



**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 INGENIERO AMBIENTAL**

MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**EVALUACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS COMO
INDICADORES DE CAPTURA DE CARBONO EN SUELOS DE
CACAO CCN 551 EN EL CANTÓN BOLÍVAR**

AUTORAS:

**ALISSON MICHELL CEDEÑO MEDRANDA
PAMELA JAMILETH SOLORZANO ZAMBRANO**

TUTOR:

ING. FABRICIO ENRIQUE ALCÍVAR INTRIAGO

CALCETA, FEBRERO 2024

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo **ALISSON MICHELL CEDEÑO MEDRANDA**, con cédula de ciudadanía **1313669176** y **PAMELA JAMILETH SOLORZANO ZAMBRANO** con cédula de ciudadanía **1315517266**, declaramos bajo juramento que el Trabajo de Titulación titulado: **EVALUACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS COMO INDICADORES DE CAPTURA DE CARBONO EN SUELOS DE CACAO CCN 551 EN EL CANTÓN BOLÍVAR** 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.

Michell Cedeño

Pamela Solórzano

Alisson Michell Cedeño Medranda
CI: 1313669176

Pamela Jamileth Solorzano Zambrano
CI: 1315517266

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

ALISSON MICHELL CEDEÑO MEDRANDA con cédula de ciudadanía **1313669176** y **PAMELA JAMILETH SOLORZANO ZAMBRANO** con cédula de ciudadanía **1315517266**, 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: **EVALUACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS COMO INDICADORES DE CAPTURA DE CARBONO EN SUELOS DE CACAO CCN 551 EN EL CANTÓN BOLÍVAR**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

Michell Cedeño

Pamela Solórzano

Alisson Michell Cedeño Medranda
CI: 1313669176

Pamela Jamileth Solorzano Zambrano
CI: 1315517266

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

ING. FABRICIO ENRIQUE ALCÍVAR INTRIAGO, M.Sc., certifica haber tutelado el proyecto **EVALUACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS COMO INDICADORES DE CAPTURA DE CARBONO EN SUELOS DE CACAO CCN 551 EN EL CANTÓN BOLÍVAR**, que ha sido desarrollada por **ALISSON MICHELL CEDEÑO MEDRANDA** y **PAMELA JAMILETH SOLORZANO ZAMBRANO**, previo a la obtención del título de Ingeniero 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 E. Alcívar Intriago, M.Sc
CI: 1308632262
TUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EVALUACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS COMO INDICADORES DE CAPTURA DE CARBONO EN SUELOS DE CACAO CCN 551 EN EL CANTÓN BOLÍVAR**, que ha sido propuesto y desarrollado por **Alisson Michell Cedeño Medranda** y **Pamela Jamileth Solorzano Zambrano**, previo a la obtención del título de Ingeniero 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.

Mgs. María Fernanda Pincay Cantos
CI: 0921757282
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Mgs. Jonathan G. Chicaiza Intriago
CI: 1312111923
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ph.D. Silvia L. Montero Cedeño
CI: 1305358051
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

A Dios porque me ha permitido llegar hasta aquí, por proveer para poder seguir estudiando, por brindarme salud y fuerza para poder continuar y no flaquear en el transcurso del camino para terminar la carrera.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me brindó la oportunidad de formarme a través del estudio y enseñanza de calidad; en la cual logré adquirir y reforzar mis conocimientos profesionales.

A mis padres José Cedeño y Minta Medranda que hasta el día de hoy siguen apoyándome, se han esforzado y me han brindado su apoyo para que pueda seguir adelante con mis estudios.

A mis hermanas Patricia Cedeño y Karen Cedeño que me han aconsejado y han estado conmigo en cada momento.

A mi tío Godofredo Cedeño que me ha apoyado tanto en mis estudios, a mis demás familiares que han estado allí apoyándome.

A mi tutor el Ing. Fabricio Alcívar, por el conocimiento impartido, por su apoyo, ayuda y guía en el proceso de titulación.

Alisson Michell Medranda Cedeño

AGRADECIMIENTO

A Dios por permitirme llegar hasta aquí, por guiarme a lo largo de mí camino, por ser mi apoyo y fortaleza a la hora de continuar con este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López por abrirme las puertas y así darme la oportunidad de formarme por medio de los conocimientos impartidos durante el tiempo de mis estudios.

A mis padres Mathias Solorzano y Lethy Zambrano por ser los pilares importantes en mi vida, por siempre apoyarme incondicionalmente en que pueda seguir adelante con mis estudios, por su amor, trabajo y sacrificio durante todos estos años.

A mis hermanos Edwin Solorzano y Mathias Solorzano por aconsejarme en todo momento y por estar ahí conmigo siempre apoyándome a lo largo de esta etapa de mi vida cuando lo he necesitado.

A mi amiga y compañera de tesis Alisson Cedeño por ser una parte fundamental en este trabajo de titulación

A mis amigas Karla Mero y María Zambrano por todos esos momentos que compartimos en este camino y por estar ahí.

Al Ing. Diego Efrén Zambrano Pazmiño por ayudarnos en la etapa de laboratorio y por impartir sus conocimientos con nosotros. De igual manera le doy las gracias a la Ing. Diana Mercedes Andrade Loor por estar ahí atenta a lo que hacíamos, por ayudarnos y darnos la mano cuando lo necesitábamos.

A mi tutor el Ing. Fabricio Alcívar por el conocimiento impartido, por apoyarnos, ayudarnos y guiarnos en este proceso de titulación.

Pamela Jamileth Solorzano Zambrano

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado en primer lugar a Dios, porque él me brindó la fuerza para seguir avanzando durante mis estudios.

A mis padres por que se han esforzado por ayudarme e incentivar me a seguir estudiando y dando lo mejor de mí.

A mi tío por ser como un segundo padre y apoyarme en mis estudios.

Alisson Michell Medranda Cedeño

Quiero dedicar este trabajo a Dios por acompañarme durante el transcurso de mis estudios.

A mis padres ya que son mi pilar fundamental y apoyo en mi formación académica; por sus consejos, su apoyo incondicional y su paciencia.

A mis hermanos y demás familia en general por el apoyo que me brindaron día a día en el transcurso de cada semestre de mi carrera Universitaria, gracias por confiar en mí.

Pamela Jamileth Solorzano Zambrano

CONTENIDO GENERAL

DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN	iii
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
DEDICATORIA.....	viii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN	3
1.3. OBJETIVOS	4
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
1.4. HIPÓTESIS	5
1.4.1. HIPÓTESIS NULA.....	5
1.4.2. HIPÓTESIS ALTERNATIVA	5
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. MICROORGANISMOS.....	6
2.1.1. TIPOS DE MICROORGANISMOS	6
2.1.2. CONDICIONES PARA EL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS.....	9
2.2. MICROBIOLOGÍA DEL SUELO	10
2.3. EL SUELO.....	11
2.3.1. PROPIEDADES FÍSICAS DEL SUELO	11

2.3.2. PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO	12
2.4. GENERALIDADES DEL CULTIVO DE CACAO.....	13
2.4.1. CACAO CCN 51	14
2.4.2. SUELOS DE CULTIVOS DE CACAO.....	14
2.4.3. IMPACTOS POSITIVOS DEL CULTIVO DE CACAO EN LOS ECOSISTEMAS AMBIENTALES	15
2.5. CARBONO ORGÁNICO EN EL SUELO	15
2.5.1. EMISIÓN DE CARBONO POR EL SECTOR AGRÍCOLA.....	16
2.5.2. CAPTURA DE CARBONO EN SUELOS CULTIVADO CON CACAO 17	
2.5.3. MICROORGANISMO QUE CAPTAN CARBONO	18
2.6. TITULACIÓN ÁCIDO BASE	22
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	23
3.1. UBICACIÓN	23
3.2. DATOS CLIMÁTICOS	23
3.3. DURACIÓN DEL TRABAJO.....	24
3.4. MÉTODOS.....	24
3.4.1. BIBLIOGRÁFICO.....	24
3.4.2. ANALÍTICO.....	24
3.4.3. ESTADÍSTICO.....	24
3.5. TÉCNICA	25
3.5.1. TITULACIÓN	25
3.6. DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL	25
3.6.1. FACTORES EN ESTUDIO	25
3.6.2. DISEÑO EXPERIMENTAL	25
3.7. VARIABLES EN ESTUDIO	26
3.7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE	26
3.7.2. VARIABLE DEPENDIENTE.....	26

3.8. PROCEDIMIENTOS.....	26
3.8.1. FASE I: ACTIVACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS (<i>Trichoderma longibrachiatum</i> y <i>Trichoderma reesei</i>) Y BACTERIANAS <i>Bacillus subtilis</i> (BMC 21 y BMC 31).	26
3.8.2. FASE II: DETERMINAR LA EFICIENCIA DE LAS CEPAS FÚNGICAS (<i>Trichoderma longibrachiatum</i> y <i>Trichoderma reesei</i>) Y BACTERIANAS <i>Bacillus subtilis</i> (BMC 21 y BMC 31) EN LA CAPTACIÓN DE CARBONO EN LOS SUELOS DE CULTIVO DE CACAO CCN 51.....	27
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
4.1. REACTIVACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS (<i>Trichoderma longibrachiatum</i> y <i>Trichoderma reesei</i>) Y BACTERIANAS <i>Bacillus subtilis</i> (BMC 21 y BMC 31).	31
4.2. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LAS CEPAS FÚNGICAS (<i>Trichoderma longibrachiatum</i> y <i>Trichoderma reesei</i>) Y BACTERIANAS <i>Bacillus subtilis</i> (BMC 21 y BMC 31) EN LA CAPTACIÓN DE CARBONO EN LOS SUELOS DE CULTIVO DE CACAO CCN 51.	32
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	41
5.1. CONCLUSIONES	41
5.2. RECOMENDACIONES	42
BIBLIOGRAFÍA	43

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de los parámetros químicos y sus métodos.....	28
Tabla 2. Descripción de los tratamientos utilizados.....	29
Tabla 3. Características microscópicas.....	32
Tabla 4. Parámetros evaluados en las muestras de suelo pre y post tratamiento.	33
Tabla 5. Captura de carbono con adición de microorganismos	37
Tabla 6. Datos de la captura de carbono en los diferentes tratamientos.....	37
Tabla 7. Análisis de la varianza; Captura del carbono post tratamientos	39

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación del área de estudio.....	23
Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de reactivación de cepas fúngicas y bacterianas.	31

RESUMEN

Se evaluó la eficiencia de captura de carbono de cepas fúngicas y bacterianas en plantaciones de cacao CCN 551 (*Theobroma cacao* L.) de la Ciudad de Investigación, Innovación y Desarrollo Agropecuario (CIIDEA). Para ello, se activaron y propagaron cepas fúngicas *T. longibrochiatum* T₁ y *T. reesei* T₂; y cepas bacterianas de *B. subtilis* (BMC21 T₃ y BMC31 T₄), en las que se obtuvieron características microscópicas de forma bacilo, purezas puras y de Gram+ en los cuatro microorganismos estudiados, alcanzando en las cepas bacterianas 10⁷ UFC por ml y en las cepas fúngicas 10⁵ UFC por ml. Se realizó diferentes análisis químicos del suelo, pre y post tratamiento, obteniendo como resultados una disminución en el pH y el fósforo del suelo después de la aplicación de los microorganismos, mientras que los valores de amonio, potasio, calcio, magnesio, azufre, zinc, cobre, hierro, manganeso y boro aumentaron sus concentraciones, conjuntamente, se identificó que la cantidad de materia orgánica estaba relacionada directamente con la captura de carbono, debido a que sus concentraciones aumentaron post tratamiento. Además, a través de un ANOVA y prueba de Tukey se identificó que estadísticamente no existió diferencia significativa en los contenidos de carbono en el suelo, dado que poseen un valor mayor a P<0,05. Asimismo, se alcanzó un rango de captura de carbono de 22-23 mg*kg-s. Es por ello, que mediante los resultados obtenidos en toda la investigación se corroboró que la aplicación de la técnica titulación incide en la captura de carbono de suelos de cacao CCN 551.

Palabras clave: Materia orgánica, técnica de titulación, calidad del suelo, eficiencia

ABSTRACT

The carbon capture efficiency of fungal and bacterial strains was evaluated in CCN 551 cocoa plantations (*Theobroma cacao* L.) of the City of Agricultural Research, Innovation and Development (CIIDEA). To do this, fungal strains *T. longibrochiatum* T₁ and *T. reesei* T₂ were activated and propagated; and bacterial strains of *B. subtilis* (BMC21 T₃ and BMC31 T₄), in which microscopic characteristics of bacillus shape, pure and Gram+ purities were obtained in the four microorganisms studied, reaching 10⁷ CFU per ml in the bacterial strains and in fungal strains 10⁵ CFU per ml. Different chemical analyzes of the soil were carried out, pre and post treatment, resulting in a decrease in the pH and phosphorus of the soil after the application of the microorganisms, while the values of ammonium, potassium, calcium, magnesium, sulfur, zinc, copper, iron, manganese and boron increased their concentrations, together, it was identified that the amount of organic matter was directly related to carbon capture, because their concentrations increased post treatment. Furthermore, through an ANOVA and Tukey test it was identified that there was no statistically significant difference in the carbon contents in the soil, given that they have a value greater than P<0.05. Likewise, a carbon capture range of 22-23 mg*kg-s was achieved. For this reason, through the results obtained throughout the research, it was confirmed that the application of the titration technique affects the carbon capture of CCN 551 cocoa soils.

Keywords: Organic matter, titration technique, soil quality, efficiency

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

En los últimos años, las actividades antropogénicas relacionadas con el uso de la tierra, la deforestación y el uso de combustibles fósiles continúan siendo la principal causa del calentamiento global (Zabala et al., 2018). A consecuencia de ello, se genera un desbalance y ocasiona un incremento en el calentamiento de la tierra generando el efecto invernadero (Zavala y Vega, 2021).

Según datos de 2020 del Ministerio de Ambiente, Agua y Transición Ecológica (MAATE) los gases de efecto invernadero en Ecuador están relacionados con el aporte de actividades antropogénicas referentes con el uso de la tierra, la deforestación y el uso y quema de combustibles fósiles.

A nivel provincial, Manabí es considerada la más afectada por la degradación de la tierra, esto sucede como resultado de la disminución de los recursos hídricos, el aumento de la vulnerabilidad al cambio climático, la agricultura e incluso la seguridad alimentaria y la reducción de la capacidad de desarrollo poblacional (Intriago y Valdez, 2018). Jiménez et al. (2020) ostentan que los cambios en el uso de suelo afectan los flujos netos de carbono en la atmósfera, estos cambios modifican y, en algunas ocasiones, afectan en contenidos de carbono en los distintos depósitos de este elemento. Llegando a tener pérdidas de carbono que van de 1 a 10 t/ha/año, y en casos extremos hasta 50 t/ha/año, principalmente por los procesos de erosión y de mineralización de la materia orgánica (Pérez et al., 2021).

De acuerdo con Patiño et al. (2018), algunos de los gases de efecto invernadero (GEI) son el monóxido de carbono (CO), óxido nitroso (N₂O), metano (CH₄) y el ozono (O₃). Siendo uno de los principales el dióxido de carbono (CO₂), el cual constituye aproximadamente el 70% del total de las emisiones, mientras que tan sólo cerca del 20% corresponde al CH₄ y un 9% al N₂O. Además, el CO₂ es responsable del 50% del calentamiento global debido a la absorción de la radiación térmica emitida por la superficie de la tierra (Hernández et al., 2021).

Asimismo, Mera et al. (2017) exteriorizan que las emisiones de dióxido de carbono del suelo se determinan midiendo la respiración del suelo. De la misma manera Salvador et al. (2020) manifiestan que la concentración de CO₂ es uno de los gases de efecto invernadero más importantes, influenciado por la fertilidad del suelo, la deposición de nitrógeno y las condiciones climáticas, provocando cambios peligrosos en la atmósfera, siendo la agricultura la principal fuente de emisiones de CO₂ a la atmósfera (Asigbaase et al., 2021).

Por otro lado, el carbono es la unidad principal de la vida del planeta y su ciclo es fundamental para el desarrollo de todos los organismos (Burbano, 2018). En el suelo se almacenan alrededor de 1.500 Gt, mientras que en la atmósfera 750 Gt y en plantas 560 Gt. Además, cualquier desequilibrio del carbono entre los flujos de entrada y salida se refleja en la concentración del CO₂ atmosférico (Galicia et al., 2016). Sin embargo, Jurado et al. (2019) indican que la captura de carbono, es uno de los servicios ambientales de relevancia a nivel internacional por su contribución directa a la mitigación del fenómeno cambio climático y el calentamiento global.

Cadena (2019) señala que los sistemas agroforestales como el cacao (*Theobroma cacao L.*), también pueden ser una alternativa en la reducción de CO₂. A nivel nacional se han realizado diversas investigaciones para determinar la cantidad de carbono que pueden capturar los cultivos o bosques, a través del proceso de fotosíntesis. No obstante, a nivel provincial no abundan trabajos que traten sobre la cantidad de carbono que puede capturar el suelo bajo la implementación de microorganismos eficientes, donde se demuestre la efectividad de la captación de carbono en suelos de cacao o a su vez alternativas idóneas para conservar y optimizar el equilibrio ecológico de los sistemas de producción.

En consecuencia, Contreras et al (2019) manifiestan que, para la conservación de la biodiversidad y el desarrollo de las comunidades, es de gran importancia utilizar prácticas agroecológicas, tales como, la aplicación de microorganismos eficientes (EM), biofertilizantes en los cultivos de cacao, representando una

opción viable, tanto económica como ambiental y así evitar la utilización de productos químicos (Cortes, 2016).

Por esta razón, los sistemas agroforestales y los microorganismos en conjunto brindan una producción eficiente, además, brindan beneficios que permiten mejorar o conservar la fertilidad del suelo, fomentan un microclima que aumentan la productividad y permite la captura de CO₂ (Pazmiño, 2020). En este sentido, diversos géneros bacterianos y fúngicos, tales como: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Trichoderma*, entre otros, han sido reportados por su mayor aprovechamiento del nitrógeno, contribución en neutralizar el pH del suelo, favoreciendo la solubilización del fósforo y asistencia a la captura de carbono (Santos et al., 2018).

Considerando todo lo expuesto anteriormente, surge la siguiente pregunta: ¿Cómo afectan las cepas de hongos y bacterias a la captura de carbono en suelos de cacao CCN 51?

1.2. JUSTIFICACIÓN

Desde una perspectiva ambiental, las especies de plantas actúan como importantes agentes de almacenamiento de carbono y, por lo tanto, se prefieren y se consideran una estrategia importante para mitigar el cambio climático (Nair et al., 2009). Por su parte, Marín et al. (2016) señalan que los sistemas de manejo de tierras, incluidos los sistemas agroforestales y la utilización de microorganismos eficientes son altamente utilizados para la captura de carbono. Además, Alvarado et al. (2013) sostienen que el cambio de uso de la tierra es un elemento importante del equilibrio global de carbono y una oportunidad para el desarrollo de planes de acción climática.

Del mismo modo, las cepas fúngicas y bacterianas en el suelo contribuyen a la agregación y formación de la estructura del suelo (Silvestro et al., 2018), condición que los posiciona como una herramienta importante para fomentar la captura de carbono, siendo una de las prácticas aconsejadas para mitigar las emisiones de gases de efecto invernadero (Marcos et al., 2019).

Desde un punto de vista económico y social, el aumento de biomasa en los sistemas de uso de la tierra es un secuestro de carbono, lo que significa una reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero y ayuda a mejorar las funciones productivas y económicas (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2017). Mundra et al. (2021) mencionan que una orientación socioeconómica en la utilización de microorganismos en los suelos, son los beneficios que proporciona, como la captura de carbono, a su vez, mejora la estructura del suelo al formar agregados estables más resistentes a la compactación, mejorando la aireación del suelo, aumentando la fertilidad del suelo y su capacidad de retención de agua.

Desde el punto de vista jurídico, no existen caminos o estrategias obligatorias para la aplicación de microorganismo eficientes en el suelo de cacao para facilitar la captura de carbono, sin embargo, a partir del Protocolo de Kioto, se establecieron compromisos vinculantes de reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero por parte de los países industrializados, empleando ciertos mecanismos a través de los cuales se podrían incentivar las plantaciones de cacao en busca de captura de carbono. Además, el presente trabajo se enmarca en el artículo 409 de la Constitución de la República del Ecuador de 2008, donde señala que, la conservación del suelo, especialmente de su capa fértil, es de interés público y prioridad nacional.

A causa de lo que antes se ha dicho, se ve la necesidad de realizar el presente proyecto con el fin de evaluar cepas fúngicas y bacterianas para de esta manera observar de cerca y conocer la eficiencia de diferentes tratamientos para la captura de carbono en el suelo de cacao CCN 51.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficiencia de captura de carbono de cepas fúngicas y bacterianas en plantaciones cacao CCN 51 (*Theobroma cacao L.*) de la Ciudad de Investigación, Innovación y Desarrollo Agropecuario (CIIDEA).

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Activar cepas fúngicas (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*) y cepas bacterianas *Bacillus subtilis* (BMC21 y BMC31).
- Determinar la eficiencia de las cepas fúngicas y bacterianas en la captación de carbono en los suelos de cultivo de cacao CCN 51.

1.4. HIPÓTESIS

1.4.1. HIPÓTESIS NULA

H0.- Ninguno de los tratamientos de las cepas fúngicas y bacterianas (*Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei* y *Bacillus subtilis*) inciden en la captura de carbono a través de la técnica de titulación de los suelos de cultivo de cacao CCN 51.

1.4.2. HIPÓTESIS ALTERNATIVA

H1. Al menos uno de los tratamientos de las cepas fúngicas y bacterianas (*Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei* y *Bacillus subtilis*) inciden en la captura de carbono a través de la técnica de titulación de los suelos de cultivo de cacao CCN 51.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. MICROORGANISMOS

Los microorganismos producen sustancias útiles que incluyen aminoácidos, ácidos nucleicos, sustancias bioactivas y azúcares que promueven el crecimiento de las plantas y a la vez suprimir presencia de patógenos (Ramírez et al., 2019). Nikolaevich y Borisovich (2019) sostienen que los microorganismos realizan muchas funciones, como mejorar la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas.

Según Canarini et al. (2017), los microorganismos realizan la fermentación en la pulpa de cacao, la cual contiene carbohidratos (glucosa, fructosa, sacarosa) y tiene una acidez de 3,3 a 4. Salous et al. (2019) indican que este contenido se debe a la presencia de ácido cítrico, dada la viscosidad de la pulpa, la cual contiene pectina y otros polisacáridos que también dificultan la difusión del aire (López y Guncay, 2018).

2.1.1. TIPOS DE MICROORGANISMOS

2.1.1.1. BACTERIAS

Las bacterias son organismos unicelulares, se presentan en diferentes formas y su tamaño está medido en micrómetros, además las bacterias se encuentran en cualquier tipo de ambiente (Hernández et al., 2019).

Garcén (2021) menciona que el metabolismo bacteriano suele utilizarse como método para clasificar las bacterias. Se suelen seguir dos criterios básicos relacionados para distinguirlos, como son la fuente de carbono o la fuente de energía, las bacterias se dividen en:

- **Quimioautótrofas**

Se consideran a todas aquellas que extraen la energía de diferentes sustancias químicas (Troncoso et al., 2017). Por otra parte, Vanegas y Fonseca (2019) manifiestan que las bacterias quimioautótrofas también se denominan bacterias quimioautótrofas porque, a diferencia de las bacterias fotoautótrofas, que obtienen su energía primaria de la luz, estas bacterias sólo pueden obtener su energía primaria de minerales como el sulfato de hierro.

Cuarán et al. (2021) señalan que las bacterias quimioautótrofas eliminan un electrón del ion hierro $Fe^{(+2)}$, el cual es oxidado al ion hierro $Fe^{(+3)}$, de esta manera el electrón ingresa en el camino de la energía, que sintetiza compuestos orgánicos que las bacterias utilizan para construir sus paredes celulares, enzimas y otros.

- **Fotoautotróficas**

Son bacterias que emplean la luz solar para realizar la fotosíntesis (Troncoso et al., 2017). De acuerdo con Aguiar y Reinaldo (2019) las bacterias fototróficas son aquellas cuya energía para el crecimiento procede de la luz y sus fuentes de carbono proceden del dióxido de carbono o del carbono orgánico. Por otro lado, Márquez y González (2022) exteriorizan que todos los fotótrofos utilizan cadenas de transporte de electrones o bombas de protones para crear gradientes electroquímicos que las sintetisas utilizan para suministrar energía celular.

- **Heterótrofas**

Se denominan bacterias heterótrofas a los organismos que no pueden proporcionar sus propias sustancias inorgánicas en el medio ambiente, por lo contrario, deben consumir materia orgánica de otros organismos para alimentarse y seguir viviendo (Senatore et al., 2017). Ruíz et al. (2018) afirman que el carbono se obtiene a través de compuestos orgánicos.

- **Autótrofas**

Obtienen el carbono en función de la fijación del dióxido de carbono (Ruíz et al., 2018). Asimismo, Tanya y Leiva (2019) señalan que las bacterias autótrofas son capaces de sintetizar materia orgánica a partir de minerales; algunas son

fotosintéticas, es decir, utilizan la energía de la radiación luminosa gracias a ciertos pigmentos que poseen, principalmente la bacterioclorofila (absorción de luz infrarroja).

- **Anaerobias**

Las bacterias anaerobias son microorganismos que son capaces de sobrevivir y multiplicarse en ambientes que no tienen oxígeno (Rodríguez et al., 2022). Por otro lado, el metabolismo de las bacterias anaeróbicas puede producir energía a partir de sustancias que carecen de oxígeno (Rodríguez et al., 2019). Por lo general, lo hacen mediante un proceso de fermentación, aunque esto puede suceder a veces, como en las plantas marinas que se encuentran en los respiraderos hidrotermales de las profundidades marinas. Nuevamente, lo hacen mediante reacciones con compuestos inorgánicos (Araujo et al., 2016).

Además, el proceso de fermentación en bacterias anaeróbicas implica una serie de reacciones metabólicas complejas en ausencia de oxígeno, que es una parte importante de los ciclos biogeoquímicos del carbono, nitrógeno y azufre, que interactúan entre sí (Feng et al., 2021).

- **Aerobias**

Son bacterias que pueden crecer y sobrevivir en presencia de oxígeno. Utilizan oxígeno para oxidar sustratos para obtener energía (Méndez et al., 2020).

El metabolismo aeróbico (respiración) evolucionó después de que la fotosíntesis oxigénica (la forma más común de fotosíntesis) libera oxígeno a la atmósfera, que entonces era muy limitado. Originalmente era una forma de prevenir la toxicidad del oxígeno, no una forma de utilizar oxígeno. Porque la oxidación de la glucosa y otras sustancias libera mucha más energía que su uso anaeróbico (Florez y Gómez, 2020).

2.1.1.2. HONGOS

Los hongos son un grupo de microorganismos cuyo micelio está formado a partir de un grupo de filamentos ramificados llamados hifas. No realizan la fotosíntesis, por lo que necesitan compuestos de carbono de las plantas en las que viven y se degradan muy fácilmente (Quevedo et al., 2022). Por su parte, Medina (2022) señala que los hongos están omnipresentes en el medio ambiente y son saprófitos. Existen varias especies que viven en el suelo, participan activamente en la descomposición de la materia orgánica y suelen ser aeróbicas.

Heredia (2020) menciona que, debido a la fuerte tolerancia a la acidez, la mayor parte de la descomposición de la materia orgánica en suelos ácidos la llevan a cabo hongos, que desempeñan un papel muy importante como simbioses, formando las llamadas micorrizas en las raíces de las plantas, en comparación con las bacterias. Además de combatir enfermedades y condiciones adversas de humedad, también juega un papel importante en la nutrición y el desarrollo (Bertolini et al., 2020).

Martínez et al. (2022) manifiestan que la cepa fúngica *Trichoderma longibrachiatum* en soportes a base de suelo, atribuyen al incremento inicial de los microorganismos a la presencia de nutrientes. El estímulo del crecimiento y desarrollo de las plantas por parte de *Trichoderma reesei* ha sido conocido por muchos años, aislando muchas cepas y probadas en suelos cacaoteros, ya sea en condiciones de laboratorio o en suelos naturales de campo, incrementando de tal manera el crecimiento de las raíces y repercutiendo en el aumento de la productividad de las plantas (Flores et al., 2022).

2.1.2. CONDICIONES PARA EL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS

Luna y Mendoza (2020) mencionan que las condiciones ideales que requieren los microorganismos son los mismos elementos que el resto de organismos: carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo y azufre son elementos esenciales; es posible que se requiera hierro, calcio, magnesio, potasio, sodio y

cloro; manganeso, zinc, cobre, boro, molibdeno, yodo y dióxido de silicio como elementos que pueden ser requeridos por algunos microorganismos (Jaramillo y Bueno, 2021).

Por otra parte, Cujilema et al. (2018) señalan que el pH es un factor importante que influye sobre el crecimiento de los microorganismos. Algunas bacterias normalmente crecen a un pH bajo 3,0 y los hongos también crecen a un pH bajo 1,0 (García et al., 2018). Sin embargo, el rango óptimo de pH para las bacterias va de 6.0 hasta 8.5 y sólo pocas prefieren pH de 8.5 o mayor (Caycedo et al., 2021).

En relación a la temperatura, Huánuco y López (2018) expresan que es uno de los parámetros ambientales más importantes que determinan el crecimiento y supervivencia de los microorganismos; la combinación de bacterias y hongos les permite sobrevivir durante mucho tiempo en el rango de temperatura de 0 a 65°C (Montejo et al., 2018).

Ramírez et al. (2019) establecen que el efecto beneficioso general de la aplicación de EM es aumentar la disponibilidad de nutrientes en el suelo, solubilizar los nutrientes y eliminar las moléculas que mantienen los nutrientes en su lugar, permitiendo que los elementos se descomponen fácilmente para facilitar la absorción de las raíces. Además, los microorganismos eficaces inoculados en el suelo aceleran la descomposición de los residuos orgánicos. (Luna y Mesa, 2016).

2.2. MICROBIOLOGÍA DEL SUELO

Para Montanez et al. (2021) los microorganismos del suelo son los componentes más importantes y constituyen su parte viva, son los responsables de la dinámica de transformación y desarrollo del suelo. Por su parte, Frene et al. (2018) indican qué, entre los microorganismos presentes están bacterias, actinomicetos y hongos.

Toledo et al. (2019), por su parte, sostienen que las funciones más importantes de los microorganismos en los procesos de conversión del suelo son:

- Fijación de nitrógeno.
- La transformación de compuestos orgánicos que las plantas no pueden absorber en formas inorgánicas que las plantas pueden asimilar (mineralización); Las proteínas se convierten en aminoácidos y nitratos.
- Disuelven compuestos inorgánicos (desde fosfato tricálcico hasta fosfato monocálcico) para promover la absorción por las plantas.
- Contribuyen al desarrollo del sistema radicular de las plantas, mejora la absorción de nutrientes y aumenta el potencial de campo.

Los microorganismos cumplen su actividad en la superficie del suelo hasta unos 20 cm de profundidad (Ordoñez et al., 2018), esto se debe a que permanecen adheridas a las partículas de arcilla y humus de las raíces de las plantas que les suministran sustancias orgánicas, que sirven de alimento y estimulación en su reproducción (Usuga et al., 2020).

2.3. EL SUELO

El suelo es un medio dinámico en el que interactúan procesos básicos, además, es el hábitat que soporta y sustenta a las plantas y a la multitud de organismos que conviven con ellas (Barahona et al., 2022). Delgado et al. (2022) menciona que el suelo puede concebirse como un sistema abierto que presenta intercambios de materia y energía con el medio, en él se desarrollan diversos procesos físicos, químicos y biológicos, responsables de su morfología, características y propiedades.

2.3.1. PROPIEDADES FÍSICAS DEL SUELO

Las propiedades físicas de la tierra determinan en gran medida la capacidad de los seres humanos para utilizarla de muchas maneras. La condición física del suelo determina su rigidez y capacidad de carga, facilidad de penetración de las

raíces, aireación, drenaje y capacidad de almacenamiento de agua, plasticidad y capacidad para retener nutrientes. (Espinoza et al., 2018).

2.3.2. PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO

2.3.2.1. pH

Para Hernández et al. (2018), el pH es una propiedad química del suelo que tiene un impacto significativo en el desarrollo de organismos, incluidos microorganismos y plantas, y en la concentración de iones de hidrógeno reactivos en la interfaz suelo-líquido. La interacción de los componentes sólidos con los líquidos y la concentración del pH son fundamentales para los procesos físicos, químicos y biológicos del suelo.

Jiménez et al. (2019) mencionan que el crecimiento de las plantas, en suelos ácidos como alcalinos hacen que algunos nutrientes sean altamente insolubles a valores de pH altos, mientras que otros son menos disponibles a valores de pH bajo. La mayoría de los nutrientes están disponibles en el rango de pH de 6,5 a 7,5.

2.3.2.2. MATERIA ORGÁNICA

La materia orgánica del suelo (MOS) es un parámetro determinado por la cantidad y el tipo de controles biológicos, como las especies de plantas y la producción microbiana, y los controles ambientales, como la temperatura, el contenido de humedad y la estructura del suelo. La dinámica y conservación de la MOS es crucial porque mejora la estructura y porosidad del suelo, su fertilidad y por tanto aumenta el rendimiento (Díaz et al., 2021).

Actualmente la materia orgánica tiene un rol de gran importancia en la fertilidad de los suelos, otorgada por sus propiedades químicas, físicas y biológicas, lo cual la convierte en un vital aporte para el sistema edáfico (Núñez et al., 2021). De acuerdo con Nerhot et al. (2018) la materia orgánica, tiene como principal objetivo propiciar el mejoramiento de la estructura y características químicas de

los suelos, en forma significativa a la inducción de la diversidad y actividad microbiana presente en el suelo.

2.3.2.3. FÓSFORO

El fósforo es el elemento más importante después del nitrógeno para el crecimiento, el rendimiento y la garantía de calidad de las plantas. Existen varias formas químicas de fósforo en el suelo, incluido el fósforo inorgánico (Pi) y el fósforo orgánico (Po). Estos constituyentes tienen varias fuentes naturales y su comportamiento y destino en suelos naturales y cultivados son muy diferentes. (López et al., 2020).

Por otra parte, Jiménez et al. (2022) muestran que el contenido y destino del fósforo en suelos agrícolas está determinado principalmente por las propiedades iniciales del material original, la arcilla principal y los componentes orgánicos, como también otros procesos biológicos y químicos.

2.3.2.4. NITRÓGENO

Es constructor de proteínas, por el cual las plantas crecen, se absorbe de forma amoniacal y de nitratos. Gamarra et al. (2018) mencionan que uno de los métodos más utilizados y eficientes para medir el nitrógeno es el método de colorimetría, así mismo el método colorimétrico es eficiente para determinar pequeñas cantidades de P.

2.4. GENERALIDADES DEL CULTIVO DE CACAO

Theobroma cacao pertenece a la familia de las sterculiaceae, el árbol del cacao puede llegar hasta una altura de 10 m (Barrezueta y Chabla, 2017). El cacao es una planta originaria de los trópicos húmedos de América del Sur, apareció por primera vez en el año 400 (Mendoza y Romero, 2021).

Este cultivo es uno de los productos agrícolas más importantes del Ecuador, debido a su gran demanda internacional, se estima que más del 70% de la producción mundial de cacao fino de aroma procede de tierras ecuatorianas

(Nivela, 2020). Según Quintana y Aguilar (2018) en la década 1770 se fomentaron los factores de comercio y mercado internacional, sin embargo, el capital y la mano de obra eran escasos, no fue hasta el año 1860 y 1920 que Ecuador tuvo su primer boom cacaotero.

2.4.1. CACAO CCN 51

El clon CCN 51 se derivó de un cruce entre ICS-95 (Trinitario) e IMC-67 (Forastero), seguido de un segundo cruce con el híbrido Canelos (Trinitario) encontrado en el este de Ecuador, que lo identificó. La abreviatura CCN significa "Colección Castro Naranjal" y debajo está CCN 51, una vez clasificado por Homero Castro como "Prospectivo" y distribuido en 1965 con todas las especificaciones revisadas (Berrezueta y González, 2017). Ríos y Lévano (2022) indican que es un clon de alta productividad y tolerante a las enfermedades.

El cacao CCN 51 fue declarado como un bien de alta productividad por su contribución en la exportación en el 25% por el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAGAD), este cacao posee una alta productividad con pocas características organolépticas (Chávez, 2018).

2.4.2. SUELOS DE CULTIVOS DE CACAO

El suelo es uno de los elementos principales para la formación y crecimiento de las plantas de cacao (Castebianco, 2018). Ruiz (2018) afirma que los suelos aptos para el cultivo de cacao deben tener una textura franco-francosa a una profundidad de al menos 1 m, lo que permite el desarrollo de las raíces y la absorción de agua, retiene bien el agua y proporciona un drenaje adecuado. (Miranda et al., 2022). Además, Rodríguez et al. (2022) manifiestan que el cacao crece mejor en suelos que contienen materia orgánica y el nivel de pH aceptable para el cacao está entre 5,5 y 7,0; el rango óptimo es de 6,0 a 6,5.

Los suelos cacaoteros presentan una vasta reserva de poblaciones microbianas endofíticas, que favorecen los procesos de asimilación de nutrientes (Rosas et al., 2019). Pérez et al (2019) muestran que las características microbianas en los

suelos de cacao se pueden utilizar para indicar eficazmente actividades microbianas específicas, desempeñando así un papel dominante como indicadores de la calidad y la salud del suelo (Florida et al., 2019).

2.4.3. IMPACTOS POSITIVOS DEL CULTIVO DE CACAO EN LOS ECOSISTEMAS AMBIENTALES

Torres et al. (2019) ostentan que los sistemas agroforestales son una muy buena oportunidad para reducir las emisiones de gases de efecto invernadero como el dióxido de carbono y con ello crear servicios ambientales como el almacenamiento de carbono; por lo tanto, los mismos autores indican que los indicadores más importantes de la degradación del suelo son la biomasa y el carbono acumulado en el suelo.

Alcívar et al. (2022) indican que el agroecosistema del cultivo del cacao contribuye al reciclaje de nutrientes en el suelo, ya que el aporte de materia orgánica depositada por el cacao al suelo procedente de las hojas, los árboles de sombra y los posteriores residuos de los cultivos es bastante elevado, lo que favorece la activación de los procesos microbianos del suelo (Vargas et al., 2021).

2.5. CARBONO ORGÁNICO EN EL SUELO

De acuerdo con Duval et al. (2016) la funcionalidad de los suelos depende en gran medida de su materia orgánica y, en concreto, del carbono orgánico que incorpora, ya que inciden positivamente sobre sus propiedades, así como sobre su fertilidad y productividad. Dicho carbono orgánico procede del carbono atmosférico fijado por las plantas a través de las reacciones de la fotosíntesis, incorporándose al suelo con restos de plantas y exudados de las raíces (Muñoz et al., 2021).

Los residuos vegetales y los exudados de las raíces son las principales fuentes de carbono orgánico para el suelo (Cantú y Yáñez, 2018). Los microorganismos

también contribuyen al carbono orgánico del suelo, pero en menor cantidad (Díaz et al., 2020).

Loayza et al. (2020) manifiestan que el carbono orgánico del suelo es esencial para el funcionamiento de los ecosistemas, juega un papel vital en la regulación del clima, el suministro de agua y la biodiversidad y garantiza el bienestar humano.

2.5.1. EMISIÓN DE CARBONO POR EL SECTOR AGRÍCOLA

El alto contenido promedio de carbono orgánico del suelo en los agroecosistemas de cacao puede verse influenciado por la densidad de plantas de cacao por hectárea, principalmente por el manejo adecuado de las plantaciones: poda y prácticas de conservación del suelo para asegurar una mayor acumulación de carbono en el perfil del suelo (Barrezueta et al., 2018).

Por otra parte, Zabala et al. (2018) manifiesta que el aumento de carbono orgánico en el suelo se debe principalmente a la caída de hojarasca de diversas especies vegetales y a la muerte y reabsorción de raíces finas, lo que depende de la distribución y actividad de las raíces.

El sector agrícola usa alrededor del 70% de agua dulce y genera de 30 a 35% de las emisiones globales de gases de efecto invernadero (Gómez et al., 2021). Sin embargo, los agroecosistemas también tienen un importante potencial de reducción de gases de efecto invernadero si se retienen los residuos de los cultivos, se reduce la labranza y se introducen cultivos de cobertura (Pinzón y Ramírez, 2021).

Elizondo et al. (2020) recalcan que es importante monitorear e incluir las emisiones del sector agrícola en las estrategias de mitigación, ya que remover gases como el N_2O de la atmósfera podría tener un impacto 300 veces mayor que remover la misma masa de CO_2 . A menos que se incrementen los esfuerzos para reducir las emisiones de estos gases, las emisiones de gases de efecto invernadero del sector agrícola pueden superar aún más los esfuerzos del sector

agrícola para reducir las emisiones y el secuestro de carbono (Cordero et al., 2020).

2.5.2. CAPTURA DE CARBONO EN SUELOS CULTIVADO CON CACAO

La captura de carbono es un servicio ecosistémico basado en la capacidad de los sistemas forestales para absorber y almacenar carbono de la atmósfera y gestionar estos ecosistemas adecuadamente para evitar que se conviertan en fuentes de emisiones de gases de efecto invernadero (Adetoye et al., 2018). Adicionalmente Feliciano et al. (2018) exteriorizan que este servicio ambiental es el que rápidamente se está desarrollando a nivel global.

Según Hernández et al. (2021) la capacidad de capturar carbono de cualquier ecosistema terrestre depende principalmente de dos componentes, del área total de esos ecosistemas y el número de árboles por unidad de área. De acuerdo a Andrade et al. (2017) el CO₂ presente en la atmósfera se captura por las plantas mediante los procesos metabólicos que corresponden al balance fotosíntesis-respiración.

Asimismo, Carvajal y Andrade (2020) exponen que la captura se expresa en términos de la biomasa constituida por el follaje, ramas, raíces, troncos, flores y frutos. El aumento de la biomasa en el sistema de uso de la tierra es la captación de carbono, lo que significa una reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero (Casanoves et al., 2017).

Con respecto a la captura de carbono en suelos cacaoteros Candell et al. (2020) mencionan que es necesario considerar que las cantidades de carbono almacenado en los agrosistemas adultos son mayores que de edades jóvenes. Así mismo, Pérez et al. (2021) manifiestan que en las plantaciones adultas de sistemas agroforestales con cacao existe mayor almacenamiento de carbono comparada con las plantaciones jóvenes.

La captura de carbono por plantaciones de cacao ha sido propuesta como una medida positiva en el balance de los niveles atmosféricos de CO₂ (Zabala et al., 2019). Leiva y Ramírez (2021) señalan que los cacaotales, además de ofrecer ventajas comparativas en relación con otros usos del suelo, constituyen uno de los más importantes sistemas productivos, ya que se cultiva, juntamente con otras especies vegetales, los cuales al mismo tiempo producen sombra y permiten al agricultor tener otras alternativas de ingresos. Estos sistemas también pueden contribuir en la conservación de la biodiversidad y, últimamente, por su función como sumideros de carbono (Barrezueta y Paz, 2018).

Barrezueta (2017) indica que la deforestación y la transición de bosque a tierras de cultivo de cacao han llegado a constituir hasta el 20% de las emisiones de gas de efecto invernadero a nivel mundial. Ecuador representa el 0,2% de la población mundial y es responsable por un 0,1% de las emisiones de GEI del planeta, con un promedio de emisión de 2,2 mg de CO₂ por persona ha⁻¹ (Vidal y Vera, 2017).

2.5.3. MICROORGANISMO QUE CAPTAN CARBONO

El dióxido de carbono, uno de los principales contribuyentes a la acumulación de gases de efecto invernadero en la atmósfera, puede capturarse y neutralizarse mediante un proceso llamado secuestro (Canarini et al., 2017). Morocho y Leiva (2019) exteriorizan que en la actualidad los microorganismos autóctonos se utilizan como indicadores de cultivo, los mismos deben ser seleccionados de acuerdo con sus criterios fisiológicos, funcionales y metabólicos.

Así mismo, Cruz et al. (2022) exponen que los microorganismos autóctonos consiguen emplearse como inoculante para aumentar la variedad microbiana de los suelos y son sujetados por sistemas naturales.

Durante la fermentación del cacao se ha reportado la presencia de cepas de *Lactobacillus brevis* y *L. plantarum* y del género *Leuconostoc* (Machuca et al., 2019). *Lactobacillus* - bacterias *Bacillus* gram positivas y *leuconostoc* – cocobacilos (Salazar y Hurtado, 2017). Las bacterias del ácido acético, las

bacterias gramnegativas, las bacterias/óvalos y las bacterias estrictamente aeróbicas son responsables de metabolizar el etanol producido por la levadura y convertirlo en ácido acético, que sirve como aromatizante para los granos de cacao. Se han identificado géneros como *Gluconobacter* y *Acetobacter* en las enzimas del cacao. Tanto el etanol como el ácido acético se difunde en el grano de cacao y contribuyen a la muerte del embrión.

- ***Bacterias Ácido Lácticas***

Las bacterias ácido lácticos, son capaces de producir el ácido láctico, que es un esterilizador fuerte, suprime microorganismos patógenos y aumenta la descomposición de la lignina y la celulosa, mejoran la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas (Peña et al., 2020). Actualmente se han adoptado paquetes tecnológicos que incluyen buenas prácticas agrícolas y una eficiente fertilización (Jara et al., 2019).

- ***Bacillus subtilis***

Es una bacteria gram positiva que habitualmente se encuentra en sistemas agrícolas y se considera como promotor del desarrollo de las plantas (Anzules et al., 2019). Asimismo, tiene otros beneficios como la incitación en las plantas de mecanismos resistentes (Caulier et al., 2019).

Por otro lado, Arnaouteli et al. (2021) mencionan que el *B. subtilis* es también llamado Rhizobacterium ya que tiene la capacidad de sintetizar a las fitohormonas, como las citoquininas, giberelinas, ácido abscísico e indolacético, los mismos que promueven el crecimiento de la raíz e incrementan la cantidad de pelos radiculares. Asimismo, Blake et al. (2021) refieren que ayuda en los suelos a mejorar su adaptación fisiológica, ya que recubre en forma de una película apoyando al vigor, germinación y salud de las semillas.

A nivel general, la bacteria del género *Bacillus* y otras bacterias Gram positivas, esporógenas y aerobias brindan expectativas grandes para su aprovechamiento y además se ha demostrado sus potencialidades en la promoción del desarrollo de plantas y también en el control biológico de los patógenos (Pedreira et al.,

2022). Por otro lado, en limitantes condiciones de nutrientes como en respuesta a adversas condiciones ambientales, las células *Bacillus* frenan su proceso de división normal a fin de dar comienzo a otro procedimiento organizado altamente, el cual finaliza con la generación de una muy resistente espora (Kaspar et al., 2019).

De acuerdo a una investigación realizada por Obando y Vélez (2023) demostraron una eficiencia del 46,64% utilizando cepas bacterianas del género *Bacillus* para la captación de CO₂ en suelos agrícolas. Donde García et al. (2019) indican que la presencia de bacterias genera un impacto positivo en la captación de CO₂ y una eficiencia general en el proceso del cultivo de cacao.

- ***Trichoderma longibrachiatum***

Trichoderma longibrachiatum es un hongo del género *Trichoderma*. Destacan las características y rango específico del género, lo que lo hace especialmente adecuado para su uso como agente de control biológico (López et al., 2017). El creciente daño al medio ambiente causado por el uso de productos químicos para controlar enfermedades de las plantas ha fomentado el uso de alternativas biológicas como *Trichoderma longifolia*. (Ajijolakewu et al. 2017), el cual es un género de hongos de la rizosfera, considerado un simbiote oportunista de plantas, capaz de producir inductores que inducen la defensa de las plantas contra patógenos e insectos, ayudan a solubilizar el fósforo y promueven la síntesis de sustancias promotoras del crecimiento de las plantas (Komarek et al., 2017).

Trichoderma longibrachiatum es útil no sólo como bioinoculante y agente de biocontrol, sino que también tiene la capacidad de producir enzimas capaces de descomponer desechos orgánicos sólidos, promoviendo así la mineralización y el reciclaje de desechos. (Marcas et al., 2017). Por otro lado, Sharma et al. (2017) mencionaron que *Trichoderma longibrachiatum* es un hongo metabólicamente versátil que puede utilizar una variedad de biomásas vegetales, incluidos oligosacáridos como sacarosa y rafinosa, y sustratos de celulosa, inulina, quitina, pectina y almidón como polisacáridos, así como sustancias más complejas como

el suero, la leche, los hidrocarburos del petróleo e incluso los pesticidas pueden provocar su degradación.

- ***Trichoderma reesei***

Trichoderma reesei es un hongo mesofílico y filamentoso, las celulasas microbianas tienen aplicación industrial en la conversión de celulosa, un componente principal de la biomasa vegetal, en glucosa (Druzhinina y Kubicek, 2017). Hernández et al. (2019) mencionan que poseen alta adaptabilidad a condiciones ecológicas y pueden crecer de manera saprofítica, interactúan con las plantas y se desarrollan en diversos sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura. Es por ello que el estudio de la diversidad de especies de *Trichoderma reesei* en diversos hábitats naturales, permite ampliar el conocimiento sobre su aporte biotecnológico, y su importancia ecológica y agrícola (Fitz et al., 2018).

Palad (2021) revela que el gran volumen de residuos que se forja el cultivo de cacao generalmente permanece disperso en la plantación y la acumulación de humedad favorecen el crecimiento y la propagación de hongos fitopatógenos. La capacidad antagonista de *Trichoderma reesei* es muy variable, el micoparasitismo que presenta es un proceso complejo que incluye una serie de eventos sucesivos (Siamphan et al., 2022). Cuando el antagonista entra en contacto físico con el patógeno vegetal, sus hifas lo envuelven o se adhieren a él a través de estructuras especiales (Shang y Boayu, 2018).

En relación a la captura de carbono utilizando cepas fúngicas, Villacis (2022) señala que son eficientes y aproximadamente 13 gigatoneladas de carbono al año son capturadas, siendo el equivalente de una tercera parte de las emisiones globales de origen humano, estos microorganismos como *Trichoderma reesei* y *Trichoderma longibrachiatum* son claves para neutralizar los gases causantes del cambio climático (Ríos, 2014).

2.6. TITULACIÓN ÁCIDO BASE

De acuerdo con Morales et al. (2019) la titulación es un método de análisis químico cuantitativo, que se utiliza en el laboratorio, para determinar la concentración exacta de un reactivo cuya concentración se sabe solo en forma aproximada. Díaz et al. (2020) mencionan que debido a que las medidas de volumen juegan un papel fundamental en las titulaciones, es que se le conoce también como análisis volumétrico.

Básicamente, el proceso consiste en añadir un valorante (una solución cuya concentración o título se conoce completamente) desde una bureta a un volumen medido con precisión de una solución desconocida cuya concentración se va a determinar hasta que, idealmente, todo haya reaccionado (Morales et al., 2019).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

El presente estudio se realizó en el área de cultivo de cacao CCN 51 de la Ciudad de Investigación, Innovación y Desarrollo Agropecuario (CIIDEA) de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, sitio El Limón, Cantón Bolívar, Provincia de Manabí. Se encuentra geográficamente ubicado entre las coordenadas 0°49'27.9" de latitud sur. Longitud 80°10'47.2" Oeste, 15m sobre el nivel del mar.

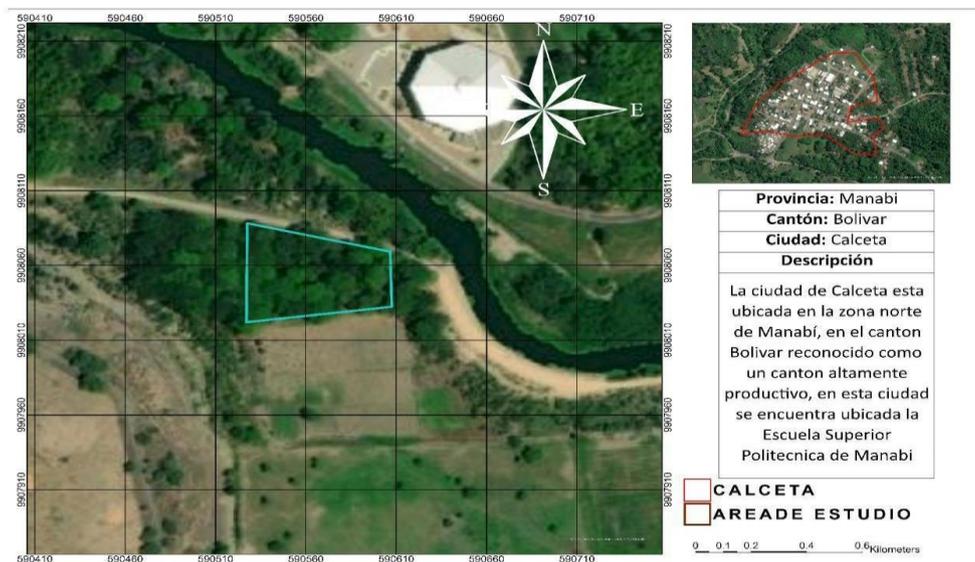


Figura 1. Ubicación del área de estudio
Fuente: Google Earth, (2022).

3.2. DATOS CLIMÁTICOS

Precipitación media anual	838,7 mm
Temperatura media anual	26° C
Humedad relativa anual	80,9%
Heliofanía anual	1325,4 horas sol
Evaporación	1739,5 mm

3.3. DURACIÓN DEL TRABAJO

La presente investigación tuvo un tiempo aproximado de 10 meses a partir del mes de septiembre del 2022 hasta el mes de julio del 2023, en el cual se efectuaron en dos fases los objetivos propuestos, donde se evaluaron las variables estimadas mediante la reactivación de cepas fúngicas y bacterianas de microorganismos a nivel de laboratorio, el establecimiento de la aplicación de estos microorganismos en el cultivo de cacao y su determinación de la eficiencia frente a su efecto en la captación de carbono.

3.4. MÉTODOS

3.4.1. BIBLIOGRÁFICO

En particular, se hizo énfasis en la recolección ordenada y sistemática de información sobre variables importantes involucradas en el estudio, como los microorganismos (cepas fúngicas y bacterianas) y la captura de carbono en los suelos de cacao (*Theobroma cacao L.*). Este método se aplicó de manera precisa y eficiente a los elementos centrales de esta investigación, contribuyendo a una comprensión explicativa del tema de investigación.

3.4.2. ANALÍTICO

Este método permitió el procesamiento de información de la investigación referente a la reactivación de las cepas fúngicas y bacterianas, a su vez el proceso de aplicación y determinación de la eficiencia, con la finalidad de extraer los elementos que condescendiera a fomentar los objetivos e idea a defender.

3.4.3. ESTADÍSTICO

Se utilizó para el análisis e interpretación de los resultados de las variables independiente y dependiente de tal manera facilitar el uso de los resultados que se obtuvieron en la presente investigación. Para ello, se utilizó un diseño completamente al azar, efectuando un análisis de varianza (ANOVA) para analizar las diferencias en la captación de carbono entre grupos y determinar si

existió diferencia significativa entre los cuatro tratamientos estudiados, y a su vez la aplicación de prueba de Tukey.

3.5. TÉCNICA

3.5.1. TITULACIÓN

La titulación es un procedimiento analítico cuantitativo en química. Mediante la titulación, se puede determinar una concentración desconocida en un líquido agregando una cantidad conocida de reactivo (Morales et al., 2019).

La técnica de titulación se empleó con el fin de adquirir datos sobre la oxidación incompleta del carbono del suelo y determinar el carbono orgánico, a través de la aplicación de hidróxido de sodio (NaOH) 1 N.

3.6. DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL

3.6.1. FACTORES EN ESTUDIO

Microorganismos fúngicos *Trichoderma longibrachiatum* (T₁), *Trichoderma reesei* (T₂) y bacterianas *Bacillus Bacillus subtilis* (BMC 21) (T₃), *Bacillus subtilis* (BMC 31) (T₄).

3.6.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento se desarrolló bajo un Diseño Completamente al Azar ya que se comparó los cuatro tratamientos con cuatro repeticiones, obteniendo un total de 16 unidades experimentales.

La unidad experimental se conformó con cepas fúngicas (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*) y cepas bacterianas *Bacillus subtilis* (BMC 21 y BMC 31). Cada unidad experimental estuvo establecida en recipientes de plásticos con muestras de 1 kg de suelo provenientes de las plantaciones de cacao CCN 51. Por otra parte, para comparar las medias de los tratamientos en estudio, se aplicó la prueba de Tukey con el 95% de confiabilidad.

3.7. VARIABLES EN ESTUDIO

3.7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

Microorganismos fúngicos y bacterianos.

3.7.2. VARIABLE DEPENDIENTE

- Captación de carbono en cultivos de cacao CCN 51.
- Parámetros químicos del suelo.

3.8. PROCEDIMIENTOS

3.8.1. FASE I: ACTIVACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*) Y BACTERIANAS *Bacillus subtilis* (BMC 21 y BMC 31).

ACTIVIDAD 1. ACTIVACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS

Para la activación y preparación de cepas fúngicas y bacterianas, se tomó en cuenta el procedimiento descrito por Andrade y Avellán (2020). A continuación, se detallan los procesos de activación de los diferentes microorganismos:

- **ACTIVACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS**

Para la reactivación se preparó 25 ml de cultivo agar nutritivo, el cual fue situado en cajas Petri. El proceso se estableció mediante el método de siembra en estrías, las muestras fueron incubadas bajo temperaturas de 37 °C durante 18 horas.

- **PREPARACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS**

Para la multiplicación de las cepas BMC-21 y BMC-31 se preparó caldo nutriente, los cuales fueron esterilizados en la autoclave (Yamato SM510). Posteriormente, se colocó la dilución de las cepas en tubos Falcon de 15 ml para un proceso de centrifugación a 6000 revoluciones por minutos, durante 5 min a 4 °C, donde se consiguió el sobrenadante dónde constaban los desechos de las bacterias y el agente activo o pellet. Posteriormente, se eliminó el sobrenadante,

y se realizó una dilución en donde se tomó 1 g del pellet de los microorganismos por separado y se suspendió en un matraz en 99 ml de agua peptona por cada kg de muestra (Andrade y Avellán, 2020).

- **ACTIVACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS**

Las cepas fúngicas *Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei* fueron cultivadas en placas con 20 ml de medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA), las muestras fueron incubadas a 30°C durante 72 horas en un ambiente oscuro.

- **PREPARACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS**

Las cepas de *Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei* se prepararon utilizando cajas de Petri previamente colocadas. Se agregaron 5000 µl de solución estéril a base de agua a las células en la caja con una mezcla suave y vigorosa usando un mango estéril durante 3 minutos. Las soluciones del procedimiento de aislamiento de esporas se colocaron directamente en el matraz Erlenmeyer. Al igual que con las cepas bacterianas, se añadió 1 ml de moho a 99 ml de agua por 1 kg de muestra (Andrade y Avellán, 2020).

3.8.2. FASE II: DETERMINAR LA EFICIENCIA DE LAS CEPAS FÚNGICAS (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*) Y BACTERIANAS *Bacillus subtilis* (BMC 21 y BMC 31) EN LA CAPTACIÓN DE CARBONO EN LOS SUELOS DE CULTIVO DE CACAO CCN 51.

ACTIVIDAD 2. TOMA DE MUESTRA DE SUELO PRE APLICACIÓN.

El muestreo se realizó siguiendo la metodología de Chaudhary et al. (2019), donde el muestreo se realizó mediante un camino en zig-zag a través de una parcela definida, tomándose un total de 20 submuestras a una profundidad de 20 cm del suelo. Estas se mezclaron a su vez para obtener una muestra compuesta, la misma que fueron seleccionadas por el método de cuarteo, donde la tierra mezclada se arrojó sobre una superficie plástica seguido del fraccionamiento horizontal y remoción de la parte opuesta, este proceso se repitió hasta tomar una muestra representativa de 2 kg.

La muestra compuesta fue recolectada en una funda de plástico hermética y el tiempo transcurrido entre la recolección y el envío al laboratorio de análisis de suelos, plantas y aguas del (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Ecuador [INIAP]), en la Estación Experimental Tropical Pichilingue en la ciudad de Quevedo no superó los 10 días.

ACTIVIDAD 3. ANÁLISIS QUÍMICOS DE MUESTRAS DE SUELO PRE Y POST TRATAMIENTO

El análisis de suelo puede determinar parámetros tales como la textura del suelo, el pH, los nutrientes disponibles, la materia orgánica y los parámetros relacionados con la salinidad (Sepúlveda et al., 2019). Es por ello que se procedió con el envío de las muestras al laboratorio de suelos del INIAP pre y post tratamiento. Para las propiedades químicas se tomaron en cuenta los parámetros y métodos establecidos por Novillo et al. (2018):

Tabla 1. Descripción de los parámetros químicos y sus métodos.

Parámetros	Método
pH	Potenciómetro
Materia orgánica (MO)	Walkley Black / Ignición
Potasio (K ⁺)	
Calcio (Ca ²⁺)	
Magnesio (Mg ²⁺)	
Cobre (Cu)	Absorción Atómica
Hierro (Fe)	
Manganeso (Mn)	
Zinc (Zn)	
Azufre (S)	Turbidimetría
Amonio (NH ₄)	-
Boro (B)	
Concentración de fósforo total	Colorimétrico del azul de molibdeno

ACTIVIDAD 4. APLICACIÓN DE LAS DOSIS DE CEPAS FÚNGICAS Y BACTERIANAS EN FUNCIÓN AL DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el periodo de dosificación, se aplicaron 25 ml de pellet de cepas fúngicas y bacterianas 4 veces, en un lapso de 15 días cada aplicación, en horario 08h00 am y 17h00 pm, debido a que las altas temperaturas afectan los microorganismos.

- **DISEÑO EXPERIMENTAL**

Con respecto al diseño experimental, en este proceso de investigación, fue un Diseño Completamente al Azar (DCA), debido a las características del ensayo se determinó en cuatro repeticiones, y cada uno de ellos contó con cuatro tratamientos. Los tratamientos en esta investigación surgieron a partir de los factores en estudio, los cuales se detallan en la tabla 2:

Tabla 2. Descripción de los tratamientos utilizados.

Tratamientos	Código	Dosis	U. E.	Repeticiones	Recipientes por tratamientos
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	T ₁	1 g / 99 ml de agua	1	4	4
<i>Trichoderma reesei</i>	T ₂	1 g / 99 ml de agua	1	4	4
BMC-21	T ₃	1 g / 99 ml de agua	1	4	4
BMC-31	T ₄	1 g / 99 ml de agua	1	4	4
TOTAL					16

- **DESCRIPCIÓN DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES**

Las unidades experimentales fueron establecidas en recipientes de plásticos, con dimensiones de 11.5 cm de ancho y 14.5 cm de largo, con muestras de 1 kg de suelo provenientes de las plantaciones de cacao CCN 51.

ACTIVIDAD 5. MEDICIÓN DEL CARBONO POR EL MÉTODO DE TITULACIÓN DE SUELO DE CULTIVO DE CACAO CCN 51 PRE Y POST TRATAMIENTO.

- **PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**

Para preparar hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 N, se pesaron exactamente 5 g de NaOH y se disolvieron en un vaso de agua destilada. Luego, esta solución se calentó y enfrió suavemente antes de llenarla en un matraz volumétrico con agua esterilizada hasta obtener 1000 ml de la solución (Villanueva y Rodríguez, 2011).

La solución de ácido clorhídrico (HCl) 0,1 N se homogeneizó agregando 500 ml de agua destilada a un matraz aforado, diluyendo 4,2 ml de ácido clorhídrico concentrado y colocándolo en una botella (Ostinelli et al., 2011).

- **PROCEDIMIENTO DEL PROCESO DE TITULACIÓN**

Para realizar el proceso en muestras de suelo previo a la aplicación de microorganismos, se utilizó un método de titulación simple de Elfaki et al. (2016), donde se colocaron 44 g de muestras de suelo finas o premolidas en diferentes frascos según el número de muestras y luego se agregaron a un recipiente pequeño que contenía 5 ml de hidróxido de sodio (NaOH) 1 N de muestra.

Los frascos se sellaron para evitar la pérdida de dióxido de carbono y se trasladaron con cuidado a un lugar para reposar durante 24 horas. Posteriormente se retiró el recipiente que contenía hidróxido de sodio y se recogió el CO₂. Esta solución se transfirió a un matraz Erlenmeyer de 100 ml, se añadió 1 gota de fenolftaleína concentrada y se agregaron 5 ml de agua destilada para completar el volumen final de 10 ml. Después de obtener una solución rosa, se tituló con ácido clorhídrico hasta obtener una solución transparente (Kloster et al., 2016).

Seguidamente, para estudiar el proceso de captura de carbono en el suelo de cacao CCN 51 post tratamiento, se realizó la aplicación de hidróxido de sodio (NaOH) 1 N durante 7 días consecutivos en cada una de las muestras de suelo y se dejaba reposar la muestra por 15 días para volver a repetir el mismo proceso hasta obtener un total de cuatro aplicaciones.

ACTIVIDAD 6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Toda la información y datos que se obtuvieron mediante las actividades anteriores fueron transferidas a una base de datos mediante el software de Microsoft Excel, calculando el promedio de las cuatro aplicaciones por cada bloque en función a los cuatro tratamientos, empleando un ANOVA y prueba de Tukey en el programa estadístico InfoStat con un nivel de significancia de 0.05, para establecer las comparaciones significativas entre los tratamientos.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. REACTIVACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*) Y BACTERIANAS *Bacillus subtilis* (BMC 21 y BMC 31).

Se utilizaron cepas fúngicas: *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei*, y cepas bacterianas *Bacillus subtilis* (BMC 21 y BMC 31) (Anexo 1), misma que se detalla mediante el diagrama de flujo presentado en la figura 4.1. Rodríguez (2020) menciona que dicho método es rápido y simple de agotamiento progresivo y continuo del inóculo sobre un medio sólido contenido en una caja Petri.

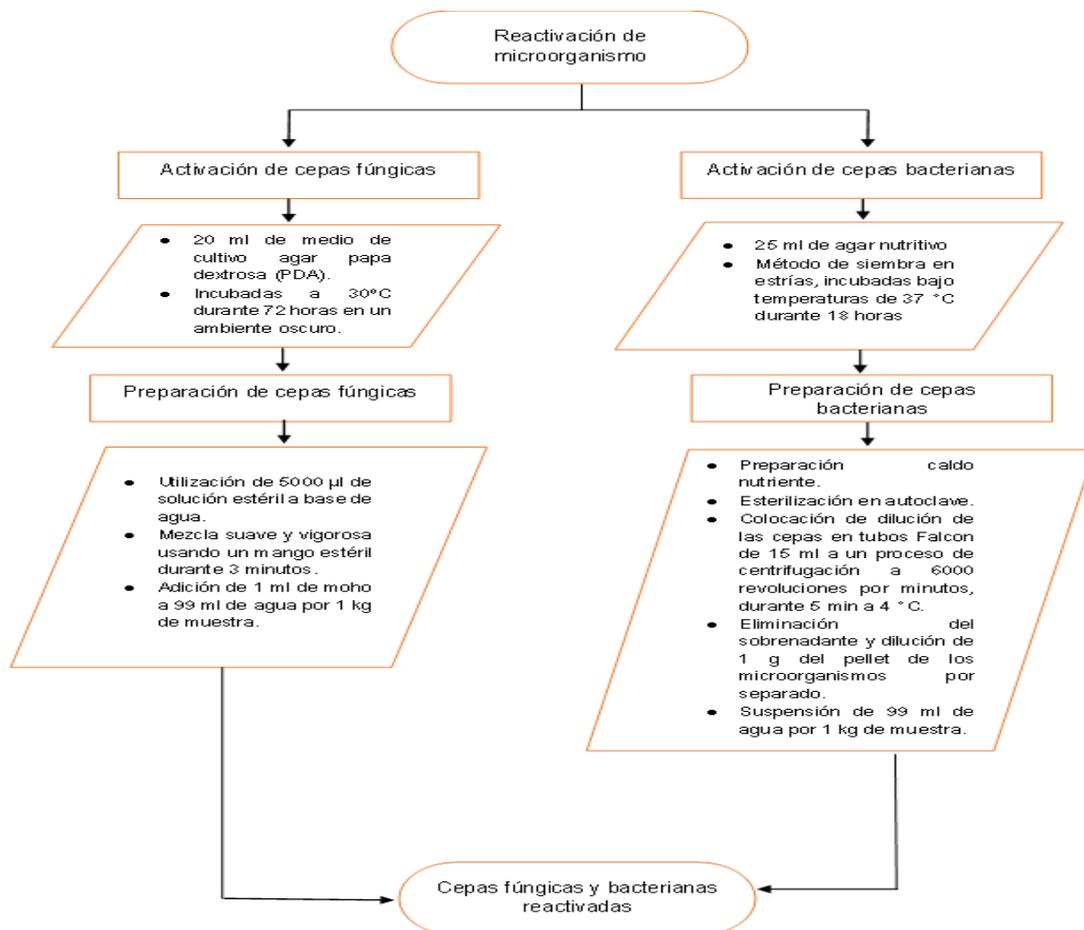


Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de reactivación de cepas fúngicas y bacterianas.

A continuación, se describe las características microscópicas de cada una de las cepas fúngicas y bacterianas utilizadas:

Tabla 3. Características microscópicas

Cepa	Forma	Tinción Gram (+/-)	Agrupación	Pureza	Tamaño	Producción de esporas
<i>T. Longibrachiatum</i>	Bacilo	+	Estrectobacilos	Pura	Mediano	Central
<i>T. Reesei</i>	Bacilo	+	Diplobacilos	Pura	Pequeño	Central
<i>B. subtilis</i> (BMC-21)	Bacilo	+	Estrectobacilos	Pura	Mediano	Central
<i>B. subtilis</i> (BMC-31)	Bacilo	+	Estrectobacilos	Pura	Mediano	Central

En función a la reactivación de las bacterias y hongos no se presencié contaminación, lo cual se pudo corroborar mediante la tinción de Gram y viendo desde el microscopio. Así mismo, a través de la tinción de Gram de una muestra representativa de cada aislado bacteriano y fúngico se determinó que las bacterias eran Gram⁺ y de forma bacilar de diferentes tamaños.

Además, los resultados de la reproducción de las cepas bacterianas (BMC 21 y BMC 31) mostraron una alta viabilidad celular, obteniendo valores de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) que superaron las 10⁷ UFC por ml, mientras que, para las cepas fúngicas (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*), se observaron cifras entre las 10⁵ UFC por ml. En la investigación realizada por Rodríguez (2020) alcanzó valores de 10⁷ UFC por ml en la inoculación por 60 días de bacterias *B. subtilis*. Con respecto a la cepa fúngica del género *Trichoderma*, Bampidis et al. (2023) obtuvieron un rango de 10⁶ a 10⁸ UFC por ml.

4.2. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LAS CEPAS FÚNGICAS (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*) Y BACTERIANAS *Bacillus subtilis* (BMC 21 y BMC 31) EN LA CAPTACIÓN DE CARBONO EN LOS SUELOS DE CULTIVO DE CACAO CCN 51.

Se realizaron análisis químicos pre tratamiento donde se obtuvieron los resultados presentados en la tabla 4. Así mismo, se muestran los resultados post tratamiento:

Tabla 4. Parámetros evaluados en las muestras de suelo pre y post tratamiento.

Parámetros Químicos	Pre aplicación	T1 (<i>Trichoderma longibrachiatum</i>)	T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)	T3 (BMC-21)	T4 (BMC-31)	Parámetros de interpretación (INIAP)			Medidas		
						Bajo (B)	Medio (M)	Alto (A)			
Amonio (NH ₄)	9 B	23 M	22 M	22 M	23 M	< 12,0	12,1 - 30,0	> 30,1	Ppm		
Fósforo (P)	87 A	49 A	48 A	48 A	44 A	<1,0 - 7,0	8,0 - 14,0	> 15			
Potasio (K)	0,86 A	2,03 A	1,78 A	1,56 A	1,57 A	< 0,20	0,21 - 0,40	> 0,41	Meq/100ml		
Calcio (Ca)	11 A	16 A	16 A	14 A	15 A	< 2,0	2,0 - 4,0	> 4,1			
Magnesio (Mg)	1,1 M	4,8 A	5,0 A	4,3 A	5,1 A	< 0,80	0,8 - 2,0	> 2,1			
Azufre (S)	18 M	43 A	51 A	49 A	49 A	< 5	5 - 15	> 16			
Zinc (Zn)	1,5 B	2,4 M	2,3 M	3,4 M	2,8 M	3,0	3,1 - 7,0	> 7,1	Ppm		
Cobre (Cu)	3,5 M	4,6 A	4,9 A	5,2 A	4,3 A	1,0	1,1 - 4,0	> 4,1			
Hierro (Fe)	11 B	157 A	150 A	174 A	158 A	20,0	21,0 - 40,0	> 41,0			
Manganeso (Mn)	3,4 B	15,3 A	12,9 M	18,5 A	15,9 M	5,0	5,1 - 15,0	> 15,1			
Boro (B)	0,58 M	0,71 A	0,70 M	0,58 M	0,96 A	< 0,2	0,2 - 0,6	> 0,65	%		
Materia Orgánica (M.O)	2,3 B	6,7	6,1	7,1	7,4	< 3,0	6,0 - 3,1	> 6,1			
Parámetros Químicos	Pre aplicación	T1 (<i>Trichoderma longibrachiatum</i>)	T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)	T3 (BMC -21)	T4 (BMC-31)	Muy Acido (MAc)	Acido (AC)	Neutro (N)	Alcalino (ALc)	Muy Alcalino (MAI)	Medida
pH	6,6 N	5,5 AC	5,6 AC	5,6 AC	5,7 AC	< 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

De acuerdo a los resultados presentados en la tabla 4 referente a los análisis químicos pre y post tratamientos se evidencia que el pH se redujo hasta 5,5 que fue respecto al T₁, siendo un suelo ácido. En Ecuador, el cacao se cultiva bajo diferentes manejos, principalmente en las regiones costeras y amazónicas (Pérez, 2016). Por su parte, Lewis et al., (2021) mencionan que de las tierras cultivables de cacao CCN 51 del mundo, el 40% son suelos ácidos con pH menor a 5,5, los cuales se localizan particularmente en las regiones de clima tropical. El suelo se acidifica debido a las reacciones del agua con Al³⁺, Fe²⁺, Mn²⁺ y NO₃, que liberan H⁺ a la solución.

En el caso del fósforo su valor se redujo post aplicación hasta 44 ppm presentados en el T₄, Carillo (2021) señala que los elementos primarios como el fósforo, tiene un comportamiento similar al de la materia orgánica, ya que al descomponerse la biomasa que genera el cultivo de cacao, se mejora la fertilidad del suelo. Barrezueta (2019) menciona que cuando existe deficiencia de P en el suelo de cultivo de cacao la planta crece lentamente y las hojas, especialmente las más pequeñas no desarrollan, en el caso de las hojas maduras desarrollan un color pálido en los filos y en las puntas.

En los resultados post tratamientos, las muestras de suelos presentaron un aumento en el contenido de amonio, potasio, calcio, magnesio, azufre, zinc, cobre, hierro, manganeso y boro. En el caso del amonio, Barrezueta (2019) señala que este parámetro juega un papel altamente significativo en la nutrición del cacao CCN 51.

Con respecto a la materia orgánica del suelo de cacao CCN 51 su contenido aumentó post tratamientos, obteniendo un 7,4%. Urquiaga (2016) indica que el contenido de materia orgánica en el suelo, está constituido por todos los residuos de plantas, animales superiores y de origen microbiano, cuyas proporciones influyen en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. Por lo cual, es un indicador clave de la calidad del suelo, tanto en sus funciones agrícolas como sus funciones ambientales, entre ellas captura de carbono (Martínez et al., 2018). Chimbo et al. (2022) exponen que la cantidad, la diversidad y la actividad

de la fauna del suelo y de los microorganismos están directamente relacionadas con la materia orgánica.

Carvalho et al. (2023) manifiestan que la materia orgánica del suelo juega un papel importante en la absorción de CO₂, en su investigación obtuvieron con el contenido más alto de materia orgánica una eficiencia del 16%. Por su parte, Mey y Gore (2021) indican que la relación entre la materia orgánica y la eficiencia de captura de CO₂ ha sido documentada en estudios previos, como es el caso de Batsi et al. (2021) donde estimaron un aumento del 12% en el contenido de materia orgánica en suelos de cacao CCN 51 aumentando aproximadamente su eficiencia de captación de CO₂ al 24%.

Comparando los resultados con el Acuerdo Ministerial 097-A, Anexos de Normativa, Reforma del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente, criterios de calidad del suelo se identifica que no cumplió con una buena calidad de suelo, dado el pH se encontraba por debajo de los 6 en los cuatro tratamientos post aplicación de los microorganismos eficientes, convirtiéndolo en un suelo ácido, sin embargo, el azufre, zinc, cobre y boro si se encuentran dentro de los límites máximos permisibles. Luna y Mesa (2016) exponen que la aplicación de las cepas bacterianas y fúngicas permiten mejorar las propiedades, aumentan la capacidad de intercambio catiónico del suelo, la materia orgánica, así como el pH del suelo.

Akhtar et al. (2018) descubrieron que los efectos beneficiosos generales de la utilización microbiana eficaz son una mejor disponibilidad de nutrientes del suelo, la disolución de las moléculas solubilizadoras de nutrientes y su mantenimiento estable, y un aumento de elementos, además, una forma sencilla de descomponerlo para favorecer la absorción es a través del sistema radicular de la planta (Arguello et al., 2016).

La aplicación de microorganismos eficientes, ayuda al restablecimiento del equilibrio microbiológico del suelo, mejorando sus condiciones fisicoquímicas (Alarcón et al., 2020), no obstante, en el presente caso no fue así, debido que algunos parámetros estudiados referente al suelo disminuyeron, claro ejemplo

del pH, sin embargo, se encuentra dentro del rango óptimo (5.1 a 7.0) (Barrezueta, 2019). En el caso específico del NH_4 , se observó un incremento de rango medio en los cuatro tratamientos, esto indica un aumento en la disponibilidad del nitrógeno del suelo post aplicación. En relación a esto, Tuesta et al. (2017) exteriorizan que los niveles aceptables de NH_4 para suelos de cacao se encuentran en un rango de 5 y 20 ppm.

A pesar de ello, Leiva (2022) señala que los hongos contribuyen al proceso de mineralización del carbono orgánico en el suelo. En el caso de las cepas de *Trichoderma*, el uso de estos microorganismos disuelve eficazmente los fosfatos para formar ácidos orgánicos, elevando así el pH del suelo y haciéndolo más biodisponible al liberar metabolitos quelantes que descomponen específicamente compuestos organofosforados y enzimas como los ácidos y alcalinos.

Santos et al. (2018) declaran que las cepas fúngicas ayudan a la absorción de nutrientes del suelo, además, desempeñan un papel fundamental en la captura de carbono al aumentar la cantidad de carbono almacenado en el suelo. Lo mismo señala Romero (2018) en relación a las cepas bacterianas, dado que también juegan un papel crucial en la captura de carbono al producir compuestos orgánicos que ayudan a estabilizarla materia orgánica del suelo.

Por otra parte, con respecto a la evaluación de la captura de carbono del suelo inicial, se efectuó de acuerdo a la distribución experimental planteada en la metodología. Dicha evaluación inicial proporcionó el punto de referencia para conocer el nivel originario de la actividad microbiana y su capacidad de captura de carbono.

En la tabla 5 se aprecia los valores iniciales con respecto a la captura de carbono del suelo mediante la aplicación de las cepas fúngicas y bacterianas a las muestras de suelo. Es decir, sin la aplicación del NaOH. Resultado que sirvió para poder comparar los resultados con respecto a los valores finales de las cuatro aplicaciones posteriores. Por lo cual, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 5. Captura de carbono con adición de microorganismos

Tratamientos	Parámetros iniciales de la captura de carbono (mg*kg-s)
T1	26
T2	27
T3	23
T4	25

mg*kg-s = miligramos por kilogramo de suelo

Por consiguiente, efectuadas las aplicaciones de cepas fúngicas y bacterianas se realizó la medición de carbono en cada una de las unidades experimentales con un total de cuatro aplicaciones, la titulación por aplicación se la realizó durante siete días y transcurrido quince días de aplicación se efectuaba la siguiente titulación a las muestras y así hasta la obtención de los datos de consumo del NaOH (Anexo 4). En la tabla 6 se muestran los resultados promedio de cada aplicación con respecto a cada tratamiento.

Tabla 6. Datos de la captura de carbono en los diferentes tratamientos.

Unidades experimentales		Captura de carbono				Unidad de medida
		Aplicación NaOH				
		Primera aplicación	Segunda aplicación	Tercera aplicación	Cuarta aplicación	
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (T ₁)	Repetición 1	24	26	20	22	mg*kg-s
	Repetición 2	24	22	21	21	
	Repetición 3	26	24	20	21	
	Repetición 4	25	25	21	20	
<i>Trichoderma reesei</i> (T ₂)	Repetición 1	28	23	22	19	
	Repetición 2	27	24	20	21	
	Repetición 3	26	23	21	20	
	Repetición 4	25	24	21	19	
BMC-21 (T ₃)	Repetición 1	27	24	20	20	
	Repetición 2	27	23	24	22	
	Repetición 3	27	24	20	23	
	Repetición 4	27	24	22	21	
BMC-31 (T ₄)	Repetición 1	30	23	21	20	
	Repetición 2	29	25	20	17	
	Repetición 3	28	24	20	18	
	Repetición 4	28	19	21	18	

mg*kg-s = miligramos por kilogramo de suelo

Con respecto a la captura de carbono en el suelo de cacao CCN 51 referente a los cuatro tratamientos estudiados, se puede observar mediante la tabla 6 que los tratamientos con sus respectivas repeticiones en cada proceso de titulación (NaOH) disminuían considerablemente, alcanzando hasta 17 mg*kg-s en una muestra de 20 g. En relación a la disminución de la captura de carbono, Fontolan et al. (2022) manifiestan que el CO₂ al tener contacto con el hidróxido de sodio

(NaOH) hace que reaccione y produzca carbonato de sodio, Na_2CO_3 y un exceso de hidróxido.

Por esta razón, Rojas (2022) indica que el éxito de capturar carbono del suelo depende en gran medida de la eficiencia del contacto del hidróxido de sodio, caso contrario su captura disminuye. Algo semejante indica Guadarrama et al. (2018) con respecto a la disminución de captura de carbono al aplicar NaOH en el suelo con los microorganismos, debido que, al tener un suelo limitado, la materia orgánica presente en el suelo disminuye por la misma degradación y/o transformación que realizan los microorganismos aplicados.

Zavala et al. (2018) mencionan que los suelos de cacao CCN 51 capturan anualmente entre 13,8 y 19,0 $\text{mg CO}_2/\text{ha/año}$. En la investigación de Obando y Vélez (2023) en la aplicación de cepas fúngicas y bacterianas similares a las utilizadas en la presente investigación en suelos de café, obtuvieron un promedio de captura de carbono de 8,75 $\text{mg}^*\text{kg}^{-1}\text{s}$, algo equivalente al estudio presentado por Mohammed et al. (2017) que a través de la utilización de microorganismos alcanzaron una captura de carbono en suelo de cacao de 10,0 $\text{mg}^*\text{kg}^{-1}\text{s}$.

Nadége et al. (2019) señalan que la captura de carbono en ecosistemas de cacao varía de acuerdo a su sistema e interacción, es decir, en árboles de cacao capturan carbono alrededor de los 11,8 – 16,9 $\text{mg}^*\text{kg}^{-1}\text{s}$; árboles de sombra capturan carbono entre 10,2 – 16,4 $\text{mg}^*\text{kg}^{-1}\text{s}$; hojarasca 1,9 a 2,9 $\text{mg}^*\text{kg}^{-1}\text{s}$, y tacones 0,01 a 0,24 $\text{mg}^*\text{kg}^{-1}\text{s}$. De manera similar, la captura de carbono en los árboles de sombra de cacao coincidió con las estimaciones investigadas por Norgrove y Hauser (2013) que alcanzaron los 1,9 – 31,8 $\text{mg}^*\text{kg}^{-1}\text{s}$.

Por otra parte, Maguire et al. (2021) exponen que una mayor captura de carbono conduce a una biodiversidad más activa y a un funcionamiento más eficiente de los elementos biológicos del suelo, lo cual es un proceso relativamente lento en la mayoría de los suelos agrícolas. Donde, Barrezueta et al. (2020) mencionan que las actividades agrícolas implican en la pérdida de materia orgánica del suelo, por lo tanto, la pérdida de carbono y la emisión de CO_2 .

Por su parte, Pérez et al. (2021) vinculan a los microorganismos en la fijación y captura de carbono en los suelos cacaoteros, dado que incrementa cuando se asocian con especies maderables y frutales, así como también dependiendo del sistema de uso del suelo.

Posteriormente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey en relación a los datos recolectados, utilizando los promedios de las cuatro aplicaciones de cada repetición por tratamiento, dado que la hipótesis de la investigación trataba sobre determinar si alguno de los tratamientos incidía en la captura de carbono en el suelo de cultivo de cacao CCN 51, donde se obtuvieron los resultados presentados la tabla 7.

Tabla 7. Análisis de la varianza; Captura del carbono post tratamientos

Tratamientos	Código	Pre aplicación	Medias (mg*kg-s)	E.E	P-valor
BMC-21	T ₃	23	23,75 A	1.61	0,6802
<i>Trichoderma reesei</i>	T ₂	27	23,00 A	1.61	0,6802
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	T ₁	26	22,75 A	1.61	0,6802
BMC-31	T ₄	25	22,75 A	1.61	0,6802

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

E.E = Error Estándar

P-Valor = Valor de Probabilidad

mg*kg-s = miligramos por kilogramo de suelo

De manera global se encontró que estadísticamente no existe diferencia significativa en los contenidos de carbono en el suelo de cacao CCN 51 en relación a los cuatro tratamientos con sus diferentes aplicaciones, dado que posee un valor mayor a $P < 0,05$. Del Pilar et al. (2016) exteriorizan que los sistemas de producción de cacao fijan carbono, en una tasa que varía estadísticamente ($p < 0,05$), entre ellos: 8,3 a 17,7 mg CO₂/ ha/año.

Dentro del contexto de la investigación, aunque existen estudios limitados que evalúan la captura de carbono utilizando cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* en plantíos de cacao, se ha demostrado que estos microorganismos constituyen una alternativa amigable para minimizar la absorción de metales pesados por la planta de cacao desde el suelo, además, dichas cepas generan fuentes de energía y nutrientes (Arévalo et al., 2017).

Realizando una comparación con otros estudios referente a la captación de carbono mediante la aplicación de microorganismos Ramírez et al. (2019) demostró que captación de carbono en el suelo cacaotero varía entre 5,0 y 10,0 mg*kg-s. Al igual que Mohammed et al. (2017) que a través del uso de microorganismos eficientes en el suelo de cacao alcanzaron 10,0 mg*kg-s. Sin embargo, en esta investigación se logró alcanzar un rango de captura de carbono entre 22 y 23 mg*kg-s en suelos de cacao CCN 51. No obstante, es fundamental recalcar que mediante los resultados expuestos en la tabla 6 se comprobó que en la primera aplicación de hidróxido de sodio (NaOH) 1 N su captación de carbono fue superior a las demás aplicaciones. Lo cual da a entender que se podría ajustar la dosificación para explorar mejores resultados.

Es por ello, que mediante los resultados obtenidos en toda la investigación se evidenció en primera instancia que la aplicación de cepas fúngicas (*Trichoderma longibrachiatum* y *reesei*) y bacterianas *Bacillus subtilis* (BMC-21 y BMC-31) influyeron en la composición química del suelo de cacao CCN 51 y a su vez, con respecto a la captación de carbono las cepas fúngicas y bacterianas utilizadas no demostraron disimilitud entre tratamiento, por tal motivo se acepta la hipótesis alternativa, debido a que los tratamientos de las cepas fúngicas y bacterianas incidieron en la captura de carbono a través de la técnica de titulación de los suelos de cultivo de cacao CCN 51.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- En relación a la reactivación de las cepas fúngicas y bacterianas se obtuvieron características microscópicas similares en las cuatro cepas estudiadas, de forma bacilo de Gram positivo, con una pureza pura y su producción de esporas fue central. Las cepas *Longibrachiatum*, *B. subtilis* (BMC-21 y BMC-31) consiguieron una agrupación estreptobacilos y de tamaño mediano, mientras que la cepa *T. Reesei* alcanzó una agrupación diplobacilo y tamaño pequeño. Además, se consiguieron valores de 10^7 UFC por ml para cepas bacterianas *Bacillus subtilis* (BMC 21 y BMC 31) y 10^5 UFC por ml para las cepas fúngicas (*Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*).
- En relación a los análisis químicos al suelo pre y post tratamiento analizados se identificó un aumento en sus contenidos, tales como: amonio, potasio, calcio, magnesio, azufre, zinc, cobre, hierro, manganeso y boro, mientras que el fósforo y el pH disminuyeron post tratamientos, parámetro que no se encontraba dentro de los límites máximos permisibles para calidad del suelo referente al Acuerdo Ministerial 097-A.
- Con respecto a la captura de carbono, los cuatro tratamientos mostraron mediante la aplicación del ANOVA que estadísticamente no existe diferencia significativa entre ellos, así como también se acepta la hipótesis alternativa, dado que la técnica de titulación incidió en la captura de carbono de los suelos de cultivo de cacao CCN 51.

5.2. RECOMENDACIONES

- Realizar análisis físicos al suelo antes de aplicar los microorganismos, debido a que es influyente en la captura de carbono. Asimismo, realizar monitoreos a los parámetros del suelo, pre y post aplicación de los microorganismos. Además, realizar un análisis más extenso sobre las propiedades del suelo a estudiar, de tal manera obtener un diagnóstico más profundo de la data histórica, lo cual servirá al momento de detallar los resultados y de esa manera determinar si algún parámetro fisicoquímico interviene en la captura de carbono en el suelo de cultivos de cacao.
- Teniendo en consideración que se obtuvo que la eficiencia de la captura de carbono disminuía entre más aplicación de hidróxido de sodio en el suelo con las cepas fúngicas y bacterianas, se recomienda la utilización de otras técnicas o métodos para la captación de carbono, para de esa manera demostrar que la aplicación de dichos microorganismos es efectiva para la captura de carbono en suelos de cacao CCN 51.

BIBLIOGRAFÍA

- Adetoye, A., Okojie, L., y Akerele, D. (2018). Forest carbon sequestration supply function for African countries: An econometric modelling approach. *Forest Policy and Economics*, 90, 59–66.
- Aguiar, O., y Reinaldo, R. (2019). Efecto de un biopreparado de microorganismos eficientes sobre el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris*, L.) en un suelo Pardo sialítico mullido, sin carbonatos. *Revista Científica Agroecosistemas*, 7(2), 111-118.
- Ajjolakewu, K., Leh, C., Lee, C., y Nadiah, A. (2017). Characterization of novel *Trichoderma* hemicellulase and its use to enhance downstream processing of lignocellulosic biomass to simple fermentable sugars. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 11, 166-117.
- Akhtar, N., Naveed, M., Khalid, M., Ahmad, N., Rizwan, M. y Siddique, S. 2018. Effect of bacterial consortia on growth and yield of maize grown in *Fusarium* infested soil. *Soil and Environment*, 37(1), 35-44.
- Alarcón, J., Recharte, D., Yanqui, F., Moreno, S., y Buendía, M. (2020). Fertilizar con microorganismos eficientes autóctonos tiene efecto positivo en la fenología, biomasa y producción de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill). *Scientia Agropecuaria*, 11(1), 67-73
- Alcívar, F., Demera, M., y Macías, A. (2022). Cadmio en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L) y sus efectos ambientales. *La Técnica: Revista de las Agrociencias*, 91-110.
- Andrade, D. y Avellán, A. (2020). *Inoculación de un consorcio microbiano autóctono encapsulado con capacidad celulolítica para la producción de compost de calidad en Manabí-Ecuador*. Obtenido de <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1326/1/TTA04D.pdf>
- Andrade, H., Segura, M., Canal, D., Huertas, A., y Mosos, C. (2017). Composición florística y reservas de carbono en bosques ribereños en paisajes agropecuarios de la zona seca del Tolima, Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 65(4), 1245-1260.

- Anzules, V., Borjas, R., Alvarado, L., Castro, V., y Julca, A. (2019). Control cultural, biológico y químico de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* spp en *Theobroma cacao* 'CCN 51'. *Scientia Agropecuaria*, 10(4), 511-520.
- Araujo, J., Yegres, F., Barreto, G., Antequera, A., Depool, B., y Rojas, Y. (2016). Biocatalizadores fúngicos hidrocarbonoclasticos del género *Aspergillus* para la descontaminación de agua con hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs). *Revista Cubana de Quimica*, 28(2), 703-735.
- Arévalo, E., Arévalo, O., Baligar, C., Zhenli, L., y He, L. (2017). Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L.) in major cacao growing regions in Perú. *Science of The Total Environment*, 605-606, 792-800.
- Arguello, A., Madiedo S., y Moreno R. (2016). Cuantificación de bacterias diazótrofes aisladas de suelos cacaoteros (*Theobroma cacao* L.), por la técnica de Número Más Probable (NMP). *Rev. Col. Biotecnol*, 18(2), 40-47
- Arnauteli, S., Bamford, N., Stanley, N., y Kovács, Á. (2021). *Bacillus subtilis* biofilm formation and social interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 19(9), 600-614.
- Asigbaase, M., Dawoe, E., Lomax, B., y Sjogersten, S. (2021). Biomass and carbon stocks of organic and conventional cocoa agroforests, Ghana. *Agriculture, Ecosystems y Environment*, 306, 107192.
- 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 (Aextra® XAP 104 TPT) for chickens for fattening, laying hens and minor poultry species (Genencor international B.V.). *EFSA Journal*, 21(2).

- Barahona-Amores, L. A., Samaniego-Sánchez, R., Villarreal-Núñez, J., y De La Cruz-Lombardo, A. (2022). Modificación de propiedades del suelo por la continua siembra de tomate industrial en Azuero, Panamá. *Ciencia Agropecuaria*, (35), 53-77.
- Barrezueta, S., Cervantes, A., Ullauri, M., Barrera, J., y Condoy, A. (2020). Evaluación del método de ignición para determinar materia orgánica en suelos de la provincia el oro-ecuador. *Fave. Sección ciencias agrarias*, 19(2), 25-26.
- Barrezueta, S. (2019). Propiedades de algunos suelos cultivados con cacao en la provincia El Oro, Ecuador. *CienciaUAT*, 14(1), 155-166
- Barrezueta, C., Luna, E., y Barrera, J. (2018). Almacenamiento del carbono en varios suelos cultivados con cacao en la provincia El Oro-Ecuador. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(1), 147-154.
- Barrezueta, S., y Chabla, J. (2017). Características sociales y económicas de la producción de cacao en la provincia El Oro. *Agroeconomía. Revista La Técnica*, 25-34.
- Barrezueta, S., y Paz, A. (2018). Indicadores de sostenibilidad sociales y económicos: Caso productores de cacao en el Oro, Ecuador. *Revista Ciencia UNEMI*, 11(27), 20-29.
- Batsi, G., Sonwa, D. J., Mangaza, L., Ebuy, J., y Kahindo, J. (2021). Preliminary estimation of above-ground carbon storage in cocoa agroforests of Bengamisa-Yangambi forest landscape (Democratic Republic of Congo). *Agroforestry Systems*, 95(8), 1505-1517.
- Berrezueta, S. (2017). *Secuestro de Carbono en suelos cultivados con cacao nacional en la parroquia Progreso*. Obtenido de <https://investigacion.utmachala.edu.ec/proceedings/index.php/utmach/article/view/335/277>
- Berrezueta, S., y González, G. (2017). Indicadores de sostenibilidad para la producción de cacao Nacional y CCN 51 en la provincia El Oro-Ecuador. *Educatconciencia*, 13(14), 16-26.

- Bertolini, V., Montaña, N. M., Salazar-Ortuño, B. L., Chimal-Sánchez, E., y Varela, L. (2020). Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares en plantaciones de café (*Coffea arabica*) del volcán Tacaná, Chiapas, México. *Acta botánica mexicana*, (127).
- Blake, C., Christensen, M., y Kovács, Á. (2021). Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 34(1), 15-25.
- Burbano, H. (2018). El carbono orgánico del suelo y su papel frente al cambio climático. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 35(1), 82-96.
- Cadena, D. (2019). Evaluación y planificación de sistemas agroforestales sustentables de cacao (*Theobroma cacao L.*) y bambú (*Guadua angustifolia K.*), Montalvo, Ecuador. *Journal of Science and Research: Revista de Ciencia e Investigación*, 4(4), 10-21.
- Canarini, A., Mariotte, P., Ingram, L., Merchant, A., y Dijkstra, F. (2017). Mineral-Associated Soil Carbon is Resistant to Drought but Sensitive to Legumes and Microbial Biomass in an Australian Grassland. *Ecosystems*, 21(2), 349-359.
- Candell, A., Valarezo, O., y Camacho, J. (2020). Promotores de sustentabilidad para sistemas agroforestales de cacao (*Theobroma cacao L.*) en Madre de Dios (Perú) y San Plácido (Ecuador). *Revista Científica y Tecnológica UPSE*, 6(2), 76-81.
- Cantú, I., y Yáñez, M. (2018). Efecto del cambio de uso de suelo en el contenido del carbono orgánico y nitrógeno del suelo. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 9(45), 122-151.
- Carrillo, R. L. (2021). Influencia del tipo de cultivo en algunas propiedades físicas y químicas de un Inceptisol de la provincia de El Oro. (trabajo de titulación). Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Machala, Ecuador.
- Carvajal, B., y Andrade, H. (2020). Captura de carbono en biomasa de sistemas de uso del suelo, municipio de Yopal, Casanare, Colombia. *ORINOQUIA*, 24(1), 13-22.

- Carvalho, F., Escobar, L., Camargo, I., Rojas, J., Jaimes, Y., y Rivera, J. (2023). The interspecific interactions in agroforestry systems enhance leaf water use efficiency and carbon storage in cocoa. *Environmental and Experimental Botany*, 205, 105119.
- Casanoves, F., Cifuentes, M., y Chacón, M. (2017). Estimación del carbono a partir de inventarios forestales nacionales Buenas prácticas para la recolección, manejo y análisis de datos. Turrialba, Costa Rica. *Centro Agronómico Tropical de Investigación y enseñanza, CATIE*.
- Castebianco, J. (2018). Técnicas de remediación de metales pesados con potencial aplicación en el cultivo de cacao. LA GRANJA. *Revista de Ciencias de la Vida*, 27(1), 21-35.
- Castillo, X., Etchevers, J., Hidalgo, I., y Aguirre, A. (2021). Evaluación de la calidad de suelo: generación e interpretación de indicadores. *Terra Latinoamericana*, 39, e698.
- Castro, L., Murillo, R., Uribe, L., Mata, C. (2015). Inoculación al suelo con *pseudomonas fluorescens*, *azospirillum oryzae*, *bacillus subtilis* y microorganismos de montaña (mm) y su efecto sobre un sistema de rotación soya-tomate bajo condiciones de invernadero. *Agron. Costarricense* vol.39 (1).
- Caulier, S., Nannan, C., Gillis, A., Licciardi, F., Bragard, C., y Mahillon, J. (2019). Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* group. *Frontiers in microbiology*, 10, 302.
- Caycedo, L., Ramírez, L. C. y Suárez, D. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova*, 19(36), 49-94.
- Chaudhary, D., Khulan, A. y Kim, J. (2019). Development of a novel cultivation technique for uncultured soil bacteria. *Sci Rep* 9(6666).
- Chávez, G. (2018). Costo de producción de cacao clonal CCN 51 en la Parroquia Bellamaria, Ecuador. *Scielo*, 179-185.

- Chimbo, G., Ramírez, L., Carrillo, K., Bravo, D., Quiroga, R., y Chávez, E. (2022). Revisión de normativas para límites críticos de nivel de Cd en fertilizantes en el cultivo de cacao.
- Contreras, A., Sánchez, P., Romero, O., Rivera, J., Ocampo, I., y Conrado, J. (2019). Prácticas agroecológicas y su influencia en la fertilidad del suelo en la región cafetalera de Xolotla, Puebla. *Acta Universitaria*, 29(1894).
- Cordero, A., Viniegra, E., y Boyd, R. (2020). Medidas de mitigación de emisiones de gases de efecto invernadero adoptadas en el sector agropecuario: evaluación e impacto económico en México. *Agricultura Sociedad y Desarrollo*, 17(3), 513-532.
- Cortes, S. (2016). Sustratos inoculados con microorganismos para el desarrollo de plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en etapa de vivero. *Revista Bioagro*, 27(3), 151-158.
- Cruz, J., Dzul, R., Díaz, J., Castañeda, E., Cruz, Y., y Cabrera, R. (2022). Bonos de carbono como propuesta de conservación ambiental, para la microcuenca del Ejido la Laguna OM en Quintana Roo, México. *Nexo Revista Científica*, 35(02), 459-475.
- Cuaran, Y., Marcillo, S., y Jurado, R. (2021). Cuantificación de bacterias nitrificantes en un suelo Typic melanudands en tres condiciones de uso de suelo en Pasto, Nariño, Colombia. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 22(2).
- Cujilema, M., León, G., Rizo, M., Taramona, L., y Ramos, L. (2018). Producción de lipasas por fermentación sólida con *aspergillus niger*: influencia del pH. *Centro Azúcar*, 45(4), 1-9.
- Delgado, I. R., Iglesias, H. I. P., y Batista, R. M. G. (2022). Comportamiento de algunas Propiedades Químicas de un Suelo del orden Inceptisol en los cultivos de maíz y cacao. *Revista Científica Agroecosistemas*, 10(2), 44-50.
- Del Pilar, M., Andrade, H., y Sandoval, A. (2016). Fijación de carbono atmosférico en la biomasa total de sistemas de producción de cacao en el

departamento del Tolima, Colombia. *Rev. Udca Actual Divulg Cient.* vol.19 no.2

- Díaz, J., Bazán, E., Manchay, R., y Cruz, L. (2020). Análisis de la concentración de ácido acético de seis marcas de vinagre de manzana. *Medicina naturista*, 14(2), 79-83.
- Díaz, A., López, Y., Suárez, C., y Díaz, L. (2021). Efecto del FitoMas-E y dos proporciones de materia orgánica sobre el crecimiento de plántulas de cafeto en vivero. *Centro Agrícola*, 48(1), 14-22.
- Díaz, J., Delgado, O., Gamboa, B., Bunning, S., Guevara, M., Medina, E., y Vargas, R. (2020). Estimación del carbono orgánico en los suelos de ecosistema de páramo en Colombia. *Ecosistemas*, 29(1), 1855-1855.
- Druzhinina, I., y Kubicek, C. (2017). Genetic engineering of *Trichoderma reesei* cellulases and their production. *Microbial biotechnology*, 10(6), 1485-1499.
- Dubón, A., y Sánchez, J. (2016). Manual de producción de cacao. 2ª Ed. [FHIA] *Fundación*.
- Duré, C. (2017). Diagnostic utility of Gram staining for infectious keratitis. *Revista Científica de la UCSA*, 4(3), 12-19.
- Duval, M., Pereira, D., Iglesias, J., y Galantini, J. (2014). Efecto de uso y manejo del suelo sobre las fracciones de carbono orgánico en un Argiudol. *Ciencia del Suelo*. 32 (1): 105-115.
- Elfaki, J., Gafei, M., Suleiman, M. y Ali, M. (2016). Assessment of Calcimetric and Titrimetric Methods for Calcium Carbonate Estimation of Five Soil Types in Central Sudan. *Journal of Geoscience and Environment Protection*, 4(1), 120-127. doi:10.4236/gep.2016.41014
- El Salous, A., Angulo, A., y Flores, L. (2019). Acceleration of cocoa fermentation through the action of bacteria (*Acetobacter aceti*) and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *Espirales revista multidisciplinaria de investigación científica*, 3(28).

- Elizondo, A., Viniestra, E., y Boyd, R. (2020). Medidas de mitigación de emisiones de gases de efecto invernadero adoptadas en el sector agropecuario: evaluación e impacto económico en México. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*, 17(3), 513-532.
- Escobar, I., Panadero, N., Medina, A., Álvarez, C., Tenjo, I., y Sandoval, B. (2020). Efecto de prácticas agroecológicas sobre características del suelo en un sistema de lechería especializada del trópico alto colombiano. *Development*, 32(4).
- Espinoza, D., Zenteno, D., Chávez, J., Moreira, V., Solarte, K., y Intriago, F. (2018). Propiedades físicas del suelo en diferentes sistemas agrícolas en la provincia de Los Ríos, Ecuador. *Temas agrarios*, 23(2), 177-187.
- Feliciano, D., Ledo, A., Hillier, J., y Nayak, D. (2018). Which agroforestry options give the greatest soil and above ground carbon benefits in different world regions? *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 254, 117–129.
- Feng, L., Jiang, X., Huang, Y., Wen, D., Fu, T., y Fu, R. (2021). Petroleum hydrocarbon-contaminated soil bioremediation assisted by isolated bacterial consortium and sophorolipid. *Environmental Pollution*, 273, 1-8.
- Fitz, E., Wanka, F., Seiboth, B. (2018). The promoter toolbox for recombinant gene expression in *Trichoderma reesei*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 6, 135.
- Flores, W., Guerrero, J., Batista, R., y Carillo, J. (2022). Microbiota del suelo Bananero: Identificación, Selección, Propagación y Conservación de Hongos Bené. *Revista Científica Agroecosistemas*, 10(1), 104-114.
- Florez, R., y Gómez, A. (2020). Bacterias Gram negativas biodegradadoras de hidrocarburos. *Revista de Ciencias*, 24(2), e9935-e9935.
- Florida, N., Paucar, H., Jacobo, S., Escobar, F., y Torres, J. (2019). Efecto de compost y NPK sobre los niveles de microorganismos y cadmio en suelo y almendra de cacao. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 21(4), 264-273.

- Fontolan, B., Gava, G., y Possan, E. (2022). Captura de CO₂ em argamassas de revestimento: avaliação de cenários. Encontro nacional de tecnologia do ambiente construído, 19, 1-12.
- Frene, J., Wall, L., y Gabbarini, L. (2018). El manejo agrícola como herramienta clave para una agricultura de conservación. Su análisis desde la bioquímica y la microbiología del suelo. *Divulgatio. Perfiles académicos de posgrado*, 2(05), 1-16.
- Galicia, L., Gamboa, A., Cram, S., Chávez, B., Peña, V., Saynez, V., y Siebe, C. (2016). Almacén y dinámica del carbono orgánico del suelo en bosques templados de México, *Terra Latinoamericana*, 34(1), 1-29.
- Gamarra, C., Díaz, I., Vera, M., Galeano, P., y Cabrera, N. (2018). Relación carbono-nitrógeno en suelos de sistemas silvopastoriles del Chaco paraguayo. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 9(46), 4-26.
- Garcén, P. (2021). Habitáculos orgánicos. Sobre metabolismo urbano, bacterias y coexistencia interespecies. *AREA, Agenda de Reflexión en Arquitectura, Diseño y Urbanismo*, 28(1), 8.
- García, A., Pérez, J., y Torres, C. (2019). Evaluación de microorganismos con capacidad de captura de CO₂ en suelos agrícolas. *Revista Internacional de Ciencias*, 3(3), 132-138.
- García, J., Gil, J., Botero, S., y Valencia, F. (2018). Control de crecimiento de *Listeria monocytogenes* en co-cultivo con *Lactobacillus plantarum*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(2), 68-77.
- Gómez, N., Rodríguez, J., y Fernández, E. (2021). Gases de efecto invernadero emitidos por los vehículos agrícolas en Costa Rica. *Cuadernos de Investigación UNED*, 13(1).
- González, G., Ortega, I., Morales, G., Palacios, A., y Lucero, R. (2022). Análisis del Suelo y su Importancia en el Cultivo del Nogal Pecanero en el Distrito de Riego 05 Delicias. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 10(1), 08-16.

- Guadarrama, A., Mejía, J., y Ramírez, M. (2018). Mineralización de la materia orgánica en suelos con manejo diferencial en cultivo de rosa. *Acta universitaria*, 28(2), 33-41.
- Gutiérrez, J., Luna, L., Mendoza, M., Díaz, G., Burguete, J., y Feliciano, J. (2015). Organización, mantenimiento y preservación de la Colección de Cultivos Bacterianos del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), México. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 35(2), 95
- Heredia, G. (2020). La importancia de los hongos (Fungi) en los servicios ecosistémicos. *Bioagrociencias*, 13(2).
- Hernández, D., Ferrera, R., y Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: agricultural and biotechnological importance, and fermentation systems for producing biomass and enzymes of industrial interest. *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia*, 35(1), 98-112.
- Hernández, H., Andrade, J., Suárez, J., Sánchez, J., Gutiérrez, D., y Gutiérrez, G. (2021). Almacenamiento de carbono en sistemas agroforestales en los Llanos Orientales de Colombia. *Rev. biol. trop*, 69(1), 352-368.
- Hernández, L., Londoño, J., Hernández, K., y Torres, L. (2019). Los sistemas biofloc: una estrategia eficiente en la producción acuícola. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 14(1), 70-99.
- Hernández, W., Parra, M., Rodríguez, T., y Romero, P. (2018). Variabilidad espacial del pH y del contenido de Fe₂O₃ en suelos de la cuenca del río Tabure del Estado Lara. *Revista Ciencia y Tecnología*, 11(1), 19-27.
- Huánuco, L., y López, P. (2018). Impacto de las 5S en la Calidad Microbiológica del Aire del laboratorio de calidad de productos agro biológicos. *Industrial data*, 21(2), 17-24.
- Jara, A., Maldonado, D., y Espinosa, C. (2019). Beyond the blame game: A restoration pathway reconciles ecologists' and local leaders' divergent models of seasonally dry tropical forest degradation. *Ecology and Society*, 24(4), 1-22.

- Jaramillo, M., y Bueno, L. (2021). Evaluación del crecimiento de *Phaseolus vulgaris* y microorganismos asociados. *Microciencia*, 10, 88-122.
- Jiménez, M., Gómez, R., Oliva, J., Granados, L., Pat, M., y Aranda, M. (2019). Influencia del estiércol composteado y micorriza arbuscular sobre la composición química del suelo y el rendimiento productivo de maíz forrajero (*Zea mays L.*). *Nova scientia*, 11(23).
- Jiménez, A., González, C., de Mello Prado, R., y Selva, P. (2022). Fuentes de Fósforo (p) más Cachaza con y sin Azotofos sobre los microorganismos del suelo. *Revista Científica Agroecosistemas*, 10(1), 65-69.
- Jiménez, E., Llanos, R., y Ticllasuca, A. (2020). Captura de Carbono: Un enfoque sobre el cambio climático y los servicios ecosistémicos en el Perú. *Alpha Centauri*, 1(2), 02-14.
- Jurado, H., Sinsajoa, M., y Narváez, M. (2019). Evaluación de *Lactobacillus plantarum* microencapsulado y su viabilidad bajo condiciones gastrointestinales simuladas e inhibición frente a *Escherichia coli* O157:H7. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 66(3), 231-244.
- Jurado, M., Ordoñez, H., Ballesteros, W., y Delgado, I. (2019). Evaluación de captura de carbono en sistemas productivos de café (*Coffea arabica L.*), Consacá, Nariño-Colombia.
- Kaspar, F., Neubauer, P., y Gimpel, M. (2019). Bioactive secondary metabolites from *Bacillus subtilis*: a comprehensive review. *Journal of natural products*, 82(7), 2038-2053.
- Kloster, N., Pérez, M. y Bono, A. (2016). Análisis del carbono total, orgánico e inorgánico en suelos de la región semiárida Pampeana Argentina. *Asociación Argentina Ciencias del Suelo*, 34(2), 365-372.
- Komarek, A., Drogue, R., Chenoune, J., Hawkins, S., Msangi, H., Belhouchette, H., y Flichman, G. (2017). Agricultural household effects of fertilizer price changes for small holder farmers in central Malawi. *Agricultural Systems*, 168-178.

- Leiva, S. (2022). Diversidad genética de *Trichoderma* como agente biocontrolador de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) para la producción sostenible del cacao nativo.
- Leiva, E., y Ramírez, R. (2021). Carbono almacenado en cacao y suelo en sistemas agroforestales. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 4(4), 5331-5346.
- Lewis, C., Lennon, A., Eudoxie, G., Sivapatham, P., y Umaharan, P. (2021). Plant metal concentrations in *Theobroma cacao* as affected by soil metal availability in different soil types. *Chemosphere*. 262:127749.
- López, A., y Guncay, G. (2018). Calidad físico química y sensorial de granos y licor de cacao (*Theobroma Cacao*) Usando cinco métodos de fermentación. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(1), 115-127.
- López, J., Ortiz, F., Parada, F., Lara, F., y Vásquez, E. (2019). Caracterización morfoagronómica de cacao criollo (*Theobroma cacao* L.) y su incidencia en la selección de germoplasma promisorio en áreas de presencia natural en El Salvador. *Revista Científica Multidisciplinaria*, 2(1), 31-50.
- López, S. (2018). Validación del método respirométrico para determinar DBO5 en agua residuales y naturales en el distrito metropolitano de Quito. Obtenido de [Tesis de pregrado, Escuela Politécnica Nacional].: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/19481/1/CD-8878.pdf>
- López, U., Brito, H., López, D., Salaya, J., y Gómez, E. (2017). Papel de *Trichoderma* en los sistemas agroforestales - cacaotal como un agente antagonico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20(1), 91-100.
- López, G., Estenoz, S., Bravo, O., y Vázquez, F. (2020). Variabilidad espacial del fósforo asimilable en un suelo ferralsol cultivado con caña de azúcar. *Revista Científica Agroecosistemas*, 8(3), 77-82.
- Loayza, N., Sevilla, V., Olivera, C., Guevara, M., Olmedo, G., Vargas, R., y Jiménez, W. (2020). Mapeo digital de carbono orgánico en suelos de Ecuador. *Ecosistemas*, 29(2), 1852-1852.

- Luna, G. y Mendoza, N. (2020). Condiciones ambientales y microorganismos adecuados para la obtención de humus de calidad y su efecto en el suelo agrícola. *Revista de Investigación Ciencia, Tecnología y Desarrollo*, 6(1).
- Luna, F., y Mesa, R. (2016). Microorganismos eficientes y sus beneficios para los agricultores. *Revista científica Agroecosistemas*. Vol. 4 (02): 31-40.
- Machuca, J., Suárez, E., Motte, E., y Mialhe, E. (2019). Caracterización molecular de los microorganismos presentes durante el proceso fermentativo de los granos de cacao (*Theobroma cacao*). *Rev. peru biol.*, 26(4), 535-542.
- Maguire, V., Ezquiaga, J., Rodriguez, A., Bouilly, P., Gortari, M., Gárriz, A., y Ruiz, O. A. (2021). Mediación biológica para el aumento del carbono y el nitrógeno orgánicos en el suelo.
- Marcos, F., Moreno, V., Silvestro, L., Castellari, C., Diaz, A., Andreoli, Y., y Picone, L. (2019). Diversidad fúngica en suelos con diferentes usos en la región pampeana Argentina. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 35(2), 163-172.
- Marín, E., Guerrero, N., y Batista, R. (2017). Eficiencia de hormonas en el enraizamiento de ramillas de cacao (*Theobroma cacao* L) tipo nacional x trinitario. *Revista Científica Agroecosistemas*, 5(1), 6-15.
- Martínez, J. M., Galantini, J. A., Duval, M. E., López, F. M., y Iglesias, J. O. (2018). Estimating soil organic carbon in Mollisols and its particle-size fractions by loss-on-ignition in the semiarid and semihumid Argentinean Pampas. *Geoderma Regional*, 12(December 2017), 49-55. <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2017.12.004>
- Martínez, T., Aguilera, L., y Silva, H. (2022). Reproducción masiva de hongos *trichodermas* previamente identificados de suelos Nicaragüenses en diferentes sustratos orgánicos. *Nexo Revista Científica*, 35(03), 700-712.
- Marqués, C., Matos, F., Gírio, J., Roseiro, C., y Santos, J. (2017). Lactic acid production from recycled paper sludge: Process intensification by running fedbatch into a membrane-recycle bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 120, 63-72.

- Márquez, J., y González, R. (2022). Tecnologías ómicas para la exploración de la biocostra del suelo. *Terra Latinoamericana*, 40.
- Mata, D., Rivero, M., y Segovia, E. (2018). Agroforestry systems with fine aroma cocoa cultivation: socio-economic and productive environment. *Revista Cubana de Ciencias Forestales*, 6(1), 103-115.
- Medina, L. (2022). Los hongos micorrízicos arbusculares y su rol en los agroecosistemas. *Cultivos Tropicales*, 43(1), 14.
- Méndez, I., Jaén, Y., y Him, J. (2020). Calidad microbiológica y físico-química de los suelos aledaños al vertedero de basura de Santiago, Veraguas, Panamá. *Revista Colegiada de Ciencia*, 1(2), 11-21.
- Mendoza, G., y Romero, E. (2021). Actividad de los polinizadores en la fecundación de la flor de cacao (*Theobroma cacao*) bajo tres sistemas de producción en Portoviejo- Manabí. Repositorio Digital ESPAM.
- Mey, C., y Gore, M. (2021). Biodiversity conservation and carbon sequestration in agroforestry systems of the mbalmayo forest reserve. *J. For. Environ. Sci*, 37, 91-103.
- Meza, P., Quipuzco, L., y Meza, V. (s.f.). Elaboración de bioplásticos y determinación de su biodegradabilidad-Proyecto de laboratorio. *Rev. del Instituto de Investigación FIGMMG-UNMSM*, 22(43), 67-80.
- Miranda, K., Castro, O., y Valarezo, M. (2022). Cuantificación de cadmio en suelos de cultivo de cacao en el cantón Arenillas, provincia de el Oro, Ecuador. *Revista Científica Ciencias Naturales y Ambientales*, 16(1).
- Mohammed, A. M., Robinson, J. S., Midmore, D. J., y Verhoef, A. (2017). Carbon storage in Ghanaian cocoa ecosystems. *Carbon Balance and Management*, 11(1).
- Montanez, A., Trasante, T., Silva, C., y Imbert, D. (2021). Aprendizaje por indagación en la enseñanza de la Microbiología de suelos: diseño participativo de herramientas para la experimentación. *Revista de Educación en Biología*, 24(1), 102-118.

- Montejo, D., Casanova, F., García, M., Oros, I., Díaz, V., y Morales, E. (2018). Respuesta foliar y radical del maíz a la fertilización biológica-química en un suelo Luvisol. *Agronomía Mesoamericana*, 29(2), 325-341.
- Morales, L., González, I., Abella, J., y Ahumada, D. (2019). Técnicas de titulación ácido-base: consideraciones metrológicas. *Revista Colombiana de Química*, 48(1), 26-34.
- Morocho, T., y Leiva, M. (2019). Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. *Centro Agrícola*, 46(2), 93-103.
- Mundra, S., Kjønaas, O., Morgado, L., Krabberød, A., Ransedokken, Y., y Kauserud, H. (2021). Soil depth matters: shift in composition and inter-kingdom co-occurrence patterns of microorganisms in forest soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 97(3), fiab022.
- Muñoz, M., Delgado, M., y Lucas, M. (2021). La biodiversidad y el carbono orgánico del suelo son esenciales para revertir la desertificación. *Ecosistemas*, 30(3), 2238-2238.
- Nadége, M., Louis, Z., Cédric, C., Louis, K., Funwi, F., Ingrid, T., y Julliete, N. (2019). Carbon storage potential of cacao agroforestry systems of different age and management intensity. *Climate and Development*, 11(7), 543-554.
- Nerhot, R., Monzón, R., Alvarez, R., y Rojas, E. (2018). Niveles de materia organica en distintos tipos de manejos. *Brazilian Journal of Development*, 4(7), 3789-3800.
- Nikolaevich, L., y Borisovich, V. (2019). Microbiota's response to natural-anthropogenic changes in moisture in a trans-zonal aspect: A case study for the south part of East European Plain. *Soil Environ.*, 38(1), 21-30.
- Nivela, D. (2020). Relaciones alométricas para estimar biomasa aérea en cultivares de cacao (*theobroma cacao l.*) De origen trinitario (CCN 51) y de tipo nacional en la provincia de los ríos". Quevedo. Obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/5365/1/T-UTEQ>

- Norgrove, L. y Hauser, S. (2013). Carbon stocks in shaded *Theobroma cacao* farms and adjacent secondary forests of similar age in Cameroon. *Trop Ecol.* 54(1), 15–22.
- Novillo, I., Carrillo, M., Cargua, J., Nabel, V., Albán, K., y Morales, F. (2018). Propiedades físicas del suelo en diferentes sistemas agrícolas en la provincia de Los Ríos, Ecuador. *Temas Agrarios.* 23 (2), 177-187. <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5297/1/iniap%201301-3437-2-PB.pdf>
- Núñez, F., Ugas, M., Calderón, R., y Rivas, F. (2021). Cuantificación del carbono orgánico y materia orgánica en suelos no rizosféricos o cubiertos por *Avicennia germinans* (L.) y *Conocarpus erectus* (L.) emplazados en Boca de Uchire, laguna de Unare, Estado de Anzoátegui, Venezuela. *Revista Geográfica de América Central*, (66), 340-366.
- Obando, P., y Vélez, M. (2023). Evaluación de la captación de carbono mediante microorganismos en plantaciones de café (*Coffea arabica*).
- Ordoñez, D., Abella, C., Echeverry, A., Paz, L., y Benítez, N. (2018). Biodegradación de hidrocarburos alifáticos saturados por microorganismos aislados de suelo contaminado con derivados del petróleo. *Revista de Ciencias*, 22(2), 33-44.
- Ostinelli, M., Azcarate, M. y Kloster, N. (2011). Guía para la verificación de espectrofotómetros UV-Visibles utilizados en el análisis del suelo y agua. *VI IBEROLAB*, 1-4.
- Palacios, K., Alcívar, L., Pico, C., Posligua, G., Romero, M., y Rosero, E. (2019). Diseño de un biorreactor para la obtención de ácido acético a partir del vino de mucílago de cacao (*theobroma cacao* L.). *Revista De Ciencias Agropecuarias ALLPA.*, 2(4), 18-28.
- Palad, M. (2021). The effect of biological fertilizer application on interest amount and relative water content in rehabilitation effort of old cacao. *In IOP Conference Series Earth and Environmental Science*, 911(1).
- Patiño, S., Suárez, I., Andrade, H., y Segura, M. (2018). Capture of carbon in biomass in forestry plantations and agroforestry systems in

- armero.guayabal, Tolima, Colombia. *Revista de investigación agraria y ambiental*, 9(2), 121.
- Pazmiño, J. (2020). Importancia del uso de microorganismos del género *Trichoderma sp.* para el control biológico de los cultivos.
- Pedreira, T., Elfmann, C., y Stülke, J. (2022). The current state of Subti Wiki, the database for the model organism *Bacillus subtilis*. *Nucleic Acids Research*, 50(D1), D875-D882.
- Peña, P., Querevalú, J., Ochoa, G., y Sánchez, H. (2020). Ensilado biológico de residuos de langostino fermentado con bacterias ácido-lácticas: Uso como biofertilizante en cultivo de pasto y como alimento para cerdos de traspatio. *Scientia Agropecuaria*, 11(4), 459-471.
- Pérez, D. (2016). Energy sustainability of ecuadorian cacao export and its contribution to climate change. A case study through product life cycle assessment. *Journal of Cleaner Production*. 112: 2560-2568.
- Pérez, U., Ramírez, M., Serralde, D., Peñaranda, A., Wilches, W., Ramírez, L., y Rengifo, G. (2019). Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) como estrategia para reducir la absorción de cadmio en plantas de cacao (*Theobroma cacao*). *Terra Latinoamericana*, 37(2), 121-130.
- Pérez, H., Rodríguez, I., y García, R. (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.
- Pinzón, I., y Ramírez, L. (2021). Ecoeficiencia de los modelos de producción agrícola de maíz duro y su influencia al cambio climático en Shushufindi Ecuador. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 33(1), 76-91.
- Ponce, P., Figueroa, F., Vaca, P., Quimis, G., Chóez, P., y Cevallos, P. (2019). Perfil del suelo en la esperanza en la parroquia el Anegado del cantón Jipijapa. *RECIMUNDO*, 3(1), 1496-1506.
- Quevedo, A., Magdama, F., Castro, J., y Vera-Morales, M. (2022). Interacciones ecológicas de los hongos nematófagos y su potencial uso en cultivos tropicales. *Scientia Agropecuaria*, 13(1), 97-108.

- Quintana, M., y Aguilar, D. (2018). Denominación de origen de cacao ecuatoriano: ¿un aporte de marketing global?. *INNOVA Research Journal*, 68-76.
- Quimis, A., Jaramillo, J., Álvarez, Y., y Rodríguez, A. (2018). Calidad del suelo empleado con fines agrícolas en el Valle de Joa, Cantón Jipijapa. *Polo del conocimiento*,3(5), 31-45.
- Rodríguez, P. (2020). Identificación de coliformes en el canal de aguas lluvias de la Universidad Distrital, Sede Vivero. *Boletín Semillas Ambientales*, 14(1), 52-74.
- 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.
- Ríos, V. (2014). Caracteres principales, ventajas y beneficios agrícolas que aporta el uso de *Trichoderma* como control biológico. *Revista Científica Agroecosistemas*, 2(1).
- Ríos, J., y Lévano, D. (2022). Importancia de los dispositivos usados en la fermentación de Cacao. *Revista agrotecnológica amazónica*, 2(1), e281-e281.
- Rodríguez, A., (2022). Aplicaciones biotecnológicas del *Bacillus* sp. y *Trichoderma*. *Biotecnología*, 89.
- Rodríguez, P. (2021). Compatibilidad y tiempo de sobrevivencia de tres bacterias benéficas de uso agrícola (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus laterosporus*), en bioles.
- Rodríguez, A., Zárate, S., y Batidas, A. (2022). Biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación. *Revista de Ciencias Ambientales*, 56(1), 178-208.
- Rodríguez, C., Guzmán, A., Lara, M., Castillo, E., y Brandao, P. (2021). Aislamiento e identificación de *Lactobacillus* spp.(*Lactobacillaceae*)

- resistentes a Cd (II) y As (III) recuperados de fermento de cacao. *Acta Biológica Colombiana*, 26(1), 19-29.
- Rodríguez, M., Higuera, N., y Sanjuanelo, D. (2019). Bacterias halófilas con potencial para la recuperación de suelos salinizados en Sáchica-Boyacá, Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 67(3), 621-632.
- Rojas, S. (2022). Estudio de parámetros cinéticos relacionados a la purificación del biogás con hidróxido de sodio.
- Rojas, J., Ortiz, L., Escobar, L. D., Rojas, M., y Jaimes, Y. (2021). Descomposición y liberación de nutrientes en biomasa por poda de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Rionegro, Santander, Colombia. *Agronomía Mesoamericana*, 888-900.
- Romero, J. (2018). Resistencias a diferentes antimicrobianos en cepas bacterianas procedentes de pescado.
- Rosas, G., Puentes, Y., y Menjivar, J. (2019). Efecto del encalado en el uso eficiente de macronutrientes para cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Amazonia colombiana. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 20(1), 5-28.
- Ruiz, S. (2018). Influencia de microorganismos sobre características fisicoquímicas de los suelos de cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.), en tingo maria. *RevIA*, 2(1-2).
- Ruiz, S. (2017). *Efecto de diferentes usos del suelo sobre la materia orgánica en la microcuenca La Danta, Somotillo*. Obtenido de <https://repositorio.una.edu.ni/3520/1/tnp33r934.pdf>
- Ruiz, R., Díaz, A., de Coss, A., Díaz, R., Paniagua, F., Hernández, F., y Vengas, J. (2018). Estimación de la producción de metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) de la cerdaza. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 22(2), 35-46.
- Salazar, L., y Hurtado, J. (2017). Aislamiento e identificación de microorganismos presentes durante el proceso de fermentación de *Theobroma cacao* L., variedad "Chuncho" del Cuzco. *International Symposium on Cocoa Research (ISCR)*, 13-17.

- Salvador, P., Martínez, J., Cámara, L., y Zequeira, C. (2020). Structure and specific carbon in a chronosequence of *Theobroma cacao* L. agroforestry systems in Tabasco, México, *Madera y bosque*, 26(3).
- Santos, S., Parra, F., Herrera, A., Valenzuela, B., y Estrada, J. (2018). Colección de microorganismos edáficos y endófitos nativos para contribuir a la seguridad alimentaria nacional. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(1), 191-202.
- Senatore, D., Queirolo, A., Wajswol, S., y Bajsa, N. (2017). Monitoreo de la aplicación de vinaza como fertilizante en caña de azúcar con indicadores microbianos de suelo. *Innotec*(13), 92-97.
- Santos, S., Parra, F., Herrera, A., Valenzuela, B., y Estrada, J. (2018). Colección de microorganismos edáficos y endófitos nativos para contribuir a la seguridad alimentaria nacional. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(1), 191-202.
- Sepúlveda, A., Saavedra, P., y Esse, C. (2019). Análisis de cambio de cobertura y uso de suelo en una subcuenca preandina chilena. Herramienta para la sustentabilidad productiva de un territorio. *Revista de geografía Norte Grande*, (72), 9-25
- Shang, Y., y Boayu, Q. (2018). Highly selective and efficient removal of fluoride from aqueous solution by Zr single bond La dual-metal hydroxide anchored bio-sorbents. *Journal of Cleaner Production*, 199, 36-46.
- Sharma, V., Salwan, R., y Sharma, P. (2017). The comparative mechanistic aspects of Trichoderma and probiotics: scope for future research. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 100, 84-96.
- Siamphan, C., Arnthong, J., Tharad, S., y Zhang, F. (2022). Production of D-galacturonic acid from pomelo peel using the crude enzyme from recombinant *Trichoderma reesei* expressing a heterologous exopolysaccharidase gene. *Journal of Cleaner Production*, 331.
- Silvestro, L., Biganzoli, F., Stenglein, S., Forjan, H., Manso, L., y Moreno, M. (2018). Mixed cropping regime promote the soil fungal community under

- zero tillage. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 111(7),1055-1064.
- Tanya, M., y Leiva, M. (2019). Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. *Centro Agrícola*, 46(2), 93-103.
- Toledo, G., Gargaglione, V., y Peri, P. (2019). Abundancia de carbono en microorganismos en suelos de estepa de Santa Cruz. Su alteración en función a la disponibilidad de humedad. *Informes Científicos Técnicos-UNPA*, 11(2), 70-79.
- Torres, A., García, G., Cadena, D., y Sánchez, V. (2019). Evaluación y planificación de sistemas agroforestales sustentables de cacao (*Theobroma cacao* L.) Y bambú (*Guadua angustifolia* K.), Montalvo, Ecuador. *Journal of science and research*, 4(4), 10-21.
- Troncoso, C., Pavez, M., Santos, S., Salazar, R., y Barrientos, L. (2017). Implicancias estructurales y fisiológicas de la célula bacteriana en los mecanismos de resistencia antibiótica. *International Journal of Morphology*, 35(4), 1214-1223.
- Tuesta, Á., Trigozo, E., Cayotopa, J., Arévalo, E., Arévalo, C., Zúñiga, L., y Leon, B. (2017). Optimización de la fertilización orgánica e inorgánica del cacao (*Theobroma Cacao* L.) con la inclusión de *Trichoderma* endófito y *Micorrizas arbusculares*. *Revista Tecnología en Marcha*, 30(1), 67-78.
- Urquiaga, S. (2016). Protocolo para avaliar o potencial de sistemas agrícolas no sequestro de C e acúmulo de N no solo. Brasilia: Embrapa
- Usuga, A., Angel, M., Granda, M., y Lopez, E. (2020). Identificación de microorganismos biorremediadores de suelos agrícolas del norte de Antioquia para degradación del clorpirifos. *Revista Politécnica*, 16(32), 96-110.
- Vanegas, X., y Fonseca, F. (2019). Evaluación preliminar de la diversidad bacteriana de la quebrada la muña empleando columnas de winogradsky. *Boletín Semillas Ambientales*, 13(1), 28-39.

- Vargas, E., Molina, P., y Montúfar, H. (2021). Sistemas de producción del cacao vs recursos ambientales. Un reto estratégico actual. *Socialium*, 5(2), 335-348.
- Vargas, E., Valle, J., y Fuentes, N. (2021). Impacto socioeconómico de la producción y comercialización del cacao de los pequeños productores del cantón Quevedo. *Revista Científica Ecociencia*, 8, 255-272.
- 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. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí. *ESPAM CIENCIA*.
- Villacis, J. (2022). Captura y reproducción artesanal del hongo antagónico *Trichoderma spp.* en el cultivo de mango (*Mangifera indica*).
- Villanueva, L. y Rodríguez, C. (2011). *Manual de Prácticas de Laboratorio de Química Analítica*. Obtenido de http://fing.uach.mx/licenciaturas/IG/MPracticas/2011/10/24/MPracticas_de_Quimica_analitica.pdf
- Zavala, W., Merino, E., y Peláez, P. (2018). Influencia de tres sistemas agroforestales del cultivo de cacao en la captura y almacenamiento de carbono. *Scientia Agropecuaria*, 9(4), 493-501.
- Zabala, J., Mansilla, L., Zabala, S., y Merino, E. (2019). Mitigación del cambio climático a través del secuestro y almacenamiento del carbono y evaluación de los servicios ambientales del SAF caucho o jebe (*Hevea brasiliensis*) y cacao (*Theobroma cacao* L.) en Tingo María. *Anales Científicos*, 80(2), 462-475.
- Zabala, W., Merino, E., y Peláez, P. (2018). Influencia de tres sistemas agroforestales del cultivo de cacao en la captura y almacenamiento de carbono. *Scientia Agropecuaria*, 9(4), 493-501.
- Zanor, A., López, E., Martínez, R., Ramírez, F., Gutiérrez, S., y León, M. (2018). Mejoramiento de las propiedades físicas y químicas de un suelo agrícola mezclado con lombricompostas de dos efluentes de biodigestor. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 19(4)

ANEXOS

ANEXO 1. Registro fotográfico del proceso de activación de cepas fúngicas y bacterianas



Anexo 1-A. Siembra de hongos y bacterias



Anexo 1-B. Inoculación de cepas



Anexo 1-C. Replicación de cepas fúngicas y bacterianas



Anexo 1-D. Preparación del medio

ANEXO 2. Muestreo de suelo de cacao CCN 51



Anexo 2-A. Muestras de suelo



Anexo 2-B. Recolección de muestras para los 4 tratamientos pre aplicación de cepas fúngicas y bacterianas.

ANEXO 3. Análisis físico-químico en la caracterización del suelo de cacao CCN 51



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

REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

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

N° Muestr. Laborat.	meq/100ml			ds/m	C.E.	M.O.	Ca	Mg	Ca+Mg	meq/100ml		ppm		Textura (%)			Clase Textural
	Al+H	Al	Na							Σ Bases	RAS	Cl	Arena	Limo	Arcilla		
108081							2,2	11,0	1,02	12,24	12,98			28	40	32	Francoso-Arcilloso
108082							2,3	10,0	1,28	14,07	12,96			12	46	42	Arcillo-Limoso
108083							1,8	9,2	1,20	12,31	14,38			36	34	30	Francoso-Arcilloso



INTERPRETACION

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

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

ABREVIATURAS

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

METODOLOGIA USADA

C.E. = Conductímetro
 M.O. = Infusión de Walkley Black
 Al+H = Titulación con NaOH

f. J...
RESPONSABLE LABORATORIO



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

REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

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

N° Muestr. 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



INTERPRETACION

pH				Elementos: de N a B	
MAc = Muy Acido	LAc = Liger. Acido	LAl = Lige. Alcalino	RC = Requiere Cal	B = Bajo	
Ac = Acido	PN = Prac. Neutro	MeAl = Media. Alcalino		M = Medio	
MeAc = Media. Acido	N = Neutro	Al = Alcalino		A = Alto	

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

METODOLOGIA USADA

pH = Suelo: agua (1:2,5)
 N.P.B = Colorimetría
 S = Turbidimetría
 K,Ca,Mg,Cu,Fe,Mn,Zn = Absorción óptica

EXTRACTANTES

Olsen Modificado
 N,P,K,Ca,Mg,Cu,Fe,Mn,Zn
 Fosfato de Calcio Monobásico
 B,S

f. J...
RESPONSABLE LABORATORIO

Anexo 3-A. Análisis fisicoquímicos pre aplicación de cepas fúngicas y bacterianas

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.ctp@iniap.gob.ec

REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

DATOS DEL PROPIETARIO			DATOS DE LA PROPIEDAD			PARA USO DEL LABORATORIO			
Nombre	: ALCIVAR INTRIAGO FABRICIO ENRIQUE		Nombre	: S/N		Cultivo Actual	: Cacao		
Dirección	: MANABÍ / BOLÍVAR		Provincia	: Manabí		N° Reporte	: 11041		
Ciudad	: BOLÍVAR		Cantón	: Bolívar		Fecha de Muestreo	: 10/7/2023		
Teléfono	: 0986449669		Parroquia	: Calceta		Fecha de Ingreso	: 12/7/2023		
Fax	: falcivar@espam.edu.ec		Ubicación	: Vía Figueroa		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	20 M	57 A	1,20 A	19 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(CCN 51)		5,7 MeAc	23 M	44 A	1,57 A	15 A	5,1 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	10 A	4,7 A	55 A	6,0 M	4,4 A	46 A	5,8 B	0,30 M				
110104	Hong.EM-72-T3(CCN 51)		5,5 Ac RC	23 M	49 A	2,03 A	16 A	4,8 A	43 A	2,4 M	4,6 A	157 A	15,3 A	0,71 M				
110105	Hong.EM-49-T4(CCN 51)		7,1 PN	19 M	64 A	1,89 A	19 A	5,1 A	50 A	5,5 M	5,3 A	84 A	7,5 B	0,24 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 tres meses. Tiempo adicional requerimos reclámanos en los resultados

INTERPRETACION				Elementos de N a B		METODOLOGIA USADA		EXTRACTANTES	
MeAc = Muy Acido	LAc = Liger. Acido	LA = Lige. Alcalino	RC = Requiere Cal	B = Bajo		pH = Suelo: agua (1:2,5)		Olsen Modificado	
Ac = Acido	PN = Prac. Neutro	MeAl = Media. Alcalino		M = Medio		N,P,B = Colorimetria		N,P,K,Ca,Mg,Cu,Fe,Mn,Zn	
MeAc = Media. Acido	N = Neutro	Al = Alcalino		A = Alto		S = Turbidimetria		Fosfato de Calcio Monobásico	
						K,Ca,Mg,Cu,Fe,Mn,Zn = Absorción atómica		BS	

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

+ @ J. J. J.
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.ctp@iniap.gob.ec

REPORTE DE ANALISIS DE SUELOS

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

N° Muest. Laborat.	meq/100ml			dS/m	(%)	Ca			Mg			Ca+Mg			meq/100ml	(meq/l)½	ppm	Textura (%)			Clase Textural
	Al+H	Al	Na			C.E.	M.O.	Mg	K	K	Σ Bases	RAS	Cl	Areña				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												

La muestra será guardada en el Laboratorio por tres meses. Tiempo adicional requerimos reclámanos en los resultados

INTERPRETACION				ABREVIATURAS		METODOLOGIA USADA	
Al+H, Al y Na	C.E.	M.O. y Cl		C.E. = Conductividad Eléctrica	C.E. = Conductímetro		
B = Bajo	NS = No Salino	S = Salino	B = Bajo	M.O. = Materia Orgánica	M.O. = Titulación de Welkley Blue		
M = Medio	LS = Lig. Salino	MS = Muy Salino	M = Medio	RAS = Relación de Adsorción de Sodio			
T = Tóxico		A = Alto	A = Alto				

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

+ @ J. J. J.
RESPONSABLE LABORATORIO

Anexo 3-B. Análisis fisicoquímicos post aplicación de cepas fúngicas y bacterianas

ANEXO 4. Datos recolectados en la captura de carbono

Hongos (mg*kg-s)								
Primera aplicación								
Días	TL72 T1R1	TL72 T1R2	TL72 T1R3	TL72 T1R4	TR49 T2R1	TR49 T2R2	TR49 T2R3	TR49 T2R4
Día 1	24	23	26	27	29	28	26	25
Día 2	23	22	25	26	29	28	25	24
Día 3	26	25	24	28	27	28	29	26
Día 4	24	25	28	24	25	27	29	28
Día 5	26	25	24	23	28	27	28	26
Día 6	24	26	27	24	28	27	25	23
Día 7	22	24	26	23	27	26	22	25
Promedio	24	24	26	25	28	27	26	25
Segunda aplicación								
Días	TL72 T1R1	TL72 T1R2	TL72 T1R3	TL72 T1R4	TR49 T2R1	TR49 T2R2	TR49 T2R3	TR49 T2R4
Día 1	26	23	24	25	23	22	24	23
Día 2	26	23	26	23	23	23	22	22
Día 3	26	23	25	23	24	24	24	25
Día 4	23	24	27	29	24	25	23	25
Día 5	26	19	22	26	24	25	22	23
Día 6	26	23	23	29	23	24	23	24
Día 7	26	21	22	19	23	25	24	23
Promedio	26	22	24	25	23	24	23	24
Tercera aplicación								
Días	TL72 T1R1	TL72 T1R2	TL72 T1R3	TL72 T1R4	TR49 T2R1	TR49 T2R2	TR49 T2R3	TR49 T2R4
Día 1	21	20	20	19	29	20	22	18
Día 2	22	21	21	21	22	21	21	21
Día 3	19	22	19	23	25	22	23	21
Día 4	18	26	22	22	19	12	21	22
Día 5	22	19	21	21	19	22	23	23
Día 6	19	21	21	20	21	20	21	23
Día 7	20	20	19	19	20	21	19	19
Promedio	20	21	20	21	22	20	21	21
Cuarta aplicación								
Días	TL72 T1R1	TL72 T1R2	TL72 T1R3	TL72 T1R4	TR49 T2R1	TR49 T2R2	TR49 T2R3	TR49 T2R4
Día 1	21	16	19	18	12	17	17	24
Día 2	23	18	14	16	17	15	14	21
Día 3	22	18	21	18	15	18	10	18
Día 4	18	16	24	19	17	19	28	15
Día 5	18	14	23	13	22	16	21	17
Día 6	12	18	19	20	10	21	21	18
Día 7	14	21	24	21	16	19	16	19
Promedio	18	17	21	18	16	18	18	19

Anexo 4-A. Datos de las 4 aplicaciones por el método de titulación de consumo de ácido en los tratamientos T₁ y T₂.

Bacterias (mg*kg-s)								
Primera aplicación								
Días	BMC21 T3R1	BMC21 T3R2	BMC21 T3R3	BMC21 T3R4	BMC31 T4R1	BMC31 T4R2	BMC31 T4R3	BMC31 T4R4
Día 1	28	28	27	29	28	29	29	28
Día 2	27	27	28	27	32	32	30	32
Día 3	28	28	29	29	30	27	29	30
Día 4	27	28	27	28	31	30	28	26
Día 5	28	26	25	27	30	28	27	30
Día 6	26	25	26	27	32	30	28	27
Día 7	25	24	26	23	29	26	24	26
Promedio	27	27	27	27	30	29	28	28
Segunda aplicación								
Días	BMC21 T3R1	BMC21 T3R2	BMC21 T3R3	BMC21 T3R4	BMC31 T4R1	BMC31 T4R2	BMC31 T4R3	BMC31 T4R4
Día 1	25	23	23	25	23	27	26	28
Día 2	24	23	24	26	23	23	24	23
Día 3	21	22	27	23	23	26	24	24
Día 4	29	24	23	24	25	25	25	24
Día 5	21	25	24	24	24	25	25	23
Día 6	26	23	23	22	23	25	24	22
Día 7	21	21	22	25	23	27	22	22
Promedio	24	23	24	24	23	25	24	24
Tercera aplicación								
Días	BMC21 T3R1	BMC21 T3R2	BMC21 T3R3	BMC21 T3R4	BMC31 T4R1	BMC31 T4R2	BMC31 T4R3	BMC31 T4R4
Día 1	22	20	19	20	20	20	20	20
Día 2	23	22	19	23	22	21	22	20
Día 3	21	18	20	29	23	23	23	21
Día 4	19	25	21	19	19	22	21	22
Día 5	19	26	20	20	22	19	20	23
Día 6	20	26	21	21	21	17	19	19
Día 7	19	28	20	22	19	18	18	19
Promedio	20,43	24	20	22	21	20	20	21
Cuarta aplicación								
Días	BMC21 T3R1	BMC21 T3R2	BMC21 T3R3	BMC21 T3R4	BMC31 T4R1	BMC31 T4R2	BMC31 T4R3	BMC31 T4R4
Día 1	18	19	25	19	20	12	23	20
Día 2	17	21	23	23	19	16	16	14
Día 3	20	21	21	24	17	15	18	17
Día 4	19	23	21	21	18	17	12	18
Día 5	21	26	25	20	20	17	19	19
Día 6	23	23	19	21	21	19	20	20
Día 7	21	23	24	19	22	20	17	18
Promedio	20	22	23	21	20	17	18	18

Anexo 4-B. Datos de las 4 aplicaciones por el método de titulación del consumo de ácido en los tratamientos T₃ y T₄.

ANEXO 5. Resultados del ANOVA y prueba de Tukey en el programa InfoStat

Análisis de Varianza

Captación de Carbono

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Captación Carbono	16	0,88	0,80	5,70

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	111,38	6	18,56	10,73	0,0011
Repeticiones	108,69	3	36,23	20,95	0,0002
Tratamientos	2,69	3	0,90	0,52	0,6802
Error	15,56	9	1,73		
Total	126,94	15			

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

Error: 10,3542 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T3 (BMC-21)	23,75	4	1,61 A
T2 (<i>Trichoderma reesei</i>)	23,00	4	1,61 A
T1 (<i>Trichoderma longibrach.</i>)	22,75	4	1,61 A
T4 (BMC-31)	22,75	4	1,61 A

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