



ORIGINAL

Efecto de inoculantes bacterianos edáficos mixtos en el desarrollo temprano de cultivares mejorados de cacao (*Theobroma cacao* L.) en un sistema agroforestal tradicional del norte de Oaxaca, México



E. Hipólito-Romero^{a,*}, M.G. Carcaño-Montiel^b, J.M. Ramos-Prado^a,
E.A. Vázquez-Cabañas^b, L. López-Reyes^b y J. Ricaño-Rodríguez^a

^a Centro de EcoAlfabetización y Diálogo de Saberes, Universidad Veracruzana, Campus USBI, Col. Emiliano Zapata, Xalapa, Veracruz, México

^b Laboratorio de Microbiología de Suelos, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ciudad Universitaria, Col. San Manuel, Puebla, Puebla, México

Recibido el 23 de marzo de 2016; aceptado el 10 de abril de 2017

Disponible en Internet el 31 de julio de 2017

PALABRAS CLAVE

Azospirillum;
Acinetobacter;
Biofertilización;
Chromobacterium;
Sistemas
agroforestales
tradicionales;
Theobroma cacao

Resumen El cacao (*Theobroma cacao* L.) es nativo de América del Sur y representa uno de los recursos «bioculturales» más significativos de Mesoamérica, ya que es una región donde se domesticó y tuvo relevancia como bebida ritual y como moneda en muchas culturas prehispánicas hasta la llegada de los españoles, quienes difundieron su uso en el mundo y lo convirtieron en una de las mercancías «commodity» más consumidas. Mediante este trabajo se propone una alternativa para atender la problemática de las plantaciones a través de la introducción de una diversidad amplia de cultivares de cacao en sistemas agroforestales tradicionales, en sinergia con la inoculación de bacterias edáficas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fósforo insoluble. En una parcela agroforestal tradicional se introdujeron plantas de cacao injertadas de cuatro cultivares y se dispusieron 3 tratamientos: aplicación de biofertilizante, aplicación de fertilizante químico y testigo. Se registraron la altura, el diámetro basal, el número de hojas y el número de ramas a los 2 y 12 meses, y se caracterizó la población de microorganismos asociada alrededor del tallo bajo la copa de las plantas. Los resultados de crecimiento muestran un buen potencial para los 4 cultivares estudiados y se observó que la biofertilización generó efectos significativos en algunos de los indicadores de crecimiento de las plantas de cacao. Así, las asociaciones vegetales en un sistema agroforestal podrían ser favorables para potenciar el desarrollo de frutos y resistencia a plagas y enfermedades.

© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ehipolito@uv.mx (E. Hipólito-Romero).

KEYWORDS

Azospirillum;
Acinetobacter;
 Biofertilization;
Chromobacterium;
 Traditional
 agroforestry system;
Theobroma cacao

Effect of mixed edaphic bacterial inoculants in the early development of improved cocoa cultivars (*Theobroma cacao* L.) in a traditional agroforestry system of Oaxaca, Mexico

Abstract Cocoa plant (*Theobroma cacao* L.) is native from South America and it represents one of the most significant "bio-cultural" resources of Mesoamerica, since it is a region where it was domesticated and had a relevance as ritual drink and as currency in many pre-hispanic cultures until the arrival of the Spaniards who spread its use worldwide, and became it one of the most consumed commodity goods. Through this research, an alternative is proposed to address the problem of cultivars through the introduction of a wide variety of cocoa plants in traditional agroforestry systems, in synergy with the inoculation of nitrogen-fixing and insoluble phosphor solubilizing edaphic bacterial consortia. Four cultivars of improved grafted cocoa plants were introduced in a traditional agroforestry plot and three fertilization treatments were applied: application of biofertilizer, application of chemical fertilizer and control. Measurements of height, stem diameter, number of leaves and branches were recorded at 2 and 12 months after planting and rhizosphere microbial populations were characterized. Growth results showed good potential for all studied cultivars and it was observed that biofertilization foresees significant effects in some of the growth indicators of cocoa plant. Thereby, plant associations in an agroforestry system could be favorable to promote fruit development and resistance to pests and diseases.

© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

El cacao (*Theobroma cacao*), arbusto nativo de Centroamérica y Sudamérica, y domesticado en Mesoamérica⁴¹, es considerado uno de los cultivos perennes bajo sombra más importantes del planeta, ya que representa la principal fuente de ingresos de millones de personas en las zonas productoras localizadas en África, Asia y Centro y Sudamérica. Actualmente, el consumo en México rebasa la capacidad de producción local, la cual ha ido disminuyendo por problemas agroecológicos y de rendimientos económicos de las plantaciones intensivas. En los últimos años, la superficie de su cultivo en México ha disminuido en un 30%, lo cual es debido a un bajo rendimiento, una mala calidad del producto y, por consiguiente, un bajo precio de venta². Las principales causas son las condiciones inadecuadas de manejo (falta de podas y sombra excesiva), lo que provoca, a su vez, enfermedades fúngicas (e.g., moniliasis) y poca productividad de frutos⁵.

Los agroecosistemas tradicionales (sistemas agroforestales) de algunas de las regiones bajas y húmedas de Mesoamérica, como Tabasco y Chiapas, presentan una gran diversidad genética de cacaos criollos y mejorados. Otras regiones con similares condiciones agroclimáticas representan un gran potencial para el desarrollo de este cultivo, en particular al usar enfoques agroforestales tradicionales y modernos, capaces de mejorar las condiciones de manejo, el rendimiento, la calidad y el precio del producto⁴¹. En estas condiciones, la diversificación y el proceso de establecimiento de los cultivares criollos y mejorados de cacao se consideran de mayor vulnerabilidad, ya que las plantas jóvenes deben desarrollar una estructura de sostén y de absorción de agua y nutrientes, así como un sistema fotosintético

que les permitan crecer y producir frutos en un ambiente cambiante, en el cual están interactuando factores bióticos y abióticos²⁷.

En particular, las características del hábitat en los sistemas agroforestales tradicionales son muy dinámicas al integrarse el efecto cultural del manejo humano con los ambientales. El componente arbóreo es el más determinante debido a su efecto en las condiciones de luz, temperatura, humedad, nutrientes y microorganismos del suelo; los períodos de sequía y de lluvias, y las interacciones con otros organismos (bacterias, hongos, plantas y animales), por ello, las especies arbóreas son consideradas como especies nodrizas^{7,17}. Sin embargo, cuando la cobertura del dosel es excesiva, se limita la disponibilidad de luz y se promueven las condiciones para el desarrollo de organismos fitopatógenos.

En el caso del cacao, además de manejar la sombra, el tamaño, la forma de la copa, así como la fertilización y el control de plagas y enfermedades, se han desarrollado también cultivares mejorados (clones) que, mediante injertos, pueden elevar significativamente la producción, así como tener más resistencia a eventos climáticos extremos y antagonistas. A pesar de conocerse la sinergia potencial que implica la aplicación de biofertilizantes en muchos agroecosistemas (como ocurre con la inoculación de consorcios bacterianos benéficos), el cultivo de cacao en México no se ha beneficiado aún con dicha práctica.

La biofertilización, junto con el control integral de plagas y enfermedades del cacao, es un campo poco explorado en América Latina, lo cual limita el desarrollo de productos «ecológicos» que exploren los mercados orgánicos emergentes.

Además, el cultivo de cacao en sistemas agroforestales tradicionales mantiene una resiliencia ecológica y social debido al equilibrio que se mantiene entre los componentes microbióticos del suelo y los relacionados con el crecimiento de la estructura aérea del agroecosistema⁴. Así, los biofertilizantes de naturaleza bacteriana (que incluyen bacterias como *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Acinetobacter* o *Chromobacterium*), al ser capaces de producir metabolitos secundarios elicitors (e.g., compuestos indólicos y queladores), representan una herramienta biotecnológica sistémica^{13,40}. Igualmente, las bacterias promotoras de crecimiento vegetal suelen ser capaces de fijar nitrógeno y solubilizar fósforo insoluble, y resultan ser una alternativa económicamente viable y fácil de manejar²⁵. Por otra parte, dicho proceso, al ser amigable con el medio ambiente, favorece la salud del consumidor a largo plazo como resultado de una reducida interacción con contaminantes tóxicos, entre los que se pueden citar compuestos nitrogenados heterocíclicos como el benzonitrilo y bromoxynil²⁹.

Es importante mencionar que estos microorganismos son capaces de mejorar el proceso de nutrición de las plantas, su vigor y resistencia sistémica a diversas plagas y enfermedades³, dada su interacción con el metabolismo del organismo hospedador y la consiguiente detección de patrones moleculares asociados al patógeno, liberación de proteínas de resistencia y activación de su inmunidad inducida²⁰.

A la luz de las consideraciones anteriores, el presente trabajo tuvo como objetivo principal atender a la problemática de plantaciones de cacao mediante la introducción de una amplia diversidad de cultivares mejorados en un sistema agroforestal tradicional, en sinergia con la inoculación de consorcios bacterianos edáficos mixtos.

Materiales y métodos

Zona de estudio

El estudio se realizó en la comunidad de Cerro Camarón, Municipio de San Pedro Ixcatlán, al norte del estado de Oaxaca (18°08'41'' latitud norte y 96°30'36'' longitud oeste; a una altura de 310 m.s.n.m.), en la cuenca del río Papaloapan, México. El municipio cuenta con una extensión territorial de 109 km², que representan el 0,11% de la superficie total del estado. El clima predominante es cálido húmedo, con una temperatura media anual de 26° c y una precipitación promedio anual de 2.350 mm³³.

Diseño experimental

El diseño experimental se desarrolló en una parcela agroforestal tradicional, configurada por especies arbóreas maderables y frutales en el dosel superior; el dosel inferior consiste de variedades criollas de cacao, plátano, palma camedora, café y vainilla. Se estableció un diseño de bloques al azar con 9 repeticiones (especímenes) por tratamiento y bloque; los tratamientos se aplicaron de forma aleatoria en cada bloque. Se plantaron 4 cultivares injertados de cacao mejorado; las plantas fueron proporcionadas en bolsas de 20 × 30 cm por el Plan Cacao Nestlé de México:

Inifap 1, Inifap 9, Inifap 8 y cacao criollo. Todas las plantas presentaban un tamaño y edad muy similares: 50-70 cm de altura y 12-15 meses de injertadas; adicionalmente, se plantó una variedad criolla, a la que denominará «local».

La plantación se estableció en una disposición de tresbolillo (3 × 3 m, los especímenes ocupan en el terreno cada uno de los vértices de un triángulo equilátero). Se aplicaron 3 tratamientos distintos: a) biofertilización (consorcio bacteriano); b) testigo (agua), y c) fertilización química (N-P-K:20-30-10). Las variables de respuesta fueron algunos parámetros morfológicos de crecimiento de las plantas de cacao: altura, diámetro basal, número de hojas y número de ramas secundarias; también se determinaron las características fisicoquímicas y microbiológicas del suelo.

Análisis estadístico

Con los datos obtenidos, se llevó a cabo el análisis de varianza y la comparación de medias según Tukey ($\alpha = 0,05$) para el caso de los resultados que mostraron efectos significativos. Así, se analizaron los datos obtenidos utilizando el software STAT 2¹⁸.

Inoculantes bacterianos

El «consorcio bacteriano» estuvo constituido por cepas estandarizadas fijadoras de nitrógeno (*Azospirillum brasilense* UAP-151 y UAP-154) y por 2 cepas solubilizadoras de fósforo: *Chromobacterium violaceum* (BUAP 35) y *Acinetobacter calcoaceticus* (BUAP 40) (cepario del Laboratorio de Microbiología de Suelos del Centro de Investigación en Ciencias Microbiológicas del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México [ICUAP]).

La aplicación del tratamiento de biofertilización consistió en inocular en el suelo 200 ml de suspensión del consorcio bacteriano (3×10^8 UFC/g de *A. brasilense* y $1,7 \times 10^9$ UFC/g de *C. violaceum* y *A. calcoaceticus*) en 2 ocasiones: a) antes de la plantación y en las bolsas, y b) a los 4 meses de realizada la plantación (cuando ya estaban establecidas las plantas y comenzaba la competencia con las poblaciones bacterianas nativas del suelo), colocándolo alrededor de la planta, a unos 10-20 cm del tronco.

Fertilización química

La aplicación de fertilización química (N-P-K:20-30-10) se llevó a cabo solo al momento de la plantación (50 g/planta, distribuidos alrededor del tallo, a 10-20 cm).

Tratamiento testigo

Se aplicaron 200 ml de agua estéril, sin fertilizante, a cada planta seleccionada con este tratamiento.

Evaluación de variables físicas y químicas del suelo

Se midieron el pH, la conductividad eléctrica, la textura, la materia orgánica (MO) y la cantidad de nitrógeno y fósforo en el suelo a partir de 45 muestras compuestas tomadas alrededor del tallo, bajo la copa de las plantas de cacao,

Tabla 1 Análisis fisicoquímico del suelo asociado a plantas de cacao en 3 tratamientos de fertilización a los 2 y 12 meses posteriores a la plantación

Tratamiento	CE (mmho/cm ²)	Textura	pH	MO%	N%	P (mg/kg)
			A-B	A-B	A-B	A-B
B	0,11	Arcillosa	4,56-4,96	4,66-7,10	0,24-0,74	33,5-3,35
T	0,07	Arcillosa	4,64-5,13	5,14-4,69	0,28-0,53	11,0-2,60
Q	0,14	Arcillosa	5,50-5,12	5,57-4,69	0,35-0,45	65,0-12,25

Muestras compuestas de suelo para todos los cultivares mejorados y la variedad local de cacao.

Tratamientos: consorcio bacteriano (biofertilización) = B; testigo = T; fertilización química = Q.

CE: conductividad eléctrica; MO%: porcentaje de materia orgánica; A: 2 meses posteriores a la plantación; B: 12 meses posteriores a la plantación.

a unos 15 cm de distancia de la base y a los 2 meses de la plantación, según lo establecen las metodologías de la Norma Oficial Mexicana (NOM- 021-SEMARNAT-2000)³³.

Evaluación microbiológica alrededor del tallo de las plantas de cacao en campo

La población de microorganismos se determinó en 45 muestras compuestas tomadas alrededor del tallo, bajo la copa de las plantas de cacao, al nivel de las raíces, a los 2 y 12 meses después de la plantación en campo.

Se realizaron diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-6} y se sembraron en medio agar Goldstein® (Sigma-Aldrich) para la determinación de bacterias solubilizadoras de fósforo (BSF); agar de soya y tripticasa para bacterias mesófilas aerobias totales; así como agar NFB (*nitrogen fixing bacteria*) semisólido para microorganismos fijadores de nitrógeno. Las placas de agar y viales de NFB se incubaron a 30° C durante 48-72 h^{21,35}.

Se contaron las colonias presentes en las placas de agar y en viales, para el caso de bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN) se utilizó el método del número más probable, y en el caso de los medios semisólidos, el conteo se realizó obteniendo el número de UFC tomando el registro por triplicado y utilizando el promedio de estas como cuenta final.

Evaluación de variables morfológicas

La evaluación de los indicadores de crecimiento se realizó en 2 ocasiones, midiendo la altura de las plantas al ápice (cm), el diámetro basal del tallo (DBT) (cm), el número de hojas y el número de ramas secundarias (el número de ramas primarias se mantiene entre 4 y 5 por podas de formación), a los 2 y 12 meses después de la plantación.

Resultados

VARIABLES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL SUELO

En la [tabla 1](#) se muestran los resultados de la evaluación fisicoquímica del suelo, a los 2 y 12 meses de plantación. Puede apreciarse que el promedio de la conductividad eléctrica de los 3 tratamientos da cuenta de un efecto de salinidad baja para todos los casos; la textura es arcillosa y hubo un ligero aumento de los valores promedio de

pH en todos los tratamientos (4,90-5,01), observándose que los valores más altos corresponden al tratamiento de fertilización química (5,50 y 5,12).

En relación con el porcentaje de MO, se observan valores bajos a medios en todos los tratamientos a los 2 meses de la plantación; sin embargo, 12 meses después de la plantación, el suelo en los tratamientos de biofertilización pasó de un valor bajo a un valor medio (del 4,66 al 7,10%), mientras que la cantidad de MO con el fertilizante químico y en el testigo disminuyeron entre los 2 y los 12 meses.

El contenido de nitrógeno promedio total de los 3 tratamientos aumentó considerablemente de los 2 a los 12 meses posteriores a la plantación (en promedio, del 0,29 al 0,57%), observándose que los valores más altos correspondieron al tratamiento de biofertilización (0,74%), seguido del testigo (0,53%). La cantidad de fósforo extractable disminuyó considerablemente en los 3 tratamientos entre los 2 los 12 meses, observándose que los valores finales más bajos correspondieron al tratamiento testigo, seguido por el de biofertilización.

Efectos sobre el desarrollo en altura

En promedio, a los 2 meses de la plantación, el cultivar Inifap 8 respondió mejor al tratamiento de biofertilización (95,95 cm), superando con diferencias estadísticamente significativas al tratamiento testigo (74,45 cm) y a la fertilización química (69,00 cm). La variedad local en el tratamiento testigo (45,66 cm) superó en altura al tratamiento químico (29,29 cm) y a la biofertilización (23,16 cm), mientras que los cultivares Inifap 1, Inifap 9 y cacao criollo no mostraron diferencias entre tratamientos ([tabla 2A](#)).

A los 12 meses se observó que la altura de la mayoría de los cultivares era mayor en el tratamiento de biofertilización, seguido por el testigo, y los valores más bajos se encontraron en la fertilización química. Al comparar entre cultivares, se advirtió que el tratamiento de biofertilización mostró mayores efectos positivos en Inifap 8 (138,38 cm), Inifap 9 (127,33 cm) y cacao criollo (117,46 cm), en comparación con los cultivares Inifap 1 (106,71 cm) y con la variedad local (80,94 cm) ([tabla 2B](#)).

En el tratamiento testigo, el cultivar Inifap 9 superó significativamente en altura (110,49 cm) a los cultivares Inifap 8 (94,34 cm), Inifap 1 (87,78 cm), cacao criollo (80,17 cm) y a la variedad local (77,29 cm). En el tratamiento químico se encontró mayor altura en el cultivar Inifap 8 (92,38 cm) e Inifap 9 (80,76 cm), estas diferencias fueron significativas al

Tabla 2 Valores promedio de altura (cm), diámetro basal (cm), número de ramas y número de hojas, a los 2 y 12 meses de la plantación en 4 cultivares mejorados de cacao y una variedad local en la parcela experimental de Cerro Camarón, Oaxaca

A) Altura 2 meses				E) Número de ramas 2 meses			
Cultivar/tratamiento	B	T	Q	Cultivar/Tratamiento	B	T	Q
Inifap 1	^b 60,77 ± 15,15 ^a	^a 70,25 ± 11,86 ^a	^a 70,48 ± 12,05 ^a	Inifap 1	^a 7,0 ± 1,79 ^a	^a 6,0 ± 1,62 ^a	^a 4,0 ± 1,08 ^b
Inifap 8	^a 95,95 ± 16,97 ^a	^a 74,45 ± 11,70 ^b	^a 69,00 ± 11,10 ^b	Inifap 8	^a 7,0 ± 1,82 ^a	^b 3,0 ± 1,71 ^b	^a 4,0 ± 1,31 ^b
Inifap 9	^a 86,91 ± 17,31 ^a	^a 81,87 ± 13,99 ^a	^a 77,39 ± 15,19 ^a	Inifap 9	^a 5,0 ± 2,47 ^a	^a 5,0 ± 1,48 ^a	^a 3,0 ± 1,43 ^b
Cacao criollo	^b 54,33 ± 15,28 ^a	^b 53,75 ± 8,41 ^a	^b 43,70 ± 9,58 ^a	Cacao criollo	^b 3,0 ± 1,31 ^{ab}	^b 2,0 ± 0,75 ^b	^a 4,0 ± 1,85 ^a
Local	^c 23,16 ± 8,65 ^b	^b 45,66 ± 4,65 ^a	^c 29,29 ± 8,60 ^b	Local	^b 2,0 ± 0,67 ^a	^c 1,0 ± 0,39 ^{ab}	^b 1,0 ± 0,94 ^b
B) Altura 12 meses				F) Número de ramas 12 meses			
Cultivar/tratamiento	B	T	Q	Cultivar/Tratamiento	B	T	Q
Inifap 1	^b 106,71 ± 22,84 ^a	^{bc} 87,78 ± 11,85 ^b	^c 63,02 ± 16,28 ^c	Inifap 1	^{bc} 7,0 ± 2,91 ^a	^{ab} 7,0 ± 2,67 ^a	^{ab} 5,0 ± 1,38 ^a
Inifap 8	^a 138,38 ± 26,14 ^a	^b 94,34 ± 12,93 ^b	^a 92,38 ± 8,60 ^b	Inifap 8	^{ab} 12,0 ± 6,8 ^a	^a 7,0 ± 3,69 ^{ab}	^a 6,0 ± 2,15 ^b
Inifap 9	^{ab} 127,33 ± 23,10 ^a	^a 110,49 ± 21,69 ^a	^{ab} 80,76 ± 21,98 ^b	Inifap 9	^a 13,0 ± 4,69 ^a	^{ab} 5,0 ± 1,90 ^b	^c 3,0 ± 1,73 ^b
Cacao criollo	^{ab} 117,46 ± 28,58 ^a	^c 80,17 ± 12,83 ^b	^{bc} 68,54 ± 19,21 ^b	Cacao criollo	^c 6,0 ± 3,16 ^a	^b 4,0 ± 1,71 ^b	^{bc} 3,0 ± 2,23 ^b
Local	^c 80,94 ± 16,94 ^a	^c 77,29 ± 15,14 ^a	^c 54,67 ± 15,49 ^b	Local	^d 1,0 ± 0,69 ^a	^c 1,0 ± 0,62 ^a	^d 1,0 ± 0,82 ^a
C) Diámetro basal 2 meses				G) Número de hojas 2 meses			
Cultivar/tratamiento	B	T	Q	Cultivar/Tratamiento	B	T	Q
Inifap 1	^{ab} 0,95 ± 0,23 ^a	^a 0,95 ± 0,16 ^a	^a b0,85 ± 0,13 ^a	Inifap 1	^a 25,0 ± 7,48 ^a	^a 21,0 ± 5,48 ^a	^a 19,0 ± 4,25 ^a
Inifap 8	^a 1,14 ± 0,16 ^a	^a 0,80 ± 0,13 ^b	^a 0,89 ± 0,12 ^b	Inifap 8	^a 34,0 ± 10,23 ^a	^a 19,0 ± 9,36 ^b	^a 19,0 ± 6,39 ^b
Inifap 9	^a 1,15 ± 0,23 ^a	^a 0,94 ± 0,19 ^b	^c 0,65 ± 0,14 ^c	Inifap 9	^a 33,0 ± 19,75 ^a	^a 21,0 ± 5,75 ^b	^b 10,0 ± 2,63 ^b
Cacao criollo	^b 0,86 ± 0,20 ^a	^a 0,80 ± 0,13 ^a	^{bc} 0,72 ± 0,10 ^a	Cacao criollo	^a 25,0 ± 8,19 ^a	^b 10,0 ± 2,45 ^c	^a 18,0 ± 5,95 ^b
Local	^c 0,35 ± 0,10 ^b	^b 0,55 ± 0,12 ^a	^c 0,60 ± 0,09 ^a	Local	^b 11,0 ± 2,11 ^a	^b 11,0 ± 3,39 ^a	^b 9,0 ± 2,11 ^a
D) Diámetro basal 12 meses				H) Número de hojas 12 meses			
Cultivar/tratamiento	B	T	Q	Cultivar/Tratamiento	B	T	Q
Inifap 1	^a 1,80 ± 0,28 ^a	^a 1,38 ± 0,32 ^b	^b 1,04 ± 0,18 ^c	Inifap 1	^{ab} 43,0 ± 19,72 ^a	^{ab} 32,0 ± 12,09 ^a	^b 15,0 ± 11,92 ^b
Inifap 8	^a 1,87 ± 0,38 ^a	^a 1,42 ± 0,31 ^b	^a 1,37 ± 0,18 ^b	Inifap 8	^a 65,0 ± 43,14 ^a	^{ab} 33,0 ± 15,72 ^b	^a 29,0 ± 9,58 ^b
Inifap 9	^a 2,02 ± 0,56 ^a	^a 1,29 ± 0,28 ^b	^b 0,89 ± 0,15 ^b	Inifap 9	^a 69,0 ± 38,20 ^a	^a 43,0 ± 12,61 ^b	^b 12,0 ± 5,52 ^c
Cacao criollo	^a 1,77 ± 0,54 ^a	^a 1,16 ± 0,32 ^b	^a 1,27 ± 0,35 ^b	Cacao criollo	^{ab} 58,0 ± 34,27 ^a	^b 24,0 ± 10,86 ^b	^a 26,0 ± 12,88 ^b
Local	^b 1,16 ± 0,21 ^a	^a 1,33 ± 0,31 ^a	^b 0,89 ± 0,11 ^b	Local	^b 24,0 ± 8,37 ^a	^c 11,0 ± 5,39 ^b	^b 10,0 ± 4,20 ^b

Letras del lado derecho muestran la comparación estadística entre tratamiento por variedad. Letras del lado izquierdo muestran la comparación estadística entre variedades de un mismo tratamiento. Letras iguales no muestran diferencia estadística entre tratamientos y variedades (Tukey $p \leq 0,05$).

B: consorcio bacteriano (biofertilización); T: testigo; Q: fertilización química = Q.

comparar con los cultivares Inifap 1 (63,02 cm), cacao criollo (68,54 cm) y con la variedad local (54,67 cm) (tabla 2B).

Efectos sobre el desarrollo radial del tallo

A los 2 meses, los cultivares Inifap 8 e Inifap 9 mostraron los valores más altos de DBT en el tratamiento de biofertilización, 1,14 y 1,15 cm, respectivamente. Asimismo, se encontró que la variedad local obtuvo los valores más altos en el tratamiento químico y en el testigo (0,60 y 0,55 cm, respectivamente), superando al tratamiento de biofertilización (0,35 cm). En los cultivares Inifap 1 y cacao criollo no hubo diferencias significativas (tabla 2C).

De manera similar a lo observado en relación con la altura, a los 12 meses se observó que el DBT de la mayoría de los cultivares fue mayor en el tratamiento de biofertilización, seguido por el testigo, y que los valores más bajos se hallaron con la fertilización química. Se destacaron en este sentido el Inifap 9, seguido de Inifap 8, en tanto que la variedad local tuvo los valores más bajos (tabla 2D).

Efecto sobre el desarrollo de ramas laterales

A los 2 meses, la mayoría de los cultivares presentaron un mayor número de ramas secundarias en el tratamiento de biofertilización, seguido por el testigo, en el tratamiento químico se observó un número menor, tendencia que se acentuó a los 12 meses (tabla 2E). A los 12 meses, los valores más altos los encontramos en los cultivares Inifap 9 y cacao criollo en el tratamiento de biofertilización, mientras que los más bajos los presentó la variedad local en todos los tratamientos (tabla 2F).

Efecto sobre el desarrollo del follaje

En forma similar al número de ramas, a los 2 meses la mayoría de los cultivares presentaron un mayor número de hojas en el tratamiento de biofertilización, seguido por el testigo, mientras que el número menor se observó en el tratamiento químico, tendencia que se acentuó a los 12 meses (tablas 2G y H). Los valores más altos los encontramos en Inifap 9 y cacao criollo en el tratamiento de biofertilización a los 12 meses, mientras que los más bajos correspondieron a la variedad local en todos los tratamientos (tabla 2H).

Colonización microbiana alrededor del tallo de plantas de cacao en campo

A los 2 meses, la mayor población de bacterias mesófilas se encontró en el tratamiento testigo en el cultivar cacao criollo ($1,45 \times 10^7$ UFC/g), no hubo diferencias significativas entre tratamientos, pero sí con los demás cultivares de cacao (Inifap 1, 8, 9) y con la variedad local (tabla 3). En el tratamiento de biofertilización, las mayores poblaciones de bacterias mesófilas aerobias se observaron en los cultivares cacao criollo ($1,4 \times 10^7$ UFC/g) e Inifap 9 ($1,21 \times 10^7$ UFC/g), y nuevamente no hubo diferencias significativas entre tratamientos. En este mismo tratamiento de biofertilización, los cultivares Inifap 8 y el local registraron los valores más bajos: $7,5 \times 10^6$ UFC/g y 5×10^6 UFC/g.

El mayor recuento de BSF se obtuvo en el tratamiento de biofertilización en el cultivar Inifap 9 ($1,25 \times 10^6$ UFC/g), con diferencias significativas respecto del resto de los cultivares.

En el caso de las BFN, dentro de los tratamientos testigo la mayor población se encontró en los cultivares Inifap 1 ($1,4 \times 10^3$ UFC/g), Inifap 8 ($1,1 \times 10^3$ UFC/g) y cacao criollo ($1,1 \times 10^3$ UFC/g); con la fertilización química esta se halló en los cultivares Inifap 8 e Inifap 9 ($1,1 \times 10^3$ UFC/g), y en el tratamiento de biofertilización los valores más altos se observaron en la variedad local ($1,1 \times 10^3$ UFC/g) (tabla 3).

En el muestreo realizado a los 12 meses, se detectaron en general las mayores poblaciones de bacterias mesófilas aerobias en el tratamiento testigo, seguido por el de biofertilización y en último término por el tratamiento químico. Los cultivares Inifap 9 e Inifap 1 presentaron sus valores más altos en el testigo ($1,54 \times 10^7$ UFC/g y $1,15 \times 10^7$ UFC/g) y con biofertilización ($1,18 \times 10^7$ UFC/g). Para el caso de las BSF, también se observaron los valores más altos en el tratamiento testigo, seguido por el de biofertilización, los cultivares cacao criollo e Inifap 8 superaron a los otros cultivares. Un comportamiento similar se observó en relación con las BFN: en el testigo se advirtieron los valores más altos seguidos de los que se obtuvieron en la biofertilización química, estos valores altos se asociaron a los cultivares Inifap 8 y 9 (tabla 4).

Discusión

Algunos factores importantes que contribuyen a la complejidad de la respuesta de las plantas a los efectos de diferentes tipos de fertilización y, en particular, a la inoculación en el suelo de consorcios bacterianos fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fósforo son la variedad o el cultivar utilizado, las características fisicoquímicas y microbiológicas del suelo y las interacciones, sinergias y antagonismos entre suelo, fertilizante y cultivar^{22,26}.

Aunque se usaron cultivares mejorados de cacao, que en teoría deberían responder bien en suelos forestales y también a los fertilizantes, en particular a los químicos por su rápida disponibilidad, no todos ellos respondieron como se esperaba, esto se muestra claramente en la diversidad de respuestas del suelo y de los cultivares de cacao, que sugieren interacciones fuertes entre estos.

En general, algunas características del suelo presentaron cambios significativos a los 2 meses de la plantación; sin embargo, los cambios fueron más claros a los 12 meses, cuando aumentaron las proporciones de la MO y el nitrógeno disponible en el suelo sujeto al tratamiento de biofertilizante. Esto podría deberse al efecto indirecto sobre la producción de hojas y hojarasca que, al aumentar la proporción de MO en el suelo, representa una fuente de carbono y nitrógeno accesible para los microorganismos^{14,15}. Sin embargo, esto último no se corresponde con la cantidad de BFN encontradas en el suelo a los 12 meses de la plantación, cuyo valor más alto corresponde al tratamiento testigo. Esto marca la necesidad de continuar con los ensayos en campo, probando una mayor frecuencia de aplicación de biofertilizante y un aumento también en la frecuencia de muestreos y análisis de los suelos.

Tabla 3 Recuento de poblaciones microbianas resultante de 3 tratamientos de fertilización aplicados al suelo de 4 cultivares mejorados de cacao y una variedad local, a los 2 meses posteriores a la plantación en la parcela experimental de Cerro Camarón, Oaxaca

Cultivares	Tratamiento								
	B	T	Q	B	T	Q	B	T	Q
	Bacterias mesófilas aerobias 1×10^5 UFC/g			Bacterias solubilizadoras de fósforo 1×10^4 UFC/g			Bacterias fijadoras de nitrógeno (NMP) 1×10^1 UFC/g		
Inifap 1	^b 106 ^a	^b 96 ^a	^a 110 ^a	^c 15 ^c	^a 75 ^a	^a 30 ^b	40	1.400	300
Inifap 8	^c 75 ^c	^b 86 ^a	^a 85 ^b	^{bc} 35 ^a	^a 60 ^a	^a 30 ^a	75	1.100	1.100
Inifap 9	^{ab} 121 ^a	^b 84 ^a	^a 87 ^a	^a 125 ^a	^a 65 ^b	^a 30 ^c	450	45	1.100
Cacao criollo	^a 140 ^a	^a 145 ^a	^a 100 ^a	^b 70 ^a	^b 35 ^a	^a 30 ^a	16	1.100	150
Local	^c 50 ^c	^b 75 ^b	^a 83 ^a	^{bc} 55 ^a	^a 65 ^a	^a 45 ^a	1.100	200	20

Letras del lado derecho muestran la comparación estadística entre tratamientos para los 5 cultivares de cacao. Letras del lado izquierdo muestran la comparación estadística entre variedades de un mismo tratamiento. Letras iguales no muestran diferencia estadística entre tratamientos y variedades (Tukey $p \leq 0,05$).

B: consorcio bacteriano (biofertilización); T: testigo; Q: fertilización química; NMP: número más probable; UFC: unidades formadoras de colonias.

La cantidad de fósforo hallada en el suelo a los 2 meses se ajusta a lo esperado: la mayor cantidad la encontramos en el tratamiento de fertilización química, seguido del biofertilizante, y en el testigo encontramos la menor cantidad. Sin embargo, a los 12 meses las cantidades disminuyen drásticamente en todos los tratamientos, lo que demuestra que los efectos del fertilizante químico y del biológico en el fósforo disponible en el suelo son a corto plazo. Asimismo, la aplicación del consorcio bacteriano, en las dosis y frecuencias mencionadas, no se reflejó en la cantidad de BSF obtenidas alrededor del tallo bajo la copa de las plantas de cacao, en donde el testigo presentó la mayor población bacteriana.

Si bien las poblaciones de bacterias nativas en el suelo significan una competencia, también pueden facilitar el establecimiento de los consorcios bacterianos por

inoculación, mejorando la fertilidad del suelo a través de la regulación de los ciclos biogeoquímicos e influyendo en la cinética de afluencia de nutrientes y agua³⁸, en el incremento de elementos químicos disponibles³⁴ y en la activación o inhibición de enzimas microbianas³⁸ y de procesos de degradación^{8,28}. En este contexto, las BSF cobran vital importancia en el manejo de estos suelos ácidos tropicales, dado que los fosfatos se encuentran insolubles¹¹, fijados al aluminio o al hierro, así como formando compuestos orgánicos en el humus³⁷.

Es importante mencionar que las plantas de cacao incrementaron considerablemente su tamaño, altura, DBT, número de ramas y número de hojas a los 12 meses de la plantación, y que fue el tratamiento de biofertilización el que presentó los mayores valores. En particular, el DBT

Tabla 4 Recuento de poblaciones microbianas resultante de 3 tratamientos de fertilización aplicados al suelo de 5 cultivares de cacao a los 12 meses posteriores a la plantación en la parcela experimental Cerro Camarón, Oaxaca

Cultivares	Tratamiento								
	B	T	Q	B	T	Q	B	T	Q
	Bacterias mesófilas aerobias 1×10^5 UFC/g			Bacterias fijadoras de nitrógeno (NMP) 1×10^4 UFC/g			Bacterias solubilizadoras de fósforo 1×10^1 UFC/g		
Inifap 1	^{bc} 83 ^b	^b 115 ^a	^c 64 ^c	^a 30 ^a	^a 20 ^a	^a 10 ^a	35	45	30
Inifap 8	^b 86 ^b	^b 108 ^a	^c 59 ^c	^a 50 ^a	^a 40 ^a	^a 10 ^b	75	150	45
Inifap 9	^a 118 ^b	^a 154 ^a	^{bc} 75 ^c	^a 30 ^a	^a 30 ^a	^a 10 ^a	20	45	15
Cacao criollo	^{cd} 66 ^c	^b 99 ^a	^{ab} 86 ^b	^a 10 ^a	^a 60 ^a	^a 40 ^a	20	95	4
Local	^d 60 ^c	^b 100 ^b	^a 102 ^a	^a 20 ^a	^a 20 ^a	^a 20 ^a	15	200	7

Letras del lado derecho muestran la comparación estadística entre tratamientos. Letras del lado izquierdo muestran la comparación estadística entre cultivares de un mismo tratamiento. Letras iguales no muestran diferencia estadística entre tratamientos y cultivares (Tukey $p \leq 0,05$).

B: consorcio bacteriano (biofertilización); T: testigo; Q: fertilización química; NMP: número más probable; UFC: unidades formadoras de colonias.

está relacionado con el transporte de agua y nutrientes, y refleja el tamaño y la eficiencia del sistema radicular en el suelo^{16,39}. Aunque existe una correlación entre la altura a los 2 meses de la plantación y el tratamiento de biofertilización, las diferencias entre tratamientos fueron aún mayores a los 12 meses del crecimiento en nuestras condiciones experimentales³⁰.

Otros autores han reportado los efectos favorables de la aplicación de este tipo de consorcios bacterianos en distintos cultivos vegetales. Por ejemplo, Díaz-Medina et al.⁹ utilizaron *A. chroococcum* y BSF, y observaron un efecto favorable de hasta un 33% sobre el crecimiento y el desarrollo de plántulas de café. Galindo et al.¹² observaron un incremento en la altura de plantas de *Avicennia germinans* al aplicar una mezcla de BFN (*Azotobacter vinelandii*) y solubilizadoras de fósforo (*Aquaspirillum* sp.).

De acuerdo con Acosta-Echeverría et al.¹, la respuesta de un órgano específico (yemas, ápice, tallos, raíz) es dependiente de la concentración de receptores hormonales y la efectividad de la unión receptor-hormona, por lo que dichos factores explicarían los cambios morfológicos específicos obtenidos por las distintas variedades de cacao, que mostraron el mayor incremento en alguno de sus órganos por efecto de la inoculación de bacterias benéficas²⁴.

En lo que respecta al efecto de la fertilización química en las plantas, se observó que no hubo diferencias significativas con el tratamiento testigo. La cantidad y la frecuencia de aplicación del fertilizante químico pudo haber sido limitante, aunque la interacción con el tipo de suelo (textura arcillosa, alta acidez y drenaje deficiente)^{31,32} y la cantidad de sombra también podrían haber estado implicadas. Diversos autores reportan efectos similares en estudios de campo, en los que la respuesta de los cultivos de cacao a la fertilización química no siempre es homogénea^{19,23,36}. En un estudio amplio que comprendió diez localidades del oriente colombiano, en el que se evaluaron diferentes dosis de fertilizante (la más alta fue 368 g de N/planta por año, 90 g de P₂O₅ y 600 g de K₂O), no se observaron diferencias significativas con relación con un testigo sin fertilizante¹⁰.

Se debe considerar también que el cacao es un cultivo que crece bajo sombra, lo cual indica que las variaciones de crecimiento pueden verse afectadas por las condiciones agroecológicas, en donde la exposición solar es primordial, ya que influye en otros factores microclimáticos, como la temperatura, la humedad relativa, la evaporación y la disponibilidad de agua en el suelo, además de factores que inciden en la fertilidad del suelo, como la velocidad de incorporación y descomposición de la hojarasca⁶.

Finalmente, es de suma importancia resaltar la diferencia de efectos positivos en el desarrollo de frutos de cacao a favor de los tratamientos de biofertilización en comparación con la fertilización química: a) estos microorganismos, al ser simbióticos con las plantas, apoyan su nutrición y regeneran el suelo; b) por su naturaleza ecológica y sustentable, constituyen una alternativa limpia ya que no dañan el medio ambiente; c) permiten aprovechar residuos orgánicos y recuperar la MO del suelo, además de permitir la fijación del nitrógeno y el carbono, mejorando la capacidad de los vegetales para absorber agua; d) en comparación con los fertilizantes químicos, suelen necesitar menos energía y las cepas son obtenidas de la microbiota autóctona circundante a los cultivos objeto de biofertilización, por lo

que la especificidad es sumamente alta; e) los microorganismos simbiotes son capaces de activar la respuesta inmune de las plantas, así como respuestas moleculares sistémicas, que las ayudan a combatir infecciones virales, fúngicas y bacterianas^{20,22}.

Aunado a lo anterior, siempre será necesario validar los resultados obtenidos con la producción de frutos y semillas, adecuando la cantidad y la frecuencia de la aplicación de fertilizantes biológicos y químicos. También es preciso realizar análisis de suelos con mayor detalle. Estas acciones en conjunto permitirían orientar de una mejor manera a los productores de cacao bajo sistemas agroforestales tradicionales, al mismo tiempo que contribuirían a una mejor labor de conservación de la biodiversidad y promoción de otros cultivos con valor comercial importante.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Financiación

Apoyo SEP-PROMEP 2013.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de interés alguno respecto a la realización de esta investigación y los resultados obtenidos de la misma.

Agradecimientos

El presente trabajo forma parte del convenio en desarrollo entre los Cuerpos Académicos: BUAP-CA-99 Microbiología de Suelos de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y UV-CA-263 Manejo y Conservación de Recursos Bioculturales de la Universidad Veracruzana, quienes han compartido el sustento de la presente investigación además del proyecto: Respuesta ecofisiológica del cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) en sistemas agroforestales, por la biofertilización con inoculantes bacterianos. A la empresa Nestlé a través del Plan Cacao Nestlé de México, quienes proporcionaron las plantas de cacao utilizadas en esta investigación y dan constantemente capacitación en el manejo del cultivo a los productores participantes.

Bibliografía

1. Acosta-Echeverría M, Sánchez-Bravo J, Bañón-Arno M. Auxinas. En: Azcón-Bieto J, Talón M, editores. *Fundamentos de fisiología vegetal*. 1.ª ed. Madrid: Mc Graw-Hill; 2000. p. 305–23.

2. Acuña O, Peña W, Serrano E, Pocasangre L, Rosales F, Delgado E, Trejos J, Segura A. La importancia de los microorganismos en la calidad y salud de suelos. XVII Encuentro internacional de la asociación para la cooperación en la investigación sobre banano en el Caribe en América Tropical, 2006, Resumen B3, p. 222, Ciudad de Santa Catarina, Brasil.
3. Aguirre-Medina JF, Irizar-Garza MB, Durán-Prado A, Grajeda-Cabrera OA, Peña-Río MA, Loredó-Ostí C, Gutiérrez BA. Los biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México. En: Andrade A, Gutiérrez GB, editores. Manual de microbiología. 2.^a ed. México D.F.: Editorial Trillas; 2004. p. 86–91.
4. Ahmad F, Ahmad I, Khan MS. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiol Res.* 2008;163:173–81.
5. Almeida AF, Valle RR. Ecophysiology of the cacao tree. *Braz J Plant Physiol.* 2007;19:425–48.
6. Beer J, Muschler R, Kass D, Somarriba E. Shade management in coffee and cacao plantations. *Agrofor Syst.* 1998;38:139–64.
7. Caballero-Mellado J. Microbiología agrícola e interacciones microbianas con plantas. *Rev Latinoam Microbiol.* 2006;48:154–61.
8. Camelo-Rusínque M, Vera-Monroy SP, Bonilla-Buitrago RR. Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecu.* 2011;12:159–66.
9. Díaz-Medina A, Almaguer-López J, Suárez-Pérez C, Albelo N, González-Reboso A, López Y. Efecto de la aplicación de *Azotobacter chroococcum* y bacterias solubilizadoras de fósforo sobre el desarrollo de posturas de café (*Coffea arabica* L.). *Centro Agrícola.* 2004;31:1–6.
10. Fundamentos para la siembra de plantaciones de cacao de alto rendimiento con énfasis en la selección de material genético y el suelo. 1.^{er} Boletín de Produmedios, 2000; MW456. Bogotá, Colombia.
11. Fusconi A. Regulation of root morphogenesis in arbuscular mycorrhizae: What role do fungal exudates, phosphate, sugars and hormones play in lateral root formation. *Ann Bot.* 2014;113:19–33.
12. Galindo TJ, Polanía J, Sánchez N, Moreno J, Vanegas R, Holguín G. Efecto de inoculantes microbianos sobre la promoción de crecimiento en plántulas de mangle y plantas de *Citrullus vulgaris*, San Andrés Isla, Colombia. *Acta Biol Colomb.* 2006;11: 83–97.
13. Glick BR. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can J Microbiol.* 1995;41:109–17.
14. Graetz HA. Suelos y fertilización. En: Rodríguez-Bejarano M, Flores RT, editores. Manual de microbiología de suelos. 2.^a ed. México D.F.: Editorial Trillas; 1997. p. 80–4.
15. Harris PJ. Ecología de la población del suelo. En: Wild A, editor. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas. 1.^a ed. Madrid: Editorial Mundi; 1991. p. 132–40.
16. Hernández-Rodríguez A, Heydrich-Pérez M, Acebo-Guerrero Y, Velázquez-del Valle MG, Hernández-Lauzardo AN. Antagonistic activity of Cuban native rhizobacteria against *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. in maize (*Zea mays* L.). *App Soil Ecol.* 2008;39:180–6.
17. Hipólito Romero E, del Amo Rodríguez S, Ramos Prado JM, Hernández AM. Agroforestería tropical y desarrollo empresarial rural: encadenamiento de oportunidades para el manejo sostenible de los recursos bioculturales. En: Rodríguez del Ángel, Morán FG, editores. Economía ambiental y ecológica; perspectivas para el desarrollo. 1.^a ed. México D.F.: Editorial UV; 2014. p. 13–24.
18. IBM Corp IBM SPSS Statistics for Windows, version 19.0 Armonk, NY: IBM Corp.; 2010.
19. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIFAP). Sistemas de sombra de cacao con maderables; Boletín Técnico 105, 2012. México D.F.
20. Jones JD, Dangl JL. The plant immune system. *Nature.* 2006;444:323–9.
21. Lorch H, Benckieser G, Ottow J. Basic methods for counting microorganisms in soil and water. En: Alef K, Nannipieri P, editores. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. 1st ed. San Diego, California: Academic Press; 1995. p. 146–61.
22. Mohandas S, Poovarasan S, Panneerselvam P, Saritha B, Upreti KK, Kamal R, Guava Sita T. (*Psidium guajava* L) rhizosphere *Glomus moseae* spores harbor actinomycetes with growth promoting and antifungal attributes. *Sci Hortic.* 2013;150: 371–6.
23. Orozco M, Thienhaus S. Efecto de la gallinaza en plantaciones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en desarrollo. *Agron Mesoam.* 1997;8:81–92.
24. Paredes-Cardona A, Carcaño-Montiel MG, Mascarúa-Esparza MA, Caballero-Mellado J. Respuesta del maíz a la inoculación con *Azospirillum brasilense*. *Rev Latinoam Microbiol.* 1988;30:351–5.
25. Paredes-Mendoza M. Aislamiento y caracterización bioquímica de metabolitos producidos por rizobacterias que solubilizan fósforo. Tesis de doctorado en Ciencias Agronómicas 2010. ANLIS Dr. Josue M Malibrán y Colegio de Postgraduados de Chapingo, Veracruz.
26. Pedraza R, Teixeira KR, Fernández-Scavino A, García de Salomone I, Baca B, Azcón R, Baldani-Divan VL, Bonilla R. Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecu.* 2010;11:155–64.
27. Plath M, Mody K, Potvin C, Dorn S. Establishment of native tropical timber trees in monoculture and mixed-species plantations: Small-scale effects on tree performance and insect herbivory. *Forest Ecol Manag.* 2010;261:741–50.
28. Reyes I, Valery A, Valdúz Z. Phosphate-solubilizing microorganisms isolated from rhizospheric and bulk soil of colonizer plants at abandoned rock phosphate mine. *Plant Soil Sci.* 2006;102:69–75.
29. Ricaño RJ. Understanding nitrile degrading enzymes: Classification, biocatalytic nature and current applications. *Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal.* 2014;5:8–25.
30. Rodríguez TDA. Indicadores de calidad de planta forestal. En: Castro FG, editor. Cultivo de plantas perennes. 3.^a ed. México D.F.: Mundi-Prensa; 2008. p. 156–61.
31. Sánchez L, Parra D, Gamboa E, Rincón J. Rendimiento de una plantación de cacao ante diferentes dosis de fertilización con NPK en el sureste del estado de Táchira, Venezuela. *Bioagro.* 2005;17:119–22.
32. Sánchez-Hernández R, Ordaz-Chaparro VM, Benedicto-Valdés GS, Hidalgo-Moreno CI, Palma-López DJ. Cambios en las propiedades físicas de un suelo arcilloso por aportes de lombricompostado de cachaza y estiércol. *Interciencia.* 2005;30:775–9.
33. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). Informe de la situación del medio ambiente en México. Compendio de estadísticas ambientales, 2008. México D.F.
34. Soil Science Society of America. Defining soil quality for a sustainable environment; 1st Special Publication, 1994; DW100. Wisconsin, U.S.A.
35. Universidad Nacional Autónoma de México. Microbiología sanitaria. 1.^{er} Manual de Prácticas, 1990; AW2. México D.F.
36. Uribe A, Méndez H, Mantilla J. Effect of balanced fertilization on cocoa yield. *Better Crops Int.* 2001;15:3–5.
37. Vassilev N, Vassileva M, Nikolaeva I. Simultaneous P-solubilizing biocontrol activity of microorganisms: Potentials and future trends. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2006;71:137–44.

38. Vessey JK, Heisinger KG. Effect of *Penicillium bilaii* inoculation and phosphorus fertilization on root and shoot parameters of field-grown pea. *Can J Plant Sci.* 2001;31:361–6.
39. Welbaum G, Sturz AV, Dong Z, Nowak J. Managing soil microorganisms to improve productivity of agroecosystems. *Crit Rev Plant Sci.* 2004;23:175–93.
40. Zavala-Gonzalez E, Escudero N, Lopez-Moya F, Aranda-Martinez A, Exposito J, Ricaño-Rodríguez J, Naranjo-Ortiz M, Ramirez-Lepe M, Lopez-Llorca LV. Some isolates of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* promote root growth and reduce flowering time of tomato. *Ann Appl Biol.* 2015;166:472–83.
41. Zequeira LC. La producción de cacao (*Theobroma cacao* L.) en México: Tabasco, Cárdenas Estudio de caso. En: del Amo-Rodríguez S, Hipólito-Romero E, editores. *Sistemas agroforestales en México.* 1.^a ed. Xalapa, Veracruz: Editorial UV; 2014. p. 293–7.