen esterilizado	92	0	8
	Arena (testigo)	0	0	0

Rojas *et al.*, (2014), estudiaron HFM en tres agroecosistemas de *T. cacao* en la Amazonía Peruana y encontraron que las especies de HFM identificadas pertenecían a los géneros *Acaulospora*, *Ambispora*, *Archeospora*, *Cetraspora*, *Clareideoglomus*, *Diversispora*, *Fuscutata*, *Glomus*, *Kuklospora*, *Pacispora*, *Paraglomus* y *Sclerocystis*.

Según Gallego y Sánchez (S.f.), el término micorriza se aplica a cerca de 6.000 hongos diferentes, que establecen relaciones con las raíces de las plantas. El número y la variedad de plantas que pueden asociar sus raíces a un hongo son muy grandes. La relación establecida entre hongo y raíz es también muy variable. Son posibles todos los grados de interdependencia y de especificidad.

Los cálculos de porcentajes de esporas por géneros de HFM presentes en suelos con cultivo de *T. cacao* bajo condiciones de vivero se realizó en base a 50 esporas (Cuadro 12), los resultados indican que en los cuatro subgrupos de suelos estudiados las esporas de *Glomus* son las predominantes, en cambio las esporas de *Acaulospora* predominan en el suelo virgen y en el sustrato de la finca. Esto pudiese estar relacionado al manejo agronómico de los suelos de donde se obtuvieron los diferentes sustratos, así como a la ubicuidad de *Glomus*.

Cuadro 12. Porcentaje de esporas por géneros de HFM bajo condiciones de vivero

Tratamientos	% <i>Glomus</i>	% <i>Scutellospora</i>	% <i>Acaulospora</i>
Suelo virgen	36	2	62
<i>Fluventic Hapludepts</i>	62	8	30
<i>Fluventic Humic</i>	82	2	16
<i>Dystrudepts</i>			
Sustrato de la finca	28	8	64
<i>Plinthaquic Hapludults</i>	54	16	30
<i>Typic Hapludults</i>	70	3	27

Cruz y Vega-Jarquín (2016), aislaron e identificaron géneros de HFM presentes en el cultivo de *T. cacao* en fincas de Rancho Grande y Kukra Hill, Nicaragua encontrando esporas del género *Glomus*.

López (1987), señala que *T. cacao* establece una simbiosis obligada (más que facultativa) con hongos micorrícicos: *Scutellospora calospora* y *Glomus mosseae*. Por su parte Alvarado *et al.*, 2004, suponen que *Glomus* es el género más infectivo y efectivo en plantaciones de *T. grandis*.

Sin embargo, basado en el porcentaje de esporas por género mostrado en el cuadro anterior existe una posible tendencia a que *Glomus* realice una mejor simbiosis con *T. cacao* y *Acaulospora* con *T. grandis*. Por lo que los resultados obtenidos proporcionan bases para investigaciones futuras en cuanto a la especificidad de HFM.

4.3. Porcentaje de colonización de HFM en raíces de plántulas de *T. cacao* y *T. grandis*

Los HFM forman una asociación mutualista con la raíz de la mayoría de las plantas. La importancia de esta simbiosis radica en que la raíz es el vínculo entre la planta y el suelo y, a su vez, el tejido del hongo es el puente entre la raíz y el suelo (Jaramillo *et al.*, 2007).

En cuanto al porcentaje de colonización en raíces de plántulas de *T. cacao* bajo condiciones no controladas, los resultados indican (Figura 10) que hubo una colonización exitosa para suelo virgen, suelo virgen esterilizado y *Typic Hapludults*. En cambio las raíces que estaban en arena no presentaron colonización ya que es un material inerte que no permite el desarrollo de microorganismos.

Para *Plinthaquic Hapludults* se contabilizaron esporas, sin embargo, no hubo colonización. Carbonel (2009), menciona que el número de esporas en el suelo no se relaciona con la colonización ya que si bien puede ser considerado como un indicativo del establecimiento de los HFM no representa un indicativo de la efectividad de la colonización.

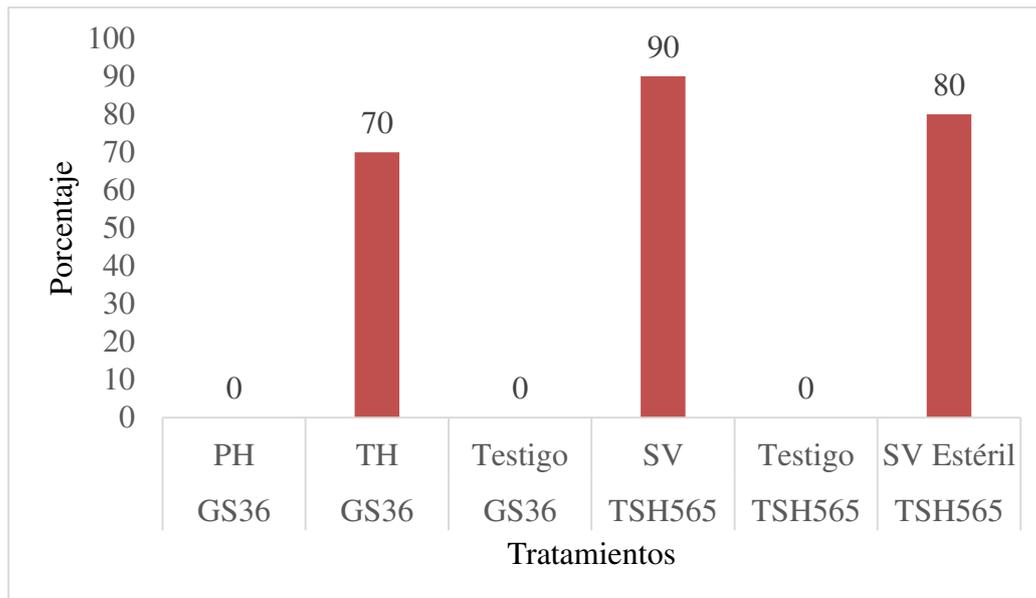


Figura 10. Porcentaje de colonización en raíces de *T. cacao* bajo condiciones no controladas

Además existen factores que influyen en la micorrización tales como: estructura de la comunidad de plantas, edad de la planta, poblaciones de otros microorganismos de suelo, microclima, topografía, humedad, temperatura, procesos de degradación y contaminación con sustancias químicas tóxicas en el suelo (Acuña, 2017; Mendoza, 2017; Pérez *et al.*, 2011). En su estudio, Cruz y Vega-Jarquín (2016) encontraron 95% de colonización por HFM en muestras de raíces de *T. cacao* procedente de Rancho Grande y Kukra Hill, la cual se expresa en la presencia de hifas, vesículas y arbusculos.

En cuanto al porcentaje de colonización para *T. cacao*, bajo condiciones de vivero (Figura 11), los resultados reflejan que los tratamientos 2 y 6 se comportaron mejor tanto al mes como a los 3 meses de la evaluación. Sin embargo, se muestra la tendencia de una rápida colonización de HFM en el sistema radicular de esta especie, al primer mes la simbiosis se establece y en los siguientes meses el porcentaje de colonización no aumenta en gran medida; al compararlo con el grado de colonización alcanzado en el primer mes.

Por su parte, Blanco (2006), estudió HFM asociados a *T. cacao* con diferente manejo agrícola en Santander (Colombia) y encontró porcentajes de colonización que variaban de 50 a 34 %.

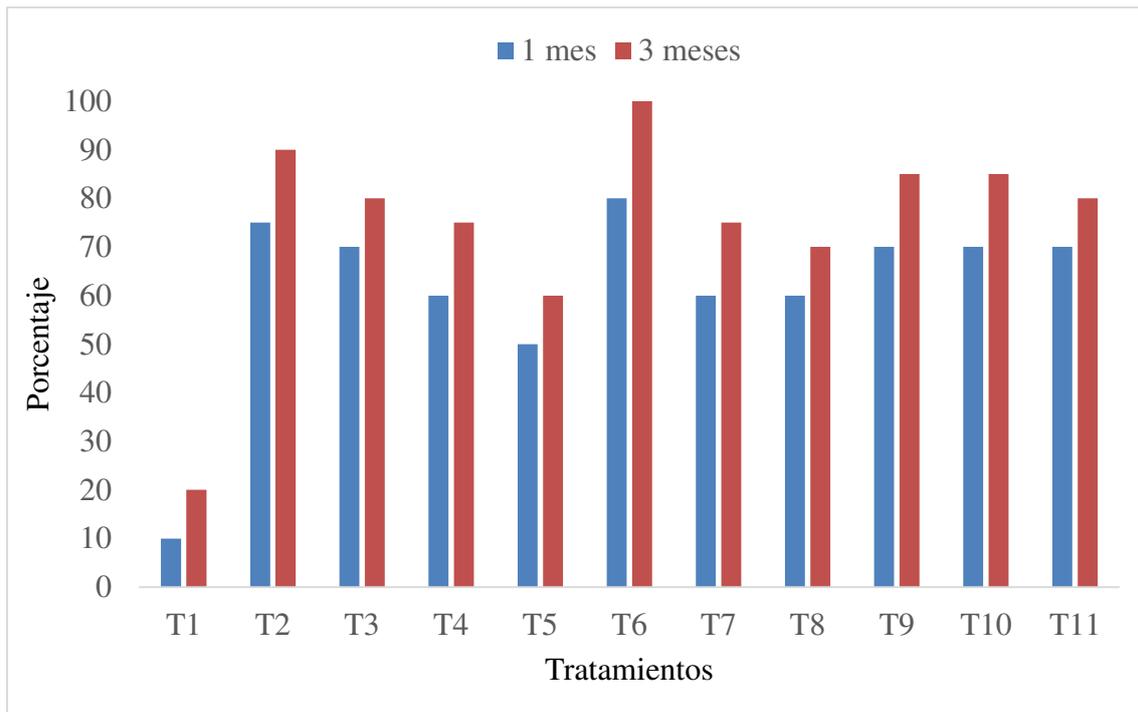


Figura 11. Porcentaje de colonización en raíces de *T. cacao* bajo condiciones de vivero

Según Gallego y Sánchez (S.f.), los HFM aumentan la capacidad de absorción de nutrientes de la raíz, por el hecho de que el micelio fúngico (tejido micorrizal), al constituirse en una extensión de raicillas, explora mucho más volumen del suelo que la raíz sola. Pero las ventajas de la micorriza no se limitan a la nutrición vegetal, las plantas reciben beneficios adicionales como tolerancia a épocas secas (estrés hídrico), exclusión de patógenos del suelo y adaptación a metales pesados.

Las estructuras micorrícicas encontradas en raíces de *T. cacao* se muestran en la Figura 12.

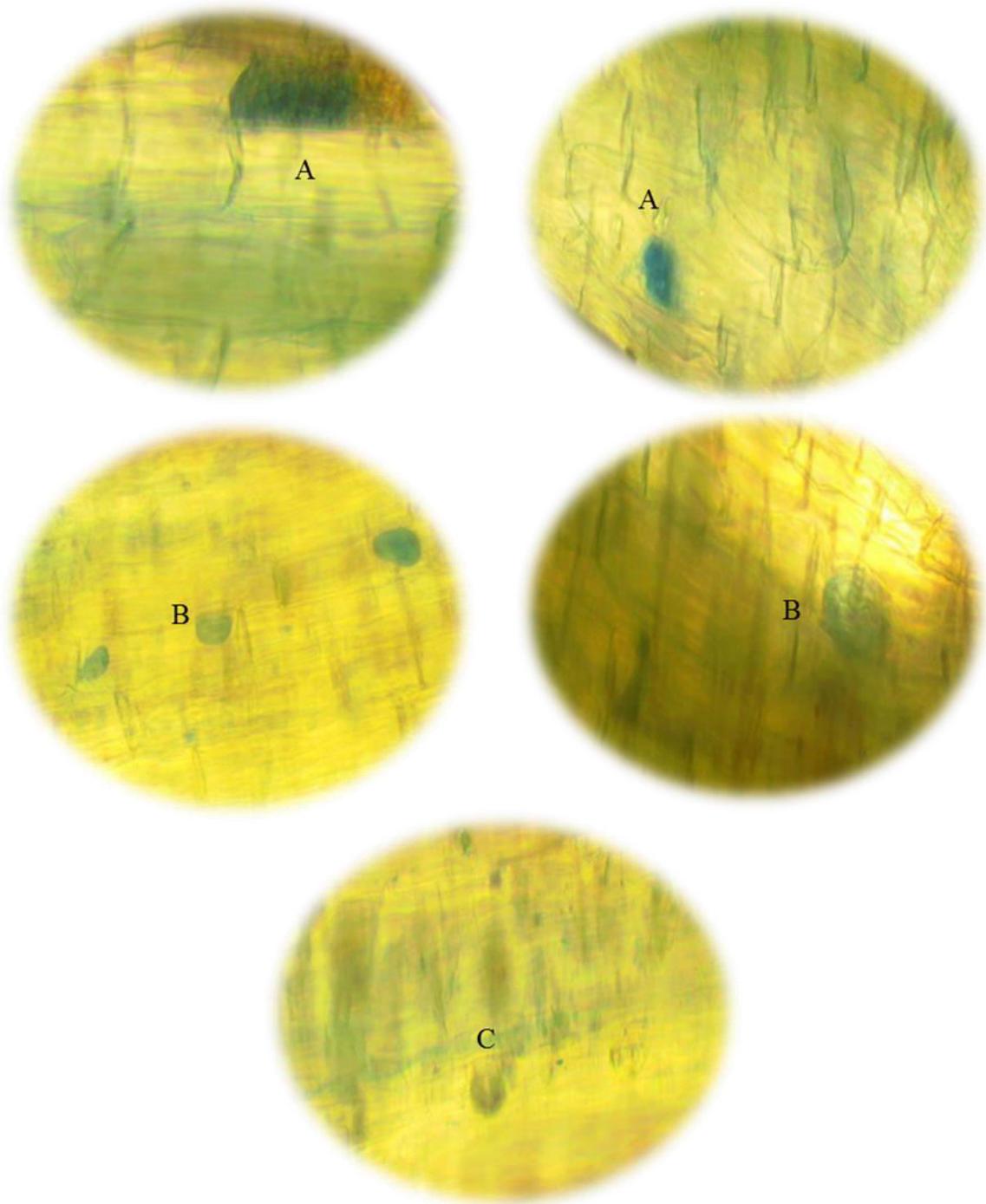


Figura 12. Raíces de *T. cacao* mostrando colonización micorrícica: A) Arbúsculos, B) Vesículas y C) Hifas

En los porcentajes de colonización para *T. grandis* bajo condiciones de vivero (Figura 13), se observan claramente las diferencias de esta especie en el comportamiento de los tratamientos comparados con *T. cacao*, los tratamientos 1 y 3 reflejan los mayores porcentajes de colonización. Esto es debido a que a menor porcentaje de materia orgánica aumenta el porcentaje de colonización (Carbonel, 2009). Por lo tanto a mayor disponibilidad de materia orgánica en el suelo (Cuadro 5), la simbiosis micorrícica se vuelve menos necesaria por lo cual disminuye el porcentaje de colonización.

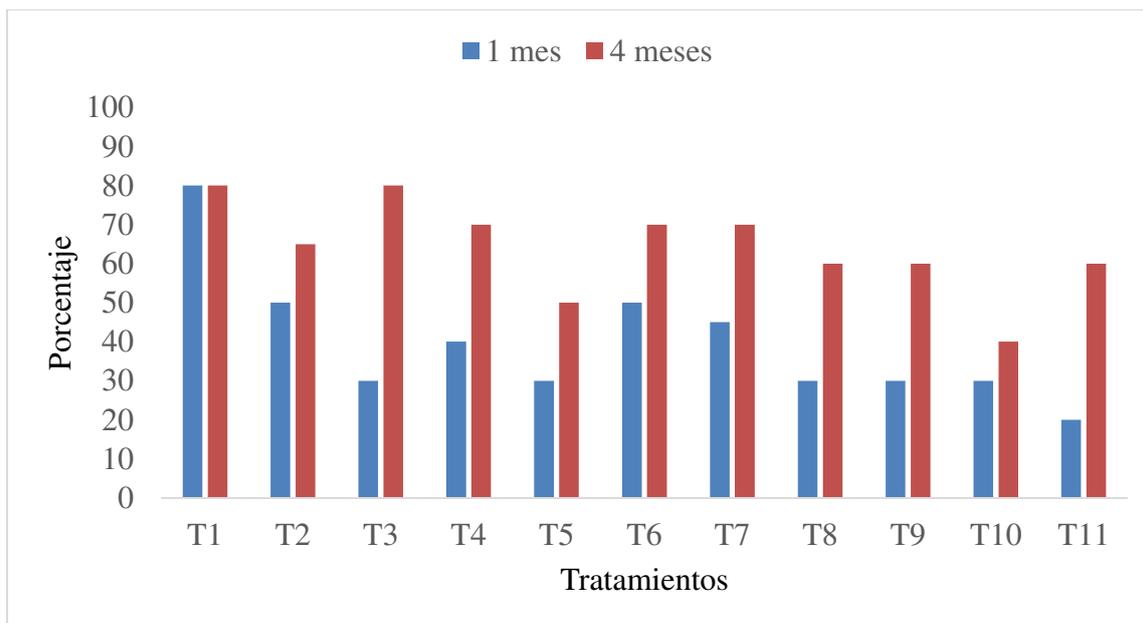


Figura 13. Porcentaje de colonización en raíces de *T. grandis* bajo condiciones de vivero

Carbonel (2009), realizó un diagnóstico de HFM en cinco sistemas de uso del suelo en Chanchamayo (Perú) y encontró un 90.13 % de colonización en las raíces que provenían del sistema de *T. grandis*.

Las estructuras micorrícicas encontradas en raíces de *T. grandis* se muestran en la Figura 14.

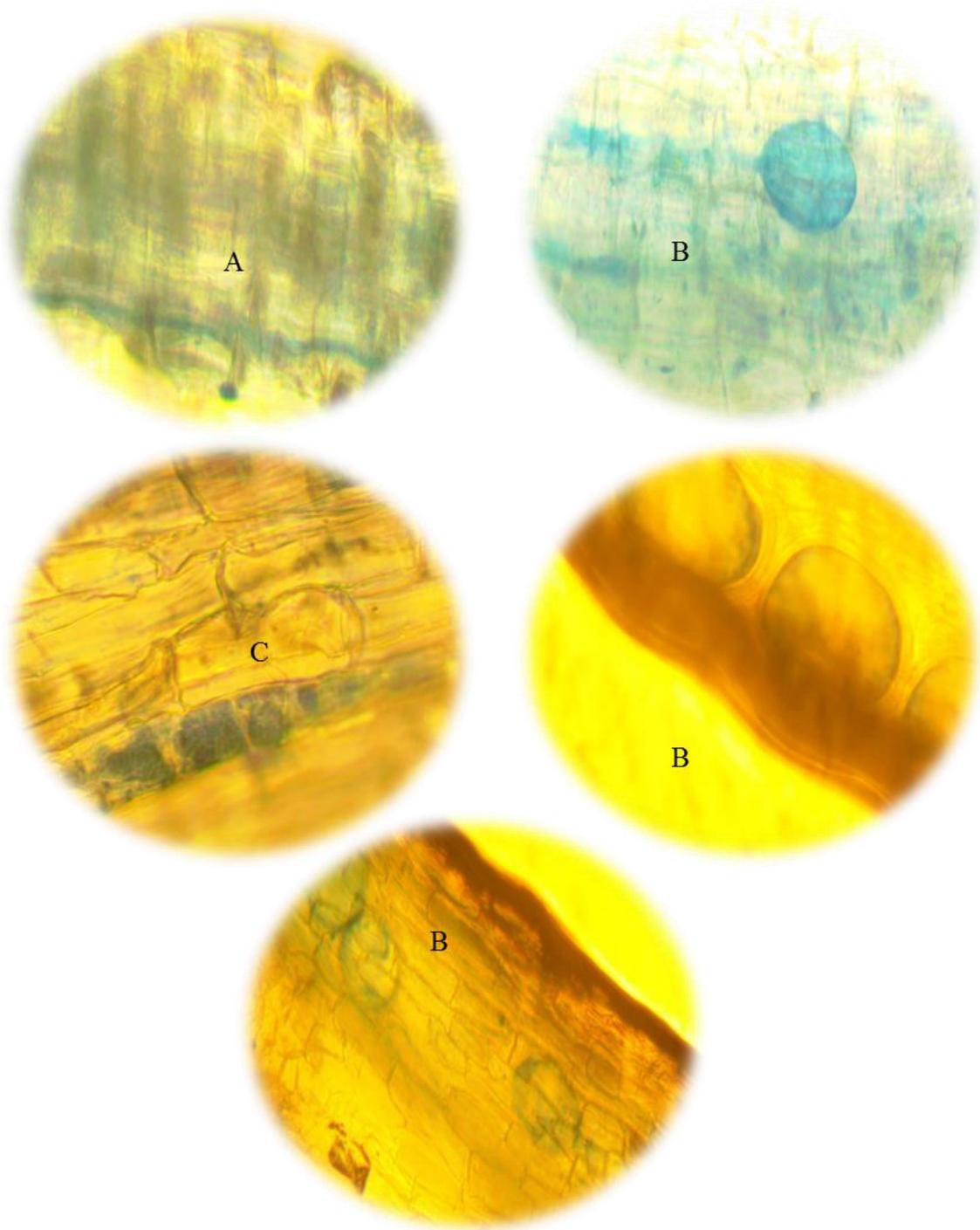


Figura 14. Raíces de *T. grandis* mostrando colonización micorrícica: A) Hifas, B) Vesículas y C) Arbúsculos

V. CONCLUSIONES

La micorrización de las plantas de *T. cacao* y *T. grandis* favoreció el crecimiento de ellas en la etapa de vivero, obteniendo respuesta positiva en la acumulación de materia seca. Para ambas especies el tratamiento *Fluventic Hapludepts* mostró los mayores resultados en cuanto a peso seco de raíz e índice de calidad de Dickson. Los datos de índice de Esbeltez (4.2-5.3) e índice de calidad de Dickson (0.6-1.2) para *T. cacao* constituyen un aporte de este estudio y por consiguiente es un precedente para el manejo de esta especie.

Se identificaron tres géneros de HFM en los sustratos evaluados: *Glomus*, *Scutellospora* y *Acaulospora*; sin embargo se presentan fluctuaciones en la cantidad de esporas con relación a subgrupos de suelos y época del año.

Los HFM encontrados son funcionales ya que están colonizando el sistema radicular de plántulas de *T. cacao* y *T. grandis* en valores promedios entre 43 % y 75 %. Al contrastar las características de los suelos con los requerimientos de las especies se concluye que *T. grandis* no es apta para ser establecida en los subgrupos de suelos estudiados, sin embargo los tratamientos *Fluventic Hapludepts* y Sustrato de la finca se acercan a un nivel intermedio de sus preferencias; en cambio, el suelo más apto para *T. cacao*, es *Fluventic Hapludepts*.

VI. RECOMENDACIONES

Aplicar técnicas moleculares para la identificación a nivel de especie de los géneros de HFM encontrados en el presente estudio.

Multiplicar y aislar los géneros de HFM encontrados para luego inocular las plantas con el género específico y realizar el posterior escalamiento en campo.

VII. LITERATURA CITADA

- Acuña, E. 2017.** Análisis de suelos. Managua, NI. Universidad Nacional Agraria. Entrevista.
- Alvarado, A; Chavarría, M; Guerrero, R; Boniche, J; Navarro, JR. 2004.** Características edáficas y presencia de micorrizas en plantaciones de Teca (*Tectona grandis* L.f.) en Costa Rica. San José, CR. Agronomía Costarricense 28 (1): 89-100.
- Arizaleta, M; Pire, R. 2008.** Respuesta de plántulas de cafeto al tamaño de la bolsa y fertilización con nitrógeno y fósforo en vivero. Agrociencia 42 (1):47-55.
- Azcón-Bieto, J; Talón, M. 2008.** Fundamentos de Fisiología vegetal. 2. ed. Barcelona, ES. 651 p.
- Benedetto, A; Tognetti, J. 2016.** Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: su aplicación a cultivos intensivos. Buenos Aires, AR. Revista de Investigaciones Agropecuarias 42(3): 258-282.
- Blanco, F; Salas, E. 1997.** Micorrizas en la Agricultura: Contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. Agronomía Costarricense 21 (1): 55-67.
- Blanco Vega, DG. 2006.** Asociación simbiótica entre Hongos Formadores de Micorrizas y plántulas de *Theobroma cacao* estimulada con la aplicación del Isoflavonoide formononetina. Tesis Lic. Santander, CO. Universidad Industrial de Santander. 62 p.
- Brundrett, MN; Bougher, BD; Grove, T; Malajczuk, N. 1996.** Working with micorrizas in forestry and agriculture. ACIAR. Monografía 32. Canberra, AU. 374 p.
- Carbonel Ramos, DE. 2009.** Diagnóstico de micorrizas en cinco sistemas de uso del suelo en el valle de Chanchamayo. Tesis Ing. for. Lima, PE. UNA La Molina. 85 p.
- Cárdenas-Hernández, JF; Álvarez-Herrera, JG; Barragán Q, E; Rivera, CM. 2010.** Efecto del ácido giberélico y la 6-bencilaminopurina sobre el desarrollo de yemas en injertos de cacao (*Theobroma cacao* L.) (en línea). Bogotá, CO. Consultado 22 jun. 2016. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/rt/printerFriendly/17590/37340>
- Clavijo, D. 2012.** Fijación de fósforos por medio de micorrizas (en línea). Petit, VE. Consultado 12 sep. 2015. Disponible en: <https://prezi.com/tsgyglkivz9w/fijacion-de-fosforos-por-medio-de-micorrizas/>
- Cruz Castillo, JB; Vega Jarquín, MC. 2016.** Reporte preliminar correspondiente a presencia y diversidad de hongos formadores de micorrizas en sistemas agroforestales con cacao (*Theobroma cacao* L.), localizados en Rancho Grande y Kukra Hill, Nicaragua. In Reunión Científica de Docentes Investigadores (XIII, 2016, Managua, NI). Memoria. Managua, NI. La Calera. no. 7:9.

- Cué García, JL; Torres García, A. 2014.** Valoración agroecológica de las micorrizas vesículo arbusculares. *Revista Avances* 16 (4): 347-358.
- Escamilla Hernández, N; Obrador Olán, JJ; Carrillo Ávila, E; Palma López, DJ. 2015.** Uso de fertilizantes de liberación controlada en plantas de teca (*Tectona grandis*), en la etapa de vivero. *Revista fitotecnia mexicana* 38 (3): 329-333.
- FENIAGRO (Federación de Cooperativas Agroindustriales, NI). 2010.** Biofertilizantes, bioprotectores y biorestauradores Micorrícicos para la producción agroecológica en las fincas de los Productores de café. Managua, NI. 87 p.
- Fonseca González, W. 2004.** Manual para productores de Teca (*Tectona grandis* L. f) en Costa Rica. Heredia, CR. 121 p.
- Frioni, L. 2005.** Microbiología básica, ambiental y agrícola. Montevideo, UY. 466 p.
- Gallego, E; Sánchez, J. S.f.** Micorrizas (en línea). Almería, ES. Consultado 10 jun. 2016. Disponible en: <https://w3.ual.es/GruposInv/myco-ual/micorr.htm>
- González Chávez, MCA. 1989.** Principios de taxonomía de la endomicorriza V-A. Montecillo, MX. 27 p.
- González Serrano, CP. 2014.** Aplicación de micorrizas y un mycobacter en viveros de cacao (*Theobroma cacao* L). Tesis. Ing. agr. Machala, EC. UTMACH. 65 p.
- Honrubia, M. 2009.** Las micorrizas: una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 66S1:133-144.
- Jaramillo, J; Rodríguez, V; Guzmán, M; Zapata, M; Rengifo, T. 2007.** Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas en la Producción de Tomate bajo condiciones protegidas. Antioquia, CO. 316 p.
- López, R. 1987.** “*Theobroma cacao*”. Manejo del cultivo de cacao (en línea). México. Consultado 15 abr. 2016. Disponible en: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/68-sterc03m.pdf
- MAG (Ministerio de Agricultura y ganadería, PY). 2013.** El manejo del suelo en la producción de hortalizas con buenas prácticas agrícolas. FAO. Paraguay. 33 p.
- MAGAP (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca, EC). 2012.** Guía de buenas prácticas agrícolas para Cacao: Resolución técnica No.183. CreatiBros. Quito, EC. 66 p.
- Medina, A; Azcón, R. 2010.** Effectiveness of the application of arbuscular mycorrhizal fungi and organic amendments to improve soil quality and plant performance under stress conditions. *Journal of soil science and plant nutrition* 10 (3): 354-372.

- Mendoza, RB. 2017.** Análisis de suelos. Managua, NI. Universidad Nacional Agraria. Entrevista.
- Morell, F; Hernández, A; Borges, Y; Marentes, FL. 2009.** La actividad de los hongos micorrícicos arbusculares en la estructura del suelo (en línea). La Habana, CU. Consultado 08 oct. 2014. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362009000400014
- Pérez, A; Rojas, J; Montes, D. 2011.** Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares: Una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el Caribe Colombiano. Revista Colombiana de Ciencia Animal 3 (2): 366-385.
- Phillips, JM; Hayman, DS. 1970.** Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55: 158-160.
- Quintana, JO; Blandón, J; Flores, A; Mayorga, E. 1992.** Manual de fertilización para suelos de Nicaragua. INDOCONSUL S. A. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. 75 p.
- Reynosa Correa, CM; Díaz Mena, FM. 2016.** Estado de los suelos y capacidad de uso de la tierra en la finca El Cacao, La Fonseca – Kukra Hill. Tesis. Ing. rec. nat. Managua, NI. UNA. 65 p.
- Rodríguez Matos, Y; Álvarez Olivera, PA; Riera, MC; Rodríguez Oquendo, V; Román, ML. 2011.** Efecto de dos productos biológicos en el desarrollo de la especie *Tectona grandis* L. f., en vivero y plantación. Revista Avances 13 (2): s.p.
- Rojas Mego, KC; Elizarbe Melgar, C; Gárate Díaz, MH; Ayala Montejó, D; Ruiz Cubillas, P; Sieverding, E. 2014.** Hongos de micorriza arbuscular en tres agroecosistemas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Amazonía Peruana. Perú. Folia Amazónica 23(2):149-156.
- Ruiz Martínez, L. 2005.** Generalización del uso y manejo de las asociaciones micorrícicas en cultivos tropicales, como contribución a la sostenibilidad agroalimentaria. Cuba. 30 p.
- Salas, E. S.f.** Las micorrizas y su importancia para el manejo y conservación de los árboles del trópico. Costa Rica. 50 p.
- Tinoco López, J; Ramírez Ramírez, O. 2014.** Evaluación de la influencia de la fertilización en el vivero sobre la calidad de la planta de *Pinus oocarpa* Schiede y su desarrollo inicial en campo. Tesis. Ing. for. Managua, NI. UNA. 36 p.
- Tondjo, K; Brancheriau, L; Sabatier, SA; Kokutse, AD; Akossou, A; Kokou, K; Fourcaud, T. 2015.** Non destructive measurement of leaf area and dry biomass in *Tectona grandis*. Montpellier, FR. Trees 29: 1625-1631.

Valle, D. 2017. Análisis físicoquímico del sustrato usado en los viveros de finca El Cacao (correo electrónico). Kukra Hill, NI. Finca El Cacao. (d.valle@rittersport.com.ni).

Vega Jarquín, MC. 2017. Sistemas agroforestales con cacao, un legado biocultural para el futuro. Managua, NI. Editorial académica Española. 56 p.

VIII.- ANEXOS

Anexo 1. Formato para la determinación del porcentaje de colonización.

Analista _____

Fecha _____

Muestra _____

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

Anexo 2. Análisis de varianza para las variables en estudio de *T. cacao* a los 90 días

Altura total

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Altura total	66	0.20	0.00	20.39

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	440.27	15	29.35	0.84	0.6317
Tratam	323.70	10	32.37	0.93	0.5184
Repet	116.56	5	23.31	0.67	0.6507
Error	1749.48	50	34.99		
Total	2189.75	65			

**Test: Tukey Alfa=0.05
DMS=11.51478**

Error: 34.9895 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T1	24.00	6	2.41	A
T5	26.75	6	2.41	A
T11	27.33	6	2.41	A
T7	28.67	6	2.41	A
T4	28.92	6	2.41	A
T8	29.17	6	2.41	A
T3	29.58	6	2.41	A
T10	30.00	6	2.41	A
T6	31.42	6	2.41	A
T2	31.58	6	2.41	A
T9	31.67	6	2.41	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Hojas verdaderas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Hojverd	66	0.31	0.11	17.76

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	141.88	15	9.46	1.52	0.1353
Tratam	99.76	10	9.98	1.60	0.1343
Repet	42.12	5	8.42	1.35	0.2589
Error	311.88	50	6.24		
Total	453.76	65			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=4.86177

Error: 6.2376 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T1	12.17	6	1.02	A
T10	12.83	6	1.02	A
T8	13.00	6	1.02	A
T11	13.17	6	1.02	A
T6	13.33	6	1.02	A
T7	14.17	6	1.02	A
T5	14.33	6	1.02	A
T4	14.50	6	1.02	A
T3	15.17	6	1.02	A
T9	15.83	6	1.02	A
T2	16.17	6	1.02	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Diámetro tallo

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Diatall	66	0.25	0.03	14.02

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.12	15	0.01	1.13	0.3555
Tratam	0.10	10	0.01	1.33	0.2425
Repet	0.03	5	0.01	0.74	0.5984
Error	0.36	50	0.01		
Total	0.48	65			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.16507

Error: 0.0072 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T7	0.56	6	0.03	A
T1	0.56	6	0.03	A
T10	0.57	6	0.03	A
T5	0.57	6	0.03	A
T11	0.60	6	0.03	A
T9	0.60	6	0.03	A
T6	0.60	6	0.03	A
T3	0.64	6	0.03	A
T4	0.64	6	0.03	A
T8	0.64	6	0.03	A
T2	0.68	6	0.03	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Peso fresco aéreo

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Pfaer	66	0.32	0.12	29.63

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	773.02	15	51.53	1.60	0.1066
Tratam	657.46	10	65.75	2.05	0.0477
Repet	115.56	5	23.11	0.72	0.6121
Error	1606.78	50	32.14		
Total	2379.81	65			

Test:Tukey Alfa=0.05**DMS=11.03520***Error: 32.1357 gl: 50*Tratam Medias n E.E.

T5	14.48	6	2.31	A
T1	15.67	6	2.31	A B
T10	17.13	6	2.31	A B
T11	18.20	6	2.31	A B
T7	18.40	6	2.31	A B
T8	18.53	6	2.31	A B
T6	18.82	6	2.31	A B
T4	19.08	6	2.31	A B
T3	21.02	6	2.31	A B
T9	22.63	6	2.31	A B
T2	26.50	6	2.31	B

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)***Peso fresco raíces**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Pfrai	66	0.24	0.10	38.77

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	79.61	10	7.96	1.76	0.0912
Tratam	79.61	10	7.96	1.76	0.0912
Error	249.27	55	4.53		
Total	328.87	65			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=4.12678*Error: 4.5321 gl: 55*Tratam Medias n E.E.

T10	3.72	6	0.87	A
T8	4.20	6	0.87	A
T7	4.33	6	0.87	A
T1	5.03	6	0.87	A

T6	5.17	6	0.87	A
T11	5.27	6	0.87	A
T9	5.98	6	0.87	A
T5	6.25	6	0.87	A
T4	6.38	6	0.87	A
T2	6.60	6	0.87	A
T3	7.47	6	0.87	A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)***Peso seco aéreo**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Psaer	66	0.18	0.03	30.33

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	31.95	10	3.19	1.22	0.3009
Tratam	31.95	10	3.19	1.22	0.3009
Error	144.37	55	2.62		
Total	176.32	65			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=3.14068*Error: 2.6250 gl: 55*Tratam Medias n E.E.

T5	4.08	6	0.66	A
T1	4.38	6	0.66	A
T10	4.82	6	0.66	A
T11	5.10	6	0.66	A
T7	5.30	6	0.66	A
T6	5.37	6	0.66	A
T4	5.60	6	0.66	A
T8	5.63	6	0.66	A
T3	5.82	6	0.66	A
T9	6.07	6	0.66	A
T2	6.60	6	0.66	A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)***Peso seco raíces**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Psrai	66	0.33	0.20	45.55

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	14.07	10	1.41	2.68	0.0097
Tratam	14.07	10	1.41	2.68	0.0097
Error	28.93	55	0.53		
Total	43.01	65			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.40594

Error: 0.5260 gl: 55

Tratam Medias n E.E.

T10	1.03	6	0.30	A
T8	1.22	6	0.30	A B
T6	1.23	6	0.30	A B
T9	1.30	6	0.30	A B
T11	1.30	6	0.30	A B
T7	1.37	6	0.30	A B
T1	1.37	6	0.30	A B
T5	1.97	6	0.30	A B
T2	2.12	6	0.30	A B
T4	2.15	6	0.30	A B
T3	2.47	6	0.30	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Área foliar

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Arfoli	66	0.33	0.12	29.49

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1348619.34	15	89907.96	1.62	0.1025
Tratam	1180029.87	10	118002.99	2.12	0.0397
Repet	168589.47	5	33717.89	0.61	0.6950
Error	2778611.45	50	55572.23		
Total	4127230.79	65			

**Test:Tukey Alfa=0.05
DMS=458.89727**

Error: 55572.2290 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T1	475.46	6	96.24	A
T5	706.78	6	96.24	A B
T11	774.18	6	96.24	A B
T3	781.54	6	96.24	A B
T4	786.74	6	96.24	A B
T8	793.52	6	96.24	A B
T6	800.95	6	96.24	A B
T10	804.66	6	96.24	A B
T7	903.29	6	96.24	A B
T9	940.03	6	96.24	B
T2	1026.13	6	96.24	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Índice de Esbeltez

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
IE	66	0.21	0.00	17.14

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8.86	15	0.59	0.86	0.6085
Tratam	7.33	10	0.73	1.07	0.4032
Repet	1.53	5	0.31	0.45	0.8141
Error	34.30	50	0.69		
Total	43.17	65			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.61238

Error: 0.6861 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T1	4.17	6	0.34	A
T8	4.50	6	0.34	A
T5	4.67	6	0.34	A
T4	4.67	6	0.34	A
T2	4.67	6	0.34	A
T11	4.83	6	0.34	A
T3	4.83	6	0.34	A
T10	5.17	6	0.34	A
T7	5.17	6	0.34	A
T6	5.17	6	0.34	A
T9	5.33	6	0.34	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Índice de calidad de Dickson

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ID	66	0.28	0.15	40.94

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.57	10	0.26	2.16	0.0342
Tratam	2.57	10	0.26	2.16	0.0342
Error	6.52	55	0.12		
Total	9.09	65			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.66759

Error: 0.1186 gl: 55

Tratam Medias n E.E.

T10	0.58	6	0.14	A
T6	0.66	6	0.14	A
T8	0.70	6	0.14	A
T11	0.73	6	0.14	A
T7	0.74	6	0.14	A
T9	0.75	6	0.14	A
T1	0.76	6	0.14	A
T5	0.93	6	0.14	A
T4	1.06	6	0.14	A
T2	1.13	6	0.14	A
T3	1.20	6	0.14	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 3. Análisis de varianza para las variables en estudio de *T. grandis* a los 120 días

a) Altura total

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Alttotal	66	0.45	0.29	12.50

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	84.75	15	5.65	2.73	0.0040
Tratam	52.31	10	5.23	2.53	0.0151
Repet	32.43	5	6.49	3.13	0.0155
Error	103.50	50	2.07		
Total	188.25	65			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=2.80073

Error: 2.0700 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T9	10.52	6	0.59	A
T5	10.80	6	0.59	A
T8	11.00	6	0.59	A
T3	11.00	6	0.59	A
T7	11.17	6	0.59	A B
T6	11.27	6	0.59	A B
T10	11.33	6	0.59	A B
T2	11.58	6	0.59	A B
T11	11.67	6	0.59	A B
T4	12.33	6	0.59	A B
T1	13.92	6	0.59	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

b) Hojas verdaderas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Hojverd	66	0.27	0.05	14.10

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	45.45	15	3.03	1.22	0.2900
Tratam	13.82	10	1.38	0.56	0.8416
Repet	31.64	5	6.33	2.54	0.0397
Error	124.36	50	2.49		
Total	169.82	65			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=3.07007

Error: 2.4873 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T5	10.50	6	0.64	A
T9	10.67	6	0.64	A
T4	10.83	6	0.64	A
T1	10.83	6	0.64	A
T6	11.00	6	0.64	A
T7	11.17	6	0.64	A
T3	11.17	6	0.64	A
T2	11.50	6	0.64	A
T10	11.50	6	0.64	A
T8	11.83	6	0.64	A
T11	12.00	6	0.64	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

c) Diámetro de tallo

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Diatall	66	0.57	0.44	9.40

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.22	15	0.01	4.36	<0.0001
Tratam	0.18	10	0.02	5.54	<0.0001
Repet	0.03	5	0.01	1.99	0.0956
Error	0.16	50	3.3E-03		
Total	0.38	65			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.11164

Error: 0.0033 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T5	0.52	6	0.02	A
T2	0.57	6	0.02	A B
T10	0.58	6	0.02	A B
T9	0.59	6	0.02	A B
T7	0.61	6	0.02	A B
T6	0.61	6	0.02	A B
T8	0.61	6	0.02	A B
T3	0.62	6	0.02	A B
T4	0.63	6	0.02	A B C
T11	0.66	6	0.02	B C
T1	0.74	6	0.02	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

d) Peso fresco aéreo

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Pfaer	66	0.49	0.34	18.88

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	203.86	15	13.59	3.21	0.0010
Tratam	200.09	10	20.01	4.72	0.0001
Repet	3.77	5	0.75	0.18	0.9696
Error	211.92	50	4.24		
Total	415.78	65			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=4.00759

Error: 4.2383 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T2	7.58	6	0.84	A
T5	9.10	6	0.84	A B
T4	9.93	6	0.84	A B C
T9	9.97	6	0.84	A B C
T3	10.13	6	0.84	A B C
T6	10.27	6	0.84	A B C
T7	11.87	6	0.84	B C
T8	12.12	6	0.84	B C
T11	12.37	6	0.84	B C
T10	13.13	6	0.84	C
T1	13.50	6	0.84	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

e) Peso fresco raíz

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Pfrai	66	0.36	0.17	20.11

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	461.24	15	30.75	1.90	0.0459
Tratam	411.54	10	41.15	2.54	0.0145
Repet	49.70	5	9.94	0.61	0.6893
Error	808.89	50	16.18		
Total	1270.13	65			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=7.82973

Error: 16.1778 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T5	16.70	6	1.64	A
T9	17.05	6	1.64	A
T2	17.80	6	1.64	A B
T10	18.83	6	1.64	A B

T4	19.33	6	1.64	A B
T11	19.98	6	1.64	A B
T7	20.23	6	1.64	A B
T6	20.42	6	1.64	A B
T8	20.98	6	1.64	A B
T3	23.10	6	1.64	A B
T1	25.62	6	1.64	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

f) Peso seco aéreo

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Psaer	66	0.65	0.54	17.48

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	34.02	15	2.27	6.13	<0.0001
Tratam	30.76	10	3.08	8.31	<0.0001
Repet	3.26	5	0.65	1.76	0.1385
Error	18.51	50	0.37		
Total	52.52	65			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.18430

Error: 0.3701 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T6	2.83	6	0.25	A
T5	2.85	6	0.25	A
T2	2.95	6	0.25	A
T9	3.03	6	0.25	A
T4	3.32	6	0.25	A
T7	3.40	6	0.25	A
T8	3.47	6	0.25	A
T3	3.50	6	0.25	A
T11	3.75	6	0.25	A
T10	3.80	6	0.25	A
T1	5.38	6	0.25	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

g) Peso seco raíz

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Psrai	66	0.37	0.18	22.47

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	61.86	15	4.12	1.97	0.0380
Tratam	53.09	10	5.31	2.53	0.0150
Repet	8.77	5	1.75	0.84	0.5304
Error	104.89	50	2.10		
Total	166.74	65			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=2.81944

Error: 2.0978 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T9	5.05	6	0.59	A
T5	5.27	6	0.59	A
T6	5.90	6	0.59	A B
T4	6.00	6	0.59	A B
T11	6.25	6	0.59	A B
T2	6.25	6	0.59	A B
T10	6.42	6	0.59	A B
T7	6.88	6	0.59	A B
T8	7.17	6	0.59	A B
T1	7.52	6	0.59	A B
T3	8.20	6	0.59	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

h) Área foliar

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Arfoli	66	0.57	0.44	20.48

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	614139.77	15	40942.65	4.45	<0.0001
Tratam	483951.74	10	48395.17	5.27	<0.0001
Repet	130188.03	5	26037.61	2.83	0.0250
Error	459563.94	50	9191.28		
Total	1073703.72	65			

**Test:Tukey Alfa=0.05
DMS=186.62703**

Error: 9191.2789 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T5	364.34	6	39.14	A
T6	390.68	6	39.14	A
T9	398.85	6	39.14	A
T2	410.11	6	39.14	A
T10	428.43	6	39.14	A
T8	473.77	6	39.14	A
T7	474.70	6	39.14	A
T4	490.86	6	39.14	A
T3	494.41	6	39.14	A
T11	535.17	6	39.14	A B
T1	688.06	6	39.14	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

i) Índice de Esbeltez

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
IE	66	0.29	0.07	13.01

**Cuadro de Análisis de la Varianza
(SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1.22	15	0.08	1.33	0.2202
Tratam	0.75	10	0.08	1.24	0.2927
Repet	0.46	5	0.09	1.52	0.2001
Error	3.05	50	0.06		
Total	4.26	65			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.48056

Error: 0.0609 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T11	1.76	6	0.10	A
T9	1.79	6	0.10	A
T3	1.79	6	0.10	A
T8	1.81	6	0.10	A
T7	1.85	6	0.10	A
T6	1.89	6	0.10	A
T1	1.90	6	0.10	A
T10	1.97	6	0.10	A
T4	1.98	6	0.10	A
T2	2.03	6	0.10	A
T5	2.11	6	0.10	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

j) Índice de calidad de Dickson

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R² Aj</u>	<u>CV</u>
ID	66	0.40	0.23	23.39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	31.60	15	2.11	2.27	0.0157
Tratam	26.81	10	2.68	2.88	0.0064
Repet	4.79	5	0.96	1.03	0.4096
Error	46.49	50	0.93		
Total	78.09	65			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.87701

Error: 0.9297 gl: 50

Tratam Medias n E.E.

T5	3.14	6	0.39	A
T9	3.38	6	0.39	A B
T4	3.69	6	0.39	A B
T2	3.70	6	0.39	A B
T6	3.82	6	0.39	A B
T10	3.99	6	0.39	A B
T11	4.27	6	0.39	A B
T7	4.45	6	0.39	A B
T8	4.62	6	0.39	A B
T1	5.04	6	0.39	B
T3	5.24	6	0.39	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

