



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

**CARRERA DE AGRÍCOLA**

**INFORME DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A  
LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AGRÍCOLA**

**MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**TEMA:**

**EFFECTO DE *Trichoderma* spp Y BIOCHAR EN PLÁNTULAS DE  
CACAO (*Theobroma cacao*)**

**AUTORAS:**

**CEDEÑO ANDRADE DAYANA LISBETH  
SÁNCHEZ VÁSQUEZ KATHERINE DOLORES**

**TUTORA:**

**ING. SOFÍA VELÁSQUEZ CEDEÑO, MG.**

**CALCETA, NOVIEMBRE DE 2022**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

**DAYANA LISBETH CEDEÑO ANDRADE** con cédula de ciudadanía **1313571844** y **KATHERINE DOLORES SÁNCHEZ VÁSQUEZ** con cédula de ciudadanía **1315626604**, declaramos bajo juramento que el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EFFECTO DE *Trichoderma spp* Y BIOCHAR EN PLANTÚLAS DE CACAO (*Theobroma cacao*)** 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 autor sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los conocimientos, Creatividad e Innovación.

Dayana Cedeño

---

**DAYANA LISBETH CEDEÑO ANDRADE**

**CC: 1313571844**

Katherine Sanchez

---

**KATHERINE DOLORES SÁNCHEZ VÁSQUEZ**

**CC: 1315626604**

## AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

**DAYANA LISBETH CEDEÑO ANDRADE** con cédula de ciudadanía **1313571844** y **KATHERINE DOLORES SÁNCHEZ VÁSQUEZ** con cédula de ciudadanía **1315626604**, autorizo 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: EFECTO DE *Trichoderma* spp Y BIOCHAR EN PLANTÚLAS DE CACAO (*Theobroma cacao*), cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra exclusiva responsabilidad y total autoría.

Dayana Cedeño

---

**DAYANA LISBETH CEDEÑO ANDRADE**  
**CC: 1313571844**

Katherine Sanchez

---

**KATHERINE DOLORES SÁNCHEZ VÁSQUEZ**  
**CC: 1315626604**

## CERTIFICACIÓN DE TUTOR

**ING. SOFÍA R. VELÁSQUEZ CEDEÑO, MG**, certifica haber tutelado el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EFFECTO DE *Trichoderma spp* Y BIOCHAR EN PLANTÚLAS DE CACAO (*Theobroma cacao*)**, que ha sido desarrollado por **DAYANA LISBETH CEDEÑO ANDRADE Y KATHERINE DOLORES SÁNCHEZ VÁSQUEZ**, previo la obtención del título de Ingeniero Agrícola, 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. SOFÍA DEL ROCÍO VELÁSQUEZ CEDEÑO, MG**  
**CC: 1309938163**

**TUTOR**

## APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos APROBADO el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EFFECTO DE *Trichoderma* spp Y BIOCHAR EN PLANTÚLAS DE CACAO (*Theobroma cacao*)**, que ha sido desarrollado por **DAYANA LISBETH CEDEÑO ANDRADE Y KATHERINE DOLORES SÁNCHEZ VÁSQUEZ**, previa la obtención del título de Ingeniero Agrícola, 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. GALO ALEXANDER CEDEÑO GARCÍA, MG

CC: 1311956831

**PRESIDENTE TRIBUNAL**

---

ING. SERGIO MIGUEL VÉLEZ ZAMBRANO, MG

CC: 1310476773

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

ING. CRISTIAN SERGIO VALDIVIESO LÓPEZ, MG

CC: 1717929283

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

## AGRADECIMIENTO

A Dios por permitirme disfrutar del más grande regalo que es la vida, a mis padres que han sido siempre apoyo fundamental para poder culminar mis estudios.

De la misma manera a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López", en especial a la carrera de Ingeniería agrícola, por haberme abierto las puertas, donde me brindaron valores y conocimientos para poder formar mi vida profesional.

A los docentes de la carrera que con esfuerzo y responsabilidad impartieron conocimientos fundamentales en mi formación académica.

A mi tutora de tesis Ing. Mg. Sofía del Rocío Velásquez Cedeño por su dedicación y paciencia.

Agradezco al Ing. Mg. Galo Alexander Cedeño García por su valiosa colaboración durante el desarrollo de la tesis y sobre todo por su paciencia, quien con sus conocimientos supo guiarme en esta etapa de mi vida y culminar con éxitos mi carrera profesional.

Agradecimiento al Ing. Mg. Sergio Miguel Vélez Zambrano, por orientarme con sus conocimientos y capacidades durante el desarrollo de mi tesis.

Dayana Lisbeth Cedeño Andrade

## AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por bendecir mi vida, por guiarme a lo largo de este camino por ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Gracias a mis padres: Manuel Sánchez Alcívar y Rosa Vásquez Quiroz, por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado.

A todas aquellas personas que sin ningún interés nos brindaron su apoyo a lo largo de este trayecto de nuestras vidas como es la realización de nuestro trabajo de integración curricular.

Agradezco a los docentes de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López", por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de mi formación como profesional, de manera especial, al ingeniero Sergio Vélez quien ha guiado con su paciencia, y su rectitud como docente en este trabajo de investigación.

Sabemos que nuestro paso por la ESPAM ha finalizado pero nuestros conocimientos, recuerdos y agradecimientos serán eternos y estamos seguras de que la amistad y el apoyo brindado fueron sinceros y de gran ayuda para ser cada día mejores personas capaces de cumplir con nuestras metas y retos venideros.

Katherine Dolores Sánchez Vásquez

## DEDICATORIA

Este presente trabajo va dedicado principalmente a Dios quien me fortaleció con salud, sabiduría y conocimientos en toda mi vida estudiantil, para hacer posible este sueño.

A mi amado hijo Tomás Alexander Ponce Cedeño, quien ha sido mi motor fundamental para poder seguir adelante con mis metas y sueños.

A mis queridos padres Juan Cedeño y Yenni Andrade, por ser los pilares fundamentales en mi vida, por su grandiosa ayuda y apoyo incondicional pese a las adversidades, ya que sin ellos nada del presente habría sido posible.

A mis hermanas y demás familiares por ser mi inspiración para alcanzar esta meta.

Dayana Lisbeth Cedeño Andrade

## DEDICATORIA

He alcanzado uno de los anhelos más deseados en mi vida, con mucho esfuerzo y sacrificio, pero sobre todo con la ayuda y bendición de nuestro señor, Dios.

Por ello le dedico este trabajo investigativo, primero que todo a Dios, por haberme dado la vida, la voluntad para continuar cada día luchando por conseguir mis metas, la fortaleza, cada vez que me debilitaba y brindarme confianza en mí misma siempre que la necesitaba

A mis padres, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí. Ha sido el orgullo y el privilegio de ser su hija, son los mejores padres.

A mis hermanos por estar siempre presentes, acompañándome y por el apoyo moral, que me brindaron a lo largo de esta etapa de mi vida.

A todas las personas que me han apoyado y han hecho que el trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que me abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

Katherine Dolores Sánchez Vásquez

## CONTENIDO GENERAL

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 GENERAL.....	x
ÍNDICE DE CUADROS Y GRÁFICOS .....	xiii
RESUMEN .....	xv
ABSTRACT .....	xvi
CAPITULO I. ANTECEDENTES .....	1
1.1.    PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.2.    JUSTIFICACIÓN.....	1
1.3.    OBJETIVOS.....	3
1.3.1.    OBJETIVO GENERAL.....	3
1.3.2.    OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	3
1.4.    HIPÓTESIS, PREMISAS Y/O IDEAS A DEFENDER.....	3
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO.....	4
1.    DEFINICIÓN SOBRE CACAO.....	4
2.    CLASIFICACIÓN DEL CACAO.....	4
3.    PRODUCCIÓN CACAOTERA MUNDIAL Y EN AMÉRICA .....	5
4.    ASPECTOS GENERALES DE <i>TRICHODERMA</i> .....	6
5.    MECANISMOS DE ACCIÓN DE TRICHODERMA.....	7
2.5.1.    COMPETENCIA.....	8
2.5.2.    ANTIBIOSIS .....	8
2.5.3.    Micoparasitismo.....	8
6.    IMPORTANCIA AGRÍCOLA DEL GÉNERO TRICHODERMA COMO AGENTE DE BIOCONTROL	9
7.    IMPORTANCIA BIOTECNOLÓGICA DEL GÉNERO TRICHODERMA: APLICACIONES	
INDUSTRIALES .....	10
8.    PROMOTOR DE CRECIMIENTO .....	11
9.    ORIGEN DEL BIOCHAR .....	11

2.9.1.	BIOCHAR .....	11
2.9.2.	CARACTERÍSTICAS DEL BIOCHAR .....	12
2.9.3.	COMPOSICIÓN DEL BIOCHAR .....	12
2.9.4.	PROPIEDADES FÍSICAS DEL BIOCHAR .....	12
2.9.5.	PROCESO DE OBTENCIÓN DEL BIOCHAR.....	13
2.9.6.	BENEFICIOS DE INCORPORAR BIOCHAR.....	13
2.9.7.	MECANISMOS DE INCORPORACIÓN Y MOVIMIENTO DEL BIOCHAR EN EL SUELO 13	
2.9.8.	CAMBIOS FÍSICOS DEL BIOCHAR EN EL SUELO .....	14
CAPITULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO.....		15
3.1.	UBICACIÓN .....	15
3.2.	DURACIÓN.....	15
3.3.	MÉTODOS Y TÉCNICAS .....	15
3.3.1.	FASE 1.....	15
•	MATERIAL VEGETAL .....	15
3.4.	DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL .....	15
3.4.1.	DISEÑO Y UNIDAD EXPERIMENTAL .....	15
3.5.	MANEJO DEL EXPERIMENTO .....	16
3.6.	VARIABLES RESPUESTAS Y MÉTODO DE EVALUACIÓN .....	17
3.7.	VARIABLES DE TASA DE CRECIMIENTO .....	17
3.8.	FASE 2.....	18
3.8.1.	FACTORES EN ESTUDIO .....	18
3.9.	NIVELES.....	19
3.9.1.	AISLADOS DE <i>TRICHODERMA</i> .....	19
3.9.2.	FUENTES DE BIOCHAR .....	19
4.	MATERIAL VEGETAL .....	19
4.1.	DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL .....	19
4.1.1.	DISEÑO Y UNIDAD EXPERIMENTAL .....	19
4.2.	MANEJO DEL EXPERIMENTO .....	19
4.3.	VARIABLES RESPUESTAS Y MÉTODO DE EVALUACIÓN .....	20
CAPITULO VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....		22
•	EXPERIMENTO 1.....	22
4.1.	ALTURA DE PLANTA.....	22
4.2.	PESO SECO DE LA PARTE AÉREA.....	22
4.3.	TASA DE CRECIMIENTO RELATIVO (TCR).....	24
•	Experimento 2.....	27

CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	34
5.1. CONCLUSIONES .....	34
5.2. RECOMENDACIONES .....	34
BIBLIOGRAFÍA.....	35
ANEXOS .....	44

## ÍNDICE DE CUADROS Y GRÁFICOS

### CUADROS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica del <i>Trichoderma</i> .....	6
<b>Tabla 2.</b> Esquema ADEVA.....	16
<b>Tabla 3.</b> Significancia estadística del crecimiento de plántulas de cacao, en función de biochar y cepas de <i>Trichoderma</i> spp.....	28

### GRÁFICOS

<b>Figura 1.</b> Promedio de altura de la planta (cm) a los 60 días.....	23
<b>Figura 2.</b> Promedio de longitud radical (cm) a los 60 días.....	24
<b>Figura 3.</b> Peso seco radical (g) a los 60 días.....	24
<b>Figura 4.</b> Peso de área foliar (cm <sup>2</sup> ) a los 60 días.....	25
<b>Figura 5.</b> Tasa de crecimiento relativo a los 60 días.....	26
<b>Figura 6.</b> Tasa de asimilación neta de plántulas de cacao en vivero inoculadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. a los 60 días.....	27
<b>Figura 7.</b> Relación de área foliar de plántulas de cacao en vivero inoculadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. a los 60 días.....	27
<b>Figura 8.</b> Efecto de interacción biochar por cepas de <i>Trichoderma</i> sobre la altura de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero.....	29
<b>Figura 9.</b> Efecto de cepas de <i>Trichoderma</i> sobre la altura de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero.....	29
<b>Figura 10.</b> Efecto de interacción biochar por cepas de <i>Trichoderma</i> sobre la altura de planta a los 90 días de aclimatación en vivero.....	30
<b>Figura 11.</b> Efecto de cepas de <i>Trichoderma</i> sobre la longitud radical de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero.....	30
<b>Figura 12.</b> Efecto de topos de biochar sobre la longitud radical de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero.....	31
<b>Figura 13.</b> Efecto de interacción biochar x cepas de <i>Trichoderma</i> sobre el peso seco de plántulas de cacao, a los 90 días de aclimatación en vivero.....	31

<b>Figura 14.</b> Efecto de cepas de <i>Trichoderma</i> sobre peso seco de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero.....	32
<b>Figura 15.</b> Efecto de interacción biochar x cepas de <i>Trichoderma</i> sobre el área foliar de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero.....	32
<b>Figura 16.</b> Efecto de cepas de <i>Trichoderma</i> sobre el área foliar de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero.....	33
<b>Figura 17.</b> Efecto de tipos de biochar sobre el área foliar de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero.....	33

## RESUMEN

El crecimiento vigoroso de plántulas en vivero es un aspecto de vital importancia para promover una adecuada adaptación y sobrevivencia en campo definitivo. El objetivo de la investigación evaluar el efecto de *Trichoderma* spp y biochar en plántulas de cacao en condiciones de vivero. Se realizaron dos experimentos separados. En el primero se evaluaron 11 cepas de *Trichoderma* spp sobre el crecimiento temprano de plántulas de cacao. En el segundo se evaluaron tratamientos factoriales de tres cepas de *Trichoderma* (cepa 1, cepa 2 y cepa 3) y tres tipos de biochar (Arroz, cacao y algarrobo). En ambos experimentos las principales variables registradas fueron longitud radical (LR), peso seco de planta (PSP) y área foliar (AF). Los datos fueron analizados a través del ANOVA y la separación de medias con prueba de Tukey  $\alpha = 0.05$ . En el primer experimento los resultados reportaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) para las variables evaluadas, donde las cepas de *Trichoderma* EM-33, EM-30 y EM-150 lograron los mayores incrementos de crecimiento de las plantas de cacao, con relación a las demás cepas probadas. En el segundo experimento, el análisis de varianza detectó diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) para las variables evaluadas, donde en todos los casos los tratamientos a base de combinaciones de los biochar de arroz, cacao y algarrobo, con las cepas EM-30, EM-33 y EM-150 incrementaron el crecimiento de las plántulas de cacao, en comparación al tratamiento control que alcanzó los menores promedios de crecimiento. Se concluye que la combinación de biochar y las cepas de *Trichoderma* EM-30, EM-33 y EM-150 pueden usarse con fines de potenciar crecimiento de plántulas de cacao en vivero.

**Palabras clave:** *Theobroma cacao*, Crecimiento, Biocarbón, *Trichoderma*

## ABSTRACT

The vigorous growth of seedlings in the nursery is an aspect of vital importance to promote adequate adaptation and survival in the definitive field. The objective of the research is to evaluate the effect of *Trichoderma* spp and biochar on cocoa seedlings under nursery conditions. Two separate experiments were performed. In the first, 11 strains of *Trichoderma* spp were evaluated on the early growth of cocoa seedlings. In the second, factorial treatments of three strains of *Trichoderma* (strain 1, strain 2 and strain 3) and three types of biochar (rice, cocoa and carob) were evaluated. In both experiments, the main variables recorded were root length (RL), plant dry weight (PSW) and leaf area (AF). Data were analyzed through ANOVA and separation of means with Tukey's test  $\alpha = 0.05$ . In the first experiment, the results reported significant differences ( $p < 0.05$ ) for the evaluated variables, where the strains of *Trichoderma* EM-33, EM-30 and EM-150 achieved the greatest increases in growth of cocoa plants, in relation to the other strains tested. In the second experiment, the analysis of variance detected significant statistical differences ( $p < 0.05$ ) for the evaluated variables, where in all cases the treatments based on combinations of rice, cocoa and carob biochar, with the EM-30 strains, EM-33 and EM-150 increased the growth of cocoa seedlings, compared to the control treatment that reached the lowest growth averages. It is concluded that the combination of biochar and the *Trichoderma* EM-30, EM-33 and EM-150 strains can be used to enhance the growth of cocoa seedlings in the nursery.

**Keywords:** *Theobroma cacao*, Growth, Biochar, *Trichod*

# CAPITULO I. ANTECEDENTES

## 1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Ecuador es el primer exportador mundial de cacao fino y de aroma, rubro importante en la generación trabajo, ingresos económicos y divisas para el país (Morales *et al.*, 2018). Sin embargo, presenta los rendimientos más bajos de la región sudamericana, y su cadena productiva presenta varios riesgos que merman su producción (Rodríguez y Fusco, 2017; FAO, 2019).

Para lograr una agricultura sostenible es necesario comprender que los recursos naturales suelo, agua y planta funcionan como un sistema y al ser afectado por las plagas, se rompen el equilibrio natural (Robert *et al.*, 2017). Aunque el control químico es una alternativa rápida en muchos casos ocasionan la contaminación de los recursos mencionados, debido a que están constituidos en su formulación por metales pesados como; cobre (Cu), plomo (Pb), Arsénico (As), entre otros, que se acumulan en el suelo contaminan el agua e intoxican a las plantas. Por tanto, este control acentúa la ruptura del equilibrio de los sistemas agrarios, afectando la sostenibilidad (Zhao *et al.*, 2019).

En este contexto, investigaciones recientes sugieren que el uso de microorganismos y biochar puede mejorar notablemente el crecimiento de plántulas de cacao (Gutiérrez *et al.*, 2011; Poorter *et al.*, 2012; Bahrún *et al.*, 2017). Sin embargo, debido a la carencia de información relacionada al uso de microorganismos y biochar en cacao para mejorar calidad de plantas en vivero, la presente propuesta de investigación plantea la siguiente interrogante: ¿Puede el biochar y microorganismos promover el crecimiento vegetal y mejorar la calidad fisiológica de plantas de cacao?

## 1.2. JUSTIFICACIÓN

La producción de plántulas de cacao vigorosas en el vivero es la base de su establecimiento en campo. Bajo condiciones locales, la calidad fisiológica de plantas en vivero no ha sido un parámetro evaluado en plántulas de cacao, más aún el uso de biochar y microorganismo para inducir una mayor tasa de crecimiento y por ende mayor calidad fisiológica de plántulas en vivero, situación

que no ha permitido renovar y establecer plantaciones de cacao con alta homogeneidad y capacidad productiva.

La aplicación de biocarbón como enmienda del suelo ha recibido mucha atención, por muchas razones. Como neutralizar la acidez en el suelo, crear un sumidero de carbono (C) para mitigar el calentamiento global, aumentar el agua del suelo capacidad de retención, reduciendo las emisiones de gases de efecto invernadero y estabilizando los metales pesados móviles, plaguicidas y otros contaminantes orgánicos en el suelo. Se ha informado que la adición de biocarbón a suelos pobres en nutrientes mejora la disponibilidad de nutrientes y aumenta biomasa (Alburquerque et al., 2014).

El biocarbón se ha descrito como una posible herramienta para el suelo. mejora de la fertilidad, posible adsorción de elementos tóxicos, y mitigación del cambio climático (Ennis et al., 2012; Stewart et al., 2013). Varios estudios han demostrado que la aplicación de biocarbón al suelo puede mejorar las condiciones físicas y químicas del suelo y sus propiedades, mejoran la disponibilidad de nutrientes de las plantas, crecimiento, rendimiento y aumentan el crecimiento microbiano (Mukherjee et al., 2013; Sohi et al., 2010).

Los hongos, como es el caso de *Trichoderma* sp. pueden contribuir con un mejor desarrollo de plantas, mayor productividad y calidad de cultivos debido a que disminuyen el estrés causado por enfermedades y estreses abióticos como la falta de agua y metales pesados (Tuesta et al., 2016).

Las especies de *Trichoderma* son capaces de desarrollarse en una amplia gama de sustratos lo que facilita su producción masiva para uso en la agricultura. Presenta una gran tolerancia a las condiciones ambientales extremas y hábitat donde los hongos son causantes de diversas enfermedades y por ello, se convierte en un buen agente de control (Ramos et al., 2008). Además actúan como estimulador del crecimiento de las plantas ya que estos hongos son capaces de producir sustancias estimuladoras del crecimiento y desarrollo de las plantas. Estas sustancias, actúan como catalizadores o aceleradores de los tejidos meristemáticos primarios en las partes jóvenes de éstas y así, aceleran su reproducción celular, logrando que las plantas alcancen un desarrollo más

rápido que aquellas plantas que no hayan sido tratadas con dicho microorganismo (Álvaro, 2019).

Este trabajo de integración curricular trata de aportar a lo propuesto en la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible en su Objetivo 12. Garantizar modalidades de consumo y producción sostenibles, en su meta 12.2 De aquí a 2030, lograr la gestión sostenible y el uso eficiente de los recursos naturales

En estas circunstancias, con la ejecución del proyecto de investigación propuesto, se pretende demostrar que con el uso de biochar y *Trichoderma* spp las plántulas de cacao promuevan el crecimiento vegetal, y por ende su capacidad adaptativa para soportar las condiciones de campo. Por lo anteriormente expuesto, la investigación se justifica plenamente.

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de *Trichoderma* spp y biochar en plántulas de cacao en condiciones de vivero.

#### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Se determinará las cepas de *Trichoderma* spp que generen mayor promoción de crecimiento en las plántulas de cacao
- Se definió el tipo de biochar que estimule la promoción de crecimiento de las plántulas

### **1.4. HIPÓTESIS, PREMISAS Y/O IDEAS A DEFENDER**

La aplicación de *Trichoderma* spp y biochar promueven un mayor crecimiento en las plántulas de cacao en condiciones de vivero.

# CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

## 1. DEFINICIÓN SOBRE CACAO

El cacao es comercializado en todo el planeta, en un mercado que se diversifica y se hace exigente en volumen y calidad permanentemente. La comercialización del cacao y todos sus derivados (manteca de cacao, polvo, torta, pasta o licor y chocolates) se calculan en función de su equivalente en granos de cacao. Su procesamiento y comercialización da lugar a una agrocadena global con excelentes proyecciones de mercado y resultados financieros en la que participan actores de los países productores y consumidores (productores, empresas procesadoras, exportadores, industrias fabricantes de chocolate, comercializadoras mayoristas, minoristas y consumidores) (Arvelo et al., Sf).

## 2. CLASIFICACIÓN DEL CACAO

De acuerdo a Avendaño (2011), existen básicamente tres tipologías de cultivares a partir de los cuales se desprenden las variedades, híbridos y clones que hoy se siembran en el mundo se muestran a continuación:

- **Los cacaos “Criollos”** tienen su origen en el norte de Sudamérica y Centroamérica, se caracterizan por poseer un sabor suave y aromático, se encuentran principalmente en Venezuela, América Central, Papua Nueva Guinea, Las Antillas del Caribe, Sri Lanka, Timor Oriental y Java. Sin embargo, debido a su alta susceptibilidad a enfermedades y a su baja productividad han venido reduciendo su presencia como cultivo y en el mercado. Se caracterizan por poseer frutos alargados de punta pronunciada, doblada y aguda; la superficie de estos frutos es generalmente rugosa, delgada, de color verde con manchas en forma de salpicaduras que van desde los colores rojo a púrpura oscuro.
- **Los cacaos del tipo “Forastero”** dominan la producción y el comercio mundial de granos, son originarios de la cuenca amazónica y son producidos en los cuatro continentes cacaoteros (África, Asia, América y Oceanía). Se caracterizan por tener frutos generalmente ovalados y cortos, de colores que varían entre el verde y amarillo al madurar, de

superficie lisa, con corteza gruesa y lignificada en su interior; de granos pequeños y aplanados, colores que van desde púrpura oscuro e intenso hasta el violeta pálido, dependiendo del contenido de sus taninos. Sobre este tipo de cacao descansa la gran biodiversidad de la especie en base a la población silvestre.

- **Los “Trinitarios”** son tipos generados por la hibridación de criollos x forasteros, son muy heterogéneos genéticamente y morfológicamente, aunque no es posible delimitarlos a través de características externas comunes. Hoy su cultivo está ampliamente extendido en América y en algunos países de África (Trinidad y Tobago, Venezuela, Ecuador, México, Centroamérica, Camerún, Samoa, Sri Lanka, Java y Papúa Nueva Guinea) y representa alrededor del 15 % de la producción mundial.

### **3. PRODUCCIÓN CACAOTERA MUNDIAL Y EN AMÉRICA**

La producción mundial de cacao supera los 4 000 000 de TM de granos y cinco países (Costa de Marfil, Ghana, Indonesia, Nigeria y Camerún) concentran el 84 % de la producción mundial. El continente africano es responsable del 73 % de la producción y del 64 % de la superficie sembrada de cacao; los países de América contribuyen con el 17 % de producción mundial y el 17 % del área sembrada de cacao; Asia y Oceanía aportan el 10 % de la producción y el 19 % de la superficie sembrada. En cincuenta años la producción de cacao ha crecido de manera sostenida logrando cuadruplicar la oferta de cacao a nivel mundial, especialmente durante las décadas de los ochenta, noventa y la primera del actual siglo (ICCO, 2016).

Sin embargo, a partir del año 2011 se denota una importante reducción de la tasa de crecimiento que traía la producción de cacao a nivel mundial, estimándose una reducción de 300 000 TM con respecto a la alcanzada en la cosecha del 2011. La producción de cacao a nivel mundial es altamente dependiente de las condiciones climáticas. Las lluvias, las temperaturas y la humedad relativa son parámetros que tienen un impacto sobre la producción cacaotera<sup>15</sup>, la variabilidad de los factores climáticos afecta el ciclo fisiológico del cultivo, pero además condicionan la probabilidad de incidencia de las plagas

y enfermedades, razón por la cual la producción de cacao ha sido creciente pero interanualmente errática (ICCO, 2016).}

#### 4. ASPECTOS GENERALES DE *TRICHODERMA*

El género *Trichoderma* está en el ambiente y especialmente en el suelo. Se ha utilizado en aplicaciones comerciales para la producción de enzimas y para la regulación de los fitopatógenos que enferman las plantas. Se encuentra en suelos abundantes en materia orgánica y por su relación con ella está clasificado en el grupo de hongos hipógeos, lignolícolas y depredadores. Es aeróbico y pueden estar en los suelos con pH neutro hasta ácido (Villegas, 2019).

Morfológicamente, es un hongo que posee estructuras del tipo de conidias hialinas uniceluladas, ovoide en conidioforo hialino largo no verticilado, nace en centros pequeños. Tiene la capacidad de producir clamidosporas en sustratos naturales, estructuras de vital importancia para la sobrevivencia del género en el suelo bajo condiciones adversas. Es saprofito del suelo y de la madera y el crecimiento en el suelo es muy rápido. El modo de acción de *Trichoderma* está asociado a la descomposición de la materia orgánica que hay en el suelo y por el antagonismo con microorganismos patógenos a las plantas usando procesos de amensalismo, depredación, parasitismo y competición, y por su Hiperparasitismo (Villegas, 2019).

El género *Trichoderma* es un excelente modelo para ser estudiado debido a su fácil aislamiento y cultivo, rápido desarrollo en varios sustratos y por su condición de controlador biológico de una amplia gama de fitopatógenos (Fernández 2001). *Trichoderma* se ubica taxonómicamente según Villegas, (2005) en:

#### TAXONOMÍA

Tabla 1. Clasificación taxonómica del *Trichoderma*

<b>Reino</b>	Fungi
<b>División</b>	Mycota
<b>Subdivisión</b>	Eumycota
<b>Clase</b>	Hyphomycetes
<b>Orden</b>	Moniliales

<b>Familia</b>	Moniliaceae
<b>Género</b>	<i>Trichoderma</i>

La mayoría de las colonias de *Trichoderma* en su inicio tienen color blanco, que se tornan a verde oscuro o amarillento, con esporulación densa. El micelio es ralo en su mayoría, y visto al microscopio es fino, los conidióforos son ramificados, parecen un árbol pequeño. Los mismos se presentan como penachos compactados que forman anillos con un sistema de ramas irregular de manera piramidal. Estos terminan en fiálides donde se forman las esporas asexuales o conidios, de gran importancia para la identificación taxonómica a nivel de especies (Harman, 2003). Los conidios aseguran las generaciones del hongo durante gran parte del período vegetativo de las plantas. Son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucanos. Además de los conidióforos, estas se pueden producir sobre fiálides que emergen directamente del micelio (Harman, 2003).

## **5. MECANISMOS DE ACCIÓN DE TRICHODERMA**

En la acción biocontroladora de *Trichoderma* se han descrito diferentes mecanismos de acción que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos dianas. Entre estos, los principales son la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis, los que tienen una acción directa frente al hongo fitopatógeno. Estos mecanismos se ven favorecidos por la habilidad de los aislamientos de *Trichoderma* para colonizar la rizosfera de las plantas. Otros autores han sugerido distintos mecanismos responsables de su actividad biocontroladora (Lorenzo, 2001).

Además, se conoce que *Trichoderma* presenta otros mecanismos, cuya acción biorreguladora es de forma indirecta. Entre estos se pueden mencionar los que elicitán o inducen mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos como es la activación en la planta de compuestos relacionados con la resistencia (Inducción de Resistencia) (Harman, 2004), con la detoxificación de toxinas excretadas por patógenos y la desactivación de enzimas de estos durante el proceso de infección; la solubilización de elementos nutritivos, que en su forma original no

son accesibles para las plantas. Tienen la capacidad de crear un ambiente favorable al desarrollo radical lo que aumenta la tolerancia de la planta al estrés (Harman, 2003).

### **2.5.1. COMPETENCIA**

Las diversas cepas de *Trichoderma* crecen rápidamente cuando se inoculan en suelo ya que son naturalmente resistentes a muchos compuestos tóxicos incluyendo herbicidas, fungicidas y pesticidas tales como DDT y compuestos fenólicos. Además, se recuperan muy rápidamente después de la adición de dosis subletales de algunos de estos compuestos. La inanición es la causa más común de muerte para microorganismos; por tanto, la competencia por nutrientes limitantes, resulta ser una eficiente forma de control de muchos hongos fitopatógenos (Harman *et al.*, 2004), Este mecanismo de acción se encuentra representado en hongos filamentosos, donde la toma de hierro es esencial para la viabilidad de los mismos. Bajo condiciones de deficiencias de hierro, el hongo excreta agentes quelantes específicos de bajo peso molecular llamados sideróforos, que le permiten tomar el hierro en forma reducida (Chávez, 2004),

### **2.5.2. ANTIBIOSIS**

Es una interacción que se da entre dos organismos de diferente especie, en la cual, uno de ellos resulta dañino y perjudicial para el otro, ya que produce una sustancia que resulta nociva para la otra especie. Se trata, por tanto, de una interacción biológica en la que no existe la posibilidad de supervivencia al mismo tiempo de unos determinados organismos en las inmediaciones de otros. El efecto dañino de toda antibiosis se debe a la acción de una sustancia química nociva producida por el organismo que quiere acabar con su competencia. Dicha sustancia recibe el nombre de antibiótico (Fdez, 2019).

### **2.5.3. Micoparasitismo**

Según Fernández (2001), manifiesta que el micoparasitismo se trata de la acción directa de un hongo parasitando a otro, donde el patógeno es utilizado como

alimento por su antagonista. Este tipo de mecanismo se basa en la producción, por parte del antagonista, de enzimas extracelulares, como la quitinasa, celulasa, J3, 1-3-glucanasa y la proteasa, que utiliza para romper las estructuras del patógeno, y poderlo parasitar. El parasitismo puede ocurrir mediante la penetración, el engrosamiento de hifas, la producción de haustorios y la desorganización del contenido celular. También mencionan que en el proceso de micoparasitismo ejercido por *Trichoderma* se produce en varias etapas sucesivas, que comienza por el crecimiento quimiotrófico de *Trichoderma* hacia el hospedante, estimulado por moléculas procedentes del mismo, de naturaleza desconocida. Las únicas que se han detectado hasta ahora son aminoácidos y azúcares, por lo que no cabe esperar que la inducción sea específica del hospedante.

## **6. IMPORTANCIA AGRÍCOLA DEL GÉNERO TRICHODERMA COMO AGENTE DE BIOCONTROL**

Las especies de *Trichoderma* predominan en ecosistemas terrestres (bosques o suelos agrícolas), tienen bajo requerimiento nutrimental pero relativamente amplio rango de temperatura (25-30°C) para su crecimiento (Sandle, 2014). Además, poseen alta adaptabilidad a condiciones ecológicas y pueden crecer de manera saprofítica, interactúan con animales y plantas (Zeilinger *et al.*, 2016), y se desarrollan en diversos sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura (Ramos *et al.*, 2008). Es por ello que el estudio de la diversidad de especies de *Trichoderma* en diversos hábitats naturales, permite ampliar el conocimiento sobre su aporte biotecnológico, y su importancia ecológica y agrícola (Jaklitsch y Voglmayr, 2015; Torres *et al.*, 2015).

Diversas especies de este género están asociadas con la rizósfera de plantas o pueden relacionarse de manera endofítica, por lo que pueden promover el crecimiento y desarrollo de las plantas, mediante la producción de auxinas y giberelinas; también pueden producir ácidos orgánicos (glucónico, fumárico, y cítrico) que pueden disminuir el pH del suelo y propiciar la solubilización de fosfatos, magnesio, hierro y manganeso, los cuales son vitales para el metabolismo vegetal (Torres *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2017). Además, este

género fúngico es importante para las plantas, al contribuir en el control de hongos fitopatógenos, ya que poseen propiedades micoparasitarias y antibióticas, por lo que algunas especies han sido catalogadas como excelentes agentes de control biológico de hongos causantes de enfermedades en diferentes plantas (Argumedo *et al.*, 2009). Este hongo toma nutrientes de los hongos que parasita y de materiales orgánicos, ayudando a su descomposición, por lo cual las incorporaciones de materia orgánica y compostas favorecen su proliferación (Ramos *et al.*, 2008).

## **7. IMPORTANCIA BIOTECNOLÓGICA DEL GÉNERO TRICHODERMA: APLICACIONES INDUSTRIALES**

*Trichoderma* está entre los agentes de control biológico más exitosos en la agricultura, formando parte de más del 60% de los biofungicidas registrados en el mundo. Este microorganismo está presente en el mercado como bioplaguicida, biofertilizante, promotor del rendimiento y crecimiento vegetal, y como solubilizador de nutrientes en campos agrícolas o descomponedor de materia orgánica (Vinale *et al.*, 2008; Charoenrak y Chamswarnng, 2016). *Trichoderma* se produce en formulaciones sólidas y líquidas con inóculo viable (hifas, clamidosporas y conidias) para usarlo como agente de biocontrol (Cumagun, 2014) Ambas formulaciones requieren el secado para obtener un producto estable con prolongada vida de anaquel; así, el secado por aspersión es el más utilizado a escala industrial por su bajo costo y eficiencia (Morgan *et al.*, 2006). La mayoría de estos bioformulados se preparan a base de las especies *T. viride*, *T. virens*, y en mayor proporción *T. harzianum* (Vargas *et al.*, 2015).

Para asegurar el éxito de *Trichoderma* como biocontrolador, éste debe ser inmovilizado en ciertos portadores, y preparado en formulaciones de fácil aplicación, almacenamiento, comercialización y aplicación en campo. Algunas formulaciones comerciales de este microorganismo corresponden a talcos, vermiculita-salvado de trigo, gránulos de pesta (masa cohesiva hecha de harina de trigo, rellenos y otros aditivos que contienen al hongo), cáscara de café, aceite

vegetal o mineral, y desechos de banano (*Musa paradisiaca*) (Kumar *et al.*, 2014).

## **8. PROMOTOR DE CRECIMIENTO**

Babbitt (2003), indica que uno de los mecanismos que tienen los hongos para promover el crecimiento de las plantas es precisamente eliminando los patógenos que lo atacan. Pero no es éste el único mecanismo, también son capaces de solubilizar micronutrientes, incrementar la absorción y de producir reguladores del crecimiento vegetal. Tienen la capacidad de bloquear sitios de infección de los patógenos, ya que colonizan en forma competitiva las raíces. Así mismo, menciona que puede haber que un mismo aislamiento se comporte tanto como promotor del crecimiento vegetativo y como antagonista.

## **9. ORIGEN DEL BIOCHAR**

El concepto de biochar es relativamente reciente y el interés por su aplicación a suelos agrícolas se debe principalmente al descubrimiento de sustancias de 33 naturaleza similar al biochar en tierras oscuras de la Amazonia, conocidas localmente como *Terra preta do indio*. Estos suelos son ricos en C orgánico y muy fértiles, lo que representa una anomalía respecto a los suelos de la selva Amazónica que suelen ser muy pobres en nutrientes (Ippolito, 2015).

Se considera que los inicios de la formación de *Terra Preta de Indio* corresponden aproximadamente a los últimos tiempos del período pre-colombino en la Amazonia (Neves *et al.*, 2003).

Orlando (2012) comentó que antes se pensaba que sólo se encontraban en la Amazonia, pero aseguró que recientemente este tipo de suelos también pueden encontrarse en México y África.

### **2.9.1. BIOCHAR**

El biochar es un producto rico en carbono, que se produce por la descomposición térmica de la materia orgánica con bajo suministro de oxígeno a temperaturas de <700°C (Lenham y Joseph 2009). Se hace principalmente para aplicar en el suelo mejorando su productividad y almacenamiento de carbono (Orbegozo, 2012).

El biochar es un producto que posibilita las prácticas sostenibles en los agroecosistemas, ya que mejora la fertilidad del suelo y la eficiencia del uso de nutrientes, facilitando además el uso de elementos disponibles localmente (Stocking, 2003). Por otro lado, el biochar no sólo aumenta la productividad del suelo, sino también disminuye el impacto ambiental en los recursos hídricos del suelo (Robertson y Swinton 2005).

### **2.9.2. CARACTERÍSTICAS DEL BIOCHAR**

Como hemos mencionado con anterioridad, las características de cada biochar pueden variar considerablemente dependiendo del material de partida y de las condiciones de pirólisis, sin embargo, los biochars comparten una serie de características comunes; poseen un contenido elevado de C recalcitrante, en su mayor parte condensado en anillos aromáticos, lo que le confiere su elevado potencial de secuestro de C. También cabe destacar la presencia de nutrientes asociados a su fracción mineral (K, Ca, Mg, P, S, etc.). La mayoría de los biochars son alcalinos ( $\text{pH} > 7$ ) y dependiendo de la dosis aplicada al suelo, pueden ejercer un efecto de encalado sobre el mismo (Van Zwieten et al. 2010).

### **2.9.3. COMPOSICIÓN DEL BIOCHAR**

La propiedad que la define es que la parte orgánica del biochar tiene un alto contenido de C que forman compuestos aromáticos que se caracterizan por anillos de seis átomos de C unidos entre ellos sin O o hidrógeno (H), que son de otro modo, los átomos más abundantes en la materia orgánica viva. Si estos anillos aromáticos se organizaran en láminas perfectamente apiladas, formarían grafito. Bajo las temperaturas a las que se obtiene biochar, el grafito no se forma en cantidades significativas. En vez de eso, el C se organiza de un modo más irregular, conteniendo O y H y, en algunos casos minerales (cenizas incrustadas en los poros), dependiendo de la materia prima empleada (Oses, 2012).

### **2.9.4. PROPIEDADES FÍSICAS DEL BIOCHAR**

Las propiedades físicas del biochar contribuyen a su función como herramienta para la gestión del medioambiente. Sus características físicas pueden ser relacionadas directa e indirectamente al modo en el que afectan al suelo. Los suelos tienen cada uno diferentes propiedades físicas, dependiendo de su naturaleza mineral y materia orgánica, cantidades relativas y el modo en el que

la materia orgánica se asocia. Cuando el biochar está presente en la mezcla del suelo, su contribución a la naturaleza física del sistema puede ser significativa, influenciando la profundidad, textura, estructura, porosidad y consistencia cambiando el volumen del área superficial, distribución del tamaño de los poros, distribución del tamaño de las partículas, densidad y la aglomeración (Olmo, 2016).

### **2.9.5. PROCESO DE OBTENCIÓN DEL BIOCHAR**

La pirólisis es la degradación térmica o volatilización de la biomasa que en ausencia de oxígeno permite obtener una fracción de sólidos, líquidos y gases. El producto líquido o bioaceite podrá ser transformado y aprovechado como un combustible rico en hidrocarburos para la generación de energía térmica o mecánica o su combustión en motores. El gas de síntesis a su vez también puede ser empleado en la generación de energía térmica o mecánica o bien ser empleado para la producción de otros productos químicos. Finalmente, el material sólido, fracción de la que se obtendrá el biochar, se puede destinar bien a su combustión en procesos industriales o como materia prima para generar carbón activado, (Trujillo, 2017)

### **2.9.6. BENEFICIOS DE INCORPORAR BIOCHAR**

El biochar es considerado como un acondicionador del suelo, que mejora sus propiedades físicas, químicas y biológicas, añadido al suministro y retención de nutrientes, mejorando su fertilidad liberando importantes cantidades de fósforo y otros nutrientes esenciales como el azufre y su productividad. Estos beneficios del biochar se han atribuido a diversos efectos, como la disminución en la densidad aparente, la mejora de la dinámica del agua al modificar la estructura del suelo y la capacidad de almacenamiento de agua del terreno, el aumento de la capacidad de intercambio catiónico y el efecto encalante, (Escalante *et al*; 2016).

### **2.9.7. MECANISMOS DE INCORPORACIÓN Y MOVIMIENTO DEL BIOCHAR EN EL SUELO**

El biochar se incorpora dentro del suelo, en la mayoría de los casos, en vez de quedar en la superficie donde el viento o la erosión hídrica pueden transportar las partículas de biochar. El biochar tiene unas propiedades únicas que la hace

especialmente susceptible al movimiento en el suelo. El biochar puede movilizarse a diferentes escalas en el medio natural (Oses, 2012).

### 2.9.8. CAMBIOS FÍSICOS DEL BIOCHAR EN EL SUELO

- **Fragmentación de las partículas:** Cuando las partículas grandes de biochar se fragmentan en partículas más pequeñas por medios físicos, exponiendo más superficie que queda disponible para aumentar los procesos químicos y biológicos que actúan en estas partículas en el suelo. Se han identificado varios procesos que producen fragmentación en las partículas de biochar en el suelo.
- **Procesos de hielo-deshielo:** En lugares con gradientes de temperaturas prominentes y ciclos frecuentes de hielo-deshielo (como lugares elevados), las partículas grandes de biochar pueden fragmentarse en partículas más pequeñas cuando el agua penetra en los poros y se dilata durante la congelación, forzando la ruptura de las partículas más grandes de biochar.
- **Viento y lluvia:** Las gotas de lluvia y el viento pueden reducir el tamaño de las partículas de biochar de algunos tipos de biochar. El biochar proveniente de prados y sotobosque es más sensible a impactos físicos que el biochar de madera. Este tipo de fragmentación puede minimizarse con la incorporación de enmiendas dentro del suelo, aunque se requiere de mayor investigación en este campo (Oses, 2012).

## **CAPITULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO**

### **3.1. UBICACIÓN**

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Biología Molecular de la carrera de Medicina Veterinaria de la ESPAM MFL (Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”) y el experimento se desarrolló en el vivero de la carrera de Ingeniería Agrícola de la ESPAM – MFL, ubicada en el sitio El Limón, del cantón Bolívar, de la provincia de Manabí, situada a una altitud de 15 msnm y geográficamente entre las coordenadas 00°49'23” Latitud Sur, 80°11'01” Longitud Oeste.

### **3.2. DURACIÓN**

El presente trabajo de investigación tuvo una duración de 5 meses. Se desarrolló en dos fases: laboratorio y vivero

### **3.3. METODOS Y TECNICAS**

El trabajo se efectuó mediante el método de observación, experimentación, comparación y análisis.

#### **3.3.1. FASE 1**

- **MATERIAL VEGETAL**

Se utilizó semillas de cacao Nacional

### **3.4. DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL**

#### **3.4.1. DISEÑO Y UNIDAD EXPERIMENTAL**

Para la ejecución del experimento el ensayo se estableció un DCA con 11 tratamientos, 3 repeticiones y 33 unidades experimentales. La unidad experimental se conformó por 5 plántulas. Se realizó el análisis de varianza y la prueba Tukey  $p < 0,05$  para las fuentes de variación que tengan significación estadística en las variables respuesta evaluadas. Para el análisis de los datos se

utilizó el programa INFOSTAT (Di Rienzo, Balzarini, Gonzales, Casanoves, Tablada y Robledo, 2010). A continuación, se presenta el esquema de ADEVA.

**Tabla 2.** Esquema ADEVA

<b>Fuente de variación</b>	<b>G.L</b>
Tratamiento	10
Error	29
Total	39

### **3.5. MANEJO DEL EXPERIMENTO**

#### **a. PREPARACIÓN DEL SUSTRATO**

El sustrato se preparó con tierra, materia orgánica (cascarilla de arroz) en una relación 3:1, el uso de materia orgánica se lo realizó con la finalidad de que los hongos puedan tener las condiciones alimenticias necesarias para desarrollar su crecimiento y formación de estructuras reproductivas. El sustrato se homogenizó y se llenó en fundas plásticas de polietileno oscuras en una cantidad aproximada de 2 kg/funda.

#### **b. ESTERILIZACIÓN**

El sustrato se desinfectó mediante un método físico: "Solarización", proceso que consistió en colocar el sustrato en el suelo, humedecerlo a capacidad de campo, cubrirlo con plástico negro y exponerlo a los rayos solares durante 20 días. El objetivo de la desinfección es eliminar o, en su defecto, reducir la población de patógenos (bacterias, hongos, nematodos) que habitan en el suelo, los cuales provocan mermas en la producción.

#### **c. LLENADO DE FUNDAS**

Una vez esterilizado el sustrato se llenó las fundas plásticas (12 cm de largo x 8cm de ancho), de color oscuro.

#### **d. PREPARACIÓN DEL INOCULO**

Las semillas de cacao (103) se lavaron con solución de hipoclorito de sodio al 1 % por 1 minuto, tres lavados consecutivos con agua destilada esterilizada y se secaron sobre papel filtro en la cámara de flujo laminar y se depositaron en fundas de 2 kg, con sustrato de suelo y cascarilla de arroz (relación 3: 1). Las cepas se sembraron en medio sólido para que se desarrollaran hasta formar

colonias notables (aproximadamente 7 días después de la siembra). En la primera aplicación las cepas de *Trichoderma* se resuspendieron en medio líquido el (agua estéril) hasta lograr un título de  $10^6$  UFC/ml. El inóculo se aplicó en el momento de la siembra (1,0 ml/semilla) y sometidas a secado y posteriormente (3,0 ml/planta), la segunda y tercera aplicación se realizó a los 10 y 20 días después de la germinación.

### **3.6. VARIABLES RESPUESTAS Y METODO DE EVALUACIÓN**

#### **a. ALTURA DE PLANTA**

Se determinó realizando una medición desde el cuello de raíz hasta el meristemo más distal de la parte aérea de la planta a los 20,40 y 60 días.

#### **b. LONGITUD RADICULAR**

Se determinó tomando la planta y midiendo desde el cuello de raíz hasta el extremo más distal de la raíz de la planta 20,40 y 60 días.

#### **c. PESO SECO DE LA RAÍZ Y PARTE AÉREA**

Se tomaron los tejidos seccionados por el cuello de la raíz y se llevaron a una estufa a  $100^{\circ}\text{C}$ , durante 72 horas, para luego de esto se determinó el peso seco de cada una de las partes 20,40 y 60 días.

### **3.7. VARIABLES DE TASA DE CRECIMIENTO**

#### **d. TASA DE CRECIMIENTO RELATIVO (TCR)**

Se definió como el incremento de material vegetal por unidad de material vegetal existente y por unidad de tiempo. Se registró a los 20, 40 y 60 días después de la siembra de plántulas en bolsas de polietileno, para lo cual se aplica la siguiente ecuación:

$$\text{TCR} = \left( \frac{\ln P_2 - \ln P_1}{T_2 - T_1} \right) = (\text{g g})^{-1} \text{ día}^{-1}$$

#### **e. TASA DE CRECIMIENTO ABSOLUTO (TCA)**

Se define como el incremento de peso seco de material vegetal (P) por unidad de tiempo. Se registró a los 20, 40 y 60 días después de la siembra de plántulas en bolsas de polietileno, para lo cual se aplica la siguiente ecuación:

$$TCA = \frac{(P2 - P1)}{(T2 - T1)} = \text{g día}^{-1}$$

**Dónde:** P2 = Peso final; P1 = Peso inicial; T2 = Tiempo final; T1 = Tiempo inicial;  
Ln = Logaritmo neperiano.

#### f. TASA DE ASIMILACIÓN NETA (TAN)

Es una medida de la eficiencia de una planta o de una población como sistema asimilativo, es decir, la ganancia neta de asimilados por unidad de área foliar y por unidad de tiempo. Se resgistró a los 20, 40 y 60 días después de la siembra de plántulas en bolsas de polietileno, para lo cual se aplica la siguiente ecuación:

$$TAN = \frac{(P2 - P1)/(T2 - T1)}{(\text{Ln } AF2 - \text{Ln } AF1)/(AF2 - AF1)} = \text{g cm}^2 \text{ día}^{-1}$$

#### g. RELACIÓN DE ÁREA FOLIAR (RAF)

Es la relación existente entre el área foliar expuesta por la planta o tejido fotosintetizador y la biomasa total de la planta. Se resgistró a los 20, 40 y 60 días después de la siembra de plántulas en bolsas de polietileno, para lo cual se aplica cualquiera de las siguientes ecuaciones:

$$RAF = \frac{(AF1 + AF2)}{(P1 + P2)} = \text{cm}^2 \text{ g}^{-1}$$

$$RAF = \left( \frac{\frac{AF1}{P1} + \frac{AF2}{P2}}{[2]} \right) = \text{cm}^2 \text{ g}^{-1}$$

**Dónde:** P2 = Peso final; P1 = Peso inicial; T2 = Tiempo final; T1 = Tiempo inicial;  
AF2 = Área foliar final; AF1 = Área foliar inicial; Ln = Logaritmo neperiano

### 3.8. FASE 2

A partir del ensayo anterior, se seleccionaron las 3 cepas con los resultados más destacables en promoción de crecimiento y se evaluaron con biochar de 3 fuentes diferentes, obteniendo los siguientes factores.

#### 3.8.1. FACTORES EN ESTUDIO

- Factor A (Aislados de *Trichoderma*)
- Factor B (Fuentes de Biochar)

### **3.9. NIVELES**

#### **3.9.1. AISLADOS DE *TRICHODERMA***

- a1. Aislado
- a2. Aislado
- a3. Aislado

#### **3.9.2. FUENTES DE BIOCHAR**

- b1. Biochar de arroz
- b2. Biochar de cacao
- b3. Biochar de algarrobo

### **4. MATERIAL VEGETAL**

Se utilizó semillas de cacao Nacional

#### **4.1. DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL**

##### **4.1.1. DISEÑO Y UNIDAD EXPERIMENTAL**

Para la ejecución del experimento el ensayo se estableció con DCA con 3 tratamientos, 3 repeticiones y 9 unidades experimentales. La unidad experimental estuvo conformada por 5 plántulas. Se realizó el análisis de varianza y la prueba Tukey  $p < 0,05$  para las fuentes de variación que tengan significación estadística en las variables respuesta evaluadas. Para el análisis de los datos se utilizó el programa INFOSTAT (Di Rienzo, Balzarini, Gonzales, Casanoves, Tablada y Robledo, 2010). A continuación, se presenta el esquema de ADEVA.

#### **4.2. MANEJO DEL EXPERIMENTO**

##### **a. PREPARACIÓN DEL SUSTRATO**

El sustrato se preparó con tierra, materia orgánica (cascarilla de arroz) en una relación 3:1, y se le adicionara 5g/funda de las fuentes de biochar, el uso de materia orgánica se lo realizó con la finalidad de que los hongos puedan tener las condiciones alimenticias necesarias para desarrollar su crecimiento y formación de estructuras reproductivas. El sustrato se homogenizó y se llenó en fundas plásticas de polietileno oscuras en una cantidad aproximada de 2 kg/funda.

**b. ESTERILIZACIÓN**

El sustrato se desinfectó mediante un método físico: "Solarización", proceso que consistió en colocar el sustrato en el suelo, humedecerlo a capacidad de campo, cubrirlo con plástico negro y exponerlo a los rayos solares durante 20 días, El objetivo de la desinfección es eliminar o, en su defecto, reducir la población de patógenos (bacterias, hongos, nematodos) que habitan en el suelo, los cuales provocan mermas en la producción.

**c. LLENADO DE FUNDAS**

Una vez esterilizado el sustrato se llenaron las fundas plásticas (12 cm de largo x 8 cm de ancho), de color oscuro.

**d. PREPARACIÓN DEL INOCULO**

Las semillas de cacao (103) se lavaron con solución de hipoclorito de sodio al 1 % por 1 minuto, tres lavados consecutivos con agua destilada esterilizada y se secaron sobre papel filtro en la cámara de flujo laminar y se depositaron en fundas de 2 kg, con sustrato de suelo y cascarilla de arroz (relación 3: 1). Las cepas se sembraron en medio sólido para que se desarrollaran hasta formar colonias notables (aproximadamente 7 días después de la siembra). En la primera aplicación las cepas de *Trichoderma* se resuspendieron en medio líquido el (agua estéril) hasta lograr un título de  $10^6$  UFC/ml. El inóculo se aplicó en el momento de la siembra (1,0 ml/semilla) y sometidas a secado y posteriormente (3,0 ml/planta), la segunda y tercera aplicación se realizó a los 15 y 30 días después de la germinación.

**4.3. VARIABLES RESPUESTAS Y METODO DE EVALUACIÓN****e. ALTURA DE PLANTA**

Se determinó realizando una medición desde el cuello de raíz hasta el meristemo más distal de la parte aérea de la planta a los 30, 60 y 90 días.

**f. LONGITUD RADICULAR**

Se determinó tomando la planta y midiendo desde el cuello de raíz hasta el extremo más distal de la raíz de la planta a los 30, 60 y 90 días.

**g. PESO SECO DE LA RAÍZ Y PARTE AÉREA**

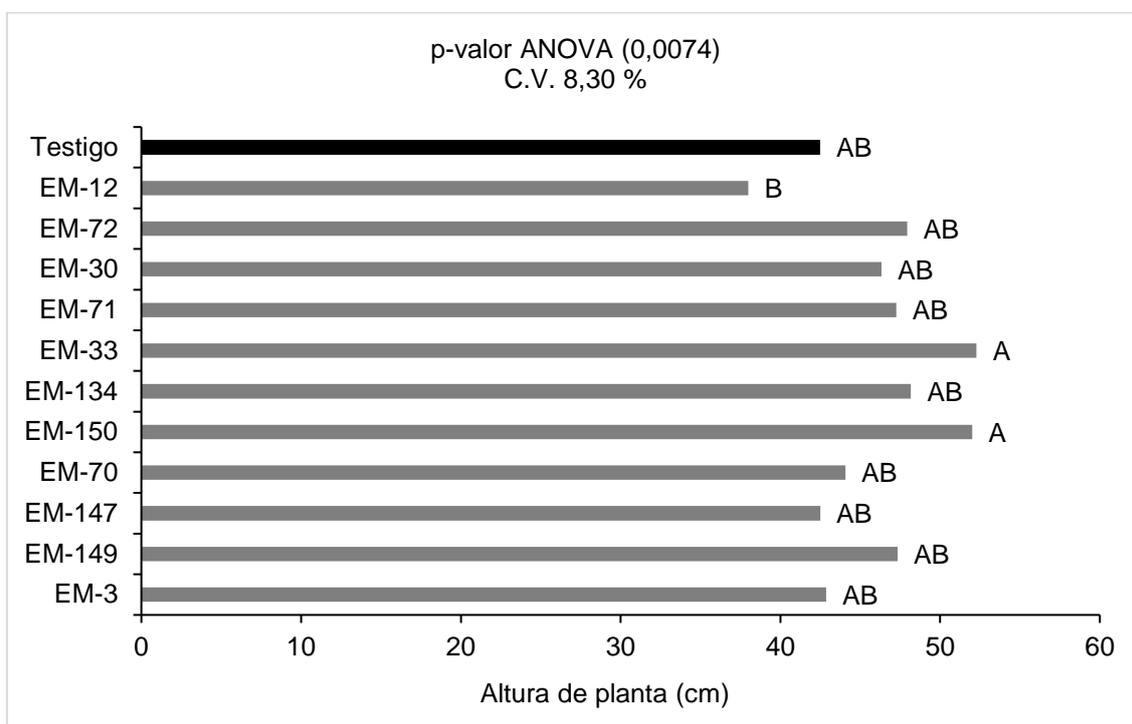
Se tomaron los tejidos seccionados por el cuello de la raíz y se llevarán a una estufa a 100°C, durante 72 horas, para luego de esto determinar el peso seco de cada una de las partes a los 30, 60 y 90 días.

## CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### • EXPERIMENTO 1.

#### 4.1. ALTURA DE PLANTA

La altura de planta fue influenciada significativamente ( $p < 0.05$ ) por los tratamientos microbianos evaluados (**Figura 1**). Las cepas que mostraron mayor efectividad sobre la altura de planta fueron EM-33 y EM-150, con un incremento del 18.69 y 18.27% con relación al tratamiento testigo, respectivamente.

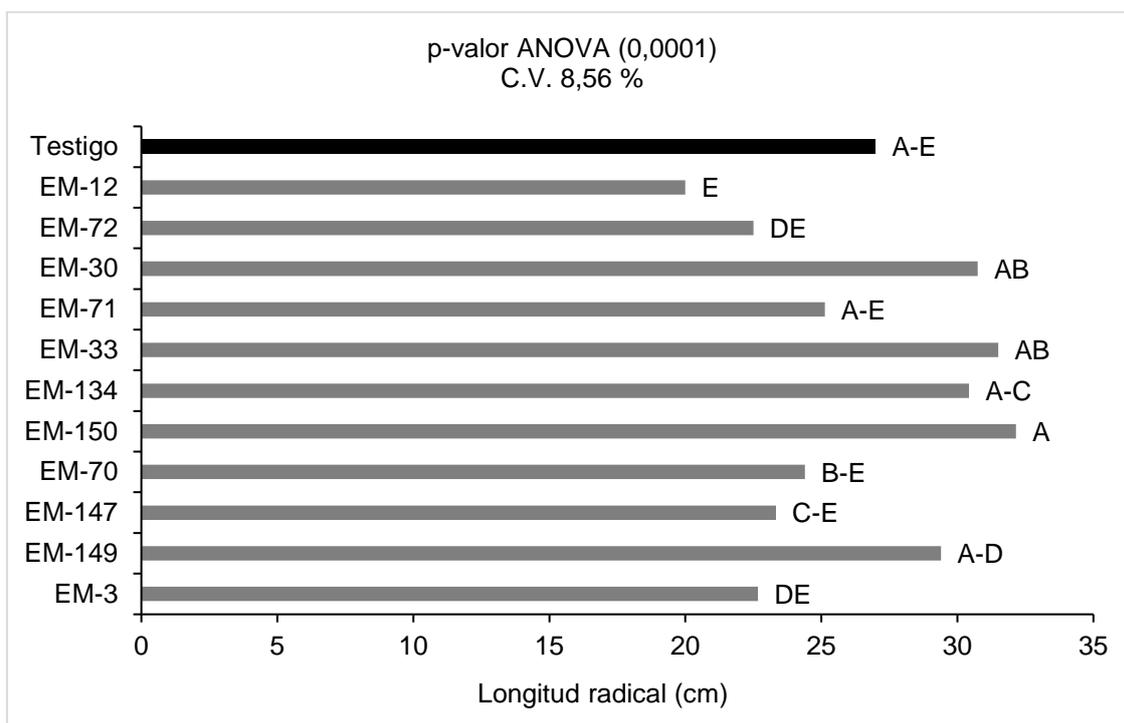


**Figura 1.** Efecto de cepas de *Trichoderma* spp., sobre la altura de plántulas de cacao a los 60 días de crecimiento en vivero. Letras distintas en cada barra difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

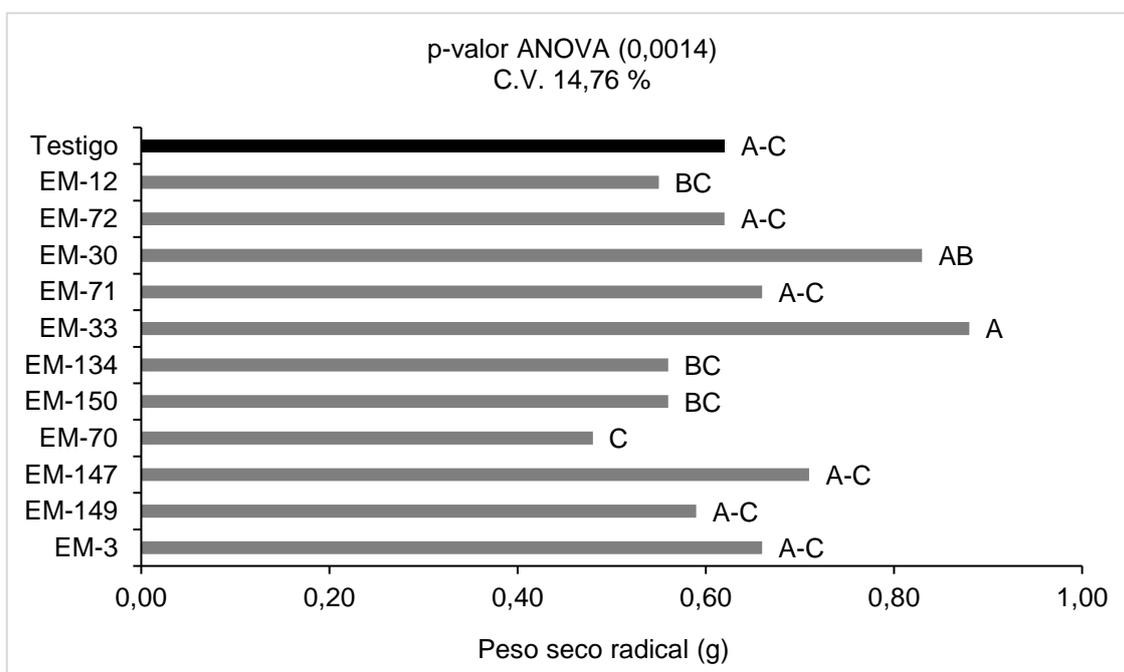
El análisis de varianza reportó diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) para la longitud radical, donde el mayor crecimiento radical fue alcanzado por las cepas EM-30, EM-33 y EM-150 con un incremento del 12.20, 14.29 y 16.02%, con relación al tratamiento control, respectivamente (**Figura 2**).

#### 4.2. PESO SECO DE LA PARTE AÉREA

El peso seco radical fue influenciado significativamente ( $p < 0.05$ ) por las cepas de *Trichoderma* probadas, donde EM-30 y EM-33 fueron las más efectivas en inducir una mayor acumulación del peso seco radical, con promedios de 0.83 y 0.88 g, respectivamente, en contraste al testigo (**Figura 3**).

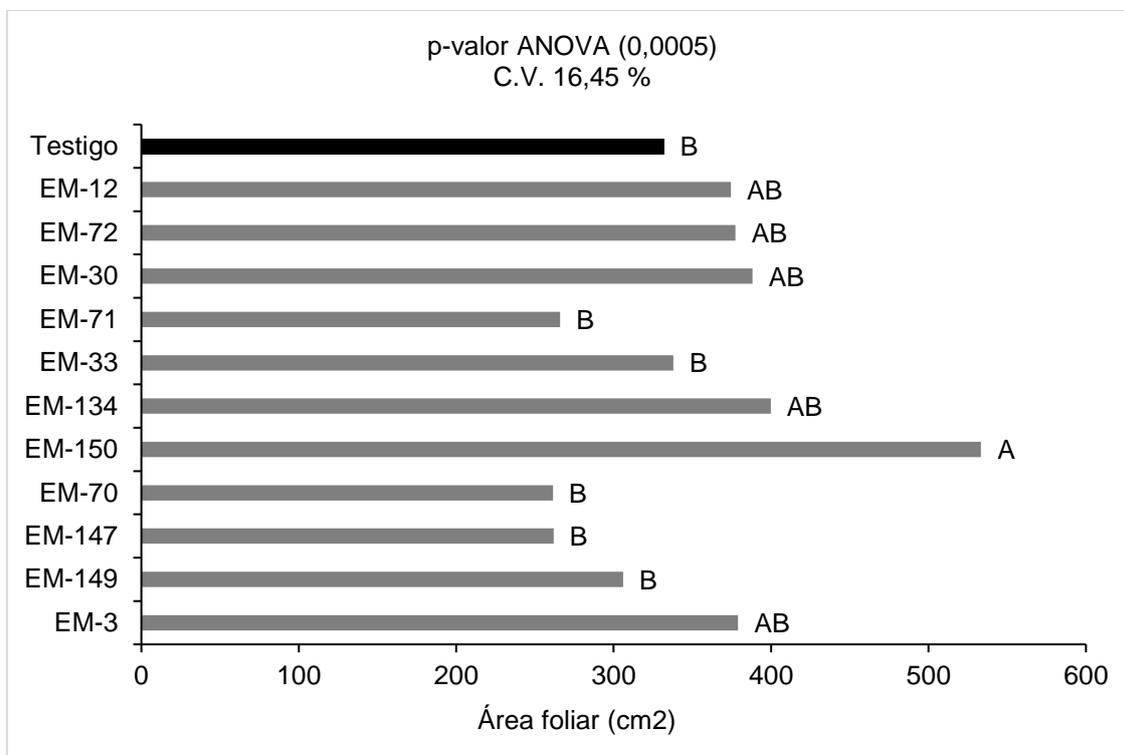


**Figura 2.** Efecto de cepas de *Trichoderma* spp., sobre la longitud radical de plántulas de cacao a los 60 días de crecimiento en vivero. Letras distintas en cada barra difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ )



**Figura 3.** Efecto de cepas de *Trichoderma* spp., sobre el peso seco radical de plántulas de cacao a los 60 días de crecimiento en vivero. Letras distintas en cada barra difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

La cepas de *Trichoderma* influyeron significativamente ( $p < 0.05$ ) el área foliar de las plántulas de cacao, donde la cepa EM-150 logró la mayor área foliar, con un incremento del 37.75%, con respecto al tratamiento control (**Figura 4**).



**Figura 4.** Efecto de cepas de *Trichoderma* spp., sobre el área foliar de plántulas de cacao a los 60 días de crecimiento en vivero. Letras distintas en cada barra difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

### 4.3. TASA DE CRECIMIENTO RELATIVO (TCR)

La tasa de crecimiento relativo (TCR) mostro una tendencia similar para todos los tratamientos, sin embargo, desde los 40 a 60 días se destacaron con mayor TCR las cepas EM-33, EM-30 y EM-150, siendo la cepa EM-33 la que logró mayor incremento de masa seca en el tiempo, con relación a una masa seca inicial (**Figura 5**). De manera similar las cepas EM-33, EM-30 y EM-150 alcanzaron entre los 40 a 60 días mayor tasa de asimilación neta (TAN), donde la cepa EM-33 se destacó con mayor incremento de peso seco por área foliar y tiempo (**Figura 6**). Por su parte, la relación de área foliar (RAF) mostro una tendencia negativa en el tiempo para todos los tratamientos evaluados (Figura 7), donde las cepas EM-33, EM-30 y EM-150 se destacaron con mayor área foliar por gramo de peso seco, donde una vez más, la cepa EM-33 potenció en mayor medida el crecimiento de las plántulas de cacao (**Figura 7**).

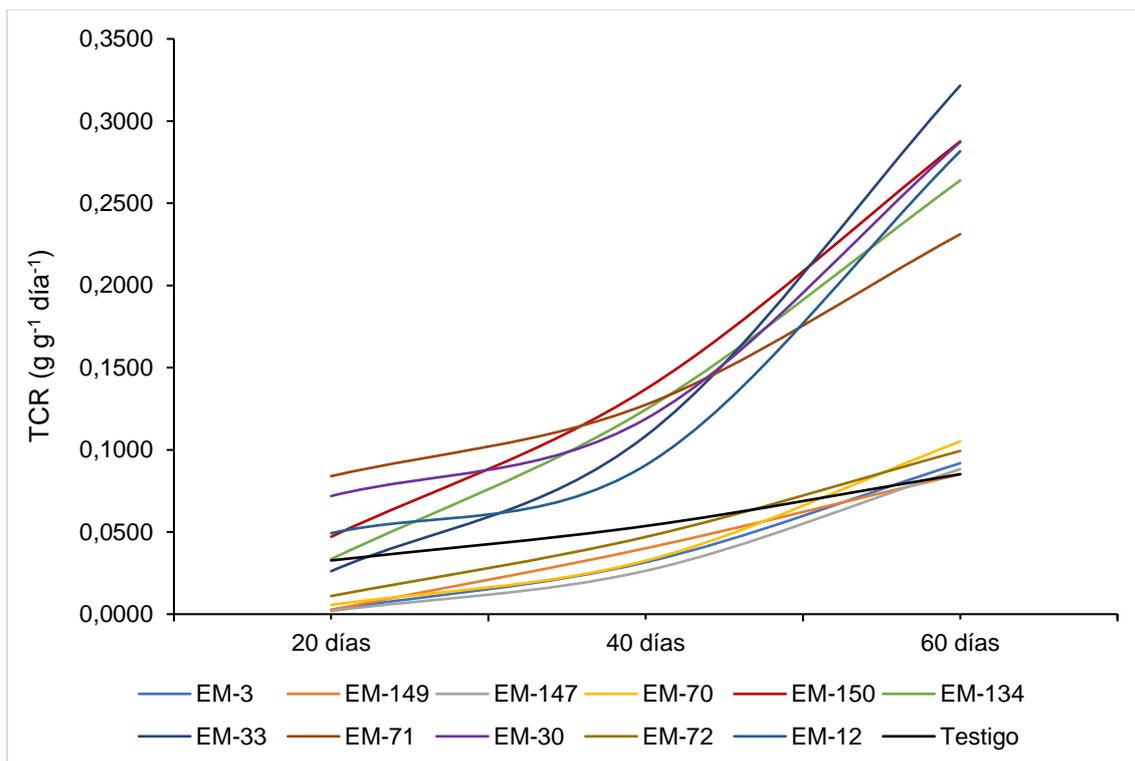


Figura 5. Tasa de crecimiento relativo de plántulas de cacao en vivero inoculadas con cepas de *Trichoderma* spp.

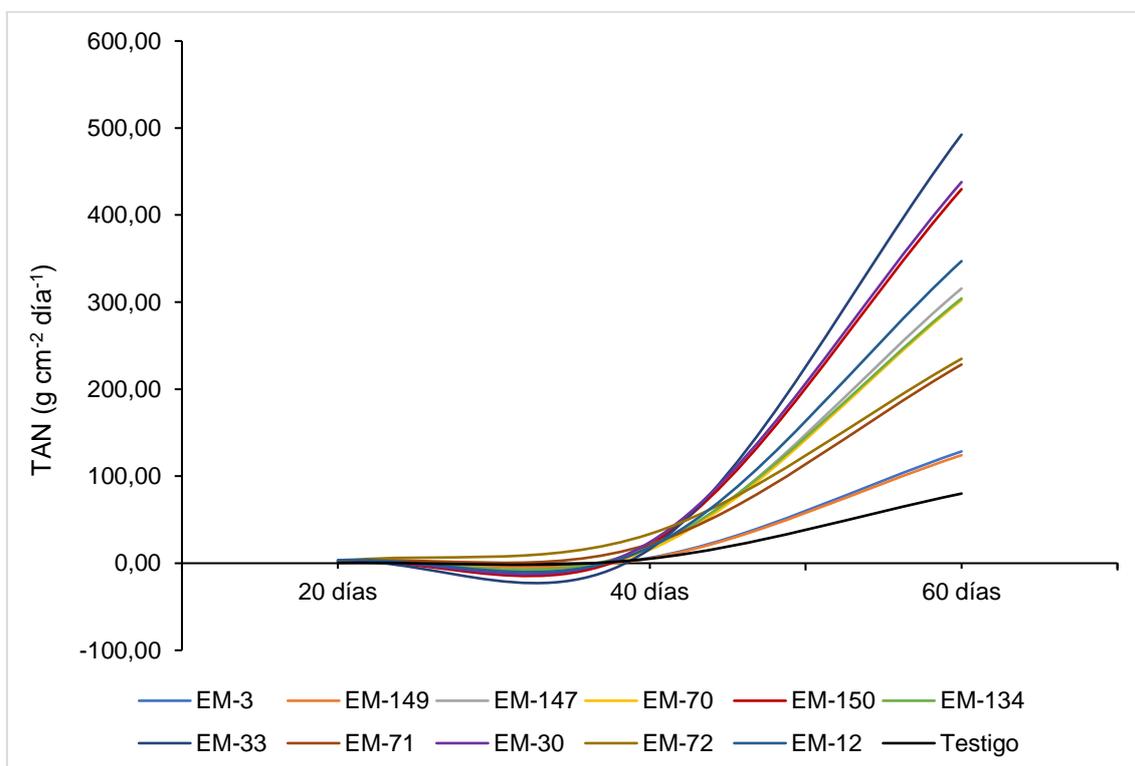
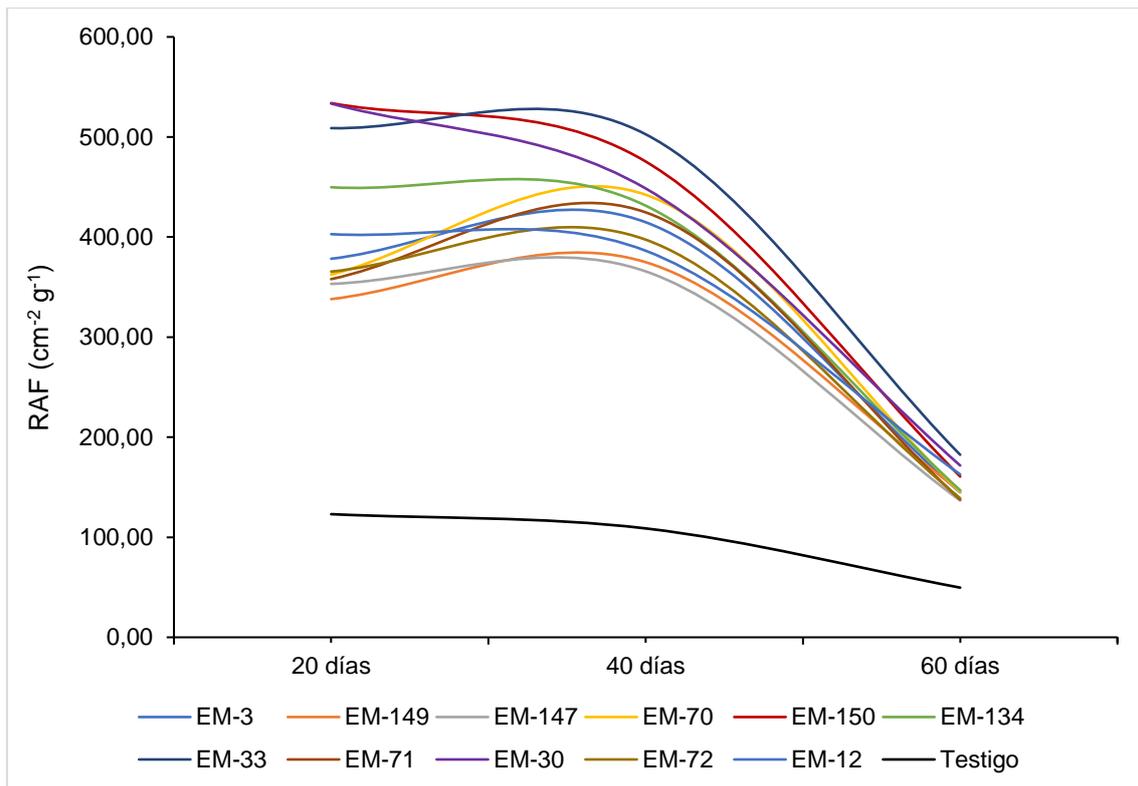


Figura 6. Tasa de asimilación neta de plántulas de cacao en vivero inoculadas con cepas de *Trichoderma* spp.



**Figura 7.** Relación de área foliar de plántulas de cacao en vivero inoculadas con cepas de *Trichoderma* spp.

Los resultados alcanzados en el primer experimento, destacan el potencial biofertilizante de las cepas de *Trichoderma* spp. EM-33, EM-30 y EM-150 para promover un mayor crecimiento de plántulas de cacao en etapas tempranas, lo cual evidencia que pueden ser utilizadas como promotores de crecimiento vegetal en programas de agricultura ecológica. Los resultados alcanzados se acercan a los descritos por Bae et al. (2009), quienes reportaron mayor crecimiento de raíces, en plántulas de cacao inoculadas con *Trichoderma hamatum* cepa DIS219b, además, las plántulas inoculadas se marchitaron más lentamente en respuesta a la sequía, lo cual denota que *Trichoderma* a parte de promover crecimiento, también induce tolerancia a condiciones de estrés. Así mismo de Sousa et al. (2021) sustentan que la inoculación de semillas de cacao con *Trichoderma* aumenta la longitud de la radícula y el hipocótilo. Además, en plántulas en vivero, incrementaron la altura y la masa seca de las raíces de las plantas. En este mismo contexto, los resultados obtenidos se asemejan a los conseguidos por Chávez et al. (2022) quienes alcanzaron mayor crecimiento en plántulas de cacao tratadas con *T. harzianum* y *T. afroharzianum*, alcanzado una tasa de colonización de pelos radicales del 66.67%.

## • Experimento 2.

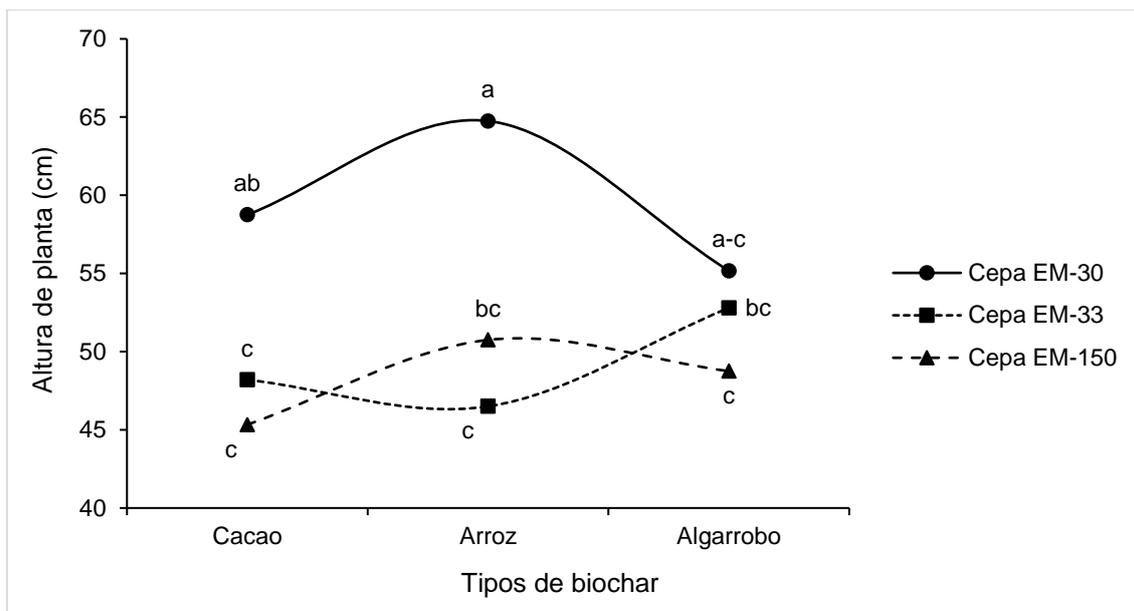
La interacción entre biochar y cepas de *Trichoderma* evidenció significancia ( $p < 0.05$ ) en todas las variables de crecimiento evaluadas, lo cual indica que el efecto de las cepas de *Trichoderma* sobre el crecimiento de las plántulas, es dependiente del tipo de biochar (**Tabla 1**). El efecto principal de cepas de *Trichoderma* también influyó significativamente ( $p < 0.05$ ) el crecimiento de las plántulas de cacao, lo cual indica que independientemente del tipo de biochar, las cepas promueven el crecimiento de las plantas de cacao (**Tabla 1**). Del mismo modo, el efecto principal del biochar, fue significativo ( $p < 0.05$ ) las variables longitud radical y área foliar, mientras que la altura de planta y peso seco de planta no fueron afectadas estadísticamente por los tipos de biochar (**Tabla 1**). El contraste ortogonal entre el promedio de los tratamientos de biochar y cepas de *Trichoderma* vs el tratamiento testigo, mostró diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), lo cual evidencia que el uso de biochar y de cepas de *Trichoderma* como sustrato y biofertilizantes, potencian el crecimiento de las plántulas de cacao en vivero (**Tabla 1**).

**Tabla 1.** Significancia estadística del crecimiento de plántulas de cacao, en función de biochar y cepas de *Trichoderma* spp.

Fuente de variación	Altura de planta (cm)	Longitud radical (cm)	Peso seco de planta (g)	Área foliar (cm <sup>2</sup> )
Cepas	0,0001**	0,0001**	0,0011**	0,0029*
Biochar	0,1730 <sup>NS</sup>	0,0139*	0,1204 <sup>NS</sup>	0,0001**
Cepas x Biochar	0,0150*	0,0024**	0,0142*	0,0029**
Testigo vs Tratamientos	0,0001**	0,0003**	0,0001**	0,0001**
C.V. %	7,02	7,86	15,43	15,19

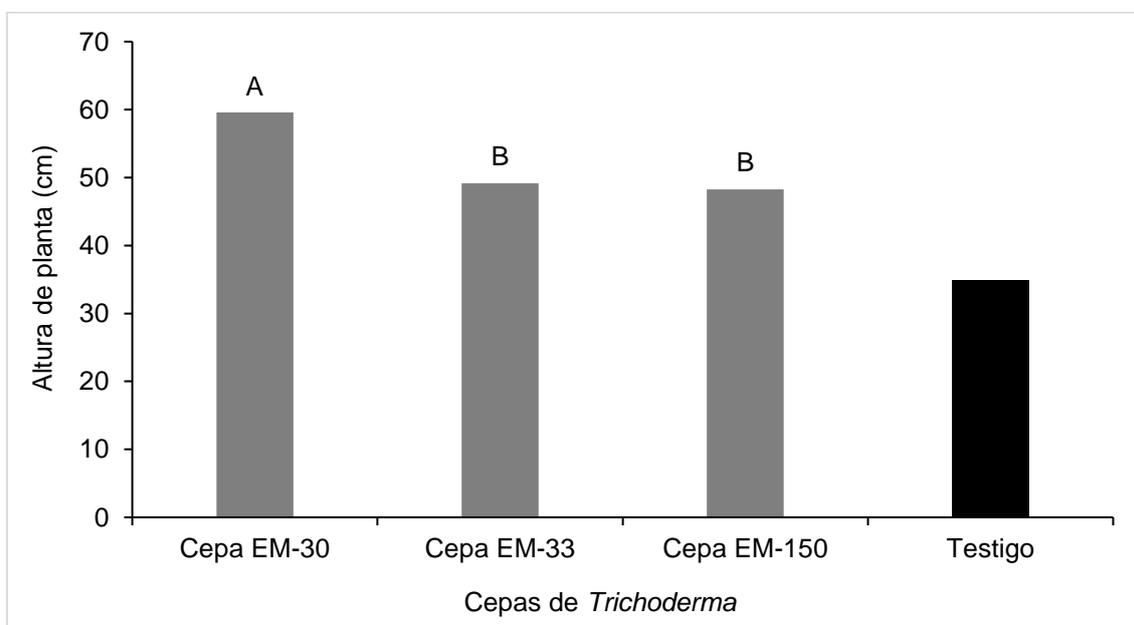
\*\* Diferencias significativas; <sup>NS</sup> No significativo ( $p > 0.05$ )

La combinación del biochar de arroz + la cepa EM-30 fue el tratamiento que logró la mayor altura de planta con 65.75 cm, en comparación a las demás cepas y tipos de biochar, con menor altura de planta (**Figura 8**).



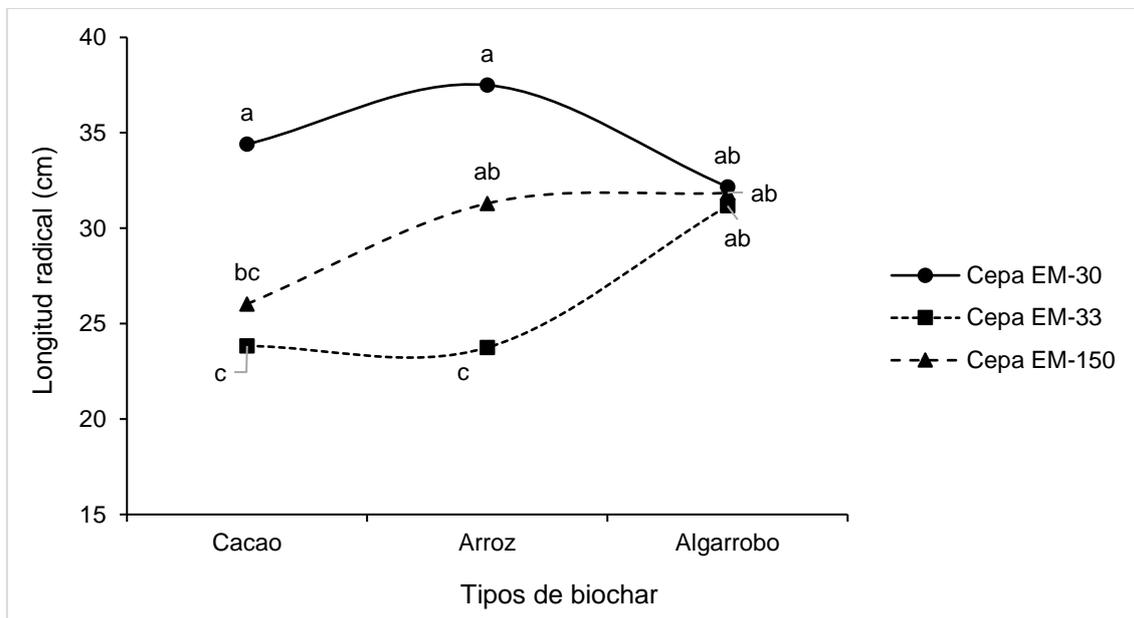
**Figura 8.** Efecto de interacción biochar por cepas de *Trichoderma* sobre la altura de planta de plántulas de cacao, a los 90 días de aclimatación en vivero.

En cuanto al efecto principal de las cepas de *Trichoderma* sobre la altura de planta, la cepa EM-30 logró el mayor incremento con el 17.44, 18.94 y 41.47 %, con relación a las cepas EM-33, EM-150 y el tratamiento testigo, respectivamente.



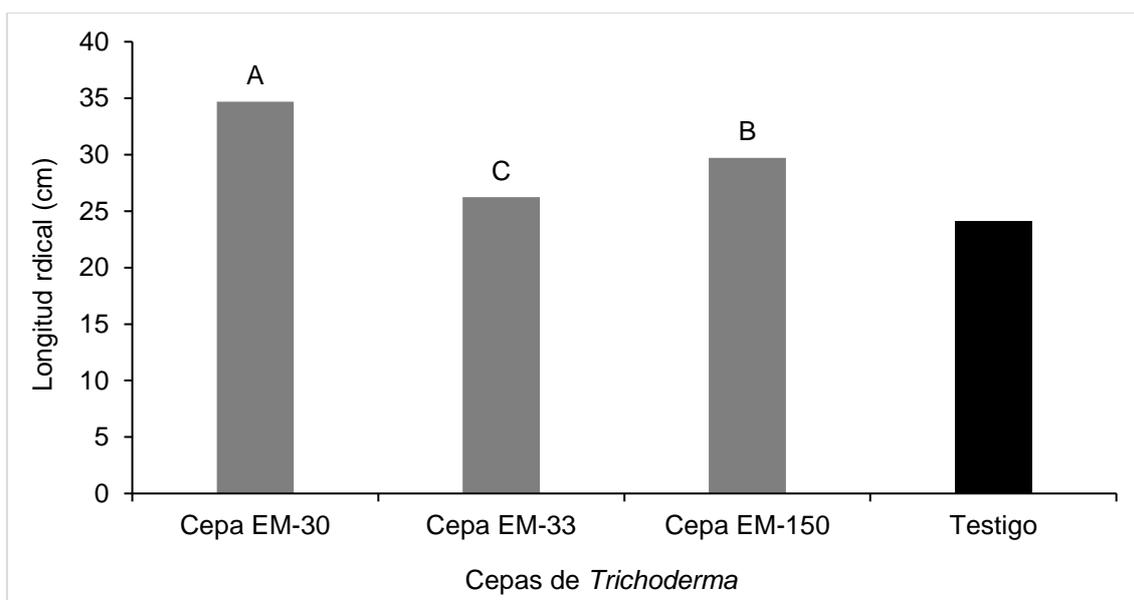
**Figura 9.** Efecto de cepas de *Trichoderma* sobre la altura de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero.

La interacción entre el biochar de arroz + la cepa EM-30 alcanzó la mayor longitud radical con 37.50 cm, en relación a los demás tratamientos que obtuvieron una longitud radical menor (**Figura 10**).



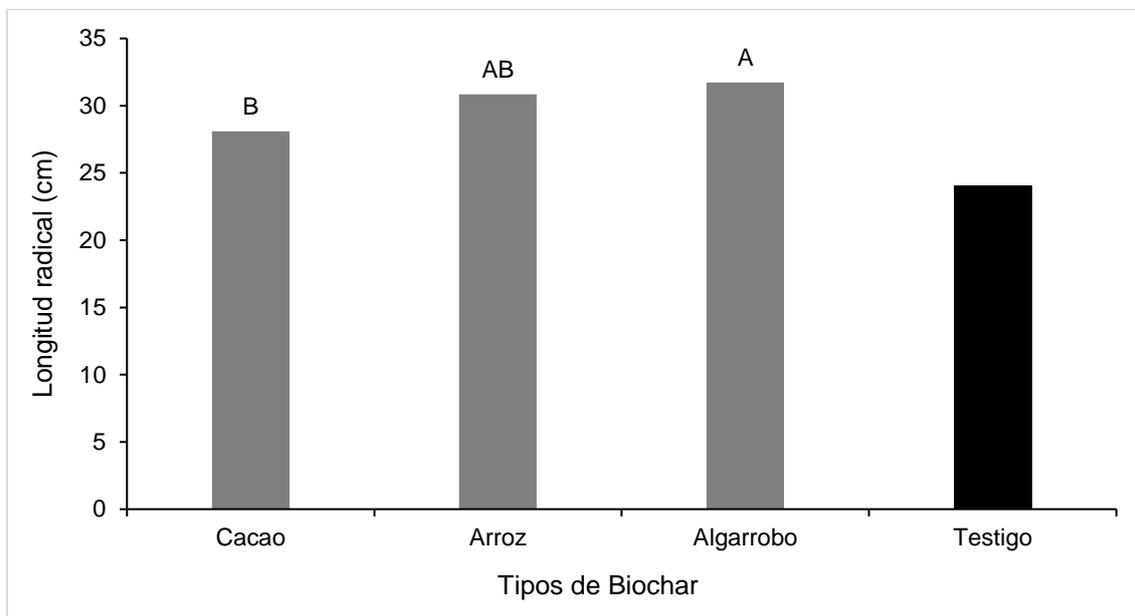
**Figura 10.** Efecto de interacción biochar x cepas de *Trichoderma* sobre la altura de planta de plántulas de cacao, a los 90 días de aclimatación en vivero.

De manera independiente, la cepa EM-30 logró el mayor incremento en longitud radical con el 14.30, 24.33 y 30.61 %, en comparación a las cepas EM-150, EM-33 y el tratamiento testigo, respectivamente (**Figura 11**).



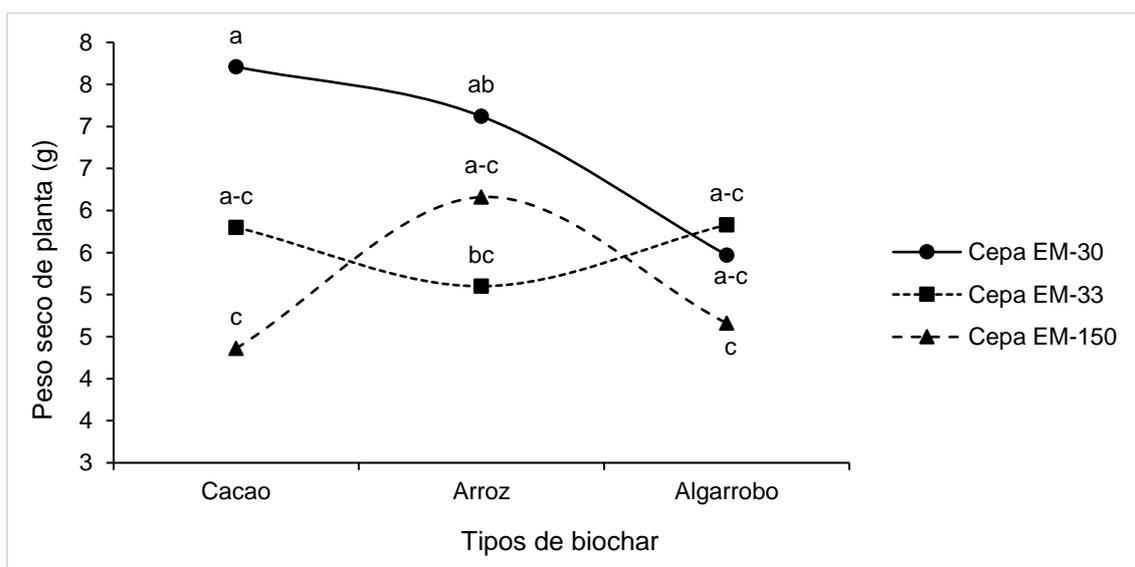
**Figura 11.** Efecto de cepas de *Trichoderma* sobre la longitud radical de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero

Independientemente de las cepas de *Trichoderma*, el biochar de algarrobo logró el mayor incremento en longitud radical con el 2.77, 11.47 y 24.14 %, con relación a los biochar de arroz, cacao y el tratamiento control, en su orden respectivo (**Figura 12**).



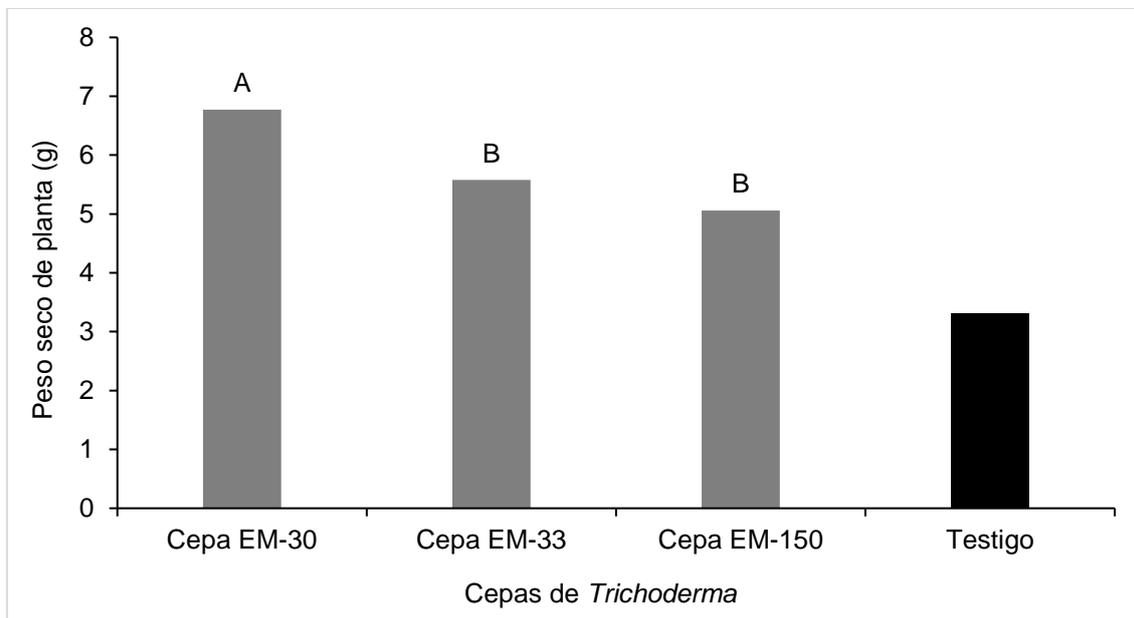
**Figura 12.** Efecto de tipos de biochar sobre la longitud radical de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero.

La interacción entre el biochar de cacao + la cepa EM-30 alcanzó el mayor peso seco de planta con 7.71 g, en relación a los demás tratamientos (**Figura 13**).



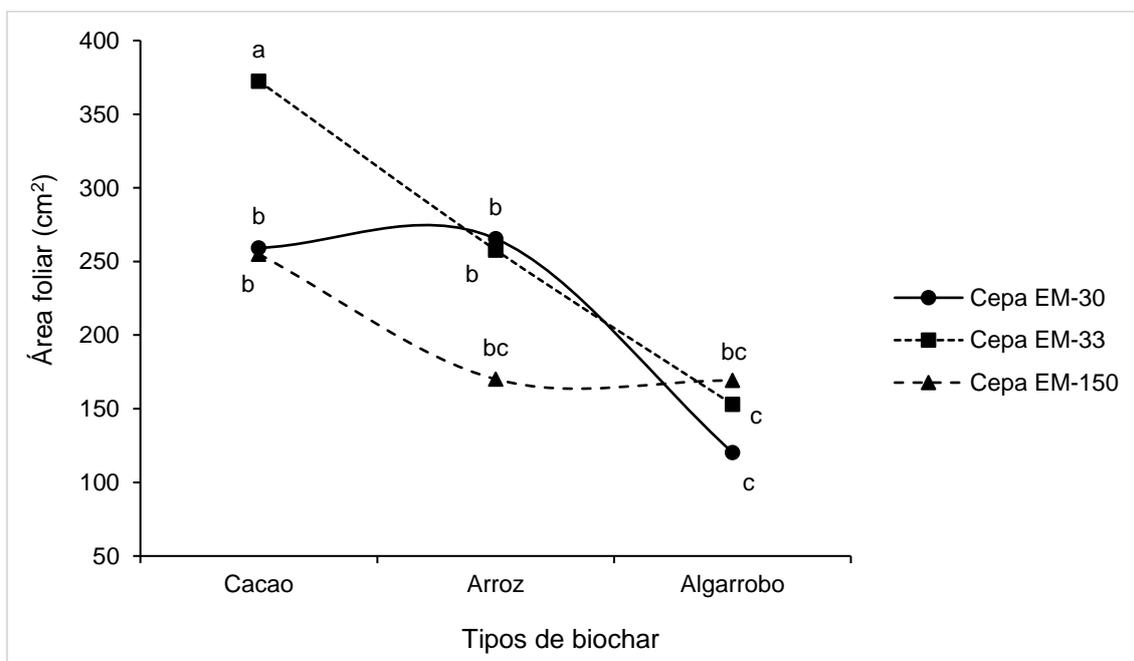
**Figura 13.** Efecto de interacción biochar x cepas de *Trichoderma* sobre el peso seco de plántulas de cacao, a los 90 días de aclimatación en vivero.

De manera independiente, se comprobó que la mejor cepa fue EM-30 logrando un mayor incremento en peso seco de planta con el 17.58, 25.26 y 50.96 %, en relación a las cepas EM-33, EM-150 y el tratamiento control (**Figura 14**).



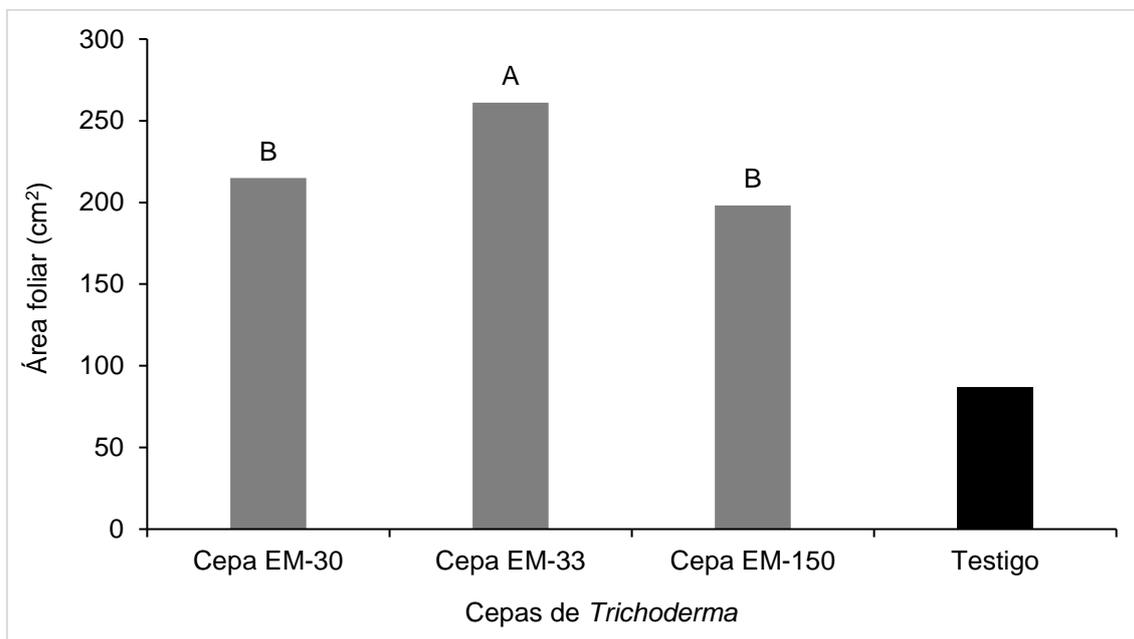
**Figura 14.** Efecto de cepas de *Trichoderma* sobre peso seco de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero.

La combinación del biochar de cacao + la cepa EM-33 fue el tratamiento que logró la mayor área foliar con 372.5 cm<sup>2</sup>, en contraste a las demás cepas y tipos de biochar, que lograron una menor área foliar (**Figura 15**).



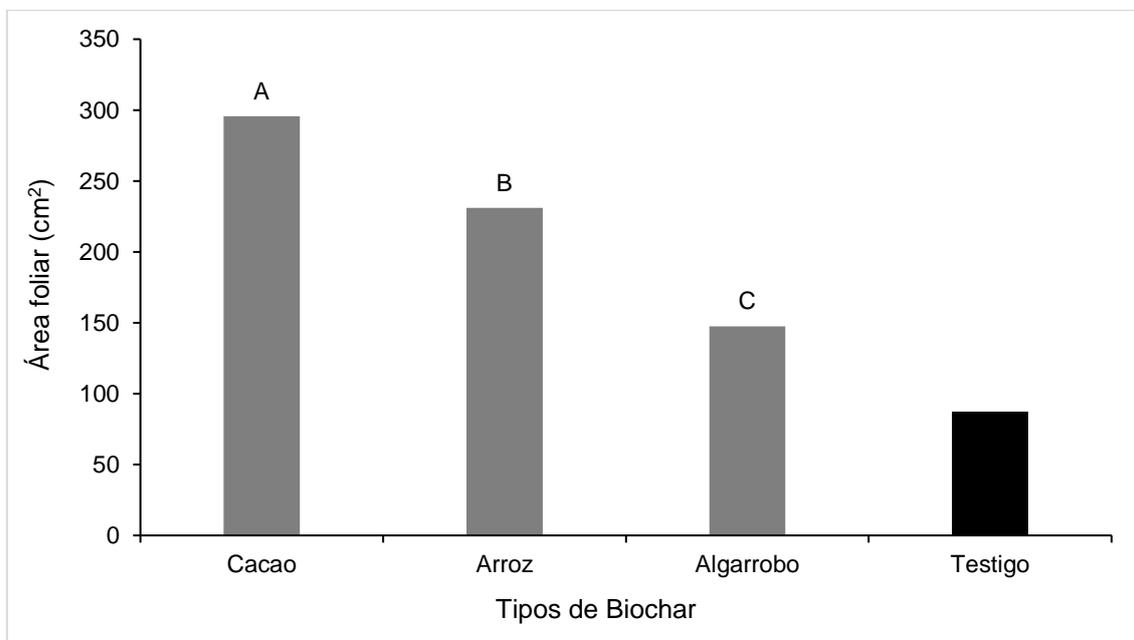
**Figura 15.** Efecto de interacción biochar x cepas de *Trichoderma* sobre el área foliar de plántulas de cacao, a los 90 días de aclimatación en vivero.

En cuanto al efecto principal de las cepas de *Trichoderma*, la cepa EM-33 alcanzó el mayor incremento de área foliar con el 17.66, 24.13 y 66.68%, con relación a las cepas EM-30, EM-150 y el tratamiento control (**Figura 16**).



**Figura 16.** Efecto de cepas de *Trichoderma* sobre el área foliar de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero.

Se evidenció que el biochar de cacao obtuvo mayor área foliar, con un incremento del 21.81, 50.10 y 70.57%, con relación a los demás biochar y el tratamiento control, respectivamente.



**Figura 17.** Efecto de tipos de biochar sobre el área foliar de plántulas de cacao a los 90 días de aclimatación en vivero.

Los resultados hallados en el experimento 2, se asemejan a los reportados por Dewi et al. (2017), quienes alcanzaron mayor crecimiento de plántulas de cacao, con la aplicación de biochar en combinación con enmiendas orgánicas. De manera similar, Bahrun et al. (2017), reportaron mayores incrementos de altura de planta, longitud radical, peso seco y área foliar de plántulas de cacao tratadas con biochar, en relación al tratamiento control que mostró menores tasas de crecimiento. Así mismo, Nduka y Adeniyi (2017) lograron mayores aumentos de área foliar de plántulas de cacao en vivero, con sustratos enriquecidos e inoculados con biochar y biofertilizantes. Por su parte, Cargua et al. (2020), lograron incrementos significativos de altura de planta, longitud radical, masa seca de planta y área foliar en plántulas de cacao tratadas con la combinación de biochar y biofertilizantes, en comparación a los tratamientos controles. En este mismo contexto, Djenatu et al. (2020) reportaron que la inoculación de sustratos con biofertilizantes aumentó el peso seco de plántulas de cacao en vivero, en comparación con las plantas tratadas con fertilizantes y el tratamiento control.

Los mayores índices de crecimiento logrados en plántulas de cacao tratadas con biochar y cepas de *Trichoderma*, pueden deberse a que el biochar y los consorcios microbianos promueven una mejor disponibilidad de nutrientes en el sustrato, lo cual podría estar relacionado a la liberación de sustancias bioquímicas por parte de los microorganismos, que pueden quelatar y disponibilizar nutrientes para las plantas. Además, es bien conocido que los microorganismos contribuyen al crecimiento de las plantas, mediante la liberación de sustancias de crecimiento (Dewi et al., 2017; Nduka y Adeniyi, 2017; Laode et al., 2018; Bahrun et al., 2020). En cuanto al efecto del biochar, se ha descrito que presenta cavidades porosas, las mismas que generan un ambiente propicio para el alojamiento y reproducción de los microorganismos del suelo, los que incrementan su actividad biológica y contribuyen a mejorar las características físico-químicas del suelo y por ende mayor disponibilidad de nutrientes (Ajema, 2018; Gorovtsov et al., 2019; Hardy et al., 2019).

# CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

## 5.1. CONCLUSIONES

- El uso de biochar como sustrato y la aplicación de *Trichoderma* como biofertilizante, fue efectivo para mejorar el crecimiento de plántulas de cacao en fase de vivero.
- Las cepas de *Trichoderma* EM-33, EM-30 y EM-150 mostraron el mayor potencial promotor de crecimiento en plántulas de cacao, independientemente del efecto del biochar.
- Los biochar a base de cascarilla de arroz y cáscara de cacao mostraron el mayor potencial de uso para ser usados como parte del sustrato en el crecimiento de plántulas de cacao.

## 5.2. RECOMENDACIONES

- El uso de biochar a base de cascarilla de arroz y cáscara de cacao como parte del sustrato y la inoculación de las cepas de *Trichoderma* EM-33, EM-30 y EM-150 puede ser recomendado para potenciar el crecimiento de plántulas de cacao en vivero.
- En investigaciones futuras se recomienda evaluar la mezcla de las cepas de *Trichoderma* EM-33, EM-30 y EM-150 con otros consorcios microbianos, con la finalidad de potenciar su efecto promotor de crecimiento vegetal.

## BIBLIOGRAFÍA

- Albuquerque, J., Calero, M., Barrón, V., Torrent, J., Campillo, M., Gallardo, A y Villar, R. (2014). Efectos de los biocarros producidos a partir de diferentes materias primas sobre las propiedades del suelo y el crecimiento de las flores solares. J. Plant Nutr. Ciencia del suelo. 177, 16-25
- Ajema, L. (2018). Effects of biochar application on beneficial soil organism review. International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology 5(5): 9-18.
- Álvaro, G. (2019). *Trichodermas* aliadas de nuestros cultivos. Consultado el 23 de noviembre del 2020. Disponible en. <https://www.fertibox.net/single-post/trichodermas#:~:text=Las%20trichodermas%20pertenece%20al%20g%C3%A9nero,ejemplo%2C%20troncos%20ca%C3%ADdos%20y%20esti%C3%A9rcol.>
- Arvelo, M., Delgado, T., Maroto, S. Sf. Situación del comercio de cacao en el mundo y en América. PDF. Disponible en: <file:///C:/Users/ASUS/Downloads/BVE18019631e.pdf>
- Avendaño. (2011). Diagnóstico del cacao en México. México. SAGARPA.
- Azis, A., Rosmana A y Dewi, V. (2013). Pengendalian penyakit hawar daun *Phytophthora* pada bibit kakao dengan *Trichoderma asperellum* J. Fitopatol. Indones. 9 15
- Bae, A., Sicher, R., Kim, M., Kim, S., Strem, M., Melnick, R y Bailey, B. (2009). The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. Volume 60, Pages 3279–3295.
- Babbitt, S. (2003). Hongos promotores de crecimiento. Cátedra de Fitopatología FAUBA Cuenca Rural. 10 p. Consultado el 10 de enero del 2021. Disponible en: (<http://www.agroparlamento.com.ar/agroparlamento/notas.asp?n=968>).

- Bahrún, A., Yunus, M., Safuan, L., Harjoni, L y Singh, R. (2017). Effects of cocoa pod husk biochar on growth of cocoa seedlings in southeast Sulawesi-Indonesia. *Asian Journal of Crop Science* 10(1): 22-30. doi: 10.3923/ajcs.2018.22.30.
- Bahrún, A., Rakian, T y Madiki, R. (2020). Effect of different types of biochar on growth of cocoa seedlings (*Theobroma cacao L.*). *Asian Journal of Crop Science* 12(1): 12-18. doi: 10.3923/ajcs.2020.12.18.
- Barea, J., Pozo, R., Azcón, M y Azcón, C. (2005). Cooperación microbiana en la rizosfera. *J. Exp. Larva del moscardón*. 56 (417): 1761-1778.
- Benavides, M y Sáenz, E. (2004). Efecto de hongos benéficos sobre la nutrición y sanidad de aguacate. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria.
- Berg, G. (2009). Interacciones planta-microbio que promueven el crecimiento y la salud de las plantas: perspectivas para controlar el uso de microorganismos en la agricultura. *Microbiología aplicada Biotecnología*, 84: (11-18).
- Börkman, T; Blanchard, L y Harman, G. (1998). Growth enhancement of shrunken-2 sweet corn by *Trichoderma harzianum*: effect of environmental stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci* 1998; 23(1): 295-322.
- Cargua, J., Echeverría, C y Cedeño, G. (2020). Efectividad de biochar y biofertilizantes en el crecimiento y calidad de plántulas de cacao. *ESPAMCIENCIA* 11(2):95-100.
- Charoenrak, P y Chamswarnng, C. (2016). Efficacies of wettable pellet and fresh culture of *Trichoderma asperellum* biocontrol products in growth promoting and reducing dirty panicles of rice. *Agriculture and Natural Resources*, (50:243-249).
- Chávez, J., Cabezas, O., Avendaño, M y Reymundo, L. (2004). Perú. Control Biológico de *Sclerotium rolfsii* en fríjol (*Phaseolus vulgaris L.*) variedad 'chaucha' con *Trichoderma* spp. Universidad Nacional Agraria de la Selva. T:ingo María. Resumen del Congreso de Fitopatología. Huaraz. (77) p.
- Chavez, A., Santos. L., Bobadilla. L., Vigo, C., Arce, M y Oliva, M. (2022). Peru. Effect of Endophytic *Trichoderma* sp. Strains on the Agronomic Characteristics of

Ecotypes of *Theobroma cacao* L. under Nursery Conditions in Peru. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

Cumagun, C. (2014). Advances in formulation of *Trichoderma* for biocontrol. p. 527-532. En V.K. Gupta, M. Schmoll, A. Herrera-Estrella, R.S. Upadhyay, I. Druzhinina, y M. Tuohy (eds.) *Biotechnology and Biology of Trichoderma*. Amsterdam, Netherlands.

Ennis, C., Evans, A., Islam, M., Ralebitso, T y Senior, E. (2012). "Biochar: carbon sequestration, land remediation, and impacts on soil microbiology," *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, vol. 42, (no. 22, pp. 2311–2364).

Di Rienzo, J., Balzarini, M., Gonzales, L., Casanoves, F., Tablada, M y Robledo, C. (2010). *InfoStat versión 2018*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Djenatou, P., Ngoh, J., Kosma, P y Ngonkeu, E. (2020). Evaluation of the Inoculation Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on the Growth of Cocoa Seedlings (*Theobroma cacao* L.) in the Nursery. *International Journal of Sciences* 9(07): 6 – 13.

Dewi, K., Anas, I., Anwar, S., Yahya, S y Djajakirana, G. (2017). *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR)* 36(5):261-273.

Escalante, A., Perez, G., Hidalgo, C., Lopez, J., Valtierra, E y Etchevers, J. (2016). Biocarbón (biochar) I: Naturaleza, historia, fabricación y uso en el suelo. *Terra Latinoamericana*, vol.34 (no.3)

Fernández, L. (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado de Plagas*. 62:96-100.

Fdez, L. (2019). Antibiosis. Consultado el 10 de enero del 2021. Disponible en: <https://www.ecologiaverde.com/antibiosis-definicion-y-ejemplos-2281.html>

Gardner, F; Brent P y Mitchel, R. (1985). Tasa de crecimiento. Consultado el 15 de julio del 2021. Disponible en:

[http://agro.unc.edu.ar/~ceryol/documentos/ecofisiologia/FIJACIN\\_DE\\_CARBON\\_O\\_POR\\_LOS\\_CULTIVOS.pdf](http://agro.unc.edu.ar/~ceryol/documentos/ecofisiologia/FIJACIN_DE_CARBON_O_POR_LOS_CULTIVOS.pdf)

- Gutiérrez, M., Gómez, R y Rodríguez, N. (2011). Colombia. Comportamiento del crecimiento de plántulas de cacao (*Theobroma cacao L.*), en vivero, sembradas en diferentes volúmenes de sustrato. *Corpoica Ciencia y Tecnología. Agropecuaria*, vol. 12, núm. 1. pp. (33- 41).
- González, I., Rodríguez, M., Delgado, B y Schmid, H. (2020). Biochar y su contribución a la nutrición, crecimiento y defensa de las plantas Biochar and its contribution to plant nutrition, growth and defense. *Revista de protección vegetal*. Vol. 35, Núm. (2).
- Gorovtsov, A., Minkina, T., Mandzhieva, S., Perelomov, L., Soja, G., Zamulina, I., Rajput, V., Sushkova, S., Mohan, D y Yao, Y. (2019). The mechanisms of biochar interactions with microorganisms in soil. *Environ Geochem Health* 42: 2495–2518. doi: 10.1007/s10653-019-00412-5.
- Hardy, B., Sleutel, S., Dufey, J., y Cornelis, J. (2019). The long-term effect of biochar on soil microbial abundance, activity and community structure is overwritten by land management. *Frontiers in Environmental Science* 7:110. doi: 10.3389/fenvs.2019.00110
- Harman G. (2003). *Trichoderma harzianum*, *T. viridis*, *T. koningii*, *T. hamatum* (Deuteromycetes: Moniliales). Consultado el 10 de enero del 2021. Disponible en: <http://www.ibun.unal.edu.co/r2r7e.html>.
- Harma, G. (2004). Mythos and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derive from research on *Trichoderma harzianum* T22. *Plant Dis.*;84:377-393.
- Hoyos, L; Villegas, S y Peralta, S. (2008). Evaluación de *Trichoderma asperellum* como biorregulador de *Spongospora subterranea* F. sp. subterranea. Trabajo de grado, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia
- ICCO (Organización Internacional del Cacao). (2016). Boletín Trimestral de Estadísticas del Cacao v. 2, tomo 42, año cacaotero 2015-2016. Producción

cacaotera mundial y en América. PDF. Disponible en:  
file:///C:/Users/HP/Downloads/BVE18019631e.pdf

- Jaklitsch, W y Voglmayr, H. (2015). Biodiversidad de *Trichoderma* (*Hypocreaceae*) en el sur de Europa y Macaronesia. *Estudios de Micología* 80: 1-87.
- Ippolito, J., Spokas, K., Novak, J., Lentz, R y Cantrell, K. (2015). Biochar elemental composition and factors influencing nutrient retention. En: Lehmann J, Joseph S (eds.). *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. Earthscan Publications Ltd, London
- Kumar, S., Thaku. M y Rani, A. (2014). *Trichoderma*: Mass production, formulation, quality control, delivery and its scope in commercialization in India for the management of plant diseases. *African Journal of Agricultural Research*, 9(53):3838- 3852.
- Lehmann, J y Joseph, S. (2009). Biochar For Environmental Management: An introduction. In J. Lehmann & S. Joseph (Eds.), *Biochar for Environmental Management* London, UK: Earthscan. pp. (1–12).
- Lorenzo N. (2001). Prospección de hongos antagonistas en la provincia de Cienfuegos. Efectividad y posibilidades de reproducción de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. Tesis en opción al título de Master en Protección Vegetal Universidad Agraria de La Habana.
- Martínez, A; Roldán, A; Lloret, E y Pascual, J. (2005). España. Formulación de *Trichoderma harzianum* Rifai en la producción ecológica de plántulas de melón en semillero para el control de la fusariosis vascular. Dpto de Conservación de Suelos y Agua y Manejo de Residuos Orgánicos. Campus Universitario de Espinardo. Murcia,
- Mendoza, M y Romo, R. (2017). México. Tasa relativa de crecimiento de herbáceas con potencial de restauración en suelos degradados del bosque La Primavera, Jalisco, México.

- Morales, F., Carrillo, M., Ferreira, J., Peña, M., Briones, W y Albán, M. (2018). Cadena de comercialización del cacao nacional en la provincia de Los Ríos, Ecuador. *Ciencia y Tecnología* 11(1): 63-69.
- Morello, J. (1981). México. Peso fresco y peso seco de la raíz y parte área. Consultado el 15 de julio del 2021. Disponible en: <https://www.mendoza.conicet.gov.ar/portal/enciclopedia/terminos/Biomasa.htm>
- Morgan, C., Herman, N., White, P y Vesey, G. (2006). Preservation of microorganisms by drying: a review. *Journal of Microbiological Methods* 66:183-193.
- Mukherjee, A y Lal, R. (2013). "Biochar impacts on soil physical properties and greenhouse gas emissions," *Agronomy*, vol. 3, pp. (313–339).
- Neves, E., Petersen, J., Bartone, R y da Silva, C. (2003). Historical and socio-cultural origins of Amazonian dark earths. pp. (29-35). In: Lehmann, J., Woods, W., Teixeira, W., Steiner, C., WinlerPrins, M y Rebellato, L. (eds.). *Amazonian dark earths: Origin, properties, management*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands
- Nduka, B y Adeniyi, D. (2017). Amelioration of cacao seedlings with bio – degraded coffee husk for enhanced nursery performance. *African Journal of Agricultural Research* 12(15): 1332-1340.
- Obregozo, A. (2012). Efectos de la aplicación del biochar en el modelo jerárquico de agregación de un suelo forestal bajo condiciones oceánicas. Universidad Autónoma de Barcelona. pp. (19-24).
- Olmo, M. (2016). Composición del biochar. Consultado el 6 de diciembre del 2019. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=63944>
- Orlando, P. (2012). Pesquisadores garipam a história contida na terra preta de índio. *Natureza*. <http://g1.globo.com/natureza/>
- Oses, A. (2012). Mecanismo del biochar. Consultado el 6 de diciembre del 2019. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/18416021.pdf>

- Pisco, J. (2012). Perú. Eficiencia preliminar de aislamientos de *trichoderma* sp. como promotor de crecimiento vegetativo y controlador biológico de *sclerotium rolfsii* en frijol 'chaucha' (*Phaseolus vulgaris* L.)" Consultado el 22 de julio del 2021. Disponible en: file:///C:/Users/GABRIEL%20ALVARES/Downloads/AGR-595.pdf
- Poorter, H., Bühler, J., Dusschoten, D., Climent, J y Postma, J. (2012). El tamaño de la maceta es importante: un metaanálisis de los efectos del volumen de enraizamiento en el crecimiento de las plantas. *Biología vegetal funcional*, 39: 839–850.
- Ramos, E., Navarro, R., Zumaqué, L y Violeth, J. (2008). Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de *Trichoderma* sp. *Revista Colombiana de Biotecnología*, X(2):(23-34).
- Robert, M., Thomas, A., Sekhar, M., Badiger, S., Ruiz, L., Willaume, M., Leenhardt, D y Bergez, J. (2017) Tipología de granjas en la cuenca de Berambadi (India): Los sistemas agrícolas están determinados por el tamaño de la granja y el acceso a las aguas subterráneas. *Agua*, 9(1).
- Robertson, G y Swinton, S. (2005). Reconciling agricultural productivity and environmental integrity: A grand challenge for agriculture, *Frontiers in Ecology and the Environment*, (3): 38–46.
- Rodríguez, D y Fusco, M. (2017). Gestión de riesgos agropecuarios en el sector del cacao en Ecuador. *Revista de Investigación en Modelos Financieros*, 1(1).57-74.
- Sánchez, Á. (2017). Altura de planta. Consultado el 12 de julio del 2021. Disponible en: <https://angelsinocencio.com/altura-libre-de-planta/>
- Sandle, T. (2014). *Trichoderma*. p. 644-646. En C.A. Batt y M.-L. Tortorello (eds.) *Enciclopedia de Microbiología de Alimentos*, Londres, Reino Unido.
- Sharma, V., Salwan, R y Sharma, P. (2017). Los aspectos mecanicistas comparativos de *Trichoderma* y probióticos: alcance para futuras investigaciones. *Fitopatología fisiológica y molecular* 100: 84-96.

- Sohi, S., Krull, E., López, E y Bol, R. (2010). "A review of biochar and its use and function in soil," *Advances in Agronomy*, vol. 105, no. 1, pp. (47–82).
- Sousa, W., Fonseca, N., Aledi, C., Almeida, T., Vieira y Castro, D. (2021). Evaluation of *Trichoderma* spp. Isolates in Cocoa Seed Treatment and Seedling Production. Institute of Biodiversity and Forests, Federal University of Western Pará, Santarém 68040-255, Brazil
- Stewart, C., Zheng, J y Botte, J. (2013). Cotrufo, "Cogenerated fast pyrolysis biochar mitigates green-house gas emissions and increases carbon sequestration in temperate soils," *GCB Bioenergy*, vol. 5, no. 2, pp. (153–164).
- Stocking, M. (2003). Tropical soils and food security: The next 50 years", *Science*, (302): 356–1359
- Torres, M., Ortiz, C., Bautista, C., Ramírez, J., Ávalos, N y Cappello, S. (2015). Diversidad de *Trichoderma* en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 86:947-961.
- Tuesta, A., Trigozo, E., Cayotopa, J., Arévalo, E., Arévalo, C., Zuñiga, L y León, B. (2017). Perú. Optimización de la fertilización orgánica e inorgánica del cacao (*Theobroma Cacao L.*) con la inclusión de *Trichoderma* endófito y Micorrizas arbusculares. *Revista Tecnológica en Marcha*. Vol. 30 (Núm. 1).
- Trujillo, E. (2017). Producción y caracterización de biochar. Consultado el 20 de enero del 2010. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3714>
- Vargas, H y Gilchrist, E. (2015). México. Producción de enzimas hidrolíticas y actividad antagónica de *Trichoderma asperellum* sobre dos cepas de *Fusarium* aisladas de cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*). *Revista Mexicana de Micología* (42:9-16).
- Villegas, M. (2005). *Trichoderma Pers.* Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. Orius Biotecnología. Colombia. Consultado el 10 de enero del 2021. Disponible en: <http://www.oriusbiotecnologia.com/site/index.php?id=20,66,0,0,1,0> .

- Villegas, M. (2019). Perú. *Trichoderma* pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. Consultado el 10 de enero del 2021. Disponible en: [https://www.oriusbiotech.com/escrito?nom=Trichoderma\\_pers.\\_Caracter%C3%ADsticas\\_generales\\_y\\_su\\_potencial\\_biol%C3%B3gico\\_en\\_la\\_agricultura\\_sostenible](https://www.oriusbiotech.com/escrito?nom=Trichoderma_pers._Caracter%C3%ADsticas_generales_y_su_potencial_biol%C3%B3gico_en_la_agricultura_sostenible).
- Vinale, F., Sivasithamparam, E., Ghisalberti, R., Marra, M y Barbetti, H. (2008). A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology* (72:80-86)G.
- Zhao, J., Shen, X., Domene, X., Alcañiz, J., Liao, X y Palet, C. (2019). Comparación de biochar derivados de diferentes tipos de materias primas y su potencial para la eliminación de metales pesados en soluciones de múltiples metales. *Informes científicos*, 9(1).
- Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R y Mukherjee, P. (2016). El metabolismo secundario en química se encuentra con la genómica. *Reseñas de biología fúngica*. 30(2):74-90.

## **ANEXOS**



**Anexo 1.** Esterilización del sustrato y llenado de fundas



**Anexo 2.** Preparación del biochar



**Anexo 3.** Refrescamiento de hongos



**Anexo 4.** Preparación del inóculo



**Anexo 5.** Aplicación del inoculo y siembra



**Anexo 5.** Aplicación de riego al cultivo



**Anexo 6.** Toma de datos



**Anexo 7.** Plantas con mejores rendimientos