



Beneficios de fuentes locales de nutrientes e inoculantes micorrízicos en microinjertos de *Theobroma cacao* L

Benefits of local sources of nutrients and mycorrhizal inoculants in micrografts of *Theobroma cacao* L

 Raúl Aranda Azaharez^{1*},  Alberto Pérez Díaz²,
 Carlos Bustamante González³,  Ramón Rivera Espinosa⁴

¹Centro de Gestión Paso de Cuba, Baracoa. Grupo Agroforestal, Guantánamo, Cuba. CP 97310

²Universidad de Guantánamo, ave. Ernesto Che Guevara, km 1 ½ carretera a Jamaica. Reparto San Justo, Guantánamo, Cuba. CP 95100

³Instituto de Investigaciones Agro-Forestales, Unidad de Ciencia y técnica de Base Cruce de los Baños, Tercer Frente, Santiago de Cuba, Cuba. CP 92700

⁴Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera San José-Tapaste, km 3½, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32700

RESUMEN: El cacao requiere de tecnologías de producción más eficientes que se basen en fuentes locales de nutrientes y potencien la actividad biológica. Se ejecutaron dos experimentos para optimizar la obtención de posturas vía microinjerto, durante el periodo 2016-2019 en la Empresa de Café y Cacao de Baracoa, provincia de Guantánamo. Se emplearon como fuentes de abonos orgánicos (AO) las cáscaras de cacao y coco y el humus de lombriz, todas con disponibilidad para los productores. Se estudiaron para cada una tres proporciones suelo/AO de 3:1, 5:1, 7:1 v/v. Con posterioridad se estudió la respuesta a las cepas de hongos micorrízicos arbusculares *Glomus cubense* (INCAM-4) y *Rhizogloium irregulare* (INCAM-11). El suelo utilizado fue Pardo mullido carbonatado. Se utilizaron diseños de bloques al azar con cuatro réplicas. Se evaluaron la altura de las plantas, el número de pares de hojas, el diámetro del tallo, el área foliar y el porcentaje de colonización micorrízica. Los sustratos conformados con cáscara de cacao y humus de lombriz, en relación S/AO de 5/1 y 3/1, presentaron los mayores índices de crecimiento de las posturas, sin diferencias significativas entre estos. La cáscara de coco originó siempre las posturas más pequeñas. La inoculación del microinjerto con *R. irregulare* o *G. cubense* en sustratos de cáscara de cacao o humus de lombriz en relación S/AO (5:1) fueron efectivas, presentando mejores indicadores en tamaño y área foliar y disminución en 44 % de las cantidades de abonos orgánicos con relación a la recomendación del Instructivo Técnico de 3/1.

Palabras clave: cáscara de cacao, humus de lombriz, cáscara de coco, posturas, hongos micorrízicos arbusculares.

ABSTRACT: Cocoa requires more efficient technologies that are based on local sources of nutrients and enhancing biological activity. The work was developed through two experiments carried out during the period 2016-2019, in the Coffee and Cocoa Enterprise of Baracoa, Guantánamo province. Cacao and coconut husks and earthworm humus, all available to producers, were used as sources of organic fertilizers (OA). Three soil / OF ratios of 3:1, 5:1, 7:1 v/v were studied for each of them. Subsequently, the response to the mycorrhizal fungi strains *Glomus cubense* (INCAM-4) and *Rhizogloium irregulare* (INCAM-11) was studied. The soil used was a brown loam with carbonates. A randomized block design with a factorial arrangement and four replications was used. Plant height, number of pairs of leaves, stem diameter, leaf area and percentage of mycorrhizal colonization were evaluated. The substrates composed of cocoa husk and earthworm humus with S/O ratios of 5/1 and 3/1 presented the highest growth rates of the seedlings, with no differences between cocoa husk and earthworm humus. Coconut husk produced the smallest seedlings. The inoculation of the micrograft with *R. irregulare* or *G. cubense* in cocoa husk or worm castings substrates in S/AO ratio (5:1) was effective, presenting better indicators in size and leaf area and a 44 % decrease in the amount of organic fertilizers in relation to the recommendation of the Technical Instructions of 3/1.

Key words: organic fertilizers, biofertilizers, mycorrhizal infection, seedlings.

*Autor para correspondencia: rbracadabra14@gmail.com, raula8171@gmail.com

Recibido: 30/05/2021

Aceptado: 15/02/2022

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflicto de intereses

Contribución de los autores: **Conceptualización-** Raúl Aranda Azahares, Alberto Pérez Díaz. **Investigación-** Raúl Aranda Azahares.

Metodología- Alberto Pérez Díaz, Carlos Bustamante González, Raúl Aranda Azahares. **Procesamiento de los datos y Escritura del borrador inicial-** Raúl Aranda Azahares, Alberto Pérez Díaz, Carlos Bustamante González. **Escritura y edición final-** Ramón Rivera Espinosa.

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0).
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



INTRODUCCIÓN

El cacao constituye uno de los renglones agrícolas exportables de vital importancia para el país, con una amplia gama de derivados destinados a diferentes ramas de la industria. Su cultivo se concentra, principalmente, en algunas zonas de la región oriental de Cuba, debido a sus características edafoclimáticas con suelos friables y altas precipitaciones anuales (1700-2500 mm), predominando las plantaciones en el municipio de Baracoa, en la provincia de Guantánamo, con alrededor del 68 % de estas y el 87 % de la producción nacional (1).

Este cultivo se ha propagado, ancestralmente, por semilla, pero en el siglo XX se comenzó a propagar por vía vegetativa, a través de estacas e injertos. Asimismo, se han ido proponiendo nuevos métodos (2) para hacer su producción más efectiva, rápida y rentables; entre estos, el enraizamiento de estacas directamente en la bolsa, el microinjerto y el cultivo *in vitro*; sin embargo, su multiplicación se ha visto afectada por la baja calidad de los sustratos en las que son reproducidas las posturas, llegando a producir árboles de baja productividad por el origen y conformación del sustrato y su manejo (3).

Hoy en día, la sustentabilidad de los sistemas agrícolas debe fomentar el uso y manejo efectivo de los recursos naturales de los agroecosistemas. En este sentido, los microorganismos benéficos son un componente vital para mitigar el cambio climático y lograr una agricultura resiliente. Entre estos se encuentran los microorganismos endófitos, las bacterias fijadoras de nitrógeno, los microorganismos antagonistas, los microorganismos eficientes, además de otros endófitos del suelo como los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (4-7), por lo cual su uso constituye una solución económicamente atractiva y ecológicamente aceptable para reducir el uso de los fertilizantes químicos e incluso de los orgánicos y mejorar la eficiencia de los recursos naturales (8-10).

Comúnmente en la producción de posturas en el país, los nutrientes se aportan a través de aplicaciones de abonos orgánicos, los cuales, además, mejoran las características físicas de los sustratos. Las fuentes de abonos más utilizadas han sido el humus de lombriz, los estiércoles y los compostajes (2, 11, 12). En el municipio de Baracoa dentro de las fuentes orgánicas locales se encuentran las cáscaras de cacao y de coco, las cuales se utilizan luego de pasar por procesos de descomposición natural (2, 11). La primera, que representa el 40 % de la materia orgánica que se produce en este municipio, es un material de fácil descomposición, con una alta retención de humedad y su aplicación mejora las características físico-químicas del suelo (13, 14); la segunda, aunque no es de fácil

descomposición, es abundante y de bajo costo (11). Para ambas fuentes es importante el encontrar usos eficientes a las mismas y disminuir posibles fuentes de contaminación asociados con su acumulación.

Durante más de 20 años en Cuba se han desarrollado una serie de investigaciones relacionadas con el uso y manejo de los HMA en diferentes agroecosistemas, cuyos resultados han brindado aportes importantes en el uso y manejo de este biofertilizante en diferentes cultivos y sus beneficios (15, 16). En específico en la producción de posturas, las aplicaciones de cepas eficientes de HMA han presentado efectos positivos en cultivos como banano (12), café (17), aguacate (18), garantizando óptimo desarrollo y mayores supervivencias de las posturas en el trasplante y requiriendo de menores cantidades de abono orgánico para conformar los sustratos que las indicadas por los respectivos Instructivos Técnicos de los cultivos.

Si bien el cacao es un cultivo micótrofo (19, 20, 21), han sido pocos los estudios realizados en Cuba sobre la respuesta del cacao a la inoculación con cepas eficientes de HMA. Sólo se reporta un trabajo realizado con posturas de cacao obtenidas por semillas híbridas, evaluando dos cepas de HMA y proporciones de suelo/cachaza como sustratos (22) y obteniendo los mejores resultados en el crecimiento de las posturas y absorción de nutrientes, con la aplicación simple de *Glomus cubense* (INCAM-4) o *Rhizoglomus irregulare* (INCAM-11).

Por todo lo anterior resulta importante evaluar los efectos de varias fuentes locales de abonos orgánicos (AO), relaciones suelo/AO y la inoculación de cepas eficientes de HMA, cuya integración pueda ser la base para mejorar la eficiencia y factibilidad de la tecnología de producción de posturas vía microinjertos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones experimentales generales

El trabajo se desarrolló a través de dos experimentos en la etapa de producción de posturas de *Theobroma cacao* L., los que se repitieron durante dos años cada uno, durante el periodo 2016-2019, en el vivero de la Empresa de Café y Cacao de Baracoa, ubicado en Los Hoyos de Sabanilla, municipio de Baracoa, provincia de Guantánamo. Las posturas se desarrollaron en bolsas de 14,5 cm x 24 cm, con capacidad de 1,1 kg de sustrato.

El suelo utilizado para conformar los sustratos corresponde a un Pardo mullido carbonatado (23), algunas de cuyas características químicas se reflejan en la Tabla 1.

El análisis químico se realizó en el Laboratorio de Suelo de la provincia Guantánamo. Las metodías utilizadas

Tabla 1. Características químicas del suelo Pardo mullido carbonatado

Tipo de suelo	pH (H ₂ O)	MO (%)	P ₂ O ₅	K ₂ O	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	CIB
			mg 100g ⁻¹		cmol _c kg ⁻¹			
Pardo	7,25	3,6	2,14	30,32	0,64	31,5	11,8	44,3

CIB: Capacidad de Intercambio de Bases=∑ Bases cambiables

fueron: el pH-H₂O en la relación suelo: solución (1:2,5) por el método potenciométrico; la determinación de la materia orgánica por el método de Walkley-Black (oxidación del C con K₂Cr₂O₇ 0,5 M en H₂SO₄ (18 M al 98 %) y la valoración con FeNH₄ SO₄ (0,25 M); la determinación del P₂O₅ y el K₂O disponibles por el método de Machiguín (solución extractiva de (NH₄)₂CO₃ con concentración de 10 g L⁻¹, pH 9,0) y valoración con ácido ascórbico; los cationes intercambiables por extracción 1/5 con NH₄Ac 1 M pH 7 y la determinación por complejometría (Ca y Mg) y fotometría de llama (K).

Manejo de los microinjertos y atenciones

El microinjerto es una técnica utilizada para injertar una pequeña yema de un cultivar productivo en el hipocótilo de una plántula de un patrón seleccionado por su robustez (1). Para la conformación de los microinjertos se utilizó como patrón el cultivar UF-650 y las yemas procedieron del cultivar UF-654 (24). Ambos cultivares, reconocidos por su alto potencial productivo, procedían del Banco de Germoplasma de Cacao de la Unidad de Ciencia y Tecnología de Base de Baracoa (UCTB). Para la obtención de las plántulas se procedió de la siguiente forma: las semillas del patrón se extendieron en un pre germinador con arena de río, previamente desinfectada con solución de formol (1 %) y después lavada con abundante agua. Cuando la radícula alcanzó 5 mm se sembraron en las bolsas, a razón de una semilla por bolsa. El microinjerto se realizó, aproximadamente, a los 15 días, cuando la plántula alcanzó una altura entre 10 a 15 cm y antes de que abriera el cotiledón (1). Se utilizó riego por goteo durante el periodo experimental.

Fuentes de abonos orgánicos utilizadas

Cáscara de cacao. Se utilizó la cáscara de cacao descompuesta en canteros de madera durante un periodo de 6 meses y de acuerdo al método tradicional de los campesinos en Baracoa, que incluye volteo cada 30 días y mantener la humedad entre 40 y 60 % (2). El producto presentaba un color oscuro y una textura grumosa, indicativo de una descomposición satisfactoria.

Cáscara de coco. Producto de su alto porcentaje de celulosa y lignina (11, 25), la cáscara de coco es de lenta descomposición natural. Se utilizó un material semidescompuesto, depositado durante 14 meses en una estiba a la intemperie. Con posterioridad, se molió y se extrajeron las fibras. El material era de color carmelita y textura grumosa.

Humus de Lombriz. El humus de lombriz utilizado se elaboró (26) en el centro de producción de humus de lombriz, del Centro de Gestión "Paso de Cuba", adscrito a la Empresa Agroforestal y Coco de Baracoa. El residuo vegetal utilizado para su preparación fue la cáscara de café semidescompuesta. El color del humus fue oscuro y bien granulado.

Experimento 1. Evaluación de las fuentes de abono orgánico y la relación S/AO adecuada para la producción de posturas de cacao por microinjerto.

El experimento se desarrolló entre los meses de mayo a agosto de los años 2016 y 2017. Se evaluó el efecto de tres fuentes de abono orgánico (cáscaras de cacao y de coco y el humus de lombriz), todas con disponibilidad para los productores y tres proporciones suelo: abono orgánico (S/AO) de 3:1, 5:1 y 7:1 v/v, mediante un diseño de bloques al azar con arreglo factorial (3x3) y cuatro réplicas, para un total de nueve tratamientos. Las parcelas experimentales estuvieron conformadas por 50 posturas, de las cuales se evaluaron 25. La relación S/AO, recomendada por el Instructivo Técnico es la de 3:1, a partir de utilizar, indistintamente, como fuentes de abono orgánico: humus de lombriz, compost, estiércol, cáscaras descompuestas de cacao o de café (1).

Tratamientos:

1. Suelo: cáscara de cacao 3:1 v/v (testigo de producción)
2. Suelo: cáscara de cacao 5:1v/v
3. Suelo: cáscara de cacao 7:1v/v
4. Suelo: humus de lombriz 3:1v/v (testigo de producción)
5. Suelo: humus de lombriz 5:1v/v
6. Suelo: humus de lombriz 7:1v/v
7. Suelo: cáscara de coco 3:1v/v (testigo de producción)
8. Suelo: cáscara de coco 5:1v/v
9. Suelo: cáscara de coco 7:1v/v

Experimento 2. Respuesta de las posturas de cacao obtenidas por microinjerto, a la inoculación de cepas de HMA.

El experimento se desarrolló en igual periodo (mayo a agosto) y durante los años 2018 y 2019. Se utilizó un diseño de bloques al azar con seis tratamientos y cuatro réplicas. Los tratamientos consistieron en cuatro combinaciones a partir de cáscara de cacao o humus de lombriz siempre en la relación S/AO de 5/1 en presencia de la inoculación simple con las cepas de HMA: INCAM-4 o INCAM-11 y dos tratamientos de ambas fuentes en la relación S/AO de 3/1 y sin inocular (testigos de producción). Las parcelas experimentales estuvieron conformadas por 50 posturas de las cuales se evaluaron 25. Se utilizó el mismo tipo de bolsa y manejo del riego que en el experimento anterior.

Tratamientos:

1. Suelo: cáscara de cacao 5:1v/v + INCAM-11
2. Suelo: humus de lombriz 5:1v/v + INCAM-11
3. Suelo: cáscara de cacao 5:1v/v+ INCAM-4
4. Suelo: humus de lombriz 5:1v/v+ INCAM-4
5. Suelo: cáscara de cacao 3:1v/v sin inocular (testigo de producción)
6. Suelo: humus de lombriz 3:1v/v sin inocular (testigo de producción)

Las cepas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) utilizadas fueron *Glomus cubense* (27) /INCAM-4, DAOM241198 y *Rhizoglomus irregulare* Syn. *Rhizophagus irregularis* (28) / INCAM-11, DAOM711363, procedentes del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) de Cuba. Ambas se formularon como inoculantes sólidos simples (15), con más de 60 esporas por gramos de producto y una cantidad no determinada de micelios y raicillas infectivas.

La inoculación de cada cepa se realizó recubriendo las semillas del patrón, con una mezcla del inoculante y agua (15). Para la preparación de la mezcla el inoculante se aplicó en una relación de 10 % con relación al peso fresco de la semilla. Las semillas inoculadas se colocaron en el pregerminador y se procedió de forma similar al experimento 1 en relación al manejo del patrón y la realización del microinjerto.

Evaluaciones realizadas a los cuatro meses

1. Altura de las plantas (cm): se utilizó cinta métrica, se midió desde el cuello de la raíz hasta la yema terminal.

Número de hojas por planta (unidad).

2. Diámetro del tallo (cm): se midió por debajo de la cicatriz cotiledonal, con un pie de rey con precisión 0,05 cm.

3. Área foliar (cm²): se estimó a partir de la longitud y el ancho de las hojas, utilizando la siguiente fórmula (29).

$$AF = 0,6766(LxA) - 1,843$$

4. Porcentaje de colonización micorrízica: Se tomaron muestras de raíces finas de ocho plantas por parcela, ubicadas en la parte central. Las raíces fueron teñidas con tinta azul (30) y evaluadas por el método de los interceptos (31).

Procedimiento estadístico. Los resultados experimentales se procesaron de acuerdo con el diseño experimental y arreglos utilizados, realizándose los correspondientes análisis de varianza por el programa

Statgraphics versión 5.1, en ambiente Windows. Los datos de colonización micorrízica (porcentaje de colonización) fueron transformados por Arc. sen \sqrt{x} . Cuando el análisis de varianza fue significativo, se aplicó la prueba de comparación de rangos múltiples de Duncan para $p < 0,05$ %, como criterio de comparación entre las medias de los tratamientos.

RESULTADOS

Experimento 1. Evaluación de las fuentes de abono orgánico (AO) y la relación S/AO adecuada para la producción de posturas de cacao por microinjerto.

En relación con la altura de la planta y el diámetro del tallo, los mejores resultados, en ambos años, se obtuvieron en los tratamientos de cáscara de cacao y humus de lombriz en las proporciones 3:1 y 5:1, sin diferencias significativas entre estos ($p < 0,05$). La proporción 5:1 fue siempre superior ($p < 0,05$) a la 7:1, mientras que la 3:1 fue significativamente superior a la 7:1, solo en el año 2017 (Tabla 2).

El número de hojas presentó un comportamiento similar con los mayores valores al utilizar cáscara de cacao o humus de lombriz en las relaciones de 5/1 y 3/1; no obstante, solo se encontraron efectos significativos en el año 2016. En dicho año, las relaciones 5/1 y 3/1 presentaron valores similares, aunque solo la relación 5/1 originó mayor número de hojas ($p < 0,05$) que la 7/1. A los cuatro meses, los microinjertos alcanzaron los valores óptimos de calidad de una postura de cacao, con diámetros entre 7,50-8,57 mm y entre 11-12 hojas (1).

Los tratamientos con cáscara de coco en las tres proporciones presentaron los valores menores ($p < 0,05$) en todas las variables y años, sin diferencias significativas entre los mismos. Estos tratamientos originaron valores siempre menores ($p < 0,05$) en comparación con los obtenidos con cáscara de cacao o humus de lombriz en las relaciones 5/1 y 3/1 y sin diferencias significativas con los obtenidos en la relación 7/1.

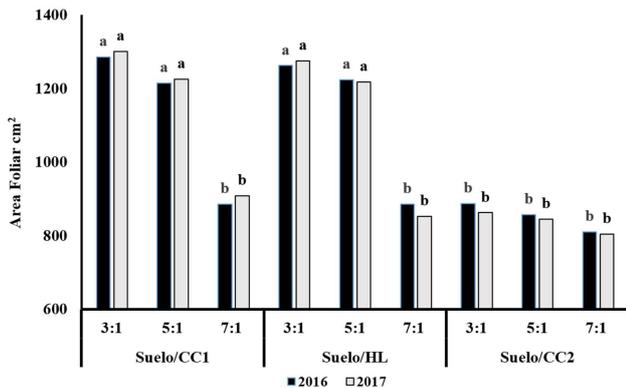
Tabla 2. Efecto de las fuentes y proporción de abono orgánico sobre algunos indicadores del crecimiento de posturas de cacao durante los años 2016-2017

Tratamientos	Altura de la planta (cm)		Diámetro del tallo(mm)		Número de hojas (u)	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017
3:1Suelo/CC ₁	29,36 ab	30,83 a	7,61ab	7,46 a	11,7 ab	10,58
5:1 Suelo/CC ₁	29,54 a	31,33 a	8,23 a	7,66 a	12,4 a	11,72
7:1 Suelo/CC ₁	24,80 bc	26,70 bc	7,10 bc	6,27 b	10,6 bc	10,28
3:1 Suelo/HL	28,34 ab	29,40 a	7,01 bc	7,56 a	11,7 ab	11,14
5:1 Suelo/HL	30,97 a	30,44 a	8,57 a	7,50 a	12,0 ab	12,00
7:1 Suelo/HL	24,66 bc	27,06 bc	6,84 bc	6,43 b	10,5 bc	10,86
3:1 Suelo/CC ₂	23,47 c	23,73 c	6,67 bc	6,50 b	10,5 bc	10,28
5:1 Suelo/CC ₂	23,63 c	24,74 c	6,49 c	6,67 b	10,2 bc	10,28
7:1 Suelo/CC ₂	23,16c	24,07 c	6,27 c	6,44 b	9,70 c	10,28
Es \bar{x}	1,06*	1,03*	0,31*	0,30*	0,30*	0,30 ns

CC₁: cáscara de cacao (3:1,5:1,7:1 v/v), HL: humus de lombriz (3:1,5:1,7:1 v/v), CC₂: cáscara de coco (3:1,5:1,7:1 v/v)

* Medias con letras diferentes en la misma columna difieren entre sí según prueba de Duncan para $p < 0,05$

En la **Figura 1** se presentan los efectos de las diferentes fuentes y proporciones estudiadas en el área foliar de las posturas, a los cuatro meses de edad y en ambos años. Los tratamientos donde se aplicaron la cáscara de cacao y el humus de lombriz en las proporciones 3:1 y 5:1, produjeron posturas con un área foliar entre 1215 cm² y 1301 cm² (**Figura 1**), sin diferencias significativas entre estos valores ($p < 0,05$) y siempre superiores al resto de los tratamientos estudiados.



CC1: cáscara de cacao; HL: humus de lombriz; CC2: cáscara de coco.

Medias con letras diferentes en cada año difieren entre sí según prueba de Duncan para $p < 0,05$. Es \bar{x} : 66,99* en 2016 y 54,17* en 2017

Figura 1. Efecto de los diferentes sustratos y relaciones S/AO en el área foliar de posturas de cacao de 4 meses de edad, obtenidas por microinjerto, durante los años 2016-2017

Los índices más bajos de área foliar ($p < 0,05$) se alcanzaron en las posturas producidas en el sustrato de cáscara de coco en cualesquiera de las proporciones, así como cuando se utilizó la proporción 7/1, sin diferencias significativas entre estos tratamientos.

Si bien los microinjertos alcanzaron los mayores indicadores de crecimiento con las relaciones S/AO de 5/1 y 3/1, a partir de las fuentes de cáscara de cacao y humus de lombriz, las menores cantidades de abono orgánico utilizadas en 5/1 definió su utilización con ambas fuentes en el experimento 2.

Experimento 2. Respuesta de las posturas de cacao obtenidas por microinjerto, a la inoculación de cepas de HMA.

La inoculación de las posturas con *G. cubense* o con *R. irregulare* en los sustratos preparados con cáscara de cacao o humus de lombriz, ambos en relación S/AO 5:1, presentaron los mayores valores de la altura en ambos años, sin diferencias entre los mismos (**Tabla 3**) y significativamente superiores ($p < 0,05$) a los tratamientos no inoculados, conformados por sustratos con una relación S/AO de 3/1 y que corresponden a los testigos de producción (1). Tanto el diámetro del tallo como el número de hojas presentaron un comportamiento similar al anterior, de forma tal que las plantas inoculadas con cualquiera de las cepas y sustratos con relación 5:1 v/v, superaron a los testigos de producción.

En cuanto al área foliar, la inoculación incrementó significativamente esta variable en ambos años, en comparación con los tratamientos no inoculados y sin diferencias significativas entre las respuestas a las cepas inoculadas; asimismo no se encontró efecto significativo del factor fuentes de abono orgánico. Los incrementos obtenidos en ambos años al inocular *R. irregulare* se encontraron entre 19 y 20 %, similares ($p < 0,05$) a los alcanzados con *G. cubense* entre 14 y 16 %, siempre con respecto a los testigos no inoculados (**Figura 2**).

Asimismo, el porcentaje de colonización micorrizica (**Tabla 4**) reflejó una respuesta positiva ($p < 0,05$) a la inoculación micorrizica, la cual fue similar en ambos años, con valores entre 33 y 38 %, sin presentar diferencias entre las cepas ni entre las fuentes de abonos orgánicos.

DISCUSIÓN

De manera general, durante dos años se evidencia la factibilidad de la aplicación de las fuentes orgánicas locales de cáscara de cacao y de humus de lombriz en las mezclas con suelo Pardo mullido carbonatado, para la producción de posturas de cacao por microinjertos. Esta proporción puede disminuir hasta 5:1 y permite un ahorro considerable de abono orgánico de 44 %, en comparación con la relación 3/1 que es la que se recomienda en los Instructivos Técnicos (1) y, por tanto, esta relación de 5/1 es la que se seleccionó para realizar el experimento 2.

Tabla 3. Efecto de la inoculación de cepas de HMA en el crecimiento de posturas de cacao obtenidas por microinjertos

Tratamientos	Altura de la planta (cm)		Diámetro del tallo (mm)		Número de hojas	
	2018	2019	2018	2019	2018	2019
5:1 Suelo/CC1+ INCAM-11	32,71 a	30,14 a	7,90 a	6,97a	14,93a	14,90a
5:1 Suelo/HL+ INCAM-11	31,25 a	30,43 a	7,62 a	6,87a	14,98a	15,02a
5:1 Suelo/CC1+ INCAM-4	31,94 a	31,14 a	7,55 a	7,03 a	15,15 a	15,12 a
5:1 Suelo/HL+ INCAM-4	31,71 a	31,57 a	7,54 a	6,80 a	15,10 a	14,95 a
3:1 Suelo/CC1 (testigo)	26,70 b	26,57 b	6,35 b	5,84 b	12,72b	12,10b
3:1 Suelo/HL (testigo)	28,14 b	27,93 b	6,40 b	5,98 b	12,80b	12,66b
Es \bar{x}	1,02*	1,17*	0,30*	0,21*	0,30 *	0,32*

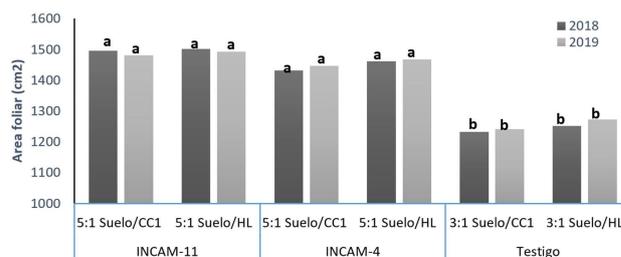
CC1: cáscara de cacao; HL: humus de lombriz. INCAM-4: *G. cubense* e INCAM-11: *R. irregulare*. 3:1 S/AO relación recomendada por Instructivo Técnico del cultivo (1). Medias con letras diferentes en la misma columna difieren entre sí según prueba de Duncan para $p < 0,05$. * ANOVA significativo para $p < 0,05$

Este resultado podría ser explicado teniendo en cuenta los contenidos de nutrientes aportados por la cáscara de cacao, del orden de 0,7 a 1 % de nitrógeno y de 1,3 a 1,7 % de potasio (13, 32, 33), además de que sus contenidos de materia orgánica y porosidad (32) incrementan la retención de la humedad, la actividad biológica y mejoran las características físico-químicas del suelo (13, 32, 33).

El empleo de un sistema de abonado orgánico que tenga en cuenta el uso del humus de lombriz, permite también asegurar condiciones favorables para la germinación y posterior crecimiento de las plantas, ya que la adición del humus de lombriz a los suelos y a los sustratos, incrementa considerablemente el crecimiento y la productividad de una gran cantidad de cultivos, mediante la mejora significativa en las propiedades físicas, químicas y biológicas de los mismos (26, 34).

En relación con el uso de la cáscara de cacao descompuesta, los resultados obtenidos corroboran su equivalencia con el humus de lombriz para conformar los sustratos y es también una práctica recomendada para los productores de cacao (1). En el caso de Baracoa, es factible el empleo de la cáscara de cacao descompuesta como abono, pues representa el 40 % de la materia orgánica que se produce en el municipio y con la misma se logran posturas de calidad. No obstante, puede ser importante estudiar, en trabajos posteriores, la utilización de estiércol para acelerar la velocidad de descomposición de la cáscara de cacao (35) o de realizar la producción de humus de lombriz a base de este material y poder manejar más eficientemente los altos volúmenes de este residuo que se generan, a partir de que la cáscara es alrededor del 70 % del fruto cosechado (32, 36).

En relación con la cáscara de coco, aunque en Guantánamo se ubica el 80 % de la producción de coco del país y la cáscara es un residuo abundante ya que constituye, aproximadamente, el 55 % de la masa del fruto (11); sin embargo, es un material de difícil descomposición por los contenidos altos de lignina y celulosa (11, 25), lo que pudo haber influido en el poco crecimiento y baja calidad de las posturas de cacao obtenidas a partir de la misma, respecto a los sustratos elaborados a partir de



CC1: cáscara de cacao; HL: humus de lombriz. 3:1 Suelo/AO, relación recomendada por Instructivo Técnico del Cultivo de Cacao (1). INCAM-4: *Glomus cubense* e INCAM-11: *Rhizoglyphus irregularis*. Medias con letras diferentes en cada año difieren entre sí, según prueba de Duncan para $p < 0,05$. Es \bar{x} : 57,07* en 2018 y 53,88* en 2019

Figura 2. Efecto de la inoculación con cepas de HMA y diferentes sustratos en el área foliar de posturas de cacao obtenidas por microinjerto, durante los años 2018-2019

humus de lombriz o con cáscara de cacao. Por lo que, a pesar de su abundancia, no debe utilizarse como material semidescompuesto para garantizar el suministro de nutrientes en la producción de posturas de cacao. Sin embargo, su compostaje previo parece mejorar, significativamente, sus características como abono orgánico (25) y puede ser una de las soluciones para procesar la alta cantidad de residuos existentes (11).

El microinjerto respondió positivamente a la inoculación de cualquiera de las dos cepas de HMA utilizadas, incrementando los beneficios alcanzados en el primer experimento, ya que no solo se puede disminuir la cantidad de abono orgánico en el sustrato, sino que las posturas presentan un mejor crecimiento en todos los índices evaluados.

La información más detallada en Cuba sobre el uso de los HMA en viveros de plantas perennes lo constituyen los trabajos con cafeto (17), desarrollados en los macizos Sierra Maestra y Guamuhaya, sobre un grupo de suelos de muy variadas condiciones de fertilidad (Alfíticos, Fersialfíticos y Pardos). Uno de los resultados más importantes fue la positiva y consistente respuesta

Tabla 4. Efecto de la inoculación de cepas de HMA en la colonización micorrízica (%) de los microinjertos de cacao. Años 2018 y 2019

Tratamientos	Colonización (%)	
	2018	2019
5:1 Suelo/CC1+ INCAM-11	38,00a	37,22 a
5:1 Suelo/HL+ INCAM-11	37,00 a	37,00 a
5:1 Suelo/CC1+ INCAM-4	34,33 a	33,00 a
5:1 Suelo/HL+ INCAM-4	33,00 a	34,00 a
3:1 Suelo/CC1 (testigo)	16,05 b	17,24 b
3:1 Suelo/HL (testigo)	18,17 b	19,14 b
Es \bar{x}	1,11*	1,15*

CC1: cáscara de cacao; HL: humus de lombriz. INCAM-4: *G. cubense* e INCAM-11: *R. irregularis*. 3:1 Suelo/AO, relación recomendada por Instructivo Técnico del Cultivo del Cacao (1). Medias con letras diferentes en la misma columna difieren entre sí según prueba de Duncan para $p < 0,05$

encontrada, lográndose en todos los suelos estudiados determinadas combinaciones de cepa de HMA y relación suelo/abono orgánico, con incrementos significativos en el crecimiento y área foliar, así como la disminución de las cantidades de abonos orgánicos necesarios a aplicar en el sustrato. En dichos trabajos, las cepas con mayor respuesta y las relaciones S/AO adecuadas para la mayor efectividad de la inoculación, variaron con el tipo de suelo. En la medida que el suelo estudiado presentó mayor fertilidad, disminuyeron las cantidades de abono orgánico necesarias en el sustrato para permitir una micorrización efectiva y viceversa.

Las especies de la familia *Glomeraceae* tienen un amplio rango de distribución funcional con predominio en ecosistemas de alta y media fertilidad, donde resultan extremadamente eficientes y competitivas. Los resultados obtenidos en Cuba, a partir de utilizar inoculantes simples de cepas "generalistas" con las especies vegetales en una amplia cantidad de cultivos y tipos de suelos (15, 37) han permitido recomendar la aplicación de INCAM-11 (*R. irregulare*) a los cultivos en suelos Pardos carbonatados, Húmicos Calcimórficos, Vérticos e incluso Ferralíticos Rojos, siempre que el $\text{pH-H}_2\text{O} \geq 7$. La aplicación de INCAM-4 (*G. cubense*) se recomienda en suelos cuyo pH se encuentra en el rango de 5,8 a 7,2, con una zona de solapamiento de la efectividad de ambas cepas entre pH 7 y 7,2. Por tanto, los resultados encontrados en estos suelos con $\text{pH-H}_2\text{O}$ 7,25, con respuestas positivas y similares a la inoculación, tanto de INCAM-11 como de INCAM-4, parecen ser consecuentes con los criterios de recomendación establecidos y permiten incluir el cacao en el grupo de cultivos que cumplen con los mismos.

Si bien para el cultivo del cacao, en los suelos Pardos de Baracoa con pH de 7,25 se pueden utilizar, indistintamente, las cepas *R. irregulare* y *G. cubense*. teniendo en cuenta la importancia de la reacción química del suelo en la efectividad de estas cepas (15), se recomienda, para la utilización efectiva de estos inoculantes en otros suelos de la región, realizar la determinación de $\text{pH-H}_2\text{O}$ y seleccionar la cepa en cuestión de acuerdo con este.

Los efectos positivos de la inoculación en los porcentajes de colonización fueron similares a los obtenidos en los indicadores de crecimiento, evidenciando que la inoculación fue efectiva; se incrementó el funcionamiento micorrízico y, en consecuencia, las plantas inoculadas presentaron mejores índices de crecimiento, lo cual ha sido observado en diferentes cultivos al aplicar estos inoculantes micorrízicos (16, 17, 38, 39). Los porcentajes de colonización obtenidos en los tratamientos inoculados fueron similares a los encontrados al aplicar inoculantes micorrízicos en viveros de cacao desarrollados en otras condiciones experimentales (19, 40), en los cuales las plantas inoculadas presentaron a los 120 días valores hasta 40 % de colonización, mientras los testigos fueron del orden de 14 %. Si bien la colonización micorrízica en los tratamientos no inoculados, permite establecer la presencia de cepas residentes en el suelo natural, tanto el crecimiento, como los porcentajes de colonización, fueron

muy inferiores en comparación a cuando las plantas se inoculan, demostrando la efectividad de la inoculación en el cacao en estas condiciones.

CONCLUSIONES

La inoculación del microinjerto de cacao con las cepas de HMA *R. irregulare* o *G. cubense* es efectiva en sustratos de cáscara de cacao o humus de lombriz, con relación S/AO (5:1) en suelo Pardo mullido carbonatado, presentando mejores indicadores en tamaño y área foliar de las posturas y disminución del 44 % de las cantidades de abonos orgánicos, en relación con la recomendación del Instructivo Técnico para el Cultivo del Cacao de utilizar una relación S/AO de 3/1.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cuba. MINAG. Instrucciones Técnicas para el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.). La Habana, Cuba: Grupo Agroforestal, Instituto de Investigaciones Agroforestales y la Estación Experimental Agroforestal de Baracoa; 2019. 92 p. ISBN 978-959-7215-12-7.
2. Márquez J, Aguirre MB. Manual técnico de manejo agrotécnico de las plantaciones de cacao. 1st ed. La Habana, Cuba: Ministerio de la Agricultura; 2008. 64 p. ISBN 978-959-7194-19-4.
3. González-Serrano CH. Aplicación de Micorrizas y un Mycobacter en viveros de cacao (*Theobroma cacao* L). [Tesis presentada para el título de Ingeniero Agrónomo]. [México]: Universidad Técnica de Machala; 2014. [cited 2021 March 15] 50p. Available from: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/933>
4. Lesueur D, Deaker R, Herrmann L, Brau L, Jansa J. The Production and Potential of Biofertilizers to Improve Crop Yields. In: Arora N.K. et al. editors. Bioformulations: for Sustainable Agriculture. Springer India; 2016. p. 71-92. doi: [10.1007/978-81-322-2779-3_4](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2779-3_4). ISBN 978-81-322-2779-9.
5. Le Mire G, Nguyen ML, Fassotte B, du Jardin P, Verheggen F, Delaplace P, et al. Review: Implementing Plant Biostimulants and Biocontrol Strategies in the Agroecological Management of Cultivated Ecosystems. Biotechnology Agronomy Society and Environment. 2016; 20(51):299-313. ISSN 1370-6233.
6. Mahanty T, Bhattacharjee S, Goswami M, Bhattacharyya P, Das B, Ghosh A, et al. Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. Environmental Science and Pollution Research. 2017; 24(4): 3315-35. ISSN: 0944-1344.
7. Igiehon NO, Babalola OO. Biofertilizers and sustainable agriculture: exploring arbuscular mycorrhizal fungi. Applied Microbiology and Biotechnology. 2017; 101(12):4871-81. ISSN 0175-7598.
8. Rillig MC, Aguilar-Trigueros CA, Camenzind T, Cavagnaro RT, Degruene F, Hohmann P, et al. Why farmers should manage the arbuscular mycorrhizal symbiosis. New Phytologist. 2019; 222(3): 1171-5. doi: [10.1111/nph.15602](https://doi.org/10.1111/nph.15602). ISSN: 1469-8137.

9. Schütz L, Gattinger A, Meier M, Müller A, Boller T, Mäder P, et al.. Improving Crop Yield and Nutrient Use Efficiency via Biofertilization-A Global Meta-analysis. *Frontiers in Plant Science*. 2018; 8: article 2204. doi: [10.3389/fpls.2017.02204](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02204). ISSN 1664-462X
10. Arora NK, Mehnaz S, Balestrini R. *Bioformulations: for Sustainable Agriculture*. Springer (India). 2016, 299 p. doi: [10.1007/978-81-322-2779-3](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2779-3). ISBN 978-81-322-2777-9
11. Alvarado K, Blanco A, de la Noval B, Martín G. Propagación en vivero de *Cocos nucifera* L. Caso de estudio: Baracoa. *Cultivos Tropicales*. 2018; 39(4): 92-101. ISSN 1819-4087.
12. Simó JE, Ruiz L, Rivera R. Inoculación de hongos micorrizógenos arbusculares y relación suelo Pardo-abonos orgánicos en la aclimatización de vitroplantas de banano. *Cultivos Tropicales*. 2017; 38 (3):102-11. ISSN 1819-4087.
13. Trujillo, V. Uso de la cáscara de la mazorca de cacao como alternativa de sustrato para la germinación de semillas de hortalizas. [Tesis presentada para el título de Ingeniero Agropecuario]. [Ecuador] : Universidad de las Fuerzas Armadas Innovación para la Excelencia ; 2017 [cited 2021 March 10] 58p. Available from: <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/14520>.
14. Ortiz-Valbuena, KL, Álvarez-León R. Efecto del vertimiento de subproductos del beneficio de cacao (*Theobroma cacao* L.) sobre algunas propiedades químicas y biológicas en los suelos de una finca cacaotera, municipio de Yaguará (Huila, Colombia). *Boletín Científico Museo Historia Natural Universidad de Caldas*. 2015; 19 (1): 65-84. doi: [10.17151/bccm.2015.19.1.5](https://doi.org/10.17151/bccm.2015.19.1.5). ISSN 0123-3068.
15. Rivera R, Fernández F, Ruiz L, González PJ, Rodríguez Y, Pérez E, et al. Manejo, integración y beneficios del biofertilizante micorrízico EcoMic® en la producción agrícola. 1 st ed. Mayabeque, Cuba. Ediciones INCA; 2020.155 p. ISBN 978-959-7258-05-6.
16. Rivera R, Martín GM, Simó JE, Pentón G, García-Rubido M, Ramírez J et al. Benefits of joint management of green manure and mycorrhizal inoculants in crop production. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 2020; 23 (97):215-222. ISSN-L: 1870-0462.
17. Rivera R, Fernández F, Sánchez C, Fernández K, Joao JP. Manejo de las asociaciones micorrízicas en la producción de posturas de cafeto. In: Rivera R, Soto F, editors. "El cultivo del cafeto en Cuba. Investigaciones y perspectivas". Ediciones INCA; 2006. p. 349-80. doi: [10.13140/2.1.4697.5042349-380](https://doi.org/10.13140/2.1.4697.5042349-380). ISBN: 959-7023-38-5.
18. Fundora LR, Rivera R, Martín JV, Calderón A, Torres A. Utilización de cepas eficientes de hongos micorrízicos arbusculares en el desarrollo de portainjertos de aguacate en un sustrato suelo-cachaza. *Cultivos Tropicales*. 2011; 32 (2):23-9. ISSN 1819-4087.
19. Leblanc HA, Márquez E. Efecto de los hongos formadores de micorrizas arbusculares en el desarrollo de plantas de cacao en vivero. *Tierra Tropical*, 2014; 10 (2):191-200. ISSN 1659-2751
20. Latacela W, Colina E, Castro C, Santana D, León JGarcía G, et al. Efectos de la fertilización nitrogenada y fosfatada sobre poblaciones de micorrizas asociadas al cultivo de cacao. *European Scientific Journal*. 2017; 13 (6):464-79. doi: [10.19044/esj.2017.v13n6p464](https://doi.org/10.19044/esj.2017.v13n6p464). ISSN: 1857-7881.
21. Tuesta-Pinedo A, Trigozo-Bartra E, Cayotopa-Torres J, Arévalo-Gardini E, Arévalo-Hernández C, Zúñiga-Cernadez L et al. Optimización de la fertilización orgánica e inorgánica del cacao (*Theobroma Cacao* L.) con la inclusión de *Trichoderma* endófito y Micorrizas arbusculares.I. *Tecnología en Marcha*. 2017; 30 (1): 67-78. doi: [10.18845/tm.v30i1.3086](https://doi.org/10.18845/tm.v30i1.3086). ISSN 2215-3241.
22. Bustamante CA, Rojas M. Efecto de cepas de micorrizas y la riqueza del sustrato en el crecimiento de posturas de *Theobroma cacao* L y los índices de utilización de nutrientes. *Café y Cacao*. 2017; 16 (1): 22-34. ISSN 1680-7685.
23. Hernández A, Pérez, JM, Bosch D, Castro N. Clasificación de los suelos de Cuba Ediciones INCA, Mayabeque, Cuba; 2015. 93 p. ISBN 978-959-7023-77-7.
24. MINAG. Lista oficial de variedades comerciales. Dirección de semillas y recursos fitogenéticos. Registro de variedades comerciales. La Habana, Cuba; 2017. 43p.
25. Alemán C.M. Aprovechamiento de residuos de coco y almendra de la empresa aceitera "Veggi Spirit" para la elaboración de compost. [Tesis presentada para el título de Ingeniero Ambiental], [Peru] Universidad Cesar Vallejo; 2016. [cited 2021 October 3] 69 p. Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/867>
26. Martínez F, Calero B., Nogales R, Rovesti L. *Lombricultura. Manual Práctico*. Editorial Publicaciones Graficas del MINREX, Cuba. 2003. [cited 2021 May 3] 95 p. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/317249017>.
27. Rodríguez Y, Dalpé Y, Séguin S, Fernández K, Rivera R. 2011. *Glomus cubense sp. nov.*, an arbuscular mycorrhizal fungus from Cuba. *Mycotaxon*. 2017; 118:337-47. [http://dx.doi.org/10.5248/118.337](https://doi.org/10.5248/118.337). ISSN 2154-8889
28. Sieverding E, Alves da Silva G, Berndt R, Oehl F. *Rhizoglomus*, a new genus of the *Glomeraceae*. *Mycotaxon*. 2014; 129 (2): 373- 86. ISSN 2154-8889
29. Navarro D, Bustamante C, Grave de Peralta G. Método de estimación del área foliar en posturas de *Theobroma cacao*, Lin a partir de las medidas lineales de las hojas *Café y Cacao*. 1998; 1(11): 46-56. ISSN 1680-7685.
30. Rodríguez YY, Arias L, Medina A, Mujica Y, Medina LR, Fernández K. Alternativa de la técnica de tinción para determinar la colonización micorrízica. *Cultivos Tropicales*. 2015; 36 (2):18-21. ISSN 1819-4087.
31. Giovannetti M, Mosse B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*. 1980; 84(3):489-500. doi: [10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x). ISSN 1469-8137.
32. Castillo E, Álvarez C, Contreras Y. Caracterización físico química de la cáscara del fruto de un clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) cosechados en Caucagua, estado Miranda Venezuela. Universidad Pedagógica

- Experimental Libertador. Revista de Investigación. 2018; 42 (95): 154-75. ISSN 0798-0329.
33. Falcón E, Cobas M, Bonilla M, Rodríguez O, Romero CV. Influencia del sustrato en la calidad de la planta *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq. cultivada en contenedores. *Revista Cubana de Ciencias Forestales*. 2019; 7(3): 283-96. ISSN 2310-3469.
34. Broz AP, Verma PO, Appel C. Nitrogen dynamics of vermicompost use in sustainable agriculture. *Journal of Soil Science and Environmental Management*. 2016; 7(11):173-83. doi: [10.5897/JSSEM2016.0587](https://doi.org/10.5897/JSSEM2016.0587). ISSN: 2141-2391.
35. Ortiz MI. Determinación de la influencia de la aplicación de diferentes de dosis estiércol de ganado vacuno en la producción de compost a partir de cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.). [Tesis presentada para el título de Ingeniero Ambiental], [Perú]: Universidad Nacional de San Martín ; 2015. [cited 2021 april 20] 93 p. Available from: <http://hdl.handle.net/11458/382>
36. Martínez JD, Villamizar RA, Ortiz OO. Caracterización y evaluación de la cáscara de mazorca de cacao (*Theobroma cacao* L.) como fuente de energía renovable. *Agrociencia*. 2015; 49: 329-45. ISSN 1405-3195.
37. Riera M, Favier A. Respuesta del cultivo de la yuca (*Manihot esculenta*, Grantz) a la aplicación de micorrizas en suelos Pardos del Valle de Guantánamo. *Contemporary Problems of Social Work. Academic Journal*. 2018; 4(2):130-7. doi: [10.17922/2412-5466-2018-4-2-130-137](https://doi.org/10.17922/2412-5466-2018-4-2-130-137). ISSN 2412-5466.
38. Espinosa A, Rivera R, Ruiz L, Espinosa E, Lago Y. Inoculación micorrízica de cultivos precedentes: vía para micorrizar eficientemente el boniato (*Ipomoea batatas* Lam.). *Cultivos Tropicales*. 2018; 39 (2): 51-8. ISSN 1819-4087.
39. Ramírez J, González PJ, Salazar X, Llanes D, Rivera R, Hernández-Jiménez A et al. Inoculación micorrízica arbuscular y reducción de la fertilización orgánica y nitrogenada en *Megathyrsus maximus* cv. Likoni. *Pastos y Forrajes*. 2017; 40 (2): 108-17. ISSN 2078-8452.
40. Pérez UA, Ramírez M, Serralde DP, Peñaranda AM, Wilches WA, Ramírez L, et al. Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) como estrategia para reducir la absorción de cadmio en plantas de cacao (*Theobroma cacao*). *Terra Latinoamericana*. 2019; 37: 121-30. doi: <https://doi.org/10.28940/tl.v37i2.479>. ISSN 0187-5779