



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**INFORME DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA AMBIENTAL**

MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**EVALUACION DE CAPTACIÓN DE CARBONO MEDIANTE CEPAS
FÚNGICAS Y BACTERIANAS EN PLANTACIONES DE CACAO
NACIONAL (*Theobroma cacao* L.)**

AUTORAS:

**MERO VERA KARLA PATRICIA
VÉLEZ GUERRERO YAHAIRA REBECA**

TUTOR:

ING. FABRICIO ENRIQUE ALCÍVAR INTRIAGO MSc

CALCETA, FEBRERO DE 2024

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

YAHAIRA REBECA VÉLEZ GUERRERO con cédula de ciudadanía 1313137570 y **KARLA PATRICIA MERO VERA** con cédula de ciudadanía 1314963214, declaramos bajo juramento que el Trabajo de Titulación titulado: **EVALUACION DE CAPTACIÓN DE CARBONO MEDIANTE CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS EN PLANTACIONES DE CACAO NACIONAL (Theobroma cacao L.)** es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, concedemos a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a nuestro favor todos los derechos patrimoniales de autores sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación.

YAHAIRA REBECA VÉLEZ GUERRERO
CC: 1313137570

KARLA PATRICIA MERO VERA
CC: 1314963214

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

YAHAIRA REBECA VÉLEZ GUERRERO con cédula de ciudadanía 1313137570 y **KARLA PATRICIA MERO VERA** con cédula de ciudadanía 1314963214, autorizamos a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, la publicación en la biblioteca de la institución del Trabajo de Integración Curricular titulado: **EVALUACION DE CAPTACIÓN DE CARBONO MEDIANTE CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS EN PLANTACIONES DE CACAO NACIONAL (*Theobroma cacao* L.)**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.



YAHAIRA REBECA VÉLEZ GUERRERO
CC: 1313137570



KARLA PATRICIA MERO VERA
CC: 1314963214

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

Ing. FABRICIO ENRIQUE ALCÍVAR INTRIAGO MsC, certifica haber tutelado el proyecto **EVALUACION DE CAPTACIÓN DE CARBONO MEDIANTE CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS EN PLANTACIONES DE CACAO NACIONAL (Theobroma cacao L.)**, que ha sido desarrollado por **YAHAIRA REBECA VÉLEZ GUERRERO** y **KARLA PATRICIA MERO VERA**, previo a la obtención del título de **INGENIERA AMBIENTAL** de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

Ing. FABRICIO ENRIQUE
ALCÍVAR INTRIAGO, MsC.
CC: 130863226-2
TUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EVALUACION DE CAPTACIÓN DE CARBONO MEDIANTE CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS EN PLANTACIONES DE CACAO NACIONAL (Theobroma cacao L.)** que ha sido propuesto y desarrollado por YAHAIRA REBECA VÉLEZ GUERRERO y KARLA PATRICIA MERO VERA, previo a la obtención del título de **INGENIERA AMBIENTAL**, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

M.Sc. MARÍA FERNANDA
PINCA Y CANTOS
CC: 092175728-2
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

M.Sc. JONATHAN GERARDO
CHICAIZA INTRIAGO
CC: 131211192-3
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

PhD. SILVIA LORENA
MONTERO CEDEÑO
CC: 130535805-1
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día;

A Dios por haberme guiado y acompañado a lo largo de mi carrera, por darme las fuerzas y sabidurías necesarias para superar cada uno de los obstáculos que se me presentaron y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y felicidad;

A mi esposo, por ser una parte muy importante de mi vida, por haberme apoyado siempre y sobre todo por su paciencia y amor incondicional. A mis hijas por ser mi inspiración y la motivación en mi vida;

A mi familia por estar siempre y nunca decirme que no cuando las necesitaba, por ser incondicional, gracias por sus cariños y constante apoyos;

A mi tutor el Ing. Fabricio Alcívar por ayudarnos y ser una guía en este proceso;

Al doctor José Ormaza, a la Ing. Diana Andrade, al Ing. Diego Zambrano y al Ing. Fabián Peñarrieta por brindar sus conocimientos en todo el proceso de la investigación.

YAHAIRA REBECA VÉLEZ GUERRERO

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día;

A Dios por qué sin él este logro no sería posible, a mis padres y hermano quienes han creído en mí siempre dándome ejemplo de superación, humildad y sacrificio; a mi esposo por confiar y estar siempre para mí;

A mi pequeño Thiago Ismael por ser la inspiración de mi vida;

A mis amigas, a quienes quiero os llevaré siempre en mi corazón María Zambrano, Pamela Solórzano, Yamileth Sacón por ser incondicionales conmigo;

A mí compañera de tesis Rebeca Vélez por aportar considerablemente en este proyecto, no solo por la ayuda brindada sino por los buenos momentos.

KARLA PATRICIA MERO VERA

DEDICATORIA

De manera muy especial dedico este trabajo a Dios por permitirme vivir este sueño. Por estar siempre conmigo y no dejarme caer, y darme las fuerzas necesarias para seguir adelante en cada paso que doy en la vida;

A mi esposo por darme su apoyo y ser incondicional;

A mis hijas, por ser la motivación más importante para cumplir mis objetivos;

A mis amigos y demás familiares que de alguna u otra manera me apoyaron para que pueda alcanzar este logro.

YAHAIRA REBECA VÉLEZ GUERRERO

DEDICATORIA

Mi tesis va dedicada con mucho amor a los seres que son los pilares fundamentales de mi vida, a mis padres Ramiro Mero, Bella Vera y a mi hermano José Mero por sembrar en mí la semilla del amor, la responsabilidad, el deseo de triunfar; a mi esposo Marcelo Solórzano y a mi hijo Thiago Solórzano por la confianza depositada de ver este sueño hecho realidad, con valores morales y espirituales para servir a los demás y de esta forma haber logrado concluir mi carrera.

KARLA PATRICIA MERO VERA

CONTENIDO DE TABLAS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN	iii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	v
AGRADECIMIENTO	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA	viii
DEDICATORIA	ix
CONTENIDO DE TABLAS	x
CONTENIDO DE TABLAS	xiii
CONTENIDO DE FIGURAS	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN	3
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	5
1.4. HIPÓTESIS	5
1.4.1. HIPÓTESIS NULA	5
1.4.2. HIPÓTESIS ALTERNATIVAS	5
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	6
2.1. MICROORGANISMOS EN EL SUELO	6
2.1.1. CLASIFICACIÓN SEGÚN SU METABOLISMO	6
2.2. BACTERIAS	7
2.2.1. BACTERIA DEL GÉNERO <i>Bacillus</i>	8
2.2.1.1. <i>Bacillus subtilis</i>	8
2.2.1.2. <i>Bacillus licheniformis</i>	9
2.2.2. BACTERIAS FOTOSINTÉTICAS	9
2.3. HONGOS	10
2.3.1. <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	10
2.3.2. LEVADURAS	10
2.4. CONDICIONES IDEALES PARA EL USO DE MICROORGANISMOS ...	10

2.5. SUELO DE CACAO	11
2.5.1. CALIDAD DEL SUELO	11
2.5.2. PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO	13
2.6. GENERALIDADES DEL CACAO	13
2.6.1. TAXONOMÍA DEL CACAO.....	14
2.6.2. IMPORTANCIA DEL CACAO Y SU ASOCIACIÓN CON LOS MICROORGANISMOS	15
2.6.3. CARACTERÍSTICAS EDAFOCLIMÁTICAS DEL CACAO	16
2.7. CARBONO.....	17
2.7.1. CARBONO ORGÁNICO EN LOS SUELOS.....	17
2.7.2. CAPTACIÓN DE CARBONO EN EL SUELO.....	18
2.7.3. FRACCIONES DE CARBONO ORGÁNICO EN EL SUELO	19
2.7.4. CICLO DEL CARBONO.....	20
2.7.5. PRINCIPIOS DE CICLO MICROBIANO DEL CARBONO.....	21
2.7.6. CAPTURA DEL CARBONO EN EL SUELO	22
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO.....	24
3.1. UBICACIÓN.....	24
3.2. DURACIÓN	25
3.3. MÉTODOS	26
3.3.1. MÉTODO BIBLIOGRÁFICO	26
3.3.2. MÉTODO ANALÍTICO SINTÉTICO.....	26
3.3.3. MÉTODO ESTADÍSTICO	26
3.4. TÉCNICAS	27
3.4.1. TÉCNICAS DE LABORATORIO	27
3.5. UNIDAD EXPERIMENTAL.....	27
3.6. FACTOR EN ESTUDIO	27
3.7. VARIABLES.....	28
3.7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE	28
3.7.2. VARIABLE DEPENDIENTE	28
3.8. MANEJO DEL EXPERIMENTO.....	28
3.8.1. FASE I. ACTIVACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS (<i>Trichoderma longibrachiatum</i> Y <i>Trichoderma reesei</i>) Y BACTERIANAS (<i>Bacillus subtilis</i> Y <i>Bacillus licheniformis</i>), A NIVEL DE LABORATORIO EN LA ESPAM MFL ...	28
3.8.2. FASE II. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LAS CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS EN LA CAPTACIÓN DE CARBONO EN LOS SUELOS DEL CULTIVO DE CACAO NACIONAL.....	30

3.9. DISEÑO EXPERIMENTAL	34
3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	35
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	36
4.1. ACTIVACIÓN DE LAS CEPAS FÚNGICAS (<i>Trichoderma longibrachiatum</i> Y <i>Trichoderma reesei</i>) Y BACTERIANAS (<i>Bacillus subtilis</i> Y <i>Bacillus licheniformis</i>), A NIVEL DE LABORATORIO EN LA ESPAM MFL.....	36
4.2. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LAS CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS EN LA CAPTACIÓN DE CARBONO EN LOS SUELOS DEL CULTIVO DE CACAO NACIONAL.	37
4.2.1. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y CAPTURA DE CARBONO DEL SUELO PRE-TRATAMIENTO.....	37
4.2.2. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y CAPTURA DE CARBONO DEL SUELO POST-TRATAMIENTOS	40
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	47
5.1. CONCLUSIONES	47
5.2. RECOMENDACIONES.....	48
BIBLIOGRAFÍA.....	49
ANEXOS.....	65
ANEXO 1. ESQUEMA DE EXPERIMENTACIONES.....	66
ANEXO 2. FOTOGRAFÍAS TOMADAS EN EL PROCESO DE LA INVESTIGACIÓN	66
ANEXO 2. ANÁLISIS QUÍMICOS APLICADOS AL SUELO DE CACAO NACIONAL.....	69
ANEXO 2A. ANÁLISIS QUÍMICO INICIAL.....	69
ANEXO 2B. ANÁLISIS QUÍMICO POST APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS..	69
ANEXO 3. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE LA EVALUACIÓN DE LA CAPTURA DE CARBONO	70
Anexo 3A. Normalidad de datos (Shapiro Wilks)	70
Anexo 3B. Homocedasticidad de la varianza (Test F)	71
Anexo 3C. Análisis de la varianza y Post Hoc Tukey	71
Anexo 4C. Kruskal Wallis, parámetros químicos post tratamientos	73

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 2.1. Clasificación general de los microorganismos según su metabolismo.	7
Tabla 2.2. Taxonomía de <i>Bacillus subtilis</i> .	8
Tabla 2.3. Taxonomía <i>Bacillus licheniformis</i> .	9
Tabla 2.4. Índices de calidad del suelo.	12
Tabla 2.5. Métodos de evaluación de parámetros químicos.	13
Tabla 2.6. Taxonomía del cacao.	15
Tabla 2.7. Características edafoclimáticas del cacao en el suelo.	16
Tabla 3.1. Características Climatológicas del Campus Politécnico.	25
Tabla 3.2. Tratamientos declarados en la investigación.	27
Tabla 3.3. Matriz Operacionalización de las variables	28
Tabla 3.4. Esquema de análisis de varianza del DCA.	35
Tabla 4.1. Comprobación d la viabilidad de las cepas.	36
Tabla 4.2. Parámetros químicos iniciales del suelo del área de estudio.	38
Tabla 4.3. Captura de carbono sin adición de microorganismos.	40
Tabla 4.4. Análisis Químico de las muestras de suelo post aplicación de tratamientos.	42
Tabla 4.5. Análisis de la varianza; Captura del carbono post tratamientos.	44
6. Captura de carbono en las diferentes aplicaciones	45

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 2.1. Ciclo del carbono.	21
Figura 2.1. Ubicación del área de toma de muestras de suelo.	24
Figura 3.2. Ubicación de los laboratorios de microbiología de la ESPAM MFL.	25

RESUMEN

El presente estudio tuvo como propósito evaluar la captación de carbono mediante cepas fúngicas y bacterianas en plantaciones de cacao nacional *Theobroma cacao* L de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. En el estudio, se aplicaron cuatro tratamientos con la implementación de *Trichoderma longibrachiatum* (EM-72) para T1, *Trichoderma reesei* (EM-49) para T2, *Bacillus subtilis* (EM-54) para T3 y *Bacillus licheniformis* (EM-44) para T4, para identificar diferencias significativas entre los tratamientos, con respecto a las variables en estudio, se aplicó el diseño completamente al azar (DCA), con los respectivos análisis de varianza y comparación de medias con el test Tukey al 5%. Los resultados muestran una variabilidad en los parámetros químicos del suelo en respuesta a los tratamientos aplicados, evidenciando incrementos significativos en los niveles de amonio, fósforo y potasio que se relacionan con la neutralidad del pH, además se presentó un incremento poco representativo de la materia orgánica (8%) en relación a los parámetros iniciales (7%), en cuanto a la captura de carbono, los tratamientos con *Trichoderma longibrachiatum* y *reesei* mostraron resultados más significativos ($p < 0,0001^{**}$) en comparación con los *Bacillus subtilis* y *licheniformis*, siendo *Trichoderma longibrachiatum* el que presentó mejores parámetros de captación a través del tiempo con una media de captación de 28,75 a 15 mg*kg-s. Los resultados sugieren que las cepas evaluadas tienen la capacidad de contribuir en la captación de carbono, permitiendo mejorar la salud y fertilidad de los suelos agrícolas.

Palabras clave: Microbiología, minerales, nutrición de suelos, materia orgánica, manejo sostenible del cacao

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate carbon sequestration by fungal and bacterial strains in soils of national cocoa plantations *Theobroma cacao* L of the Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. In the study, four treatments were applied with the implementation of *Trichoderma longibrachiatum* (EM-72) for T1, *Trichoderma reesei* (EM-49) for T2, *Bacillus subtilis* (EM-54) for T3 and *Bacillus licheniformis* (EM-44) for T4, to identify significant differences between treatments, with respect to the variables under study, the completely randomized design (DCA) was applied, with the respective analysis of variance and comparison of means with the Tukey test at 5%. The results show a variability in the chemical parameters of the soil in response to the treatments applied, showing significant increases in the levels of ammonium, phosphorus and potassium, which are related to the neutrality of the pH. In addition, there was an unrepresentative increase in organic matter (8%) in relation to the initial parameters (7%), In terms of carbon sequestration, the treatments with *Trichoderma longibrachiatum* and *reesei* showed more significant results ($p < 0.0001^{**}$) compared to *Bacillus subtilis* and *licheniformis*, with *Trichoderma longibrachiatum* showing the best sequestration parameters over time with a mean sequestration of 28.75 to 15 mg*kg-s. The results suggest that the evaluated strains have the ability to contribute to carbon sequestration, allowing to improve the health and fertility of agricultural soils.

Keywords: Microbiology, minerals, soil nutrition, organic matter, sustainable cocoa management

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Las altas concentraciones de gases de efecto invernadero (GEI) a causa del desarrollo industrial y las actividades humanas, han ocasionado graves impactos en el ambiente, generando un aumento en la temperatura global (Olorunfemi et al., 2019). Desde una perspectiva mundial, la deforestación y la transición de bosques a suelos de cultivos han llegado a conformar hasta el 20% de las emisiones de los GEI (Sanmartín y Barrezueta, 2017); siendo Ecuador responsable de 0,1% de estas emisiones, con un promedio de 2.2 tonelada (tn) de dióxido de carbono (CO₂) por persona por año (Vidal y Vera, 2017).

Racines (2018) menciona que en Ecuador los manejos tradicionales de los sistemas productivos incrementan la contaminación atmosférica debido a la cantidad de emisiones de GEI que generan las actividades agrícolas (18,03%). Asimismo, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], (2022) menciona que la degradación de los suelos responde a un proceso de transformación de zonas a cobertura vegetal natural, debido a inadecuadas prácticas agrícolas como la deforestación, el uso desmesurado de sustancias químicas, monocultivos, entre otros; estas pérdidas vinculadas con la degradación de suelo incrementan a 7,6% del valor bruto de la producción agrícola.

A escala provincial, Manabí se ubica como la región que más pérdidas por degradación agrícolas ha tenido en relación a los GEI, seguidas de las provincias de El Oro, Imbabura, Loja y Guayas (FAO, 2022). Esta problemática tiene fuertes repercusiones en el ambiente, entre las cuales se destacan la deforestación, la remoción sobrepastoreo ocasionada por actividades ganaderas, disminución de fuentes de agua, pérdida de la actividad agrícola y la seguridad alimentaria de la población (Villamil, 2021).

Bajo este contexto, las actividades agrícolas son responsables de la mayoría de los GEI, sin embargo, los ecosistemas forestales y agroforestales logran absorber grandes cantidades de carbono tanto en biomasa como en los suelos, disminuyendo las emisiones de los gases de CO₂ (Umaña, 2018).

En la provincia de Manabí aún no se han realizados estudios sobre la captación de carbono del suelo en plantaciones de cacao, que ayuden a mitigar las emisiones de los GEI, es por esto que Zabala y Vega (2021) manifiestan que efectuar un estudio sobre la captación de carbono del suelo con microorganismos es una buena alternativa para las sociedades en cuanto a la reducción de la contaminación y el mejoramiento ambiental de la zona de estudio, dado a que los suelos en los sistemas agroforestales de cacao abarcan un total de 1.80 ton C/ha.

Estos antecedentes llevan a las autoras a formular la siguiente interrogante:

¿Cómo influyen la biomasa fúngica y bacteriana en la captura de carbono en suelos de cultivo de cacao nacional?

1.2. JUSTIFICACIÓN

Desde una perspectiva ambiental, la captura de carbono resulta fundamental para disminuir el calentamiento global, gracias a que los árboles contribuyen de forma positiva para reducir la cantidad de CO₂ que llegan a la atmósfera y al mismo tiempo liberan O₂, ayudando así a mantener un ambiente sano y limpio (Morales y Vásquez, 2019). Por su parte, Buitrago et al. (2018) afirman que los suelos destinados a las plantaciones de cacao (*Theobroma cacao* L.) se consolidan como una excelente alternativa para disminuir las emisiones de los GEI mediante la captura de carbono orgánico en el suelo (COS); primordialmente en sistemas de usos de suelos en forestales y agroforestales (Andrade et al., 2020).

Asimismo, las utilizaciones de microorganismos presentan diversos beneficios en función del suelo agrícola, debido a que ayudan a restablecer el equilibrio microbiológico, mejorando las condiciones químicas y la fertilidad del suelo, generando así una agricultura y medio ambiente sostenible (Alarcón et al., 2020). En las plantaciones de cacao, los microorganismos resultan fundamentales para la captación de carbono dado a los beneficios ambientales que presenta para el cultivo, puesto que los protege de agentes patógenos e incrementa la disponibilidad de nutrientes al suelo (Zabala y Vega, 2021).

De acuerdo con Zabala y Vega (2021) las plantaciones de cacao abarcan más de 8 millones de ha en continentes como África, Asia y América; en Perú ocupan un aproximado de 40.000 ha. En el caso de Ecuador, existe un total de 601.000 ha de cacao, de las cuales 77% parcelas se concentran en la Costa, 13% en la región Sierra y 10% en la Amazonía (Ministerio de Agricultura y Ganadería de Ecuador [MAG], 2019). El cacao se cultiva en suelos de origen aluvial, con pH entre ácidos y alcalinos de 6,46 a 8,2; con valores medios y altos de materia orgánica (Barrezueta, 2019).

Desde un enfoque socioeconómico, la captura de carbono en suelos presenta ciertas ventajas para el productor y el consumidor, ya que mediante esta captación se logra mejorar propiedades del suelo, como la aireación, la capacidad de infiltración y retención de agua, mismas que ayudan a incrementar la fertilidad del

suelo y por ende la productividad agrícola, garantizando la seguridad alimentaria de la población (Etcheverría y Barahona, 2017); y el desarrollo sostenible que conduce al progreso de las condiciones de vida de los agricultores (Burbano, 2016). Además, los usos de los microorganismos reducen los costos en comparación con la inversión que se hace con la utilización de fertilizantes químicos (Luna y Meza, 2016).

Desde un punto de vista legal, la presente investigación contribuye a cumplir con lo estipulado en el objetivo 13 de los ODS, el cual propone “adoptar medidas urgentes para combatir el cambio climático y sus efectos”, ya que, para la reducción de carbono es fundamental reducir las emisiones globales de los GEI (Organización de las Naciones Unidas [ONU], 2018). De la misma forma, se sustentó en el Plan Nacional de Desarrollo 2021-205 en el eje de Transición Ecológica objetivo 12, que indica que “fomentar modelos de desarrollo sostenible aplicando medidas de adaptación y mitigación al cambio climático” mejora la producción de prácticas ambientales y sostenibles.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la captación de carbono mediante cepas fúngicas y bacterianas en plantaciones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) en la ESPAM MFL.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Activar cepas fúngicas (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*) y bacterianas (*Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*).
- Determinar la eficiencia de las cepas fúngicas y bacterianas en la captación de carbono en los suelos del cultivo de cacao nacional.

1.4. HIPÓTESIS

1.4.1. HIPÓTESIS NULA

H0. Las cepas fúngicas (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*) y bacterianas (*Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*), no inciden en la captación de carbono a través de la respiración en los suelos de plantaciones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.).

1.4.2. HIPÓTESIS ALTERNATIVAS

H1. Las cepas fúngicas y bacterianas inciden en la captación de carbono a través de la respiración de microorganismos en los suelos de plantaciones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.).

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. MICROORGANISMOS EN EL SUELO

Los microorganismos son parte esencial de los componentes del suelo, dado a que son responsables de la dinámica de transformación y de los ciclos geoquímicos del recurso edáfico, estos suelen ser bacterias y hongos (Bajsa, 2015). Morocho y Mora (2019) sostiene que los microorganismos al estar en unión con la materia orgánica producen sustancias favorables creando así un cambio en la flora de suelo y optimizan su equilibrio natural por la acción antioxidante que presenta ayuda a la descomposición de la materia orgánica y aumentan el humus.

Por su parte, Ramírez et al. (2019) afirman que los microorganismos también se encargan de producir sustancias útiles que incluyen aminoácidos, ácidos nucleicos, sustancias bioactivas y azúcares que promueven el crecimiento de las plantas, pueden suprimir la presencia de patógenos y son muy numerosos en los suelos.

De acuerdo con Tang et al. (2022) los microorganismos en el suelo desempeñan un rol importante en la captura y secuestro de carbono, dado a que contribuyen a eliminar los gases de efecto invernadero y además los convierten en una manera más estables, almacenándolos en el suelo por largos períodos de tiempo. Liao et al. (2022) afirman que organismos autótrofos como bacterias y protistas fototróficas son esenciales para la fijación de carbono en el suelo.

Bensayah et al. (2022) afirman que la interacción entre las comunidades microbianas y los agregados del suelo es fundamental para mantener la estabilidad del sistema y para almacenar carbono. Ahmed et al. (2018) sostienen que los microorganismos del suelo son clave en la captura y secuestro de carbono, ya que ayudan a mitigar el cambio climático y mantener la fertilidad de los suelos.

2.1.1. CLASIFICACIÓN SEGÚN SU METABOLISMO

El metabolismo, es el proceso por el cual los microorganismos obtienen energía y nutrientes que son de importancia para la reproducción, este se adapta a las situaciones que se pueden presentar en la tierra; por su parte las bacterias han logrado desarrollar todo tipo de metabolismo que son conocidos en la biología,

mismas que se dividen de dónde obtienen la energía y, de dónde viene el carbono (Rosales, 2021).

Las bacterias anaerobias cuentan con un metabolismo que genera su energía a partir de sustancias que carecen de oxígeno, lo hacen generalmente a través de procesos de fermentación. Las bacterias aerobias presentan un metabolismo que es el proceso químico en que el oxígeno se usa para producir energía a partir de los carbohidratos por lo cual requiere de un ambiente que contenga oxígeno para poder existir y desarrollarse adecuadamente (Corrales et al., 2015).

Tabla 2.1. Clasificación general de los microorganismos según su metabolismo.

Clasificación	Fuente De Energía	Fuente De Carbono	Organismos Representativos
Fotoautótrofos	Luz	CO ₂	Algas, Bacterias, Fotosintéticas.
Fotoheterótrofos	Luz	Materia orgánica	Bacterias, Fotosintéticas.
Quimioautótrofos	Materia inorgánica	CO ₂	Bacterias
Quimioheterótrofos	Materia orgánica	Materia orgánica	Bacterias, hongos, protozoarios.

Fuente: Corrales et al. (2015)

2.2. BACTERIAS

Las bacterias son microorganismos unicelulares que pueden encontrarse en cualquier hábitat, por lo general son las más abundantes y pequeñas alcanzando tamaños de 0.1 a 1 micras; estas son aerobias, anaerobias o facultativas, tolerando pH ácidos, básicos o neutros (Castro, 2016; Castillo, 2016). De acuerdo con Rocha et al. (2022) la mayor parte de las bacterias del suelo presentan forma de bastón, cortas y cilíndricas, siendo difícil de observar a simple vista.

Condori (2020) indica que las bacterias tienen una relación de importancia entre el suelo-planta, ya que son responsables de la disminución o incrementos de los nutrientes; presentan beneficios para el recurso edáfico, ayudando a recuperar la estructura perdida a causa de las prácticas agrícolas. Rivera (2017) afirma que existen diversos géneros bacterianos empleados para la agricultura, dado a su capacidad de transformar compuestos orgánicos e inorgánicos y por los beneficios que presentan en la nutrición de las plantas, destacan las siguientes: *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Nitrosomos*, *Nitrobacter*, *Rhizobium*, etc.

2.2.1. BACTERIA DEL GÉNERO *Bacillus*

Las bacterias del género *Bacillus* pertenecen a la familia *Bacillaceae*, que actualmente ostenta más de 60 especies de bacilos (Campaña, 2018). Está formado por microorganismos bacilares Gram positivos con endosporas que son capaces de resistir condiciones extremas, el crecimiento de estas bacterias puede ser aerobio o anaerobio facultativo, presentan tamaños que oscilan entre 4 a 10 μm , además el crecimiento óptimo se da con pH neutro, en un rango de intervalo de temperatura de entre 30 y 45°C (Villarreal et al., 2018).

Según Villarreal et al. (2018) el suelo es el principal reservorio de los microorganismos *Bacillus*, dado a que gran parte de las especies de *Bacillus* son saprófitas, empleando la diversidad de sustratos orgánicos que se encuentran en el suelo, convirtiéndose en el principal establecimiento variedad genética y funcional de las especies microbianas.

2.2.1.1. *Bacillus subtilis*

Los microorganismos *Bacillus subtilis* son bacterias Gram positiva conocida como Rhizobacterium porque sintetizan fitohormonas (Caicedo y Chacon, 2017) miden desde 0.3 a 2.3 micras de ancho 1.2 a 7.0 micras de largo, son cilíndricos, habitualmente flagelados, forman colonias grandes e irregulares en los medios sólidos se encuentran en los suelos y en los vegetales en putrefacción, interviniendo activamente en la descomposición de la materia orgánica (Cabello et al., 2020).

Tabla 2.2. Taxonomía de *Bacillus subtilis*.

Dominio	Bacterias
Filo	<i>Firmicutes</i>
Clase	<i>Bacilos</i>
Orden	<i>Bacillales</i>
Familia	<i>Bacillaceae</i>
Género	<i>Bacillus subtilis</i>

Fuente: Caicedo y Chacon (2017).

La bacteria *Bacillus subtilis* es considerado como uno de los microorganismos de mayor relevancia en la agricultura, sirve como control biológico para las enfermedades de las plantas y ayuda en la absorción de nutrientes (González et

al., 2022); además promueve el crecimiento vegetal mediante la solubilización de fósforo y participa en la fijación de nitrógeno cuando forma parte de consorcios bacterianos (Corrales et al., 2014; López, 2022).

2.2.1.2. *Bacillus licheniformis*

Campaña (2018) indica que las *Bacillus licheniformis* “poseen características morfológicas igual su forma irregular, con superficie brillante de elevación plana y con un margen rizado, es un bacilo Gram positivo con un color beige formador de endosporas, anaerobio facultativo, este puede ser aislado de casi todas partes debido a sus endosporas resistentes que se difunden con facilidad en el aire”.

Es un microorganismo del suelo con carácter patógeno, asociado con materiales de plantas y vegetales en la naturaleza, se logra aislar de cualquier lugar, ya que la resistencia de sus endosporas les da una ventaja muy importante en el suelo y le confieren la capacidad de supervivencia para adaptarse a cambios bruscos de temperatura por sus genes de shock térmicos que incluyen proteínas y proteasa (González, 2013).

Tabla 2.3. Taxonomía *Bacillus licheniformis*.

Reino	Bacteria
Filo	Firmicutes
Clase	Bacili
Orden	Bacillales
Familia	Bacillaceae
Género	Bacillus
Especie	<i>Bacillus licheniformis</i>

Fuente: González (2013)

2.2.2. BACTERIAS FOTOSINTÉTICAS

Estas bacterias producen sustancias que favorecen a la aparición de micorrizas en el crecimiento de microorganismo provechosos y plantas; son encargadas de sintetizar las sustancias desde la raíz usando la luz solar y el calor del suelo que son los encargados de suministrar la energía que necesaria (Castro et al., 2018).

2.3. HONGOS

Según Morocho y Mora (2019) los hongos favorecen el desarrollo de mineralización del carbono orgánico del suelo, además cuenta con la posibilidad de reproducción de manera asexual (sustratos ácidos y ricos en carbono) la cual le permite multiplicarse en condiciones favorables y sexual (esporas) en condiciones desfavorables, ofrece la capacidad de descomposición de materiales como madera y paja ya que exige un bajo nivel de nitrógeno.

2.3.1. *Trichoderma longibrachiatum*

Estos hongos corresponden a las especies del género *Trichoderma*, se ubican taxonómicamente dentro de la división *Mycota*, subdivisión *Eumycota*, la clase *Hyphomycetes*, orden *Moniliales* y en la familia *Moniliaceae* (Companioni et al., 2019). Se caracteriza por presentar conidióforos arrastrados con ramificaciones, distintas investigaciones su uso como controlador de enfermedades fungosas y se han demostrado su efecto contra gran diversidad de patógenos (Osorio, 2010).

2.3.2. LEVADURAS

La levadura presenta una eficacia en la disminución de padecimientos que son formados por hongos, son encargadas de sintetizar sustancias antimicrobianas que son los crean hormonas y sustratos que benefician al microorganismo; las sustancias bioactivas (hormonas, enzimas) ocasionadas por las levaduras causan la división celular activa (Rumbea, 2020).

2.4. CONDICIONES IDEALES PARA EL USO DE MICROORGANISMOS

En general las mejores condiciones para el uso de microorganismos deben ser cuando el suelo está húmedo; es decir, antes o después de lluvias (Toalombo, 2012). El uso de los EMA necesita de exigencias ambientales, como temperatura, humedad y pH, que para una mayor variedad de microorganismo el pH debe ser neutro estar en los niveles de 6 a 8 y temperaturas entre 15 y 45 °C, en la agricultura se basa en las condiciones como la calidad de suelo, clima, irrigación; los beneficios

que trae consigo la aplicación de microorganismos está el retener humedad, incremento de materia orgánica causando la mejora de los cultivos en épocas de sequías (Morocho y Mora, 2019).

2.5. SUELO DE CACAO

De acuerdo con Guerrero (2017) los suelos son el factor primordial de la sociedad humana, es un medio de soporte natural donde las plantas absorben los nutrientes necesarios para su crecimiento. Según Lapo (2021) el suelo permite que se desarrolle el ciclo de nutrientes o reciclaje ecológico, el cual es un proceso regulado por los cambios de la red trófica que descomponen la materia en nutrientes minerales.

Relacionando lo expuesto con el tema de investigación Haro (2021) manifiesta que el suelo adecuado para el cultivo del cacao tiene relación con las condiciones climáticas predominantes de la zona, así como, la cantidad y distribución de factores entre estas las precipitaciones. Para Álvaro (2019), el suelo es el sustrato vivo y dinámico con mayor biodiversidad, donde se generan diferentes formas de vida como las plantas las cuales modifican el ambiente para sostener el sistema productivo. En él existen millones de microorganismos siendo los más abundantes las bacterias, virus y hongos, creando un vínculo entre las plantas, suelo y organismos que se ven influenciados por factores bióticos y abióticos.

Por lo tanto, se sintetiza estableciendo que el suelo es un recurso del entorno natural no renovable, y para un correcto desarrollo del cacao, se necesita que este cuente con ciertas características como: poseer ligeras pendientes, profundos, francos y por supuesto un buen drenaje, además de un alto nivel de materia orgánica, donde, la acidez y otros componentes contribuya con un óptimo cultivo (Centurión, 2021).

2.5.1. CALIDAD DEL SUELO

Barrezueta et al. (2017) establecen que la calidad del suelo es la capacidad específica que este recurso tiene para funcionar dentro de los límites del ecosistema natural o alterado, necesarios para mantener la vida, y la producción

de las plantas, desde este sentido se han desarrollado una conformación de índices que establecen la calidad del suelo (ICS), este se considera como una herramienta de evaluación que a su vez se correlaciona con las propiedades químicas para facilitar su medición y cambios.

Barrera et al. (2020) sostienen que la calidad de los suelos es una herramienta de valoración que ayuda a la aplicación exitosa de las prácticas de plantación de cacao (*Theobroma cacao* L), de manera sostenible, por lo tanto, se debe conocer y analizar los diversos aspectos físicos, químicos y biológicos, porque estos son los que marcan su grado de degradación. Entre los principales atributos del suelo están: materia orgánica, macronutrientes, micronutrientes, carbono orgánico total, y el nitrógeno total, además, de la profundidad, textura, porosidad y efectividad.

De acuerdo con Fandiño et al. (2019) los microorganismos del suelo presentan un elevado potencial para emplearse como indicadores de su calidad, de manera similar a lo que sucede con los indicadores, no se ha logrado un consenso acerca de cuáles son los índices más confiables, ni en qué situaciones se deben emplear. Sin embargo, se ha identificado que los índices más destacados son siete, tal como se describen en el (Cuadro 2.4):

Tabla 2.4. Índices de calidad del suelo.

Índice	Descripción
Cociente metabólico (qCO²)	Índice más simple que se emplea para evaluar la calidad del suelo. Éste se relaciona con la respiración y la biomasa microbiana.
Índice de adición (SQIa)	Evalúa la calidad del suelo, a pesar de su sensibilidad a los valores unitarios de los parámetros que utiliza
Índice Unificado (SQI Unificado)	Se utiliza para monitorear y predecir los efectos de los sistemas y la gestión agrícola.
Índice aditivo ponderado (SQIw)	Evalúa la calidad del suelo de un determinado lugar o ecosistema, permitiendo la comparación entre las condiciones a nivel de parcelas, campo o cuenca bajo diferentes usos del suelo y prácticas de manejo facilitando las decisiones de gestión adaptativas que promuevan prácticas agrícolas sostenibles
Índice biológico de calidad del suelo (BSQ)	Evalúa la variación en relación con la degradación del ecosistema; éste se basa en el estudio de microartrópodos del suelo
Índice bioquímico de fertilidad del suelo	Se emplea para comparar el efecto de la fertilización orgánica y mineral.
Índice relativo de estabilidad del suelo (RSSI)	Evalúa la capacidad de un suelo para recuperarse después de la contaminación en función de la actividad enzimática

Fuente: Fandiño et al. (2019)

2.5.2. PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO

Según Barrezueta (2019), “las propiedades químicas del suelo, en conjunto, condicionan la capacidad productiva de las plantas” (p. 155). Estrada et al. (2017), mencionan que los componentes químicos tienen que ver con los nutrientes captados por las plantas y partículas minerales, destacando la fertilidad (nutrientes) y el pH, que mide la acidez, alcalinidad y neutralidad del suelo.

Para efectos de esta investigación, se hace importante resaltar los estudios de Rousseau et al. (2012) y Barrezueta et al. (2017), donde se utilizó las variables químicas del suelo establecido en su investigación de cacao en Centroamérica, tal como se describe en el (Tabla 5):

Tabla 2.5. Métodos de evaluación de parámetros químicos.

Variables químicas	Métodos
pH	Potenciómetro
Materia orgánica (MO)	Walkley y Black
K ⁺ , Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Na ⁺ y Al ³⁺	Absorción Atómica
H ⁺	Yuan
Fósforo (P)	Olsen modificado
Nitrógeno total	Micro Kjeldahl

Fuente: Bazán (2017)

Las propiedades químicas ayudan a determinar las condiciones de fertilidad de los suelos en las plantaciones de cacao, estas pueden ser modificadas por el uso de abonos o químicos. Ejemplo: un cultivo de una hectárea se compone por 453 kg de nitrógeno, 114 kg de fósforo, 788 de potasio, 40 gr de manganeso y 10 zinc (Mateus y Reyes, 2018).

2.6. GENERALIDADES DEL CACAO

Mora et al. (2021), sostienen que el cacao (*Theobroma cacao* L.) es un cultivo que contribuye de manera significativa a la economía de varios países, destacando en la producción: Brasil, Colombia, Costa de Marfil, Ghana, Camerún, República Dominicana, México, Malasia, Indonesia, Papua Nueva Guinea y Ecuador.

Mendoza et al. (2021) afirman que a nivel mundial la producción del cacao común es del 95% y el 5% de aroma fino.

Valdez (2016) indica que, desde el contexto ecuatoriano, se realizó la domesticación de este hace 5.300 años en la provincia Zamora Chinchipe. Montaleza et al. (2020), expresan que el origen de las plantaciones de cacao en el Ecuador se ubica en la Amazonia. Información proveniente de los estudios de Abad et al. (2020), afirman que Manabí es una de las provincias más productivas que presentan una mayor superficie con 104,849 ha, esta zona cuenta con las condiciones climáticas adecuadas que le permiten desarrollar su potencial productivo y que le otorga características organolépticas de alta calidad que lo hace apetecido en los mercados nacionales como internacionales, además de tener un suelo fértil que permite obtener un alto rendimiento e incrementar su demanda.

2.6.1. TAXONOMÍA DEL CACAO

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un árbol originario de América, su cultivo se presenta de forma constante, sus partes generan flores, frutos en el tallo y ramas. Esta fruta se produce en climas húmedos y cálidos, sus flores son de color blanco y rosado, su tronco tiene apariencia de ramas viejas y sus frutos o mazorcas tienen forma de cápsula con numerosas semillas en su interior (Guerrero, 2020).

Tabla 2.6. Taxonomía del cacao.

Nombre científico:	<i>Theobroma cacao</i> .
Reino:	Plantae.
Subreino:	Tracheobionta.
División:	Magnoliophyta.
Clase:	Magnoliopsida.
Subclase:	Dilleniidae.
Orden:	Malvales.
Familia:	Esterculiceae.
Subfamilia:	Byttnerioideae.
Tribu:	Theobromeae.
Género:	<i>Theobroma</i> .
Especie:	<i>Theobroma cacao</i> L.

Fuente: Guerrero (2020)

2.6.2. IMPORTANCIA DEL CACAO Y SU ASOCIACIÓN CON LOS MICROORGANISMOS

Estudios de Molina et al. (2020), aseguran que los microorganismos en el suelo es uno de los factores más importantes, debido a que forman parte viva y dinámica de su transformación y desarrollo, los cuales brindan grandes beneficios para los diferentes cultivos como son las plantaciones de cacao (*Theobroma cacao* L). Según Montaleza et al. (2020) los principales microorganismos del suelo son: hongos, virus y bacterias, estos proporcionan elementos nutritivos para un buen desarrollo vegetal, además, de favorecer la sustentabilidad del suelo.

De acuerdo con Leiva et al. (2013) la importancia de la producción de cacao es por la fertilización orgánica o inorgánica gracias al aporte periódico de materiales orgánicos como ejemplo la hojarasca que se genera en las plantaciones de cacao, las mismas que facilitan el mantenimiento y enriquecimiento del microorganismo del suelo porque participan en el ciclo de nutrientes y de la materia orgánica. Entonces, la función de los microorganismos en el suelo, es permitir que las actividades microbianas se expresen de manera eficaz como indicador en la calidad y salud del suelo (Rodríguez et al. 2022).

Para Guerrero (2020) los millones de microorganismos del suelo se vinculan de forma positiva y negativa a las plantas, es así que los cultivos de cacao (*Theobroma cacao* L) no son la excepción, dado a que estos microorganismos presentan diversas funciones como ser fuente de nitrógeno en el suelo, ayudan en el crecimiento de las plantas, contribuyendo a la sustentabilidad de todos los ecosistemas, ya que son los principales agentes del ciclado de la materia orgánica del suelo y del secuestro de carbono.

Abad et al. (2019) establecen que existen alrededor de 243,059 ha sembradas de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) en el Ecuador, por tal motivo, está siempre sometido a diferentes controles de calidad, para establecer los niveles máximos de metales pesados, ejemplo: el cadmio (Batista et al., 2019).

2.6.3. CARACTERÍSTICAS EDAFOCLIMÁTICAS DEL CACAO

De acuerdo con Rodríguez et al. (2022), el conocimiento de los microorganismos y sus actividades es importante para relacionarlas con las diferentes características de las plantaciones de cacao, porque brinda la oportunidad de una mejor gestión en la calidad del suelo. Considerando que la función principal de los microorganismos en los suelos es servir como indicadores de salud.

Leiva (2013) señala que los microorganismos como las bacterias y hongos son utilizados para el análisis de las condiciones de la rizósfera de los cultivos de cacao. Por lo tanto, Varas (2020), indica que para una adecuada producción del cultivo de cacao se necesitan de buenas condiciones medioambientales, los factores climáticos tienen gran influencia debido a los factores de humedad y térmicos. A partir, de lo expuesto se presenta el cuadro con las características edafoclimáticas del cacao en el suelo:

Tabla 2.7. Características edafoclimáticas del cacao en el suelo.

. Características Edafoclimáticas del cacao en el suelo	
Precipitación	Los cultivos de cacao necesitan localizarse en zonas cuya precipitación es de 1,200 mm hasta 4,000 mm; también, el volumen de las lluvias debe de brindar distribución de agua durante el año, porque estas plantaciones son sensibles a la resequedad del suelo.
Temperatura	Debido a sus orígenes en las zonas tropicales, la temperatura es un factor importante porque de él depende su desarrollo, floración y fructificación. La temperatura adecuada para las plantaciones de cacao es de 23 – 25 grados centígrados.
Viento	El viento con velocidad óptima es aquel que oscila entre 1 a 2 m/sg, en cultivos donde el viento sobrepasa los 4 mg/sg afecta las plantaciones directamente dañando las flores y hojas.
Altitud	La altitud correcta es de 0 msnm hasta 800 msnm, aunque existen cultivos que se producen en altitudes más altas de 1,000 – 1,400 msnm sin generar ningún daño a las plantas de cacao.
Luminosidad	Es otro factor importante para los cultivos de cacao, si esta es 50% menor incide negativamente en el rendimiento, pero si es 50% mayor el rendimiento de las plantaciones aumenta.
Humedad	La humedad incurre en el desarrollo fisiológico de las plantas de cacao, y deben ser de mínimo 100-120 mm, para zonas bajas, para las cálidas la más adecuada es de 1200 a 1500 mm, donde la humedad se presenta entre 70% a 80%.
Suelo	Para las plantaciones de cacao el mejor suelo son los aluviales, los cuales tienen una textura franca, con profundidad de 1 m que proporciona un anclaje de esta planta al subsuelo.
pH	El rango perfecto para este tipo de cultivo es de 6 a 6.5 de pH, este rango le permite al suelo regular la descomposición de las materias orgánicas. No obstante, el cacao se adapta a rangos extremos de pH, los cuales parte de 4.5 a 8.5.

Fuente: Noles (2020) y Varas (2020).

La información presentada en el cuadro 2.7., demuestra que los cultivos de cacao para un correcto desarrollo y rendimiento necesitan de condiciones ambientales específicas así mismo del suelo donde se va a realizar las plantaciones, porque los

factores climáticos tienen gran participación e influencia en estos cultivos, de los cuales se destacan: condiciones térmicas, humedad, luminosidad, viento, altitud, temperatura, precipitación, suelo, y pH.

2.7. CARBONO

Según Velepucha (2019) el carbono es el elemento químico más sobresaliente e importante del ecosistema, porque hace parte de los compuestos orgánicos químicos, los cuales se encuentran distribuidos en: océanos, suelo, subsuelo, y atmósfera, la cual es un intercambio entre el suelo y la atmósfera donde se realiza como resultado la fotosíntesis, respiración y emisiones antrópicas originando un ciclo.

Por su parte, Zabala y Vega (2021) en su trabajo de investigación manifiesta que el carbono está presente en los diferentes suelos naturales, su combinación con átomos como el nitrógeno, oxígeno e hidrógeno lo hace ser la base estructural de todas las moléculas orgánicas. Es decir, el carbono está presente y forma parte de todo ser vivo en la Tierra.

2.7.1. CARBONO ORGÁNICO EN LOS SUELOS

Las afirmaciones de Salazar et al. (2020), sostienen que el carbono orgánico del suelo (COS) es un factor clave para el diagnóstico de la calidad del suelo. Mientras que Muñoz et al. (2021) expone que el carbono orgánico es un componente indispensable para la regulación del clima y el mantenimiento de la estabilidad al suelo, debido que contiene los nutrientes de plantas, biodiversidad del suelo y la facultad de retener agua, ayudando al desarrollo del hábitat de los organismos edáficos.

Los estudios de Burbano (2018), aseguran que el carbono en el suelo se divide en cuatro reservorios, dos grandes de los cuales uno es inorgánico y el otro orgánico. También, existen dos con menor participación, el cual es atmosférico que se encuentra en el aire del suelo y el que se localiza en solución, en definitiva, la dinámica del carbono en el suelo tiene mucha influencia en la actividad biológica,

demanda compuestos orgánicos, interacción mineral del suelo, principalmente en los arcillosos, los cuales son aptos para las plantaciones de cacao.

El carbono orgánico es un elemento que tiene un rol importante en la biodiversidad, fertilidad y productividad del suelo, donde este factor se obtiene del carbono atmosférico al momento de la fotosíntesis de las plantas, las cuales en este proceso insertan el carbono orgánico con sus raíces, también, se obtiene de fuentes de residuos vegetales, y de animales convirtiéndose, en indispensable para el ecosistema, así mismo actúa como regulador del clima, suministro de agua, entre otros factores esenciales para el bienestar de los seres humanos (Fandiño et al., 2019).

2.7.2. CAPTACIÓN DE CARBONO EN EL SUELO

Para Martínez et al. (2008) en el suelo existe una gran cantidad de materia orgánica que permite la entrada del carbono, siendo las principales la materia vegetal y los residuos de cultivos como es el caso de las plantaciones de cacao, es así, que entre mayor sea el crecimiento vegetal más será el ingreso del carbono. Desde esta perspectiva, se establece que los microorganismos son importantes por su rol de liberar el carbono orgánico al suelo, a descomponer la materia orgánica.

En las investigaciones de Carvajal y Andrade (2020), se expone que los cambios del uso del suelo son aspectos claves para un balance global de carbono y se muestran como una opción para la creación de proyectos que buscan mitigar el cambio climático. Es así que el Carbono (C) que está presente en los suelos son capturados por los microorganismos a través de procedimientos metabólicos como la respiración, por lo tanto, la captación del C haciendo uso del suelo hoy en día esto implica una oportunidad para disminuir las emisiones de gases con efectos invernadero (Hernán, 2019).

Desde la perspectiva de Yellen (2017) para el año 2050 la captación y almacenamiento del carbono del suelo conformará alrededor del 13% de la reducción necesaria en la emisión para poner un alto al calentamiento global. Cuando se habla de captación es obtener carbono de procesos para luego liberarlo

a la atmósfera, la cual se almacenará en mayor cantidad bajo la tierra (Tacarpo, 2018).

2.7.3. FRACCIONES DE CARBONO ORGÁNICO EN EL SUELO

De acuerdo con Salazar et al. (2020), el fraccionamiento de carbono orgánico en el suelo se puede medir mediante métodos físicos y químicos, lo cual ayuda a la caracterización. Según Martínez y Ortega (2021), el carbono orgánico en el suelo depende del equilibrio de este y de los gases resultados de la respiración aeróbica o anaeróbica del suelo, tales como: CO₂ o CH₄, generados de la mineralización desarrollada por microorganismos en las diversas fracciones de materia orgánica, dando paso a las siguientes fracciones de Carbono:

Desde esta perspectiva, Martínez y Ortega (2021) determinan que existen métodos de evaluación de fracciones de carbono en el suelo, los directos e indirectos. Los métodos directos más conocidos son determinación de carbono orgánico total o materia orgánica. Entonces el carbono orgánico total se puede medir por combustión seca, mediante una digestión ácida en presencia de dicromato de potasio.

Por otra parte, el carbono de la biomasa microbiana, se relaciona con el contenido de materia orgánica lábil del suelo, es parte de los componentes vivos, donde este método da respuestas rápidas a los efectos de recuperación de suelos. Finalizando con el método de fraccionamiento, de carbono en ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, y huminas que es mediante la extracción alcalina del suelo (Martínez y Ortega, 2021).

Blasco y Burbano (2015) y Burbano (2018) señalan que la materia orgánica del suelo se divide en fracciones de biosfera encontradas en la pedosfera. Sus componentes tienen origen eucariota y procariota con productos metabólicos orgánicos. Galicia et al. (2016) mencionan que el carbono orgánico del suelo y la materia orgánica del suelo tienen dos fracciones. La primera de tipo lábil que es susceptible a la descomposición y mineralización, tiene materiales que son escasos en el suelo, ejemplo los residuos de las plantas y microorganismos en estado de descomposición. Y la segunda es recalcitrante – estable, su participación es

mayoritaria debido a las sustancias húmicas y lenta descomposición, gracias al peso molecular, así como las estructuras más complejas, un ejemplo son los minerales del suelo.

2.7.4. CICLO DEL CARBONO

Las conceptualizaciones de Santías (2020) determinan que el ciclo del carbono es un proceso biogeoquímico en donde se detallan los movimientos del carbono mediante la biosfera, litosfera, atmósfera e hidrosfera donde carbono es uno de los factores más abundantes del planeta, donde su ciclo puede ser biológico, aquí controla los intercambios con la atmósfera y fotosíntesis de las plantas, así como su respiración. En lo que respecta al biogeoquímico, se encarga de controlar el intercambio de CO₂ por medio de la biosfera y del subsistema.

Según Chacho (2019), el ciclo del carbono se divide en varias etapas: La producción es la emisión de carbono, aquí la biosfera exhala en el proceso de respiración CO₂ y expulsa en los estados de descomposición y fermentación. Asimismo, Tapia (2019) indica que, con la síntesis de carbono y la fotosíntesis, las plantas realizan su proceso, retirando el carbono de la atmósfera y transformando las moléculas complejas.

Finalmente, está el fijado, aquí ocurre el almacenamiento de los sumideros de carbono, esto se almacena en los depósitos naturales o artificiales los cuales capturan el carbono en la atmósfera, un ejemplo de esto son los océanos, las rocas sedimentarias calizas, la biomasa animal y vegetal, los yacimientos de recursos fósiles como carbón, gas natural, petróleo. Si estos almacenamientos son destruidos se eleva la concentración de carbono en la atmósfera (Parada, 2017).

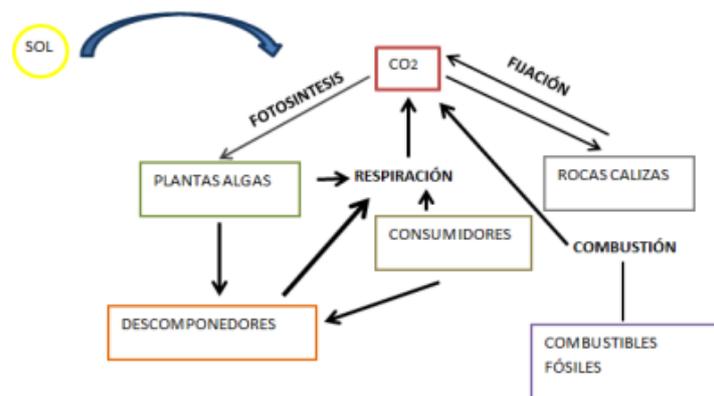


Figura 2.1. Ciclo del carbono.
Fuente: Chacho (2019) p. 20.

Desde lo expuesto a través de las inferencias citadas, se define al ciclo del carbono como aquel proceso que permite que este elemento pueda intercambiar entre la biosfera, litosfera, hidrosfera y la atmósfera del planeta. Al conocer el funcionamiento y las etapas del ciclo de carbono se logra comprender las implicaciones que tienen la intervención humana en el clima y su incidencia en el cambio climático.

2.7.5. PRINCIPIOS DE CICLO MICROBIANO DEL CARBONO

De acuerdo a Gómez (2017), en la mayoría de los suelos, existen microorganismos los cuales dominan e influyen en el componente biológico y dan respuestas rápidas a los cambios del entorno donde son importantes y necesarios para las diversas funciones del suelo, que actúan en las reacciones metabólicas que dirigen las fuerzas motrices para el abastecimiento de energía y nutrientes. Es así que la degradación de la materia orgánica del suelo forma parte de los microorganismos heterotróficos, y según su tasa de descomposición muestra el nivel de actividad microbiana en el suelo (Paolini, 2018).

Monsalve et al. (2017) dan a conocer técnicas, donde las más reconocidas son la descomposición o mineralización que ayuda a medir el consumo del O_2 y el desprendimiento del CO_2 , además de su determinación en escenarios controlados de laboratorio, se le denomina actividad microbiana. Partiendo desde la idea de que la respiración de los microorganismos es el eslabón principal para cerrar el ciclo del carbono en los ecosistemas de tipo terrestres, devolviéndole a la atmósfera de manera de CO_2 (Gómez, 2017, p. 20).

Guzmán (2017) indica que la cantidad de microorganismos que participan en el ciclo del carbono es mayoritaria cuando forma parte del agua que, en la tierra, por tal motivo, el ciclo del carbono se divide en dos etapas la asimilación y desasimilación, siendo la primera un resumen de la materia orgánica y desarrollo de compuestos carbonados y la segunda es la degradación de las sustancias de respiración proveniente de animales y plantaciones heterótrofos.

Para mayor comprensión del tema se cita los aportes de Contreras (2021), quien establece que la evolución de los aspectos que miden el crecimiento de los microorganismos y sus principios se dan por cuatro fases la latencia es la adaptación de los microorganismos al medio:

- La fase exponencial, sucede cuando los microorganismos se multiplican de manera rápida en corto tiempo.
- La fase estacionaria, aquí los microorganismos producen una acumulación de metabolitos debido a la escasez de nutrientes.
- Finalizando, con la muerte, cuando las condiciones no son las mejores para la generación de nuevas células.

Los factores que influyen en el crecimiento de estos son: nutrientes, pH, temperatura, humedad, tiempo y oxígeno, cualidades que se encuentra en el suelo, demostrando así la relación con el objeto de investigación, evaluar la captación de carbono mediante microorganismos autóctonos en plantaciones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) (Contreras, 2021).

2.7.6. CAPTURA DEL CARBONO EN EL SUELO

Según las investigaciones de Tacarpo (2018) el suelo realiza una función importante en el ciclo del carbono y se representa con una fuente relevante de CO₂, además, de otros gases con efecto invernadero en la atmósfera. Por otro lado, Clara et al. (2017) indican que la cantidad total de carbono orgánico que está en el suelo es superior al CO atmosférico, se establece que de 1,500 Pg de carbono a 1 m de profundidad que está en la atmósfera. La captura del carbono en el suelo, en concordancia con el Protocolo de Kyoto produce mayor fertilidad del suelo y productividad en la tierra.

A partir de lo descrito, Fernández et al. (2018), estipulan que la captura del carbono orgánico del suelo es uno de los temas más estudiados en los últimos tiempos, debido que se busca evaluar la capacidad de almacenamiento de este elemento tanpreciado, para mitigar el efecto del cambio climático, en otras palabras, la captura del carbono del suelo es la remoción del carbono de la atmósfera a través de la fotosíntesis de las plantas y su acumulación con diversas formas de materia orgánica estables que tienen larga vida en el suelo teniendo presente, que el 40% del carbono está en el suelo.

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

El presente estudio se desarrolló en dos áreas de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, en el sitio "El Limón" del Cantón Bolívar, provincia de Manabí. En primera instancia se procedió a la toma de muestras de suelo de los cultivos de cacao nacional, localizados en la Carrera de Ingeniería Agrícola (figura 3.1) y posteriormente, se aplicaron los tratamientos en los laboratorios de microbiología ubicados en la Carrera de Medicina Veterinaria (figura 3.2), todo ello bajo las siguientes condiciones climatológicas (tabla 3.1):

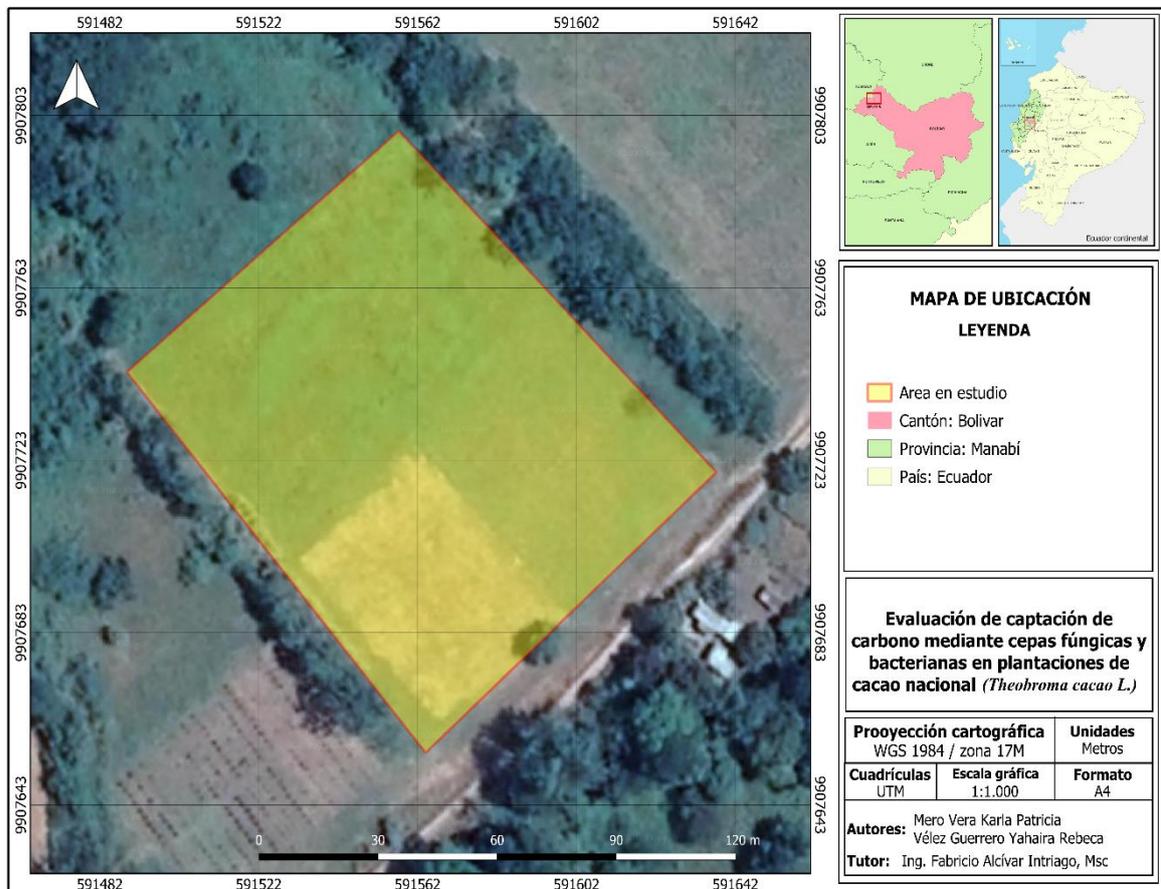


Figura 3.1. Ubicación del área de toma de muestras de suelo.

Fuente: Instituto Geográfico Militar Ecuador IGM, (2022).

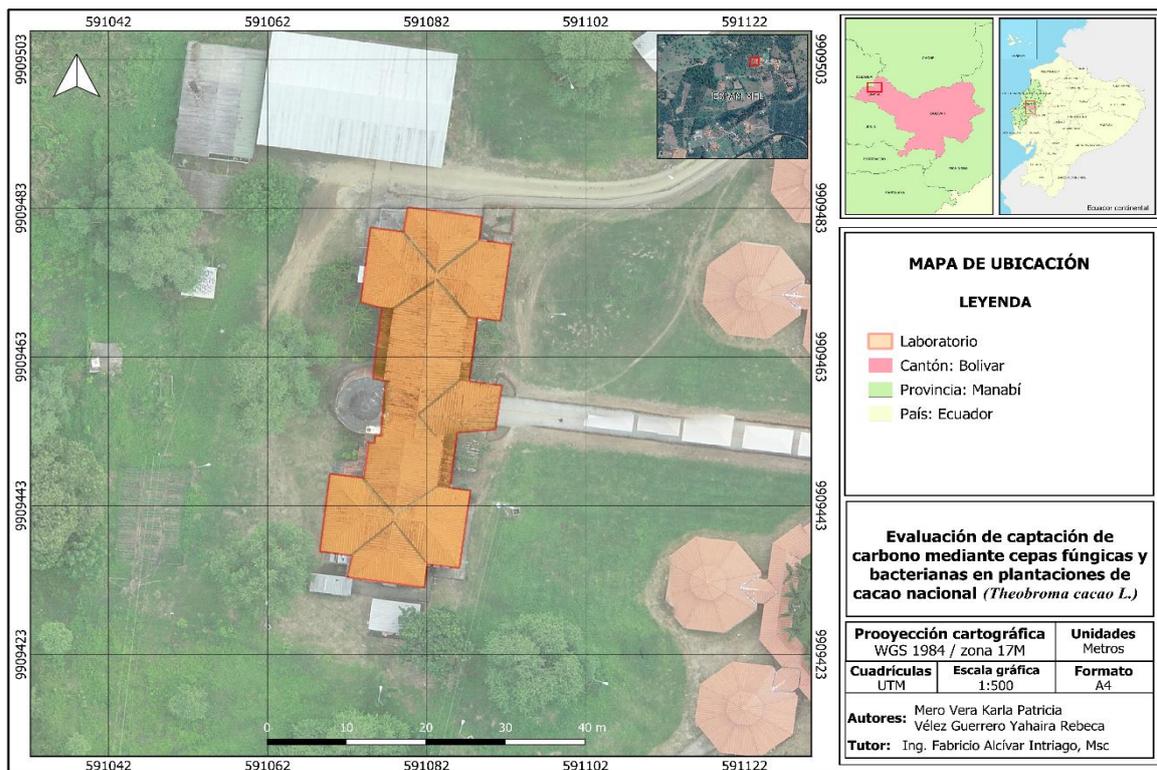


Figura 3.2. Ubicación de los laboratorios de microbiología de la ESPAM MFL.
Fuente: Instituto Geográfico Militar Ecuador IGM, (2022).

Tabla 3.1. Características Climatológicas del Campus Politécnico.

Características	Campus Politécnico
Coordenadas geográficas	Sur: 0°49'8.87" Oeste: 80°10'53.03"
Altitud	15 msnm
Temperatura	Mínima: 31,11 °C Máxima: 20,60 °C
Precipitación	624 mm
Humedad relativa	82,42 %

Fuente: Valdivieso et al. (2021)

3.2. DURACIÓN

La investigación abarcó un período de 9 meses, iniciando desde la aprobación del proyecto de planificación de integración curricular, subdividiéndose en dos fases. En la primera fase se logró la activación de cepas fúngicas y bacterianas de microorganismos en un entorno de laboratorio. La segunda fase, se centró en el despliegue de la aplicación de estos microorganismos en el cultivo de cacao, con un enfoque específico en determinar su impacto en la captación de carbono y nutrientes del suelo.

3.3. MÉTODOS

3.3.1. MÉTODO BIBLIOGRÁFICO

El método utilizado en esta investigación se centró en la recopilación de información de manera ordenada y sistemática, específicamente dirigida a las variables clave involucradas en el estudio como son los microorganismos (hongos y bacterias), la captación de carbono en plantaciones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) y los parámetros químicos del suelo, el presente método se aplicó de manera precisa y eficiente a los elementos centrales del presente estudio, lo que contribuyó a una comprensión más profunda y significativa en el tema de investigación (Hurtado, 2020).

3.3.2. MÉTODO ANALÍTICO SINTÉTICO

Este enfoque metodológico se empleó para descomponer el objeto de estudio, realizar analogías y llevar a cabo los experimentos destinados a la captación de carbono. Además, se utilizó para establecer nuevas teorías abordando cada una de las partes y variables de manera individual. Posteriormente, se llevó a cabo un análisis holístico e integral, buscando comprender plenamente la esencia de la totalidad del objeto de estudio, incorporando tanto sus partes como sus particularidades (Jiménez, 2015).

3.3.3. MÉTODO ESTADÍSTICO

La aplicación del método estadístico en esta investigación se centró en la operativización de la información cuantitativa relacionada con la captación de carbono en plantaciones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.). A lo largo de las diferentes etapas de la investigación, se utilizaron varias pruebas estadísticas, incluyendo el test de Barrelt y Shapiro Wilks para evaluar la homogeneidad y normalidad de los datos, el análisis de varianza (ANOVA) para analizar las diferencias en la captación de carbono entre grupos y el test de Tukey para identificar diferencias significativas (Palomares, 2017).

3.4. TÉCNICAS

3.4.1. TÉCNICAS DE LABORATORIO

Las técnicas de laboratorio desempeñan un papel fundamental en la investigación científica, facilitando la síntesis y el análisis en los campos de la química orgánica y bioquímica, estos métodos son considerados estándar, estableciendo procedimientos reconocidos que permiten a los investigadores llevar a cabo experimentos y analizar sustancias de interés (Rúa y Tamayo 2012). Para las actividades de laboratorio, se emplearon técnicas microbiológicas como la activación de microorganismos, en donde se activaron las cepas de microorganismos (hongos y bacterias) previamente aislados, adicionalmente se empleó la reproducción de microorganismos, en donde se realizó la multiplicación de las cepas de activadas.

3.5. UNIDAD EXPERIMENTAL

La unidad experimental en el contexto de este estudio se configuró utilizando 16 recipientes plásticos tipo vaso, estos recipientes se distribuyeron de manera equitativa en cuatro conjuntos, cada uno asociado con un tratamiento específico y sus correspondientes repeticiones (Tabla 3.2).

Tabla 3.2. Tratamientos declarados en la investigación.

Tratamientos	Código	Concentración	Dilución de concentración	Rep.	Recipiente plástico por Tratamientos
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	T1	1 x 10 ⁸ ufc/ml	1 ml Pellet M.O/99ml de agua peptona	4	4
<i>Trichoderma reesei</i>	T2	1 x 10 ⁶ ufc/ml	1 ml Pellet M.O/99ml de agua peptona	4	4
<i>Bacillus subtilis</i>	T3	1 x 10 ⁸ ufc/ml	1 ml Pellet M.O/99ml de agua peptona	4	4
<i>Bacillus licheniformis</i>	T4	1 x 10 ⁷ ufc/ml	1 ml Pellet M.O/99ml de agua peptona	4	4
TOTAL					16

3.6. FACTOR EN ESTUDIO

Microorganismos *Trichoderma longibrachiatum* (T1), *Trichoderma reesei* (T2), y Bacterias *Bacillus subtilis* (T3), *Bacillus licheniformis* (T4).

3.7. VARIABLES

3.7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

- Microorganismo (Hongos y Bacterias).

3.7.2. VARIABLE DEPENDIENTE

- Captación de carbono en plantaciones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L).
- Parámetros químicos del suelo.

3.8. MANEJO DEL EXPERIMENTO

3.8.1. FASE I. ACTIVACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS (*Trichoderma longibrachiatum* Y *Trichoderma reesei*) Y BACTERIANAS (*Bacillus subtilis* Y *Bacillus licheniformis*), A NIVEL DE LABORATORIO EN LA ESPAM MFL

- **Actividad 1. Activación de los microorganismos aislados**

La activación de las cepas microbianas (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*) y bacterianas (*Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*) se llevó a cabo mediante el procedimiento detallado por Mendoza et al. (2017) el cual consta de los siguientes procedimientos:

- **Activación de Bacterias**

- Para activar las bacterias, se tomó una muestra de las cepas utilizando un asa de inoculación Difco™, con un volumen de 10 µl, y se introdujeron junto con 0,025 ml de agua peptona en un tubo de ensayo graduado de 25 ml HANNA®.
- Este tubo se tapó herméticamente y se agitó suavemente para asegurar una distribución uniforme de las bacterias en el medio líquido.

- Después de la activación en el medio líquido, se utilizó un asa de inoculación Difco™ estéril para transferir una pequeña cantidad de la suspensión bacteriana activada a las placas Petri Fisherbrand™ de 75x14 mm previamente preparadas con 25 g de Agar nutritivo.
- El asa se esterilizó mediante calor antes de cada transferencia, luego, se distribuyó la suspensión bacteriana sobre la superficie del Agar nutritivo de manera uniforme.
- Las placas Petri se taparon y se colocaron en una incubadora a una temperatura constante de 37°C, la incubación se llevó a cabo en condiciones de aerobiosis para permitir el crecimiento óptimo de las bacterias durante un período de 24 horas.
- Transcurrido el período de incubación, se retiraron las placas de la incubadora y se realizó la primera lectura de las colonias bacterianas. Esta lectura se efectuó mediante la observación visual de las placas con el propósito de evaluar el crecimiento y desarrollo de las bacterias.

- **Activación de Hongos**

- Se prepararon placas Petri Fisherbrand™ de 75x14 mm con 20 g de Agar Papa Dextrosa (PDA), un medio de cultivo sólido adecuado para hongos.
- Utilizando un asa de inoculación Difco™ estéril, se transfirió 10 µl de la suspensión de hongos a las placas Petri previamente preparadas con Agar Papa Dextrosa (PDA), el asa de inoculación se esterilizó mediante calor antes de cada transferencia.
- Las placas Petri se colocaron en un lugar oscuro a temperatura ambiente, este entorno oscuro replicó las condiciones óptimas para el crecimiento de los hongos.
- Luego de un período de incubación de 24 horas, se procedió a la revisión de las placas para evaluar el crecimiento y desarrollo de las colonias de hongos activadas.

- **Actividad 2. Reproducción de los microorganismos**

Para el desarrollo de la siguiente actividad se tomó como referencia al Protocolo para la reproducción de cepas nativas en laboratorios artesanales (Ministerio de Agricultura y Ganadería de Ecuador [MAG], 2014; Mero 2019):

- Se colocó con una pipeta electrónica pipet4u® 10 ml de agua (destilada y estéril) en las cajas Petri Fisherbrand™ de 75x14 mm de las cepas de microorganismos activados, con un asa de platino Parmer™ (flameada y enfriada) se hizo un ligero raspado sobre el inoculó (cuidando de no dañar el medio),
- Posteriormente se colocó la dilución de las cepas en tubos Fisherbrand™ de 15 ml para su proceso con la centrífuga Eppendorf™ a 6000 revoluciones por minutos a 4° C durante 5 minutos, obteniendo el sobrenadante de desechos producidos y el pellet dónde constan los microorganismos. í
- Luego se tomó 1 gramo del pellet de microorganismos por separado utilizando una pipeta Eppendorf™, posteriormente, se suspendió esta muestra en un matraz Pyrex™ de 250 ml que contenía 99 ml de agua peptona.
- A continuación, se procedió a ajustar la concentración de microorganismos realizando diluciones seriadas en un rango desde 10^6 hasta 10^8 .

3.8.2. FASE II. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LAS CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS EN LA CAPTACIÓN DE CARBONO EN LOS SUELOS DEL CULTIVO DE CACAO NACIONAL.

- **Actividad 3. Toma de muestra inicial.**

Para el análisis de parámetros químicos y de la prueba de respiración edáfica (Mineralización del Carbono) en muestras de suelo de cultivo de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.), de la ESPAM MFL pre aplicación de microorganismos, se realizó un muestreo de las unidades experimentales, a través de la adaptación de actividades ejemplificadas en el instructivo de toma de muestras de suelo de (Agrocalidad, 2018). Es importante destacar que, si bien se efectuó una recolección

cuidadosa de muestras de suelo, no se realizó un análisis exhaustivo de la presencia de otros microorganismos en la tierra antes de la aplicación de los microorganismos del estudio.

- En complemento al llenado de los recipientes plásticos para la distribución de las unidades experimentales, para el muestreo, se tomaron de 20 a 25 submuestras, efectuando un recorrido en zigzag que abarque todo el terreno experimental
 - Se cavó un hoyo de una profundidad de 20 cm con las paredes inclinadas (corte en V).
 - De una de las paredes del hoyo, se sacó una tajada de suelo de 5 cm de grosor.
 - Con un cuchillo se eliminaron los extremos laterales del bloque de suelo, dejando una tajada de 5 cm de ancho.
 - Se colocaron las submuestras en un balde plástico y se procedió a homogeneizarlas.
 - Se esparcieron las muestras sobre una lona en una superficie nivelada y limpia para realizar el proceso de cuarteo hasta recolectar alrededor de 1 kg de muestra representativa.
 - Las muestras recolectadas se introdujeron en fundas plásticas totalmente herméticas para su envío con el fin de evitar la pérdida de humedad.
 - El tiempo transcurrido entre la recolección de la muestra y el envío al Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas y Aguas del (INIAP), en la Estación Experimental Tropical Pichilingue en la ciudad de Quevedo fue de 3 días.
- **Actividad 4. Preparación de Unidades experimentales.**

Para la distribución de las unidades experimentales, se procedió al llenado de recipientes plásticos tipo vasos de 907 g con muestras de suelos del cultivo de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) provenientes de la carrera de Ingeniería Agrícola de la ESPAM MFL, después de completar el llenado de los recipientes, se

procedió a etiquetar y dividir según cada tratamiento (Anexo 1), para posteriormente colocarlas en un entorno con iluminación natural y temperatura ambiente.

- **Actividad 5. Aplicación de los microorganismos**

Para la aplicación de los microorganismos en las unidades experimentales, se siguieron los procedimientos detallados por (Bazán, 2017; Torres, 2016; Pastor et al., 2015).

- La aplicación de los tratamientos se realizó utilizando una botella plástica tipo spray graduada de 150 ml, se aplicaron 100 ml de la suspensión de microorganismos por tratamiento, dividiendo la concentración en 0,25 ml.
 - Las macetas se mantuvieron en un entorno adecuado y controlado, con iluminación natural, a temperatura ambiente de 20-25°C.
 - Se proporcionó un riego constante a las macetas para mantener la humedad del 50 al 70 % requerida para la actividad de los microorganismos.
 - Se revisó las macetas y los microorganismos, una vez al día, a lo largo de toda la duración del experimento, hasta que se completaran los análisis previstos.
- **Actividad 6. Aplicación del método de respiración edáfica (Mineralización del Carbono)**

Se aplicó el análisis de la prueba de respiración edáfica (Mineralización del Carbono) a las muestras de suelo obtenidas de las unidades experimentales, este procedimiento se realizó siguiendo las pautas descritas en Arenas (2019):

- Se procedió a pesar 44 g de suelo húmedo (sin aplicación de tratamientos) en una balanza de precisión Kern®, y se vació el suelo pesado en frascos de vidrios herméticos de 100 ml, con su respectivo rotulado.
- Se pesó en dos partes 500 ml de agua destilada en un vaso de precipitación Duran Schott® de 600 ml y se los colocó en el agitador y

se agregó 8 g de pastillas de ácido de hidróxido de sodio en cada vaso de precipitación.

- El contenido de los vasos de precipitación se colocó en un matraz Erlenmeyer Fisherbrand™, rotulado con el nombre de “Hidróxido de sodio (NaOH 0,25 N).
- Para la titulación, en un vaso de precipitación Duran Schott® de 600 ml se agrega 500 ml de agua destilada, mediante una pipeta graduada Blaubrand™ se toma 4.6 de ácido clorhídrico al vaso de precipitación.
- Posteriormente, se vació el contenido del vaso de precipitación a un matraz Erlenmeyer Fisherbrand™, rotulados con el nombre de ácido clorhídrico (HCl 0.1 N).
- A los frascos con muestras de suelo rotulados, se les agregó un poco de agua esterilizada para humedecer.
- Posteriormente, se agregaron 10 ml de hidróxido de sodio a estos frascos. Luego, se cerraron herméticamente y se colocaron en un congelador a una temperatura de 25°C durante 24 horas.
- Periódicamente fueron retiraron los viales con Hidróxido de sodio (HCl 0.1 N) para realizar la estimación del CO₂ desprendido en la respiración, se vació el contenido de cada vial en un matraz Erlenmeyer Fisherbrand™ de 250 ml y se le añadió 3 ml de ácido clorhídrico (HCl 0.1 N) y 1 gota de fenolftaleína, con el fin de precipitar todo el CO₂ absorbido hasta que perdiera el color rosa, quedando blanco.
- Para estudiar la evolución de la respiración se ubicó nuevamente un vial con otros 10 ml Hidróxido de sodio (HCl 0.1 N), y se refrigeró a 25°C por 24 horas por 7 días seguidos, dosis a las cuales se les determinó la concentración del CO₂ con la concentración del ácido clorhídrico dispuesta en la revisión inicial.

- **Actividad 7. Análisis post tratamientos.**

La determinación del efecto de los tratamientos en los suelos de cultivos de cacao nacional de la ESPAM MFL, se realizaron a los 7 días posteriores a las aplicaciones de los tratamientos, dado que se genera una óptima actividad biológica en el suelo, incrementando la captación de carbono (Guerrero et al., 2012). Se aplicaron cuatro evaluaciones semanales de las variables químicas del suelo (tabla 2.5) mediante análisis de laboratorio explicado en instancias anteriores, así también se utilizó la prueba de respiración edáfica (Mineralización del Carbono) con evaluaciones semanales, mismo que se realizaran mediante el procedimiento anterior descrito para revisión inicial por cada aplicación de los tratamientos.

Los resultados obtenidos en las instancias anteriores, fueron procesadas mediante análisis estadísticos como los supuestos de normalidad de datos (Shapiro Wilks), homogeneidad de varianzas (Test F), análisis de varianzas (Anova y Kruskal Wallis) y verificación de diferencias significativas (Test Tukey) con un valor de probabilidad del 5%.

3.9. DISEÑO EXPERIMENTAL

En este estudio, se implementó un diseño completamente al azar (DCA) (Anexo 1) con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones, los tratamientos evaluados incluyeron la aplicación de hongos *Trichoderma longibrachiatum* (T1) y *Trichoderma reseei* (T2), así como bacterias *Bacillus subtilis* (T3) y *Bacillus licheniformieei* (T4). Para efectuar el análisis estadístico pertinente, se instauró un diseño de análisis de varianza (ANOVA), tomando en consideración el siguiente esquema.

Tabla 3.4. Esquema de análisis de varianza del DCA.

Fuentes de variación	Grados de libertad
Tratamientos	3
Error experimental	12
Total	15

3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico correspondiente, se sometieron inicialmente las variables de Parámetros Químicos y Captación de Carbono del Suelo a pruebas de normalidad de la varianza, empleando la prueba de homocedasticidad (Test F) y la prueba de normalidad de los errores (Shapiro-Wilks). Los resultados de estas pruebas determinaron la aplicación del (ANOVA), complementado con comparaciones múltiples de las medias mediante el método de Tukey, con un nivel de significancia del 5%. Los datos fueron registrados y tabulados mediante software Microsoft Excel (365) y se procesaron mediante el software estadístico InfoStat v2020.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. ACTIVACIÓN DE LAS CEPAS FÚNGICAS (*Trichoderma longibrachiatum* Y *Trichoderma reesei*) Y BACTERIANAS (*Bacillus subtilis* Y *Bacillus licheniformis*), A NIVEL DE LABORATORIO EN LA ESPAM MFL

Se logró el cumplimiento del objetivo, al activar con éxito las cepas fúngicas (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*) y bacterianas (*Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*) en el laboratorio de la ESPAM MFL. Las cepas activas mostraron un crecimiento y características funcionales adecuadas, mismo que se sustenta en la capacidad de las cepas para crecer activa y saludablemente en los medios de cultivo específicos, así como en la observación de características morfológicas y funcionales distintivas (Tabla 4.1)

Tabla 4.1. Comprobación de la viabilidad de las cepas.

Microorganismo	Medio de Cultivo	Crecimiento de colonias	Características morfológicas
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Agar Papa Dextrosa	La formación de micelios densos y colonias de color blanco en el agar papa dextrosa fueron indicadores de un crecimiento saludable de <i>T. longibrachiatum</i> y <i>T. reesei</i> . La profusa formación de conidios confirma la viabilidad y reproducción activa de las cepas fúngicas.	Los hongos presentaron capacidad para producir enzimas amilolíticas mediante la formación de halos de degradación alrededor de las colonias en el agar. Esta actividad enzimática fue un indicador de la viabilidad metabólica y funcional de las cepas.
<i>Trichoderma reesei</i>			
<i>Bacillus subtilis</i>	Agar Nutritivo	Ambas cepas, <i>B. subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> , presentaron una pureza adecuada a través de la tinción Gram, además, exhibieron un crecimiento robusto en el agar nutritivo, formando colonias bien definidas después de 24 horas de incubación.	La morfología de las colonias fue lisa para <i>B. subtilis</i> y rugosa para <i>B. licheniformis</i> . Se observó una diferencia en las características macroscópicas de las colonias en agar nutritivo. <i>B. subtilis</i> formó colonias de color blanco cremoso, mientras que <i>B. licheniformis</i> presentó colonias amarillentas, lo que determinó una adaptación adecuada de las cepas al medio de cultivo.
<i>Bacillus licheniformis</i>			

Nota: La viabilidad de las cepas activadas, se determinaron de acuerdo a las estimaciones de Urcia y Guevara (2002) y Calvo y Zúñiga (2010)

Los resultados de la reproducción de los microorganismos, presentaron una alta viabilidad celular, para las bacterias (*Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*), se obtuvieron valores de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) superaron las 10^8 UFC por mililitro, mientras que, para los hongos (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*), se observaron cifras que superaron las 10^6 UFC por mililitro.

Los valores de UFC obtenidos durante esta fase de activación y reproducción de cepas fúngicas y bacterianas se encuentran en línea con investigaciones anteriores realizadas en el campo de la microbiología, estudios previos, como el llevado a cabo por Bolaños et al. (2014) y Bampidis et al. (2023) demostraron que cepas similares de *Trichoderma* obtuvieron de 10^6 a 10^8 UFC por mililitro. En complemento, investigaciones como las de Hernández et al. (2019) y González et al. (2023) obtuvieron de 10^8 a 10^{10} UFC por mililitro para cepas de *Bacillus*.

Los parámetros obtenidos, demuestran de forma concluyente la efectividad de las técnicas de conservación empleadas en la preservación de las cepas, ya que las UFC obtenidas indican una población microbiana saludable (Domínguez et al., 2019). La combinación de una alta viabilidad celular y una capacidad de reproducción significativa ha sido fundamental para garantizar el éxito de la activación de estas cepas, lo que resulta en su plena utilidad para futuras aplicaciones en el ámbito agrícola y ambiental (Morocho y Leiva, 2019).

4.2. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LAS CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS EN LA CAPTACIÓN DE CARBONO EN LOS SUELOS DEL CULTIVO DE CACAO NACIONAL.

4.2.1. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y CAPTURA DE CARBONO DEL SUELO PRE-TRATAMIENTO.

Los datos presentados en la (tabla 4.2) ofrecen una visión detallada del estado inicial del suelo, en términos generales, se identifican variabilidades en los parámetros químicos examinados, con algunos valores por debajo de los límites establecidos, otros en rangos intermedios y algunos que superan los estándares

establecidos por el Laboratorio de Suelos, Tejidos y Agua del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).

Tabla 4.2. Parámetros químicos iniciales del suelo del área de estudio.

Parámetros	Pre Aplicación	Parámetros de interpretación (INIAP)			Medida		
		Bajo (B)	Medio (M)	Alto (A)			
Amonio (NH ₄)	8 B	< 12,0	12,1 - 30,0	> 30,1	ppm		
Fósforo (P)	66 A	<1,0 - 7,0	8,0 - 14,0	> 15			
Potasio (K)	0,98 A	< 0,20	0,21 - 0,40	> 0,41	Meq/100ml		
Calcio (Ca)	11 A	< 2,0	2,0 - 4,0	> 4,1			
Magnesio (Mg)	1,0 M	< 0,80	0,8 - 2,0	> 2,1			
Azufre (S)	15 M	< 5	5 - 15	> 16	ppm		
Zinc (Zn)	1,0 B	3,0	3,1 - 7,0	> 7,1			
Cobre (Cu)	2,6 M	1,0	1,1 - 4,0	> 4,1			
Hierro (Fe)	13 B	20,0	21,0 - 40,0	> 41,0			
Manganeso (Mn)	3,2 B	5,0	5,1 - 15,0	> 15,1			
Boro (B)	0,55 M	< 0,2	0,2 - 0,6	> 0,6			
Materia Orgánica (M.O)	7 A	< 3,0	6,0 - 3,1	> 6,1	%		
Parámetros	Pre Aplicación	Muy Acido (Mc)	Acido (A)	Neutro (N)	Alcalino (A)	Muy Alcalino (Al)	Medida
pH	6,7 N	< 5,0	5,1 - 6,4	6,5 - 7,5	7,5 - 7,9	> 8	Acidez-Alcalinidad

Fuente: Laboratorio de suelos, tejidos y agua; Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP)

ppm: Partes por millón

Meq/100ml: Miliequivalentes por 100 mililitros

(%): Porcentaje

La toma de muestras del suelo inicial en términos generales muestra un pH ideal para suelos de cacao suele oscilar entre 6.0 y 7.5 (Van et al., 2015). En cuanto, a los niveles de nutrientes, estos varían de acuerdo al genotipo de cacao, de acuerdo a Cuenca et al. (2019) el porcentaje idóneo de nutrientes para suelos de cacao nacional fino de aroma es de 10 a 25 ppm para (N), de 15 ppm para (P) y 40 ppm para (K).

Medidas elevadas de (N) de >30 ppm provoca un crecimiento excesivo de hojas y ramas, reduciendo la producción de frutos y aumentar la susceptibilidad a enfermedades, por otro lado, el exceso de (P) de > 20 ppm reduce la absorción de otros nutrientes provocando deficiencias nutricionales (Fernández et al., 2016). Además, el exceso de (K) con parámetros de > 45 ppm disminuye la

absorción de (Ca) y (Mg), lo que afecta negativamente la calidad del fruto (Herrera et al., 2022).

El porcentaje de materia orgánica en el suelo se ha medido en un 7%, lo cual cumple con los requisitos específicos para suelos destinados al cultivo de cacao Nacional en Ecuador, que exigen un contenido de materia orgánica superior al 2% (Barrezueta, 2019). Estos niveles son esenciales para garantizar la productividad de las parcelas de cacao, ya que la calidad del suelo es un factor crítico que depende de sus características físicas, químicas y biológicas (Paredes et al., 2022). Además, la materia orgánica desempeña un papel fundamental al permitir la fijación eficiente del carbono mediante microorganismos beneficiosos, lo que a su vez contribuye al mantenimiento de la salud y la fertilidad del suelo (Julca, 2006).

4.2.2. CAPTURA DE CARBONO

Posterior a la recopilación de los resultados del análisis químico inicial, se prosiguió a evaluar la captura de carbono del suelo sin la adición de los tratamientos. Esta evaluación inicial (tabla 4.3) proporciona una línea base para reconocer el estado actual de la actividad microbiana y su capacidad para la captura de carbono.

Tabla 4.3. Captura de carbono sin adición de microorganismos.

Áreas pre-tratamientos	Parámetros iniciales de la captura de carbono (mg*kg-s)	Parámetros de interpretación, clasificación agronómica		
		Bajo	Medio	Alto
Muestra 1	28			
Muestra 2	28			
Muestra 3	26	< 0.35	1.05 - 2.30	>3.5
Muestra 4	26			

Fuente: Respiración edáfica aplicado por autoras.

mg*kg-s = miligramos por kilogramo de suelo

Nota: Los rangos establecidos para la interpretación de la captura de carbono se tomaron de los estudios de Rodríguez y Rodríguez (2015) y Pérez et al. (2021).

Se observa que la captación de carbono de los microorganismos existentes las muestras de suelo antes de la aplicación de las experimentaciones, presentan una capacidad adecuada de captura de carbono antes de aplicar los microorganismos con 26 a 28 mg*kg-s. Esta aseveración se remarca puesto que

estudios previos han reportado niveles de consumo de carbono similares en la retención del carbono atmosférico en forma de materia orgánica.

Ortiz (2019) mediante su estudio en plantaciones de cacao criollo en ecosistemas tropicales mantuvo un promedio de absorción de carbono en suelo de 35.92 mg*kg-s, logrando obtener valores máximos de 50,27 mg*kg-s en ciertas áreas del terreno experimental. Por su parte Mohammed et al. (2017) presentó índices superiores con capturas de carbono que oscilaba de entre 50 y 100 mg*kg-s. En el plano local, en un estudio realizado Barrezueta (2019) en la provincia de El Oro, Ecuador, se encontró que los suelos cultivados con cacao nacional fino de aroma almacenan carbono en diferentes cantidades que oscilaban de 33,09 a 45,55 mg*kg-s.

Según los resultados obtenidos, se demuestra que el suelo presenta una capacidad notable para retener carbono atmosférico y para mantener una fertilidad óptima en las plantaciones incluso antes de aplicar los tratamientos, esto mejora la estabilidad estructural del suelo y promueve la formación de agregados que aseguran suficiente aireación y fijación de nutrientes en el suelo para promover el crecimiento de la planta (Lefevre et al., 2017).

4.2.2. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y CAPTURA DE CARBONO DEL SUELO POST-TRATAMIENTOS

Posterior a la aplicación de los microorganismos, se realizó la determinación del efecto de los tratamientos en los suelos de cultivos de cacao nacional de la ESPAM MFL. Los resultados obtenidos (Tabla 4.3) revelan variabilidades considerables en los parámetros químicos del suelo ante los parámetros iniciales, al analizar los parámetros obtenidos, no se observa una tendencia clara que indique que algún tratamiento en específico haya tenido una incidencia significativa ($p > 0,05$) sobre las variables estimadas (Anexo 4c). Ante la falta de una tendencia marcada, la recomendación de un tratamiento particular en función de estos resultados no es posible.

Tabla 4.4. Análisis Químico de las muestras de suelo post aplicación de tratamientos.

Parámetros Químicos	Pre aplicación	T1 (<i>Trichoderma longibrachiatum</i>)	T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)	T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)	T4 (<i>Bacillus licheniformis</i>)	P-valor	Parámetros de interpretación (INIAP)			Medidas		
							Bajo (B)	Medio (M)	Alto (A)			
Amonio (NH ₄)	8 B	29 M	22 M	24 M	19 M	>0,999	< 12,0	12,1 - 30,0	> 30,1	Ppm		
Fósforo (P)	66 A	57 A	57 A	56 A	66 A	>0,999	<1,0 - 7,0	8,0 - 14,0	> 15			
Potasio (K)	0,98 A	1,79 A	1,87 A	2 A	1,89 A	>0,999	< 0,20	0,21 - 0,40	> 0,41	Meq/100ml		
Calcio (Ca)	11 A	18 A	18 A	19 A	19 A	>0,999	< 2,0	2,0 - 4,0	> 4,1			
Magnesio (Mg)	1,0 M	4,1 A	5,4 A	4,7 A	5,1 A	>0,999	< 0,80	0,8 - 2,0	> 2,1			
Azufre (S)	15 M	55 A	60 A	55 A	50 A	>0,999	< 5	5 - 15	> 16			
Zinc (Zn)	1,0 B	5,8 M	6,1 M	6 M	5,6 M	>0,999	3,0	3,1 - 7,0	> 7,1			
Cobre (Cu)	2,6 M	4,8 A	4,7 A	4,4 A	5,2 A	>0,999	1,0	1,1 - 4,0	> 4,1			
Hierro (Fe)	13 B	54 A	56 A	46 A	54 A	>0,999	20,0	21,0 - 40,0	> 41,0	Ppm		
Manganeso (Mn)	3,2 B	4,8 B	4,9 B	5,8 M	5,2 M	>0,999	5,0	5,1 - 15,0	> 15,1			
Boro (B)	0,55 M	0,98 A	0,57 M	0,30 B	0,61 M	>0,999	< 0,2	0,2 - 0,6	> 0,65			
Materia Orgánica (M.O)	7 A	8	7,9	8	7,8	>0,999	< 3,0	6,0 - 3,1	> 6,1	%		
Parámetros Químicos	Pre aplicación	T1 (<i>Trichoderma longibrachiatum</i>)	T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)	T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)	T4 (<i>Bacillus licheniformis</i>)	P-valor	Muy Acido (MAc)	Acido (AC)	Neutro (N)	Alcalino (ALC)	Muy Alcalino (MAI)	Medida
pH	6,7 N	7,3 N	7,3 N	7,3 N	7,3 N	>0,999	< 5,0	5,1 - 6,4	6,5 - 7,5	7,5 - 7,9	> 8	Acidez-Alcalinidad

Fuente: Laboratorio de suelos, tejidos y agua; Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP)

ppm: Partes por millón

Meq/100ml: Miliequivalentes por 100 mililitros

(%): Porcentaje

Este panorama de variabilidad en los parámetros químicos del suelo se relaciona directamente con los niveles de PH y la complejidad de la captación de carbono en suelos agrícolas (Parent, 2017). La capacidad de retener carbono está intrínsecamente vinculada a factores como la composición de la materia orgánica, el tamaño de las partículas, la agregación del suelo y las propiedades fisicoquímicas del suelo (Wilman, 2011). En general, la correlación entre la captura de carbono y los parámetros químicos en suelos agrícolas, enfatiza la crucial importancia de mantener equilibrios adecuados en la composición del suelo para lograr una captura de carbono efectivo (Doetterl et al., 2015).

En este contexto, la comprensión detallada de los parámetros químicos se torna esencial para interpretar no solo la variabilidad observada en los resultados, sino también para proyectar cómo estos tratamientos pueden afectar la captación de carbono a lo largo del tiempo (Osorio, 2009). Por ejemplo, en investigaciones previas, como la de Ramírez et al. (2019) determinaron que la aplicación de microorganismos eficientes (EM) en suelos de cacao le permitió mejorar la captura de carbono, las propiedades físico químicas como el pH, la capacidad de intercambio catiónico del suelo y un aumento significativo de la materia orgánica.

Por otro lado, Cortez et al. (2015) y Vargas (2018) indican que la inoculación de sustratos con microorganismos eficientes (EM) mejora el desarrollo de las plantas de cacao, esto generado por la capacidad de nutrientes y el nivel de materia orgánica obtenida mediante estos. Umaña (2017) por su parte sostiene microorganismos eficientes, son componentes fundamentales para efectos de biofertilización de suelos, mediante estos presentó mejores estructuras de nutrientes y materia orgánica, representado en la eficiencia de la producción post tratamientos.

Aspectos similares reportan Obando y Vélez (2023), que con el uso de *Trichoderma longibrachiatum* y *reesei*, *Bacillus subtilis* y *licheniformis* en suelos de café bajo las mismas condiciones de estudio, obtuvieron niveles de pH, macro y micro nutrientes y materia orgánica, similares a los de la investigación por lo que no mantuvieron una tendencia clara de cual microorganismo utilizado fue

más efectivo de forma general. Estas variabilidades según Parent (2017) pudiesen estar relacionada directamente con la complejidad de la captación de carbono que mantuvieron Obando y Vélez (2023) en los parámetros de captura de carbono.

Después de evaluar los parámetros químicos del suelo, se procedió a examinar las mediciones de la captura de carbono a través de la respiración edáfica, estos datos permitieron identificar cuáles de los tratamientos aplicados contribuyeron a mejorar la capacidad de retención de carbono en el suelo de las plantaciones de cacao nacional fino de aroma. Cabe destacar que la evaluación de estos parámetros se llevó a cabo considerando supuestos de normalidad de datos (como se detalla en el Anexo 3a) y la homogeneidad de la varianza (como se muestra en el Anexo 3b), lo que garantiza la validez de nuestro enfoque estadístico, como se presenta en la (Tabla 4.5).

Tabla 4.5. Análisis de la varianza; Captura del carbono post tratamientos.

Tratamientos	Código	Primera Aplicación	Segunda Aplicación	Tercera Aplicación	Cuarta Aplicación
<i>(Trichoderma longibrachiatum)</i>	T ¹	28.75b	26.00c	21.75c	15,00b
<i>(Trichoderma reesei)</i>	T ²	29.00b	25.25bc	20.25b	12.75a
<i>(Bacillus subtilis)</i>	T ³	26.25a	23.755a	14.25a	11.25a
<i>(Bacillus licheniformis)</i>	T ⁴	27.75a	24.25ab	15.25a	12.25a
E. E	-----	0.30	0.30	0.32	0.36
C. V	-----	2,17	2,40	3,61	5,58
P-valor	-----	<0.0001*	0.0008*	<0.0001**	<0.0001**

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

E.E = Error Estándar

C.V = Coeficiente de variación.

P-Valor = Valor de Probabilidad

(mg*kg-s) = Las medias obtenidas se estiman miligramos por kilogramo de suelo

* = Significativo

** = Muy significativo

De forma general se observa diferencias significativas ($p < 0,05$) en todas las semanas evaluadas entre tratamientos, al analizar las medias de las experimentaciones, se observa en la primera semana que T² fue significativamente diferente ($p < 0,0001^{**}$) ante T³ y T⁴, pero no difiere de los parámetros de T¹. En la segunda semana se mantiene la tendencia de la primera, donde T¹ muestra diferencias significativas ($p < 0,0008^{*}$) ante T³ y T⁴, sin diferir en las medias de T².

En la tercera y cuarta semana de evaluación de la captura de carbono, T¹ sigue siendo estadísticamente diferente ($p < 0.0001^{**}$) de T², T³ Y T⁴, por lo cual se puede determinar que el uso de *Trichoderma longibrachiatum* dispuesto en el T¹, muestra una tendencia a mantener un nivel constante de captura de carbono a lo largo de las semanas, aunque con una ligera disminución hacia la cuarta semana. Tendencia que se revela en T² con el uso del *Trichoderma reesei*, aunque en menores proporciones a partir de la segunda semana.

Los parámetros obtenidos sugieren que T¹ y T² con el uso de los microorganismos *Trichoderma longibrachiatum* y *reesei*, son los tratamientos más efectivos para mantener niveles superiores de captura de carbono en el suelo a lo largo del tiempo, en comparación con los tratamientos con *Bacillus subtilis* y *licheniformis* (González et al., 2023; Conrado et al., 2022).

Existe una tendencia general de disminución en la capacidad de captura de carbono a partir de la segunda semana en todos los tratamientos, en comparación con los valores iniciales (pre aplicación). Esto pudiese estar relacionado a la adaptación de microorganismos a un nuevo suelo, debido a que sus procesos de crecimiento y estabilización tienen una respuesta más lenta a en nuevos suelos afectando su respiración y a la captura de carbono (Brangarí et al., 2020).

Esta desconexión entre la respiración microbiana y el crecimiento puede afectar el presupuesto de carbono del suelo y el equilibrio a largo plazo de las reservas de carbono del suelo (Wu et al., 2019). A continuación, se presenta una comparativa de estos resultados antes de la aplicación de las cepas, y de las cuatro aplicaciones realizadas para cada tratamiento (tabla 4.6).

Tabla 4.6. Captura de carbono en las diferentes aplicaciones

Tratamientos	Pre Aplicación	Primera Aplicación	Segunda Aplicación	Tercera Aplicación	Cuarta Aplicación
(<i>Trichoderma longibrachiatum</i>)	28	28.75	26.00	21.75	15,00
(<i>Trichoderma reesei</i>)	28	29.00	25.25	20.25	12.75
(<i>Bacillus subtilis</i>)	28	26.25	23.75	14.25	11.25
(<i>Bacillus licheniformis</i>)	28	27.75	24.25	15.25	12.25

% = Eficiencia en la captación de carbono

Nota: Las medias obtenidas se estiman en miligramos por kilogramo de suelo (mg*kg-s)

El análisis de la captura de carbono a lo largo de las diferentes aplicaciones revela patrones distintivos en la respuesta de los tratamientos con microorganismos, inicialmente, se identificaron leves incrementos en la captura de carbono con las cepas de *Trichoderma*, pero estas tendencias positivas se transformaron en disminuciones progresivas en las semanas subsiguientes. Por otro lado, los tratamientos con *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* mostraron disminuciones desde la primera aplicación, con reducciones más pronunciadas en aplicaciones posteriores.

De acuerdo a las posturas de Obando y Vélez (2023) aunque la presencia de hongos y bacterias puede tener un impacto positivo en la captación de CO², otros factores pueden influir en la eficiencia general del proceso. Estos factores se relacionan con la liberación del carbono capturado por el suelo para su utilización por parte de las plantas y microorganismos, así como a la descomposición de la materia orgánica y otros procesos naturales del suelo (Pérez et al., 2021; Zamora et al., 2020).

Para Yang et al. (2023) el descenso de la captación de carbono en suelos agrícolas inoculados con microorganismos eficientes a lo largo del tiempo puede atribuirse a varios factores, en primer lugar, la adición de materia orgánica al suelo conduce a una rápida inmovilización inicial del carbono por la biomasa microbiana. A esta inmovilización le sigue la liberación de carbono como CO², que es un subproducto del metabolismo microbiano (Kumar et al., 2022).

Adicionalmente, la presencia de un exceso de glucosa y nutrientes inorgánicos, como se evidenció en los tratamientos aplicados, incide negativamente en la eficiencia del uso del carbono microbiano y, por ende, en la posterior liberación de carbono (Yichao et al., 2016). A su vez, la comunidad microbiana implementada, puede priorizar los procesos catabólicos sobre la absorción de carbono, lo que lleva a una disminución en los niveles de absorción de este componente en el suelo (Baghaie, 2020).

Esta disminución también se remarca en estudios como el de Obando y Vélez (2023) que con el uso de microorganismos como *Trichoderma longibrachiatum* y *reesei*, *Bacillus subtilis* y *licheniformis* en suelos de café, solo presentaron

ganancias de consumo de carbono en la primera aplicación de los tratamientos, donde las medias más significativas se presentaron en los tratamientos con hongos *Trichoderma longibrachiatum* y *reesei*.

En estudios de diferentes suelos agrícolas aplicada por Santos et al. (2018) obtuvieron una concentración de carbono promedio 14,2 mg*kg-s. En adición, estudios en suelo de café como el de Koné et al. (2019) y Vargas (2018), obtuvieron una concentración de carbono del 12 y 7,1 mg*kg-s y Mohammed et al. (2017) obtuvo una media de 10,0 mg*kg-s en suelos agrícolas.

Una particularidad de estos estudios relacionada a los resultados obtenidos, es que las ganancias de consumo de carbono no son consistentes en el tiempo, y varían en función de ciertos factores ambientales y condiciones del suelo. Esta variabilidad temporal resalta la complejidad de las interacciones suelo-microorganismo y sugiere la necesidad de considerar un monitoreo continuo para comprender mejor las dinámicas de captura y liberación de carbono en el contexto específico del estudio (Ortiz, 2019; Barrezueta, 2019).

Pese a las disminuciones presentes en la captura de carbono de los suelos evaluados, por factores asociados a la adaptación de los microorganismos a nuevos suelos (Brangarí et al., 2020)., la priorización de sus procesos catabólicos sobre la absorción de carbono (Baghaie, 2020)., competencias con sus semejantes y parasitismo (Wu et al., 2019)., y la disminución de la materia orgánica, que afecta sus funciones, incluyendo la captura de carbono (Pérez et al., 2021). Se observa que los microorganismos utilizados lograron captar carbono en los suelos muestreados, donde el *Trichoderma longibrachiatum* (T¹), es el tratamiento más efectivo para mantener niveles superiores de captura de carbono en suelos de cacao nacional a lo largo del tiempo.

A razón de lo anterior se procede a aceptar la hipótesis alternativa y se desestima la hipótesis nula, donde las dosis aplicadas de cepas fúngicas (*Trichoderma longibrachiatum* y *reesei*) y bacterianas (*Bacillus subtilis* y *licheniformis*), inciden en la captación de carbono a través de la respiración de los suelos de plantaciones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L).

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- En la activación de las cepas fúngicas (*Trichoderma longibrachiatum* y *reesei*) y bacterianas (*Bacillus subtilis* y *licheniformis*), se obtuvo una alta viabilidad celular, con valores de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) que superaron las 10^6 UFC/ml para los hongos y las 10^8 UFC/ml para las bacterias, estos resultados indican que las cepas seleccionadas tienen una gran capacidad para formar colonias y proliferar en los medios de cultivo, haciéndolas propicias para las experimentaciones empleadas.
- En lo referente a la influencia de las bacterias (*Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*) y hongos (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*) sobre los parámetros químicos del suelo, se observó un incremento en estos valores durante el transcurso de las experimentaciones que se asocian a la neutralidad del pH, sin embargo, no se evidenció una tendencia significativa para algún tratamiento en específico.
- Las cepas fúngicas *Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*, así como las bacterianas *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*, demostraron la capacidad de capturar carbono en los suelos sometidos a experimentación, destacando, entre ellas, *Trichoderma longibrachiatum* (T¹) como el tratamiento más efectivo para mantener niveles superiores de captura de carbono en suelos de cacao nacional a lo largo del tiempo con una media de 28,75 a 15 mg*kg-s.

5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda incorporar la toma de parámetros físicos del suelo en futuras investigaciones relacionadas con la captación de carbono mediante cepas de microorganismos en suelos agrícolas, esto permitirá una evaluación más precisa de la capacidad del suelo para retener carbono, optimizando así las estrategias de manejo y destacando el potencial de estas cepas para mejorar la salud y sostenibilidad de los suelos.
- Realizar un monitoreo continuo y periódico de las propiedades químicas del suelo, para evaluar a largo plazo el impacto de los microorganismos aplicados y ajustar las prácticas de manejo en función de las necesidades del suelo y las plantaciones de cacao.
- Considerando que los resultados mostraron una disminución en la captura de carbono a medida del tiempo de evaluación, se propone plantear futuras investigaciones en donde utilicen otra metodología para evaluar la captura de Carbono, para comprender mejor los factores que influyen en esta disminución y explorar otras estrategias de conservación de niveles óptimos de captura de carbono a lo largo del tiempo.

BIBLIOGRAFÍA

- Abad, A., Acuña, C., y Naranjo, É. (2019). El cacao en la Costa ecuatoriana: estudio de su dimensión cultural y económica. *Revista internacional de administración* (7), 58-83. <https://revistas.uasb.edu.ec/index.php/eg/article/view/1442/1349>
- Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario (Agrocalidad, 2018). Muestreo para análisis de suelo. <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/agua8.pdf>
- Ahmed, A., Ahmed, Q., Odelade, K., y Oluranti, O. (2018). Microbial Inoculants for Improving Carbon Sequestration in Agroecosystems to Mitigate Climate Change. *Handbook of Climate Change Resilience*, 1-21. Obtenido de https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-3-319-71025-9_119-1
- Alarcón, J., Recharte, D., Moreno, S., y Buendía, M. (2020). Fertilizar con microorganismos eficientes autóctonos tiene efecto positivo en la fenología, biomasa y producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Sciencia Agropecuaria*, 11(1). http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172020000100067&script=sci_arttext
- Altamirano, E. (2019). *Parámetros físicos y químicos para la determinación de la calidad de los suelos en la microcuenca Jun-Jun*. [Tesis de Pregrado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/30131>
- Álvaro, G. (18 de julio de 2019). Microorganismos, los grandes desconocidos de nuestro suelo. *Análisis agrícolas*: <https://www.fertibox.net/single-post/microbiologia-agricola>
- Álzate, J., y Campiño, D. (2014). Actividad Microbiana de suelos con manejos Orgánico y convencional. <https://core.ac.uk/download/pdf/71397862.pdf>
- Andrade, H., Segura, M., y Rojas, A. (2020). Carbono orgánico del suelo en bosques riparios, arrozales y pasturas en Piedras, Tolima, Colombia. *Agronomía Mesoamericana*, 27(2). <https://www.redalyc.org/journal/437/43745945002/html/>
- Bajsa, N. (2015). Bacteria promotoras del crecimiento vegetal en suelos con rotación de cultivos. Obtenido de Universidad Federal de Río de Janeiro: <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/9089/1/uy24-17499.pdf>
- Bampidis, V., Azimonti, G., De Lourdes Bastos, M., Christensen, H., Dusemund, B., Durjava, M. F., Kouba, M., López-Alonso, M., Puente, S. L., Marcon, F., Mayo, B., Pechová, A., Petkova, M., Ramos, F., Sanz, Y., Villa, R. E., Woutersen, R., Dierick, N., Saarela, M., y Anguita, M. (2023b). Safety and efficacy of a feed additive consisting of endo-1,4-beta-xylanase produced by *Trichoderma reesei* ATCC PTA-5588, protease produced by *Bacillus subtilis* CBS 148232, and alpha-amylase produced by *Bacillus licheniformis* ATCC

SD-6525 (Astra® XAP 104 TPT) for chickens for fattening, laying hens and minor poultry species (Genencor international B.V.). *EFSA Journal*, 21(2). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7816>

- Barrera, J., Barrezueta, S., y García, R. (2020). Evaluación de los índices de calidad del suelo de diversos cultivos en diferentes condiciones topográficas. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 3(1), 182-190. <http://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/248/289>
- Barrezueta, S. (2019). Propiedades de algunos suelos cultivados con cacao en la provincia El Oro, Ecuador. *Revista Ciencia UAT (Universidad Autónoma de Tamaulipas)*, 14(1), 155-166. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v14i1.1210>
- Barrezueta, S., González, A., y Chabla, J. (2017). Determinación de indicadores para calidad de suelos cultivados con cacao en la provincia de El Oro-Ecuador. *Revista CUMBRES*, 3(1), 17-24. <https://investigacion.utmachala.edu.ec/revistas/index.php/Cumbres/article/view/52/48>
- Barrezueta, S., y Chabla, J. (2017). Características sociales y económicas de la producción de cacao en la provincia El Oro, Ecuador. *Revista La Técnica*, 25-34. <https://revistas.utm.edu.ec/index.php/latecnica/article/view/952/906>
- Batista, R., Quevedo, J., y Socorro, A. (2019). Valoración del estado agronómico de las plantaciones de cacao nacional en el Ecuador. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 2(2). <http://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/140>
- Bazán, T. (2017). Manual de procedimientos de los análisis de suelos y agua con fines de riego. Universidad Nacional Agraria la Molina, Instituto Nacional de Innovación Agraria. Lima Perú. 92 p. http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/inia/504/1/BazanManual_de_procedimientos_de_los.pdf.
- Bensayah, M., Karabi, M., Hamdi, B., y Berkal, I. (2022). Effect of soil microorganisms on organic carbon sequestration in different soil landscapes of the Ouargla's basin. EGU General Assembly 2022, 23-27. doi:<https://doi.org/10.5194/egusphere-egu22-1020>
- Bolaños, B., González, H., Zavaleta, E., Sánchez, P., Mora, G., Nava, C., Real, J., y Rubio, R. (2014). Colonización de Trichoderma y Bacillus en Plántulas de Agave tequilana Weber, var. Azul y el Efecto Sobre la Fisiología de la Planta y Densidad de Fusarium. *Revista mexicana de fitopatología*, 32(1), 62-74. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092014000100006&script=sci_arttext
- Brangarí, A., Manzoni, S., y Rousk, J. (2020). Uncovering the diverging factors that control microbial carbon sequestration and respiration in soils exposed to moisture fluctuations, EGU General Assembly 2020, 4-8. <https://doi.org/10.5194/egusphere-egu2020-415>, 2019
- Buitrago, M., Ospina, L., y Narváez, W. (2018). Sistemas silvopastorales: alternativa en la mitigación y adaptación de la reproducción bovina al cambio

- climático. *Boletín científico. Centro de museos*, 1(22), 31-42. <http://www.scielo.org.co/pdf/bccm/v22n1/0123-3068-bccm-22-01-00031.pdf>
- Burbano, H. (2016). El carbono orgánico del suelo en el ámbito de la naturaleza y la sociedad. *Suelos ecuatoriales*, 46(1), 89-100. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7831495>
- Burbano, H. (2018). El carbono orgánico del suelo y su papel frente al cambio climático. *Revista Ciencia Agrícola*, 35(1), 82-96. doi: <https://dx.doi.org/10.22267/rcia.183501.85>
- Burbano, H. (2018). El carbono orgánico del suelo y su papel frente al cambio climático. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 35(1), 82-96. <https://doi.org/10.22267/rcia.183501.85>
- Cabello, J., Flores, A., Olalde, V., Arredondo, R., y Laredo, E. (2019). Evaluación de cepas de *Bacillus subtilis* como promotoras de crecimiento vegetal. *Revista bio ciencias*, 6. <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e418>
- Caicedo, S., y Chacon, J. (febrero de 2017). *Pruebas de bajo invernadero de cepas de Bacillu subtilis como agente de biocontrol de alternativa ssp. en brassica oleracea var itálica y técnicas de conservación de cepas*. [Tesis de Pregrado, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio Institucional. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/13545>
- Calderón, C., Bautista, G., y Rojas, S. (2018). Propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo, indicadores del estado de diferentes ecosistemas en una terraza alta del departamento del Meta. *Revista oringoquia Universidad de los Llanos*, 22(2), 141-157. <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v22n2/0121-3709-rori-22-02-00141.pdf>
- Calvo, P, y Zúñiga, D. (2010). Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la rizósfera de papa (*Solanum tuberosum*). *Ecología Aplicada*, 9(1), 31-39. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162010000100004&lng=es&tlng=es.
- Campaña, A. (Julio de 2018). *Identificación microbiológica y molecular mediante pcr en tiempo real de dos bacterias del género bacillus, de interés agro biotecnológico*. [Tesis de Pregrado, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio Institucional. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/15698>
- Carvajal, B., y Andrade, H. (2020). Captura de carbono en biomasa de sistemas de uso del suelo, municipio de Yopal, Casanare, Colombia. *Revista Orinoquia*, 24(1), 13-22. doi: <http://doi.org/10.22579/20112629.587>
- Castillo, I. (2016). Las bacterias, estudio y cambios a lo largo de la historia. *Revista Digital Universitaria* 17(5). <http://www.revista.unam.mx/vol.17/num5/art38/#>
- Castro , L. (2016). Identificación de microorganismos en suelos contaminados con hidrocarburos en oleocentro de la localidad de la Chancadora y Santa Rosa. Obtenido de Universidad Nacional Agraria de la Selva: <https://portal.unas.edu.pe/sites/default/files/epirnr/IDENTIFICACION%20DE%20MICROORGANISMOS%20EN%20SUELOS%20CONTAMINADOS%2>

0CON%20HIDROCARBURO%20EN%20OLEOCENTROS%20DE%20LA%20LOCALIDAD%20DE%20LA%20CHANCADORA%20Y%20SANTA%20ROSA.pdf

- Castro, G., Carol, Y., Robles, García, R., y Enrique, D. (2018). *Determinación de la dosis de microorganismos eficientes para el tratamiento de aguas residuales domésticas provenientes de la Universidad Nacional de Ucayali, distrito de Callería, provincia de Coronel Portillo, Ucayali*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de Ucayali]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.unu.edu.pe/handle/UNU/3564>
- Centurión, A. (2021). Ingeniería Ciencias Tecnología e Innovación. Revista Científica, 8(1). <https://revistas.uss.edu.pe/index.php/ING/article/view/1539>
- Chacho, J. (2019). *Evaluación de la capacidad de captura de carbono de los sistemas hortícolas, parroquia San Joaquín, cantón Cuenca*. [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio Institucional. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17280/1/UPS-T008237.pdf>
- Companioni, B., Domínguez, G., y García, R. (2019). Trichoderma: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Biotecnología Vegetal*, 19(4). 237 - 248. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/639/pdf>
- Condori, X. (2020). *Identificación y clasificación de microorganismos eficientes del suelo, en la estación experimental Patacamaya*. [Tesis e Pregrado, Universidad Mayor de San Andrés]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/24902/T-2770.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Conrado, M., Mazaro, S., y Silva, J. (2019). Trichoderma: uso en la agricultura. Embrapa Soja. Brasil.
- Constitución de la República del Ecuador. (2008). Capítulo segundo Biodiversidad y recursos naturales - sección quinta Suelo. https://www.defensa.gob.ec/wpc-content/uploads/2021/02/Constituion-de-la-Republica-del-Ecuador_act_ene-2021.pdf
- Contreras, X. (28 de septiembre de 2021). ¿Qué es la cinética microbiana? CSA. Seguridad Alimentaria: <https://csaconsultores.com/que-es-la-cinetica-microbiana/>
- Corrales, L. (2017). Bacillus spp: una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. *NOVA*, 15(27), 45-65.
- Corrales, L., Antolínez, D., Bohórquez, J., y Corredor, A. (2015). Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. *NOVA*, 13(24), 55-82. <https://doi.org/10.22490/24629448.1717>
- Cortés, S., Vesga, N., Sigarroa, A., Moreno, L., y Cárdenas, D. (2015). Sustratos inoculados con microorganismos para el desarrollo de plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en etapa de vivero. *Bioagro*, 27(3), 151-158. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612015000300003&lng=es&tlng=es.

- Cotto, J. (2019). *Manejo de las podas en el cultivo de Cacao (Theobroma cacao L.), en la parroquia Pimocha*. [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Babahoyo]. Repositorio Institucional. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/6683?show=full>
- Cuenca, E., Puentes, Y., y Menjivar, J. (2019). Efficient use of nutrients in fine aroma cacao in the Province of Los Ríos-Ecuador. *Revista Facultad Nacional De Agronomía*. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v72n3.74862>
- Domínguez, M., Miranda, L., Martínez, P., Huerta, M., y Castillo, E. (2019). Evaluation of methods to reactivate preserved ruminal inoculum, assessed through in vitro fermentation kinetics and forage digestibility. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 10(2), 315-334. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i2.4483>
- Estrada, R., Hidalgo, C., Guzmán, R., Almaraz, J., Navarro, H., y Etchevers, D. (2017). Indicadores de calidad de suelo para evaluar su fertilidad. *Revista agrociencia*, 5(8), 813-831. <https://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v51n8/1405-3195-agro-51-08-813.pdf>
- Etcheverría, P., y Dea, B. (2017). El secuestro del carbono en los suelos como alternativas de adaptación al cambio climático. *Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA)*. https://web.inia.cl/wp-content/uploads/2017/06/INIA-secuestro-de-carbono-91-MundoAgro_Jun2017.pdf
- Fandiño, S., Gómez, L., y Sarmiento, E. (2019). Índice de calidad del suelo. Una revisión sistemática. *Ecosistemas Revista Científica de Ecología y Medio Ambiente*, 27(3), 130-139. doi:10.7818/ECOS.1598
- Fernández, C., Cely, G., y Serrano, P. (2018). Cuantificación de la captura de carbono y análisis de las propiedades del suelo en coberturas naturales y una plantación de pino en el páramo de Rabana, Colombia. *Revista Cuadernos de Geografía*, 28(1), 121-133. doi:<https://doi.org/10.15446/rcdg.v28n1.66152>
- Fernández, J., Bohórquez, W y Rodríguez, A. (2016). Dinámica nutricional de cacao bajo diferentes tratamientos de fertilización con N, P y K en vivero. *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 10(2), 367–380. <https://doi.org/10.17584/rcch.2016v10i2.4702>
- Gaibor, J. (2018). *Desarrollo de la agroindustria en la transformación de los sistemas productivos, modos de vida y la salud en la región agraria sur occidental del Ecuador*. [Tesis de Posgrado, Universidad Andina Simón Bolívar]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.uasb.edu.ec/handle/10644/6219>
- Galicia, L., Gamboa, M., Cram, S., Chávez, B., Peña, V., Saynes, V., y Siebe, C. (2016). Almacén y dinámica del carbono orgánico del suelo en bosques templados de México. *Terra Latinoamericana*, 34(1). https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792016000100001

- Gómez, P. (2017). Actividad microbiológica y biomasa microbiana en suelos cafetaleros de los Andes venezolanos. *Revista Terra Latinoamericana*, 36, 13-22. <https://doi.org/10.28940/terra.v36i1.257>
- González, M. (2013). Estudio de la diversidad genética y propiedades biotecnológicas de aislamiento *Bacillus licheniformis* provenientes de polvos lácteos comerciantes. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/4019/1/uy24-16369.pdf>
- González, Y., Ortega, J., Anducho, M y Mercado, Y. (2022). *Bacillus subtilis* y Trichoderma: Características generales y su aplicación en la agricultura. TIP. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 25, e520. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.520>
- González, Y., Ortega, J., Anducho, M., y Mercado, Y. (2022). *Bacillus subtilis* y Trichoderma: Características generales y su aplicación en la agricultura. TIP. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 25(520). <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.520>
- González, Y., Ortega, J., Anducho, M., y Mercado, Y. (2023). *Bacillus subtilis* y Trichoderma: Características generales y su aplicación en la agricultura. TIP. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 25, e520. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.520>
- Guerrero, G. (2020). El cacao ecuatoriano su historia empezó antes del siglo XV. *Revista Lideres*. <https://www.revistalideres.ec/lideres/cacao-ecuatoriano-historia-empezo-siglo.html>
- Guerrero, J. (2017). Análisis de suelos y fertilización de cacao. Agrobanco. Financiamiento, Asistencia Técnica y Capacitación (págs. 5-35). Perú: Unalm. https://www.agrobanco.com.pe/wp-content/uploads/2017/07/010-a-cacao_suelos_fertilizaci%C3%93N_.pdf
- Guerrero, P., Sánchez, M., Benedicto, G., Espinoza, V., y Quintero, R. (2012). Respiración de co2 como indicador de la actividad microbiana en abonos orgánicos de Lupinus. *Terra Latinoamericana*, 30(4),355-362. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57325814007>
- Guerrero, R. (2020). El potencial del uso de microorganismos edofílicos como agentes de control de enfermedades en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). *REDIB Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico* (7). <http://dx.doi.org/10.37959/cs.v1i7.33>
- Guevara, G., Verdesoto, A., y Castro, N. (2020). Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción). *Revista Científica mundo de la investigación y conocimiento RECIMUNDO*, 4(3), 163-173. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7591592.pdf>
- Gutiérrez, M. (2009). *Influencia de la temperatura y de la humedad en la dinámica de la materia orgánica de los suelos de Galicia y su relación con el cambio climático*. [Tesis Doctoral, Universidad, Santiago de Compostela].

- Repositorio Institucional. https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2624/9788498873245_content.pdf
- Guzmán, S. (2017). Los microbios y la ecología. *Revista ciencia*, 68(2). https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/68_2/PDF/MicrobiosEcologia.pdf
- Haro, R. (2021). *Evaluación de un coctel microbiano utilizado como cultivo iniciador en la fermentación de grano de cacao (Theobroma cacao) variedad nacional*. [Tesis de pregrado, Universidad de las Fuerzas Armadas]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/24877/1/T-IASA%20I-005707.pdf>
- Hernán, T. (2019). *Valoración económica de la captura de carbono como un servicio ambiental en la cuenca hidrográfica Quebrada Jui, municipio de Tierralta, Córdoba - Colombia*. [Tesis de Pregrado, Universidad Santo Tomas]. Repositorio Institucional. <https://repository.usta.edu.co/handle/11634/20231>
- Hernández, D., Ferrera, R., y Alarcón, A. (2019). Trichoderma: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 35(1), 98-112. <https://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>
- Hernández, J., Tirado, D., y Beltrán, I. (2014). Captura de carbono en los suelos. <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icbi/n2/e4.html>
- Herrera, R., Vásquez, S. C., Granja, F., Molina, M., Capa, M., y Guamán, A. (2022). Interacción de nitrógeno, fósforo y potasio sobre características del suelo, crecimiento y calidad de brotes y frutos de cacao en la Amazonía Ecuatoriana. *Bioagro*, 34(3), 277–288. <https://doi.org/10.51372/bioagro343.7>
- Hurtado, F. (2020). Fundamentos Metodológicos de la Investigación: Génesis del nuevo conocimiento. *Revista Scientific*, 5(16). <http://siar.minam.gob.pe/puno/sites/default/files/archivos/public/docs/1112.pdf>
- Instituto Nacional de Perú. (2018). Ciclos biogeoquímicos y acción de la actividad del hombre en la naturaleza. siar. minam. GOB.PE: <http://siar.minam.gob.pe/puno/sites/default/files/archivos/public/docs/1112.pdf>
- Instituto Nacional De Tecnología Agropecuaria. (2021). Análisis de propiedades químicas del suelo. INTA. <https://inta.gob.ar/servicios/analisis-de-propiedades-quimicas-del-suelo>
- Jiménez, A. (2015). Método analítico sintético. https://www.academia.edu/16835717/Metodo_analitico_y_sintetico
- Koné, A. W., Mambani, B. y Paturol, J. E. (2019). Effect of land use changes on carbon dioxide (CO₂) emissions in cocoa agroforestry systems in Côte d'Ivoire. *International Journal of Advanced Research*, 7(2), 474-483.

- Laboratorios Dr. Calderón. (2016). Soluciones integrales para proteger el Medio Ambiente, los recursos hídricos, las plantas, el suelo y la tierra. http://www.drcalderonlabs.com/Aparatos/Botellas_Respirometricas/Plegable_Botellas_Respirometricas.pdf
- Lapo, E. (2021). Ecología orgánica. Instituto Superior Tecnológico "Manuel Encalada Zúñiga". http://instipp.edu.ec/instipp/assets/pdf/guias/manuel/s2_ecologia.pdf
- Lefevre, C., Fatma, R., Viridiana, A., y Lías W. (2017). Carbono orgánico en el suelo. <https://www.fao.org/3/i6937s/i6937s.pdf>
- Leiva, E., Osorio, M., y Ramírez, R. (2013). Microorganismos asociados a la rizosfera del cacao (*Theobroma cacao* L) en condiciones de bosque húmedo premontano (Bh-Pm). *Revista Suelos ecuatoriales*, 43(1): 35-45. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7831487.pdf>
- Liao, H., Hao, X., Qin, F., Delgado, M., Liu, Y., Zhou, J., y Huang, Q. (2022). Microbial autotrophy explains large-scale soil CO₂ fixation. *Global Change Biology*, 29(1), 231 - 242. doi:<https://doi.org/10.1111/gcb.16452>
- López, C. (2022). Efecto de la aplicación de tres dosis de *Bacillus subtilis* en dos variedades de lechuga. Universidad Central del Ecuador: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/27847/1/UCE-FAG-CIA-LOPEZ%20CARMEN.pdf>
- Luna, M., y Meza, J. (2016). Microorganismos eficientes y sus beneficios para los agricultores. *Revista Científica Agro ecosistemas*, 4(2). <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/84>
- Martínez, E., Fuentes, J., y Acevedo, E. (2008). Carbono orgánico y propiedades del suelo. *R.C. Suelo Nutr. Veg*, 8(1): 68-96. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rcsuelo/v8n1/art06.pdf>
- Martínez, M., y Ortega, R. (20 de enero de 2021). Radiografía del carbono: fracciones de C del suelo y su evaluación. Mundo agro. <https://www.mundoagro.cl/radiografia-del-carbono-fracciones-de-c-del-suelo-y-su-evaluacion/>
- Mateus, V., y Reyes, D. (2018). *Diagnóstico de la producción y comercialización de los productores de Cacao asociados a la Federación Nacional de Cacaoteros (fedecacao) en el municipio de Lebrija Santander*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Abierta y a Distancia]. Repositorio Institucional. <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/18600/91255882.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mendoza, E., Boza, J., y Manjarrez, N. (2021). Impacto socioeconómico de la producción y comercialización del cacao de los pequeños productores del cantón Quevedo. *Revista Científica Ecociencia*, 8, 255-272. <https://doi.org/10.21855/ecociencia.80.603>
- Mendoza, J., Vera, Y., y Peña, L. (2017). Prevalencia de mastitis subclínica, microorganismos asociados y factores de riesgos identificados en hatos de Provincia de Pamplona, Norte de Santander. *Revista de facultad de medicina*

- veterinaria*, 64(2), 11-24. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=407653893002>
- Mero, A. (2019). *Evaluación de la incorporación de Lactobacillus brevis encapsulado en el alimento sobre los parámetros productivos, salud de pollos Cobb 500*. [Tesis de Pregrado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.esпам.edu.ec/bitstream/42000/1182/1/TTMV9.pdf>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería [MAG]. (2019). Superficie cultivada de cacao por Provincia. <https://www.agricultura.gob.ec/>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería [MAG]. (2014). Protocolo para la reproducción de capas nativas de Trichoderma spp. en laboratorios artesanales. <https://www.agricultura.gob.ec/wp-content/uploads/2016/01/MANUAL-labos-para-web.pdf>
- Mohammed, A. M., Robinson, J. S., Midmore, D. J., y Verhoef, A. (2016b). Carbon storage in Ghanaian cocoa ecosystems. *Carbon Balance and Management*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s13021-016-0045-x>
- Molina, C., Pilloco, B., Salazar, E., Coronel, B., Sarduy, L., y Diéguez, K. (2020). Producción más limpia como estrategia ambiental preventiva en el proceso de elaboración de pasta de cacao. Un caso en la Amazonía Ecuatoriana. *Revista Industrial Data*, 23(2), 59-72. doi: <http://dx.doi.org/10.15381/idata.v23i2.17640>
- Monsalve, O., Gutiérrez, J., y Cardona, W. (2017). Factores que intervienen en el proceso de mineralización de nitrógeno cuando son aplicadas enmiendas orgánicas al suelo. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 11(1). <https://doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.5663>
- Montaleza, J., Quevedo, J., y García, R. (2020). Análisis de la diversidad morfológica de cacao (*Theobroma cacao* L) del jardín clonal de la Universidad Técnica de Machala. *Revista Científica Agro ecosistemas*, 8(2), 45-57. <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/400/379>
- Mora, C., Quevedo, J., Zhiminaicela, J., Herrera, S., Morocho, A., y León, J. (2021). Influencia de la madurez de las mazorcas de cacao: calidad nutricional y sensorial del cultivar CCN-51. *Revista Bases de la Ciencia*, 6(2), 27-40. <https://revistas.utm.edu.ec/index.php/Basedelaciencia/article/view/2706/3796>
- Morales, M., y Vásquez, M. (2019). *Valoración económica de la captura de carbono en las especies podocarpus aprucei y oreocallis grandiflora en el bosque protector Aguarongo*. [Tesis de Pregrado]. Repositorio Institucional. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16640/4/UPS-CT008067.pdf>
- Morocho, M., y Mora, M. (2019). Efficient microorganisms, functional properties and agricultural applications. *Centro Agrícola*, 46(2), 93-103. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852019000200093

- Morocho, M., y Leiva, M. (2019). Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. *Centro Agrícola*, 46(2), 93–103. <http://scielo.sld.cu/pdf/cag/v46n2/0253-5785-cag-46-02-93.pdf>
- Muñoz, M., Delgado, M., y Lucas, M. (2021). La biodiversidad y el carbono orgánico del suelo son esenciales para revertir la desertificación. *Revista Ecosistemas*, 30(3), 2238. doi: <https://doi.org/10.7818/ECOS.2238>
- Noles, M. (2020). *Evaluación de enmiendas orgánicas: efectos en la producción y fitosanidad del cacao (Theobroma cacao L.) cultivar ccn-51*. [Tesis de maestría, Universidad Técnica de Machala]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16142/1/TTUACA-2020-IA-DE00025.pdf>
- Norma Técnica Ecuatoriana [NTE INEN 1202]. (2013). Agua. Demanda bioquímica de oxígeno (DBO5). <https://www.trabajo.gob.ec/wp-content/uploads/2012/10/NTE-INEN-1202-AGUAS.-DEMANDA-BIOQU%C3%8DMICA-DE-OX%C3%8DGENO-DBO5.pdf?x42051>
- Obando, P y Vélez, M. (2023). *Evaluación de la captación de carbono mediante microorganismos en plantaciones de café (Coffea arabica)*. [Tesis de Pregrado, Escuela Superior Agropecuaria de Manabí]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.esпам.edu.ec/handle/42000/2135>
- Olurunfemi, E., Kamolafe, J., Olufayo, A., y Holufayo, A. (2019). Biomass carbon stocks of different land use management in the forest vegetative zone of Nigeria. *Acta Oecologica*, 95, 45-56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actao.2019.01.004>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2022). Condiciones Climáticas y la actividad humana impactan en la degradación de la tierra, comprometiendo la seguridad alimentaria. <https://www.fao.org/ecuador/noticias/detail-events/ru/c/1141396/>
- Organización de las Naciones Unidas. (2018). La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible: una oportunidad para América Latina y el Caribe. Obtenido de <https://repositorio.cepal.org/server/api/core/bitstreams/cb30a4de-7d87-4e79-8e7a-ad5279038718/content>
- Ortega, G. (2017). Cómo se genera una investigación científica que luego sea motivo de publicación. *Journal of the Selva Andina Research Society Scielo*, 18(2). http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-92942017000200008
- Ortiz, J. (2019). *Cuantificación y análisis del almacenamiento de carbono en suelos gestionados bajo modelos de producción agrícola aplicados al cultivo de cacao (Theobroma cacao L.) en ecosistema tropical*. [Tesis de Postgrado, Universidad de Manizales]. Repositorio Institucional. <https://ridum.umanizales.edu.co/xmlui/handle/20.500.12746/3622>

- Osorio, N. (2009). Microorganismos del suelo y su efecto sobre la disponibilidad y absorción de nutrientes por las plantas. En Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelos & Centro Nacional de Investigaciones de Café (Eds.), *Materia orgánica biología del suelo y productividad agrícola. Segundo seminario regional comité regional eje cafetero Cenicafé*. 43–71. https://doi.org/10.38141/10791/0003_3
- Osorio, R. (2010). *Estudio del efecto de Trichoderma harzianum en el control de moniliphora roreri en plantas de Theobroma cacao en la provincia de Esmeraldas*. [Tesis de Pregrado, Escuela Politécnica Nacional]. Repositorio Institucional. <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/2339/1/CD-3088.pdf>
- Palomares, R. (2017). Los Métodos estadísticos para la investigación en el área de producción animal. *Revista Científica*, 27(6). <https://www.redalyc.org/journal/959/95953773001/html/>
- Paolini, J. (2018). Actividad microbiológica y biomasa microbiana en suelos cafetaleros de los Andes venezolanos. *Terra Latinoamericana*, 36(1). <http://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v36n1/2395-8030-tl-36-01-13.pdf>
- Parada, N. (2017). *Tecnología de captura y almacenamiento de co2 en sectores industriales*. [Tesis de Pregrado, Universidad de América]. Repositorio Institucional. <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7123/1/210740-2017-I-GA.pdf>
- Paredes, N., Monteros, Á., Lima, L., Caicedo, C., Bastidas, S., Tinoco, L., Fernández, F., Vargas, Y., Pico, J., Subía, C., Burbano, A., Chanaluz, A., Sotomayor, D., Díaz, A., Intriago, J., Chancosa, C., Andrade, A., y Enríquez, G. (2022). *Manual del cultivo de cacao sostenible para la Amazonía ecuatoriana*. 1era Ed.
- Pastor, J., Rivas, W., Martínez, A., Márquez, E., y Campos, Y. (2015). Carbono orgánico del suelo en un gradiente altitudinal en la Península de Paraguaná, Venezuela. *Multiciencias*, 15(3), 271-280. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90444727005>
- Ramírez, K., Florida, N., y Escobar, F. (2019). Indicadores químicos y microbiológicos del suelo bajo aplicación de microorganismos eficientes en plantación de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 6(2), 21-28. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2409-16182019000200004&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Rivera, J. (2017). *Diversidad microbiológica del suelo en el cultivo de cacao (Theobroma cacao L.) de origen trinitario y nacional en la zona de Buena Fé, provincia de Los Ríos*. [Tesis de Pregrado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.uteq.edu.ec/serve/api/core/bitstreams/e875b120-4fe7-4d32-8384-d27fceb644b/content>
- Robles, B. (2008). *Validación de biopesticidas en base a bacterias epífitas para el control de la moniliasis (moniliophthora roreri cif y par. Evans et al.) en el*

- cultivo de cacao híbrido ccn 51 en santo domingo, provincia santo domingo de los Tsáchilas*. [Tesis de Pregrado, Escuela Superior del Ejército]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2500/1/T-ESPE-IASA%20II-002061.pdf>
- Rosales, L. (2021). *Metabolismo microbiano*. [Tesis de Pregrado, Universidad Autónoma de Querétaro]. Repositorio Institucional. <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/3013?locale=en>
- Rua, A., y Tamayo, Ó. (2012). Las prácticas de laboratorio en la enseñanza de las ciencias naturales. *Revista Latinoamericana de Estudios Educativos (Colombia)*, 8(1), 145-166. <https://revistasoj.s.ucaldas.edu.co/index.php/latinamericana/article/view/5036>
- Rumbea, C. (2020). *Aplicación de microorganismos eficiente en una plantación de cacao (Theobroma cacao L.) naranjal guayas, ecuador trabajo experimental*. [Tesis de Pregrado, Universidad Técnica Estatal De Quevedo]. Repositorio Institucional. https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/RUMBEA%20MOLINA%20CARLOS%20MANUEL_compressed.pdf
- Salazar, M., Villarreal, R., Lozano, A., Otero, M., Polich, N., Lautaro, G., y Soracco, C. (2020). Carbono orgánico del suelo: estratificación y variación espacial de diferentes fracciones en un Argiudol de la Región Pampeana bajo siembra directa. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 119(2), 053. <https://doi.org/10.24215/16699513e053>
- Sanmartín, S., y Barrezueta, S. (2017). Secuestro de Carbono en suelos cultivados con cacao nacional en la parroquia Progreso. *Conference Proceedings UTMACH*, 2(1), 204-212. <https://investigacion.utmachala.edu.ec/proceedings/index.php/utmach/article/view/335/277>
- Santías, I. (6 de octubre de 2020). El ciclo del carbono: qué es, cómo funciona y su importancia. *Ecología verde*. <https://www.ecologiaverde.com/el-ciclo-del-carbono-que-es-como-funciona-y-su-importancia-2999.html>
- Santos, L. H., Dos Santos, F. A. y Pereira, M. G. (2018). Soil respiration and its temperature sensitivity in agricultural soils from southern Brazil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 42, e0170072.
- Sierra, D. (2010). *Relación de la captura de carbono en Saccharum officinarum con otros factores ambientales para el cultivo de caña panelera*. [Tesis de Postgrado, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/6734>
- Suárez, G., Avendaño, C., Hernández, M., Rodríguez, L., Estrada, P., & Salas, M. (2021). Zonificaciones edafoclimáticas del cultivo de cacao en el estado Chiapas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(4), 629-641. <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v12n4/2007-0934-remexca-12-04-629.pdf>
- Tacapo, A. (2018). *Estimación del potencial de captura de carbono de las especies de flora predominante de la parte alta del bosque de la comunidad campesina de Tumpa- provincia de Yungay, 2018*. [Tesis de Postgrado,

- Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo]. Repositorio Institucional. <http://www.repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/2780>
- Tang, C., Yang, F., y Antonietti, M. (2022). Carbon Materials Advancing Microorganisms in Driving Soil Organic Carbon Regulation. *Research A Science Partner Journal*. doi:<https://doi.org/10.34133/2022/9857374>
- Tapia, H. (2019). *Valoración económica de la captura de carbono como un servicio ambiental en la cuenca hidrográfica quebrada ju municipio de Tierralta, córdoba - Colombia*. [Tesis de Postgrado, Universidad Santo Tomas]. Repositorio Institucional. <https://repository.usta.edu.co/handle/11634/20231>
- Toalombo, R. (2012). *Evaluación de microorganismos eficientes autóctonos aplicados en el cultivo de cebolla blanca (Allium fistulosum)*. [Tesis de Pregrado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/2217/1/Tesis-22agr.pdf>
- Toledo, G., Gargaglione, V., Peri, P., y Toledo, S. (2020). Biomasa y respiración microbiana: Respuesta ante cambios en la humedad del suelo en la Estepa Magallánica Seca de Santa Cruz, Argentina. *Informes Científicos Y Técnicos (Universidad Nacional De La Patagonia Austral)*, 12(3), 151–165. <https://doi.org/10.22305/ict-unpa.v12.n3.746>
- Torres, W. (2016). *Efecto del uso de melaza y microorganismos eficientes sobre la tasa de descomposición de la paja de trigo (triticum ssp) en el barrio de Nicrupampa, distrito de Independencia, Huaraz, 2015*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/1453>
- Umaña, J. (2018). *Huella de Carbono en los sistemas de producción Agrícolas*. [Tesis de Pregrado, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositorio Institucional. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/12390/UmanaArboledaJohnAlexander2012.pdf>
- Umaña, S. (2017). *Funcionan realmente los microorganismos de montaña (MM) como estrategia de biofertilización. Un enfoque de ingeniería de biosistemas*. [Tesis de Pregrado, Universidad de Costa Rica]. Repositorio Institucional. <https://www.kerwa.ucr.ac.cr/handle/10669/76562>
- Urcia , F., y Guevara, M. (2002). Eficacia de Medios de Cultivo con Infusiones de Variedades de Papa en la Identificación del Trichophyton rubrum. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 19(4), 206-208. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342002000400008&lng=es&tlng=es.
- Valdez, F. (2016). Origen de la domesticación del cacao y su uso temprano en Ecuador. https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers19-08/010076407.pdf
- Valdivieso, C., Cedeño, G., y Guanoluiza, A. (2021). Análisis Estadístico de los datos climáticos históricos de la ESPAM MFL. https://www.manabi.gob.ec/wp-content/uploads/2021/11/1VF_Analisis-Estadistico-de-los-datos-climaticos-historicos-de-la-ESPAM-MFL.pdf

- Van Vliet, J. A., Slingerland, M. A., y Giller, K. E. (2015). Mineral nutrition of cocoa: a review. Wageningen UR. <https://edepot.wur.nl/356090>
- Varas, E. (2020). *Efectos de una Fitohormona más elicitador en la productividad del cacao (Theobroma cacao), Milagro Guayas*. [Tesis de pregrado, Universidad Agraria del Ecuador]. Repositorio Institucional. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/VARAS%20GUERRA%20ERIKKA%20YANELA.pdf>
- Vargas, E. (2018). Basal respiration and microbial biomass in soils from cocoa farms under different management systems. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 50(2), 293-310.
- Vargas, R. (2018). *Aplicación de microorganismos eficientes EM en la producción de plántones de Theobroma cacao L. "cacao" en condiciones de vivero*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2853>
- Vásquez, S., Suárez, H., y Zapata, S. (2009). Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias Acido Lácticas en la conservación de la carne. *Revista chilena de nutrición*, 36(1). https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071775182009000100007&script=sci_arttext&tlng=en
- Velepucha, K. (2019). *Almacenamiento y dinámica de carbono orgánico en uso de suelo pasto y bosque en el cantón Chilla*. [Tesis de Posgrado, Universidad Técnica de Machala]. Repositorio Institucional. http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/13859/1/DE00011_TR_ABAJODETITULACION.pdf
- Vidal, G., y Vera, J. (2017). *Relación de la agricultura, silvicultura y otros usos del suelo en la contaminación de CO2 eq. en el cantón Junín*. [Tesis de Pregrado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/615/1/TMA133.pdf>
- Villamil, J. (2021). Nutrición, la clave para detener la degradación de los suelos. Noticias Ecuador: <https://www.yara.com.ec/noticias-y-eventos/noticias-ecuador/nutricion-la-clave-para-detener-la-degradacion-de-los-suelos/>
- Villarreal, M., Villa, E., Cira, L., Estrada, M., Parra, F., y De Los Santos, S. (2018). El género Bacillus como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista mexicana de fitopatología*, 95-130. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v36n1/2007-8080-rmfi-36-01-95-en.pdf>
- Wu, R., Cheng, X., Zhou, W., & Han, H. 2019. Microbial regulation of soil carbon properties under nitrogen addition and plant inputs removal. *PeerJ* 7 e7343 <https://doi.org/10.7717/peerj.7343>
- Yellen, D. (12 de junio de 2017). Capturemos el carbono. *Investigación y Ciencia*. <https://www.investigacionyciencia.es/revistas/investigacion-y-ciencia/el-primer-mapa-3d-de-la-va-lctea-761/capturemos-el-carbono-17236>

- Zabala, J., y Vega, L. (2021). Captura y almacenamiento de carbono en distintas edades del cultivo de cacao bajo sistemas agroforestales de Tingo María (1 ed.). Perú: Biblioteca Nacional del Perú. <https://www.unheval.edu.pe/portal/wp-content/uploads/2021/10/Zavala-Vega.-2021.pdf>
- Zambrano, D. (2013). *Aislamiento y selección de cepas de microorganismos autóctonos degradadores de materia orgánica fibrosa*. [Tesis de Pregrado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/30>
- Zamora, P., Mendoza, Mayra, S., Jarquín, D., Quevedo, A., y Navarro, A. (2018). El manejo del suelo en la conservación de carbono orgánico. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(8), 1787-1799. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i8.1723>
- Baghaie, A. H. (2020). Organic amendment can affect the heavy metal uptake of the inoculated plant with root stimulating microorganisms which was cultivated in contaminated soil. *Journal of Water and Environmental Nanotechnology*, 5(4), 378–387. <https://doi.org/10.22090/jwent.2020.04.008>
- Yang, Y., Naseer, M., Ying, Z., Wang, B., Wang, S., Ma, Y., Zhang, X., Zhao, X., Wang, W., Zhu, S., Tao, H., & Xiong, Y. (2023). Priming effects of nZVI on carbon sequestration and iron uptake are positively mediated by AM fungus in semiarid agricultural soils. *Science of the Total Environment*, 882, 163632. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163632>
- Yichao, R., Murphy, D. V., Wang, X., & Hoyle, F. C. (2016). Microbial respiration, but not biomass, responded linearly to increasing light fraction organic matter input: Consequences for carbon sequestration. *Scientific Reports*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/srep35496>
- Kumar, J., Sinha, N., Mohanty, M., Rani, A., Chaudhary, R., & Pandey, A. (2022). Climate Change and its Influence on Soil Microbial Community. *In Bentham Science Publishers eBooks*. <https://doi.org/10.2174/9789815039955122010009>
- Pérez, H., Rodríguez, I., & García, Rigoberto. (2021). Secuestro de carbono por el suelo y sus fracciones en agroecosistemas tropicales de la región costa ecuatoriana. *Revista Universidad y Sociedad*, 13(2), 141-149. <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes>
- Wilman, E. (2011). Carbon sequestration in agricultural soils. DOAJ (DOAJ: Directory of Open Access Journals). <https://doi.org/10.22004/ag.econ.105535>
- Parent, L. E. (2017). Fractal Kinetics Parameters Regulating Carbon Decomposition Rate under Contrasting Soil Management Systems. *Open Journal of Soil Science*, 07(07), 111–117. <https://doi.org/10.4236/ojss.2017.77009>

Doetterl, S., Stevens, A., Six, J., Merckx, R., Van Oost, K., Casanova, M., Casanova-Katny, A., Muñoz, C., Boudin, M., Zagal, E., & Boeckx, P. (2015). Soil carbon storage controlled by interactions between geochemistry and climate. *Nature Geosci* 8, 780–783. <https://doi.org/10.1038/ngeo2516>

ANEXOS

ANEXO 1. ESQUEMA DE EXPERIMENTACIONES

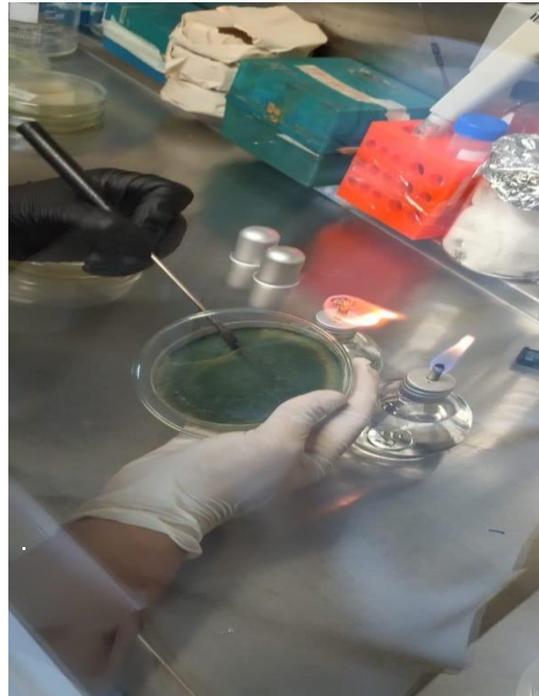
T. reesei (Repetición D)	T. Longibrachiatum (Repetición A)	B. Subtilis (Repetición B)	B. licheniformis (Repetición C)
B. licheniformis (Repetición A)	T. Longibrachiatum (Repetición C)	T. reesei (Repetición B)	B. Subtilis (Repetición D)
T. Longibrachiatum (Repetición B)	B. Subtilis (Repetición A)	T. reesei (Repetición C)	B. licheniformis (Repetición D)
B. Subtilis (Repetición C)	T. reesei (Repetición A)	B. licheniformis (Repetición B)	T. Longibrachiatum (Repetición D)

ANEXO 2. FOTOGRAFÍAS TOMADAS EN EL PROCESO DE LA INVESTIGACIÓN

Anexo 2A. Preparación del caldo nutritivo.



Anexo 2B. Siembra de hongo en caja Petri.



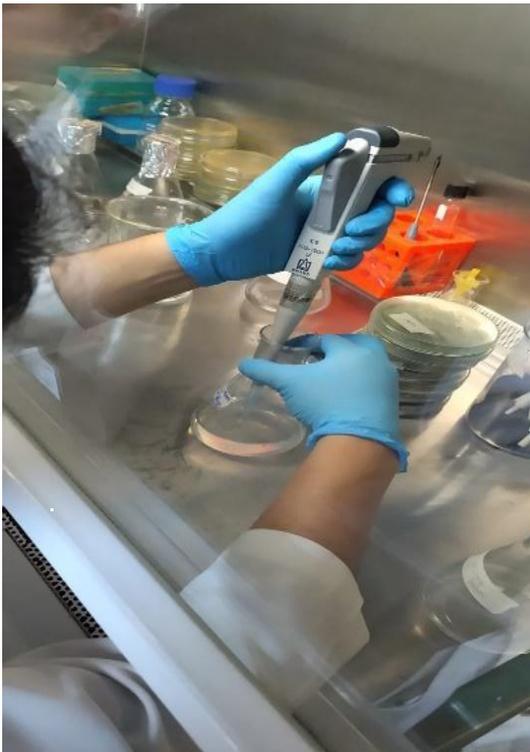
Anexo 3C. Siembra de la bacteria en caja Petri.



Anexo 4D. Obtención del pelo.



Anexo 2E. Sembrado del hongo.



Anexo 2F. Selección de microorganismo.



Anexo 1G. Preparación del caldo de cultivo.



Anexo 1H. Incubación de microorganismo.



ANEXO 2. ANÁLISIS QUÍMICOS APLICADOS AL SUELO DE CACAO NACIONAL

ANEXO 2A. ANÁLISIS QUÍMICO INICIAL

	ESTACION EXPERIMENTAL TROPICAL "PICHILINGUE" LABORATORIO DE SUELOS, TEJIDOS VEGETALES Y AGUAS Km. 5 Carretera Quevedo - El Empalme; Apartado 24 Quevedo - Ecuador Teléf: 052 783044 suelos.cetp@iniap.gob.ec

REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

DATOS DEL PROPIETARIO Nombre : ALCIVAR INTRIAGO FABRICIO Dirección : MANABÍ / BOLIVAR Ciudad : BOLÍVAR / CALCETA Teléfono : 0986449669 Fax : falcivar@espam.edu.ec	DATOS DE LA PROPIEDAD Nombre : ESPAM-MFL Provincia : Manabí Cantón : Bolívar Parroquia : Ubicación :	PARA USO DEL LABORATORIO Cultivo Actual : Cacao N° Reporte : 10112 Fecha de Muestreo : 16/9/2022 Fecha de Ingreso : 30/9/2022 Fecha de Salida : 17/10/2022
--	--	--

N° Muest. Laborat.	Datos del Lote		pH	ppm					meq/100ml					ppm				
	Identificación	Area		NH ₄	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Cu	Fe	Mn	B				
108081	Lote Cacao Nacional		6,7	PN	8 B	66 A	0,98 A	11 A	1,0 M	15 M	1,0 B	2,6 M	13 B	3,2 B	0,55 M			
108082	Lote Cacao CCN 51		6,6	PN	9 B	87 A	0,86 A	11 A	1,1 M	18 M	1,5 B	3,5 M	11 B	3,4 B	0,58 M			
108083	Lote Café		6,7	PN	5 B	91 A	1,08 A	12 A	1,3 M	20 M	1,1 B	2,5 M	10 B	3,3 B	0,50 M			



La muestra será guardada en el laboratorio
 por favor traer el pago de los servicios de
 refrigeración en la fecha indicada

INTERPRETACION				METODOLOGIA USADA		EXTRACTANTES	
pH				= Suelo: agua (1:2,5)		Olsen Modificado	
MAc = Muy Acido	LAc = Liger. Acido	LAl = Lige. Alcalino	RC = Requiere Cal	N,P,B	= Colorimetría	N,P,K,Ca,Mg,Cu,Fe,Mn,Zn	
Ac = Acido	PN = Prac. Neutro	MeAl = Media. Alcalino		S	= Turbidimetría	Fosfato de Calcio Monobásico	
MeAc = Media. Acido	N = Neutro	Al = Alcalino		K,Ca,Mg,Cu,Fe,Mn,Zn		= Absorción atómica	
						BS	

x. W. J. J. J.
 RESPONSABLE DPTO. SUELOS Y AGUAS

+ @Pichilingue
 RESPONSABLE LABORATORIO

ANEXO 2B. ANÁLISIS QUÍMICO POST APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS.

	ESTACION EXPERIMENTAL TROPICAL "PICHILINGUE" LABORATORIO DE SUELOS, TEJIDOS VEGETALES Y AGUAS Km. 5 Carretera Quevedo - El Empalme; Apartado 24 Quevedo - Ecuador Teléf: 052 783044 suelos.cetp@iniap.gob.ec

REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

DATOS DEL PROPIETARIO Nombre : ALCIVAR INTRIAGO FABRICIO ENRIQUE Dirección : MANABÍ / BOLIVAR Ciudad : BOLÍVAR Teléfono : 0986449669 Fax : falcivar@espam.edu.ec	DATOS DE LA PROPIEDAD Nombre : S/N Provincia : Manabí Cantón : Bolívar Parroquia : Calceta Ubicación : Vía Figueroa	PARA USO DEL LABORATORIO Cultivo Actual : Cacao N° Reporte : 11041 Fecha de Muestreo : 10/7/2023 Fecha de Ingreso : 12/7/2023 Fecha de Salida : 28/7/2023
--	---	---

N° Muest. Laborat.	Datos del Lote		pH	ppm					meq/100ml					ppm				
	Identificación	Area		NH ₄	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Cu	Fe	Mn	B				
110099	Bact.BMC-21-T1(CCN 51)		5,6	MeAc	22 M	48 A	1,56 A	14 A	4,3 A	49 A	3,4 M	5,2 A	174 A	18,5 A	0,58 M			
110100	Bact.BMC-54-T1(C Nacional)		7,3	PN	29 M	57 A	1,79 A	18 A	4,1 A	55 A	5,8 M	4,8 A	54 A	4,8 B	0,98 M			
110101	Bact.BMC-31-T2(C Nacional)		5,7	MeAc	23 M	44 A	1,57 A	15 A	4,1 A	49 A	2,8 M	4,3 A	158 A	15,9 A	0,96 M			
110102	Bact.BMC-44-T2(C Nacional)		7,3	PN	22 M	57 A	1,87 A	18 A	5,4 A	60 A	6,1 M	4,7 A	56 A	4,9 B	0,57 M			
110103	Hong.EM-72-T3(C Nacional)		7,3	PN	24 M	56 A	2,00 A	19 A	4,7 A	55 A	6,0 M	4,4 A	46 A	5,8 M	0,30 B			
110104	Hong.EM-72-T3(CCN 51)		5,5	Ac	RC	23 M	49 A	2,03 A	16 A	4,8 A	4,3 A	2,4 M	4,6 A	15,3 A	0,71 M			
110105	Hong.EM-49-T4(C Nacional)		7,3	PN	19 B	66 A	1,89 A	19 A	5,1 A	50 A	5,6 M	5,2 A	54 A	5,2 M	0,61 M			
110106	Hong.EM-49-T4(CCN 51)		5,6	MeAc	22 M	48 A	1,78 A	16 A	5,0 A	51 A	2,3 M	4,9 A	150 A	12,9 M	0,70 M			

La muestra será guardada en el laboratorio
 por favor traer el pago de los servicios de
 refrigeración en la fecha indicada

INTERPRETACION				METODOLOGIA USADA		EXTRACTANTES	
pH				= Suelo: agua (1:2,5)		Olsen Modificado	
MAc = Muy Acido	LAc = Liger. Acido	LAl = Lige. Alcalino	RC = Requiere Cal	N,P,B	= Colorimetría	N,P,K,Ca,Mg,Cu,Fe,Mn,Zn	
Ac = Acido	PN = Prac. Neutro	MeAl = Media. Alcalino		S	= Turbidimetría	Fosfato de Calcio Monobásico	
MeAc = Media. Acido	N = Neutro	Al = Alcalino		K,Ca,Mg,Cu,Fe,Mn,Zn		= Absorción atómica	
						BS	

x. W. J. J. J.
 RESPONSABLE DPTO. SUELOS Y AGUAS

+ @Pichilingue
 RESPONSABLE LABORATORIO

	ESTACION EXPERIMENTAL TROPICAL "PICHILINGUE" LABORATORIO DE SUELOS, TEJIDOS VEGETALES Y AGUAS Km. 5 Carretera Quevedo - El Empalme; Apartado 24 Quevedo - Ecuador Teléf: 052 783044 suelos.eetp@iniap.gob.ec
---	---

REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

DATOS DEL PROPIETARIO Nombre : ALCIVAR INTRIAGO FABRICIO ENRIQUE Dirección : MANABÍ / BOLÍVAR Ciudad : BOLÍVAR Teléfono : 0986449669 Fax : falcivar@espam.edu.ec	DATOS DE LA PROPIEDAD Nombre : S/N Provincia : Manabí Cantón : Bolívar Parroquia : Calceta Ubicación : Vía Figueroa	PARA USO DEL LABORATORIO Cultivo Actual : Cacao N° de Reporte : 11041 Fecha de Muestreo : 10/7/2023 Fecha de Ingreso : 12/7/2023 Fecha de Salida : 28/7/2023
--	---	--

N° Muest. Laborat.	meq/100ml			dS/m C.E.	(%) M.O.	Ca	Mg	Ca+Mg	meq/100ml	(meq/l)½	ppm	Textura (%)			Clase Textural
	Al+H	Al	Na			Mg	K	K	Σ Bases	RAS	Cl	Arena	Limo	Arcilla	
110099	0,20 B	0,09 B			7,1 A	3,2	2,76	11,73	20,06						
110100					8,0 A	4,3	2,29	12,35	23,89						
110101	0,11 B	0,01 B			7,4 A	2,9	3,25	12,80	21,78						
110102					7,9 A	3,3	2,89	12,51	25,27						
110103					8,0 A	4,0	2,35	11,85	25,70						
110104	0,35 B	0,18 B			6,7 A	3,3	2,36	10,25	23,18						
110105					7,8 A	3,7	2,70	12,75	25,99						
110106	0,21 B	0,10 B			6,1 A	3,2	2,81	11,80	22,99						

Las muestras serán guardadas en el laboratorio por tres meses. Tiempo excedido se aceptarán reclamos en los resultados.

INTERPRETACION			
Al+H, Al y Na	C.E.	M.O. y Cl	
B = Bajo	NS = No Salino	S = Salino	B = Bajo
M = Medio	LS = Lig. Salino	MS = Muy Salino	M = Medio
T = Tóxico			A = Alto

ABREVIATURAS
C.E. = Conductividad Eléctrica
M.O. = Materia Orgánica
RAS = Relación de Adsorción de Sodio

METODOLOGIA USADA
C.E. = Conductímetro
M.O. = Titulación de Walkley Black
AHH = Titulación con NaOH


 RESPONSABLE DPTO. SUELOS Y AGUA


 RESPONSABLE LABORATORIO

ANEXO 3. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE LA EVALUACIÓN DE LA CAPTURA DE CARBONO

Anexo 3A. Normalidad de datos (Shapiro Wilks)

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Amonio (NH4)	4	0,00	0,00	sd	>0,9999
RDUO Fósforo (P)	4	0,00	0,00	sd	>0,9999
RDUO Potasio (K)	4	0,00	0,00	sd	>0,9999
RDUO Calcio (Ca)	4	0,00	0,00	sd	>0,9999
RDUO Magnesio (Mg)	4	0,00	0,00	0,64	<0,0001
RDUO Azufre (S)	4	0,00	0,00	sd	>0,9999
RDUO Zinc (Zn)	4	0,00	0,00	sd	>0,9999
RDUO Cobre (Cu)	4	0,00	0,00	0,98	0,9110
RDUO Hierro (Fe)	4	0,00	0,00	sd	>0,9999
RDUO Manganeseo (Mn)	4	0,00	0,00	sd	>0,9999
RDUO Boro (B)	4	0,00	0,00	0,64	<0,0001
RDUO Materia Orgánica (M.O.)	4	0,00	0,00	sd	>0,9999

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Primera Semana	16	0,00	0,41	0,92	0,3270
RDUO Segunda Semana	16	0,00	0,41	0,93	0,4544
RDUO Tercera Semana	16	0,00	0,22	0,87	0,0648
RDUO Cuarta Semana	16	0,00	0,37	0,91	0,2727

Anexo 3B. Homocedasticidad de la varianza (Test F)

Prueba F para igualdad de varianzas

Variable	Grupo(1)	Grupo(2)	n(1)	n(2)	Var(1)	Var(2)	F	p
Primera Semana	{T1 (<i>Trichoderma longibrac..</i>)}	{T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)}	4	4	0,92	0,00	2,65	<0,2204
Primera Semana	{T1 (<i>Trichoderma longibrac..</i>)}	{T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)}	4	4	0,92	0,25	3,67	0,1571
Primera Semana	{T1 (<i>Trichoderma longibrac..</i>)}	{T4 (<i>Bacillus licheniformi..</i>)}	4	4	0,92	0,25	3,67	0,1571
Primera Semana	{T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)}	{T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)}	4	4	0,00	0,25	0,00	>0,9999
Primera Semana	{T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)}	{T4 (<i>Bacillus licheniformi..</i>)}	4	4	0,00	0,25	0,00	>0,9999
Primera Semana	{T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)}	{T4 (<i>Bacillus licheniformi..</i>)}	4	4	0,25	0,25	1,00	0,5000
Segunda Semana	{T1 (<i>Trichoderma longibrac..</i>)}	{T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)}	4	4	0,67	0,25	2,67	0,2209
Segunda Semana	{T1 (<i>Trichoderma longibrac..</i>)}	{T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)}	4	4	0,67	0,25	2,67	0,2209
Segunda Semana	{T1 (<i>Trichoderma longibrac..</i>)}	{T4 (<i>Bacillus licheniformi..</i>)}	4	4	0,67	0,25	2,67	0,2209
Segunda Semana	{T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)}	{T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)}	4	4	0,25	0,25	1,00	0,5000
Segunda Semana	{T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)}	{T4 (<i>Bacillus licheniformi..</i>)}	4	4	0,25	0,25	1,00	0,5000
Segunda Semana	{T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)}	{T4 (<i>Bacillus licheniformi..</i>)}	4	4	0,25	0,25	1,00	0,5000
Tercera Semana	{T1 (<i>Trichoderma longibrac..</i>)}	{T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)}	4	4	0,92	0,25	3,67	0,1571
Tercera Semana	{T1 (<i>Trichoderma longibrac..</i>)}	{T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)}	4	4	0,92	0,25	3,67	0,1571
Tercera Semana	{T1 (<i>Trichoderma longibrac..</i>)}	{T4 (<i>Bacillus licheniformi..</i>)}	4	4	0,92	0,25	3,67	0,1571
Tercera Semana	{T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)}	{T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)}	4	4	0,25	0,25	1,00	0,5000
Tercera Semana	{T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)}	{T4 (<i>Bacillus licheniformi..</i>)}	4	4	0,25	0,25	1,00	0,5000
Tercera Semana	{T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)}	{T4 (<i>Bacillus licheniformi..</i>)}	4	4	0,25	0,25	1,00	0,5000
Cuarta Semana	{T1 (<i>Trichoderma longibrac..</i>)}	{T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)}	4	4	0,67	0,92	0,73	0,6001
Cuarta Semana	{T1 (<i>Trichoderma longibrac..</i>)}	{T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)}	4	4	0,67	0,25	2,67	0,2209
Cuarta Semana	{T1 (<i>Trichoderma longibrac..</i>)}	{T4 (<i>Bacillus licheniformi..</i>)}	4	4	0,67	0,25	2,67	0,2209
Cuarta Semana	{T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)}	{T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)}	4	4	0,92	0,25	3,67	0,1571
Cuarta Semana	{T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)}	{T4 (<i>Bacillus licheniformi..</i>)}	4	4	0,92	0,25	3,67	0,1571
Cuarta Semana	{T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)}	{T4 (<i>Bacillus licheniformi..</i>)}	4	4	0,25	0,25	1,00	0,5000

Anexo 3C. Análisis de la varianza y Post Hoc Tukey

Análisis de la varianza

Primera Semana

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Primera Semana	16	0,89	0,86	2,17

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	33,69	3	11,23	31,71	<0,0001
Tratamientos	33,69	3	11,23	31,71	<0,0001
Error	4,25	12	0,35		
Total	37,94	15			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,24935

Error: 0,3542 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T4 (<i>Bacillus licheniformi..</i>)	25,75	4	0,30 A
T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)	26,25	4	0,30 A
T1 (<i>Trichoderma longibrac..</i>)	28,75	4	0,30 B
T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)	29,00	4	0,30 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Segunda Semana

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Segunda Semana	16	0,74	0,68	2,40

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12,19	3	4,06	11,47	0,0008
Tratamientos	12,19	3	4,06	11,47	0,0008
Error	4,25	12	0,35		
Total	16,44	15			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,24935

Error: 0,3542 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)	23,75	4	0,30 A
T4 (<i>Bacillus licheniformis</i> ..)	24,25	4	0,30 A B
T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)	25,25	4	0,30 B C
T1 (<i>Trichoderma longibrach</i> ..)	26,00	4	0,30 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Tercera Semana**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Tercera Semana	16	0,97	0,96	3,61

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	162,75	3	54,25	130,20	<0,0001
Tratamientos	162,75	3	54,25	130,20	<0,0001
Error	5,00	12	0,42		
Total	167,75	15			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,35511

Error: 0,4167 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)	14,25	4	0,32 A
T4 (<i>Bacillus licheniformis</i> ..)	15,25	4	0,32 A
T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)	20,25	4	0,32 B
T1 (<i>Trichoderma longibrach</i> ..)	21,75	4	0,32 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Cuarta Semana**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cuarta Semana	16	0,82	0,78	5,58

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	28,69	3	9,56	18,36	0,0001
Tratamientos	28,69	3	9,56	18,36	0,0001
Error	6,25	12	0,52		
Total	34,94	15			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,51506

Error: 0,5208 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T3 (<i>Bacillus subtilis</i>)	11,25	4	0,36 A
T4 (<i>Bacillus licheniformis</i> ..)	12,75	4	0,36 A
T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)	12,75	4	0,36 A
T1 (<i>Trichoderma longibrach</i> ..)	15,00	4	0,36 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 4C. Kruskal Wallis, parámetros químicos post tratamientos

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamientos	N	Medias	p
Amonio (NH4)	T1(Trichoderma longibrach..	1	29,00	>0,9999
Amonio (NH4)	T2 (Trichoderma reesei)	1	22,00	
Amonio (NH4)	T3 (Bacillus subtilis)	1	24,00	
Amonio (NH4)	T4 (Bacillus licheniformis..	1	19,00	

Variable	Tratamientos	N	Medias	p
Fósforo (P)	T1 (Trichoderma longibrach..	1	57,00	>0,9999
Fósforo (P)	T2 (Trichoderma reesei)	1	57,00	
Fósforo (P)	T3 (Bacillus subtilis)	1	56,00	
Fósforo (P)	T4 (Bacillus licheniformis..	1	66,00	

Variable	Tratamientos	N	Medias	p
Potasio (K)	T1 (Trichoderma longibrach..	1	1,79	>0,9999
Potasio (K)	T2 (Trichoderma reesei)	1	1,87	
Potasio (K)	T3 (Bacillus subtilis)	1	2,00	
Potasio (K)	T4 (Bacillus licheniformis..	1	1,89	

Variable	Tratamientos	N	Medias	p
Calcio (Ca)	T1 (Trichoderma longibrach..	1	18,00	>0,9999
Calcio (Ca)	T2 (Trichoderma reesei)	1	18,00	
Calcio (Ca)	T3 (Bacillus subtilis)	1	19,00	
Calcio (Ca)	T4 (Bacillus licheniformis..	1	19,00	

Variable	Tratamientos	N	Medias	p
Magnesio (Mg)	T1 (Trichoderma longibrach..	1	4,10	>0,9999
Magnesio (Mg)	T2 (Trichoderma reesei)	1	5,40	
Magnesio (Mg)	T3 (Bacillus subtilis)	1	4,70	
Magnesio (Mg)	T4 (Bacillus licheniformis..	1	5,10	

Variable	Tratamientos	N	Medias	p
Azufre (S)	T1 (Trichoderma longibrach..	1	55,00	>0,9999
Azufre (S)	T2 (Trichoderma reesei)	1	60,00	
Azufre (S)	T3 (Bacillus subtilis)	1	55,00	
Azufre (S)	T4 (Bacillus licheniformis..	1	50,00	

Variable	Tratamientos	N	Medias	p
Zinc (Zn)	T1 (Trichoderma longibrach..	1	5,80	>0,9999
Zinc (Zn)	T2 (Trichoderma reesei)	1	6,10	
Zinc (Zn)	T3 (Bacillus subtilis)	1	6,00	
Zinc (Zn)	T4 (Bacillus licheniformis..	1	5,60	

Variable	Tratamientos	N	Medias	p
Cobre (Cu)	T1 (Trichoderma longibrach..	1	4,80	>0,9999
Cobre (Cu)	T2 (Trichoderma reesei)	1	4,70	
Cobre (Cu)	T3 (Bacillus subtilis)	1	4,40	
Cobre (Cu)	T4 (Bacillus licheniformis..	1	5,20	

Variable	Tratamientos	N	Medias	p
Hierro (Fe)	T1 (Trichoderma longibrach..	1	54,00	>0,9999
Hierro (Fe)	T2 (Trichoderma reesei)	1	56,00	
Hierro (Fe)	T3 (Bacillus subtilis)	1	46,00	
Hierro (Fe)	T4 (Bacillus licheniformis..	1	54,00	

Variable	Tratamientos	N	Medias	p
Manganeso (Mn)	T1 (Trichoderma longibrach..	1	4,80	>0,9999
Manganeso (Mn)	T2 (Trichoderma reesei)	1	4,90	
Manganeso (Mn)	T3 (Bacillus subtilis)	1	5,80	
Manganeso (Mn)	T4 (Bacillus licheniformis..	1	5,20	

Variable	Tratamientos	N	Medias	p
Boro (B)	T1 (Trichoderma longibrach..	1	0,98	>0,9999
Boro (B)	T2 (Trichoderma reesei)	1	0,57	
Boro (B)	T3 (Bacillus subtilis)	1	0,30	
Boro (B)	T4 (Bacillus licheniformis..	1	0,61	

Variable	Tratamientos	N	Medias	p
Materia Orgánica (M.O)	T1 (Trichoderma longibrach..	1	8,00	>0,9999
Materia Orgánica (M.O)	T2 (Trichoderma reesei)	1	7,90	
Materia Orgánica (M.O)	T3 (Bacillus subtilis)	1	8,00	
Materia Orgánica (M.O)	T4 (Bacillus licheniformis..	1	7,90	