



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA TIERRA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGROPECUARIO

Título del Proyecto de Investigación

Caracterización de bioles y su efecto sobre parámetros morfológicos y componentes del rendimiento en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.)

AUTORES:

John Cristian Nuñez Cherres

Daisy Vanessa López Altamirano

DIRECTOR DEL PROYECTO:

MSc. Jorge Antonio Freile Almeida

Puyo - Ecuador

2020

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, John Cristian Nuñez Cherres, con C.I: 1600643512, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normatividad institucional vigente, certifico libremente que los criterios y opiniones que constan en el presente Proyecto de Investigación bajo el tema: “**Caracterización de bioles y su efecto sobre parámetros morfológicos y componentes del rendimiento en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.)**”, son de mi autoría y exclusiva responsabilidad, a la vez cedemos los derechos de autor a la Universidad Estatal Amazónica, para que pueda realizar publicaciones sobre la misma de la forma que crea conveniente, así como su almacenamiento tanto en medios físicos como electrónicos.

.....

John Cristian Nuñez Cherres

C.I: 1600643512

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Daisy Vanessa López Altamirano, con C.I: 1600710824, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normatividad institucional vigente, certifico libremente que los criterios y opiniones que constan en el presente Proyecto de Investigación bajo el tema: **“Caracterización de bioles y su efecto sobre parámetros morfológicos y componentes del rendimiento en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.)”**, son de mi autoría y exclusiva responsabilidad, a la vez cedemos los derechos de autor a la Universidad Estatal Amazónica, para que pueda realizar publicaciones sobre la misma de la forma que crea conveniente, así como su almacenamiento tanto en medios físicos como electrónicos.

.....
Daisy Vanessa López Altamirano

C.I: 1600710824

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Por medio del presente, Yo, MSc. Jorge Antonio Freile Almeida, con C.I: 1706555883, certifico que el egresado, John Cristian Nuñez Cherres, realizó el Proyecto de Investigación titulado: **“Caracterización de bioles y su efecto sobre parámetros morfológicos y componentes del rendimiento en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.)”**, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria bajo mi supervisión.

.....

MSc. Jorge Antonio Freile Almeida
DIRECTOR DE PROYECTO

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Por medio del presente, Yo, MSc. Jorge Antonio Freile Almeida, con C.I: 1706555883, certifico que la egresada, Daisy Vanessa López Cherres, realizó el Proyecto de Investigación titulado: **“Caracterización de bioles y su efecto sobre parámetros morfológicos y componentes del rendimiento en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.)”**, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria bajo mi supervisión.

.....

MSc. Jorge Antonio Freile Almeida
DIRECTOR DE PROYECTO

CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

El proyecto de investigación titulado: “**Caracterización de bioles y su efecto sobre parámetros morfológicos y componentes del rendimiento en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.)**”, fue aprobado por los siguientes miembros del tribunal.

.....
Dra. Karina Carrera, PhD.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

.....
Dra. Eliza López, PhD.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

.....
MSc. Jorge Luis Alba
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Estatal Amazónica, por haberme brindado la oportunidad de pertenecer a tan prestigiosa institución y por brindarme la preparación académica y todas las facilidades para la culminación de mi carrera. A todos mis profesores quienes me acompañaron en la trayectoria universitaria y compartieron sus experiencias, consejos para formarnos como excelentes profesionales.

Agradezco al director del proyecto de investigación. MSc. Jorge Freile por proponerme el tema del Proyecto de Titulación y guiarme en el transcurso de su realización.

Al Dr. Roldán Torres, PhD. quien contribuyó con su experiencia, conocimientos y tiempo dedicado en el proceso de análisis.

A los Miembros del Tribunal, por sus sugerencias y guía en la culminación de este proyecto de Titulación.

A mi novia Marina Pineda por brindarme su amor, paciencia, consejos y apoyo incondicional en todo momento.

A mis queridas Tías Mónica, Pilar y Denis por el apoyo brindado y los consejos recibidos para culminar con mis estudios.

A mis amigos Willys Villacís, Cristian Jaramillo por compartir gratos momentos.

John Cristian Nuñez Cherres

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco primeramente a Dios por permitir culminar una etapa más en mi vida, a la Universidad Estatal Amazónica que me abrieron las puertas para formarme profesionalmente y al director del proyecto Msc. Jorge Freile por proponer el tema realizado. A todos mis compañeros con los cuales hemos compartido experiencias inolvidables y de las cuales hemos aprendido muchas cosas que han servido para fortalecer nuestros lazos de amistad.

Daisy Vanessa López Altamirano

DEDICATORIA

Este proyecto va dedicado a Dios, por darme, protección, fortaleza, sabiduría y por brindarme la fuerza necesaria para afrontar los retos que se me presentaron en el trayecto de este proceso.

Una dedicatoria especial a mi abuelito Luis Cherres que a pesar de ya no estar en este mundo siempre estará presente en mi corazón.

A mi querida abuelita María Quispe, por estar siempre conmigo brindándome su apoyo, cariño, dedicación, paciencia y sus consejos que fueron el motivo para impulsarme a seguir adelante.

A mi madre Carmen Cherres por su gran esfuerzo brindarme su apoyo, consejos, cariño y estar pendiente a pesar de la distancia.

A mi hermano Alejandro por ser parte de este proceso para cumplir mi meta.

A mis tíos y primos que siempre estuvieron pendientes de mi bienestar y me brindaron su apoyo incondicional en todo momento.

John Cristian Nuñez Cherres

DEDICATORIA

Primeramente, este trabajo está dedicado a mis padres Rubén López y Enma Beatriz Altamirano por todo el apoyo brindado en todo momento y en todo aspecto durante mi estudio y la ayuda que me han sabido dar en los momentos difíciles. A mis hermanos Nadia, y Mayro López por todo el apoyo que me han brindado en los momentos que he necesitado su ayuda y el afecto que han sido mi fortaleza y demás familiares por todo el apoyo que me han prestado para la culminación de mis estudios con la obtención de mi título de INGENIERIA AGROPECUARIA, como también a todas las personas que me han brindado su ayuda, guía y dirección durante toda la Carrera.

Daisy Vanessa López Altamirano

RESUMEN EJECUTIVO

El proyecto de investigación tenía la finalidad de aportar con una alternativa de fertilización orgánica de tipo Biol a base de estiércol de bovino y microorganismos de montaña para solucionar los problemas que presenta este cultivo de cacao principalmente en la fertilización deficiente lo cual causa el bajo rendimiento. Adicionalmente, surge la necesidad de reducir el consumo de fertilizantes químicos, debido a las exigencias ambientales y a la constatación de que el uso excesivo de las mismas, van deteriorando de manera progresiva el suelo y ocasionando diversos daños colaterales en quienes aplican estos agroquímicos y en los que consumen los productos obtenidos de estas explotaciones. Es por ello que nuestra investigación tuvo como objetivos determinar la composición química y contenido en bacterias y hongos de dos tipos de Biol, así como su efecto sobre parámetros morfológicos y componentes del rendimiento del cultivo de cacao. Los bioles probados fueron uno a base de estiércol, y otro con incorporación de microorganismos de montaña a una base de estiércol. El proyecto se realizó en el en el Centro de investigación, Posgrado y Conservación Amazónica (CIPCA), localizada en las provincias de Pastaza y Napo. El diseño utilizado fue en bloques al azar. Se estableció cuatro replicas y cuatro tratamientos (T1: Biol 1 Estiércol, T2: Biol 2 Microorganismos, T3: NPK Y T4: Control). Los análisis microbiológicos consistieron en la determinación de las unidades formadoras de colonias (UFC) para bacterias y hongos. Para el análisis químico de los dos tipos de Biol se recolecto 2 muestras de 150 ml, para el análisis de macronutrientes (Nitrógeno, Potasio, fosforo, Calcio, Magnesio, Azufre) y micronutrientes (Boro, Zinc, Cobre, Hierro, Manganeso). Los resultados obtenidos demostraron que el mejor tratamiento en cuanto a unidades formadoras de colonias en bacterias fue el Biol 1 (estiércol) y en hongos fue el Biol 2 (microorganismos de montaña), mientras que para el análisis químico el mejor resultado lo obtuvo el Biol 1 estiércol. El efecto de los bioles sobre las variables morfológicas en el cultivo de cacao se manifestó en un mayor incremento en las variables longitud de las ramas, diámetro del tallo y numero de ramas laterales proporcionado por el Tratamiento 1 (Biol de estiércol); el número de cojines florales y numero de hojas fueron favorecido por el Tratamiento 3 (NPK) que género los mejores resultados, y por último, el Tratamiento 2 (Biol 2 microorganismo de montaña) dio lugar un incremento mayor de numero de frutos.

PALABRAS CLAVES: Bioles, producción, residuos orgánicos, Theobroma cacao, Amazonia.

ABSTRACT

The research project was intended to contribute an organic fertilization alternative of the Biol type based on bovine manure and mountain microorganisms to solve the problems that this cocoa crop presents mainly in the poor fertilization caused by the low yield. In addition, there is a need to reduce the consumption of chemical fertilizers, due to environmental requirements and the finding that excessive use of them gradually deteriorates the soil and causes various collateral damage in those who apply these agrochemicals and in the consumption of the products obtained of these farms. That is why our research aimed to determine the chemical composition and bacterial and fungal content of two types of Biol, as well as its effect on morphological parameters and the components of cocoa crop yield. The bioles tested were one based on manure and another with incorporation of mountain microorganisms in a manure base. The project was carried out at the Amazon Research, Postgraduate and Conservation Center (CIPCA), located in the provinces of Pastaza and Napo. The design used was random blocks. Four replicates and four treatments were established (T1: Biol 1 Manure, T2: Microorganisms Biol 2, T3: NPK and T4: Control). Microbiological analyzes consisted of the determination of colony forming units (CFU) for bacteria and fungi. For the chemical analysis of the two types of Biol 2, 150 ml samples were collected, for the analysis of macronutrients (nitrogen, potassium, phosphorus, calcium, magnesium, sulfur) and micronutrients (boron, zinc, copper, iron, manganese). The results obtained showed that the best treatment in terms of colony forming units in bacteria was Biol 1 (manure) and in fungi it was Biol 2 (mountain microorganisms), while for chemical analysis, Biol 1 manure obtained the best result. the bioles on morphological variables in the cocoa crop were manifested in a greater increase in the variables length of the branches, stem diameter and number of lateral branches provided by Treatment 1 (Manure Biol); the amount of floral cushions and the amount of leaves were favored by Treatment 3 (NPK) that generated the best results, and finally, Treatment 2 (Mountain Biol 2 microorganism) resulted in a greater increase in the number of fruits.

KEY WORDS: Biols, production, organic rest, Theobroma cocoa, Amazonia.

TABLA DE CONTENIDOS

CAPITULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN Y JUSTIFICACIÓN.....	3
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	4
1.3. OBJETIVOS	4
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	4
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
CAPITULO II.....	5
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN.....	5
2.1. GENERALIDADES DEL CULTIVO.....	5
2.1.1. ORIGEN.....	5
2.1.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	5
2.2. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS	5
2.2.1. SISTEMA RADICAL	5
2.2.2. TALLO.....	6
2.2.3. HOJAS	6
2.2.4. FLORACIÓN	6
2.2.5. FRUTO.....	6
2.2.6. SEMILLAS	7
2.3. REQUERIMIENTOS AGROCLIMÁTICOS.....	7
2.4. REQUERIMIENTOS EDÁFICOS	7
2.5. FERTILIZACIÓN.....	7
2.6. REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES	8
2.7. BIOL	8
2.8. IMPORTANCIAS DEL BIOL	9

2.9. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL BIOL	9
2.10. ESTUDIOS SOBRE EL EFECTO DEL USO DE BIOL A BASE DE ESTIERCOL	9
2.11. MICROORGANISMOS EFICIENTES.....	10
2.11.1. TIPOS DE MICROORGANISMOS QUE CONFORMAN	10
2.11.2. IMPORTANCIA DE LOS MICROORGANISMOS EFICIENTES	11
2.12. MICROORGANISMOS DE MONTAÑA	11
2.13. ESTUDIOS SOBRE EL EFECTO DEL USO DE MICROORGANISMOS DE MONTAÑA	11
CAPÍTULO III.....	12
3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	12
3.1. LOCALIZACIÓN.....	12
3.1.1. CONDICIONES METEOROLÓGICAS	12
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN	12
3.3. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN.....	13
3.3.2. CUANTIFICACIÓN DE COMUNIDADES DE BACTERIAS Y HONGO EN DOS TIPOS DE BIOL	16
3.3.3. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES QUÍMICAS DE LOS BIOLES A BASE ESTIÉRCOL Y MICROORGANISMOS DE MONTAÑA.	18
3.3.4. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE BIOLES SOBRE EL RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE CACAO SEGÚN SUS VARIABLES MORFOLÓGICAS Y DE PRODUCCIÓN.....	19
3.4. PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO DE DATOS.....	20
CAPÍTULO IV.....	21
4. RESULTADOS ESPERADOS	21
4.1. CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS Y HONGOS PRESENTES EN BIOLES .	21
4.1.2. POBLACIÓN DE BACTERIAS	21
4.1.3. COMPARACIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE BACTERIAS TOTALES	22

4.1.4. POBLACIÓN DE HONGOS	23
4.1.5. COMPARACIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE HONGOS	24
4.1.6. COMPARACIÓN DE COMUNIDAD MICROBIANAS EN LOS DIFERENTES BIOLES.....	25
4.2. DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES QUÍMICAS DE LOS BIOLES ELABORADOS CON ESTIÉRCOL Y MICROORGANIMOS DE MONTAÑA.....	26
4.3. DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE BIOLES SOBRE EL RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE CACAO SEGÚN SUS VARIABLES MORFOLÓGICAS Y DE PRODUCCIÓN.....	28
CAPITULO V	35
CONCLUSIONES	35
RECOMENDACIONES.....	36
CAPÍTULO VI.....	37
BIBLIOGRAFÍA	37
CAPÍTULO VII	43
ANEXOS	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de Centro de Investigación, Posgrado y Conservación Amazónica ..	12
Figura 2. Metodología de la cuantificación microbiana basada en el número más probable de microorganismos, mediante las diluciones cuantitativas y la siembra en cajas Petri. Diluciones Cuantitativas.....	17
Figura 3. Diseño de bloques al azar para el ensayo de investigación en el cultivo de cacao, CIPCA	20
Figura 4. Cinética de crecimiento de unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias en los bioles a las 24, 48, 72 horas y 7 días.....	21
Figura 5. Comparación de unidades formadoras de colonias (UFC) del Biol 1 a base de estiércol y Biol 2 a base de microorganismos de montaña en el cultivo de cacao	22
Figura 6. Cinética de crecimiento de unidades formadoras de colonias (UFC) de hongos en los bioles a las 24, 48, 72 horas y 7 días en el cultivo de cacao	23
Figura 7. Comparación de unidades formadoras de colonias (UFC) del Biol con estiércol y Biol con microorganismos de montaña en el cultivo de cacao.....	24
Figura 8. Comparación de unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias y hongos totales en los diferentes bioles de estiércol y microorganismos de montaña	25
Figura 9. Efecto de los bioles sobre el incremento o disminución del crecimiento de las variables morfológicas en el cultivo de cacao.	34

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Requerimientos Nutricionales del cultivo de cacao	8
Tabla 2. Composición química del Biol de estiércol.....	9
Tabla 3. Diluciones que se emplearon para la determinación de bacterias y hongos por cada muestra de Biol de estiércol y microorganismos de montaña.	18
Tabla 4. Métodos utilizados para los análisis de bioles de estiércol y microorganismo de montaña realizados en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Ecuador (INIAP) de Quevedo.....	19
Tabla 5. Composición química de macroelementos presentes en bioles de estiércol y microorganismos de montaña.....	26
Tabla 6. Composición química de microelementos presentes en bioles de estiércol y microorganismos de montaña.....	27
Tabla 7. Análisis del efecto de la aplicación de bioles en cacao para la variable morfológica longitud de la rama (cm) en las cinco evaluaciones a los 15, 30, 45, 60, y 75 días	28
Tabla 8. Análisis del efecto de la aplicación de bioles en cacao para la variable morfológica diámetro del tallo (cm) en las cinco evaluaciones a los 15, 30, 45, 60, y 75 días	29
Tabla 9. Análisis del efecto de la aplicación de bioles en cacao para la variable morfológica número de hojas en las cinco evaluaciones a los 15, 30, 45, 60, y 75 días	30
Tabla 10. Análisis del efecto de la aplicación de bioles en cacao para la variable morfológica número de ramas laterales en las cinco evaluaciones a los 15, 30, 45, 60, y 75 días	30
Tabla 11. Análisis del efecto de la aplicación de bioles en cacao para la variable de producción cojinetes florales en las cinco evaluaciones a los 15, 30, 45, 60, y 75 días.....	31
Tabla 12. Análisis del efecto de la aplicación de bioles en cacao para la variable de producción número de frutos en las cinco evaluaciones a los 15, 30, 45, 60, y 75 días	32

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Delimitación de subparcelas	43
Anexo 2. Elaboración de Biol con estiércol	43
Anexo 3. Reproducción de microorganismo de montaña en medio solido.....	43
Anexo 4. Proceso de descomposición de los dos bioles.....	44
Anexo 5. Rotulado y etiquetado de los arboles	44
Anexo 6. Activación de microorganismos de montaña en medio liquido.....	44
Anexo 7. Toma de muestras de variables morfológicas.....	45
Anexo 8. Labores culturales en el cultivo de cacao	45
Anexo 9. Toma de muestras por cada Biol elaborado.....	45
Anexo 10. Cuantificación de bacterias y hongos presentes en bioles	46
Anexo 11. Resultado de la siembra de microorganismos (hongos y bacterias)	47

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

El centro de origen y domesticación del cacao se encuentra en Mesoamérica entre México, Guatemala y Honduras, donde su uso está atestiguado desde hace 2000 años antes de Cristo. No obstante, estudios recientes demuestran que por lo menos una variedad de *Theobroma cacao* tiene su punto de origen en la Alta Amazonía y que ha sido utilizada en la región por más de 5000 años. La cultura del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Ecuador es antigua, se sabe que, a la llegada de los españoles en la costa del Pacífico, ya se observaban grandes árboles de cacao que demostraban el conocimiento y la utilización de esta especie en la Costa (ANECACAO, 2015).

En la actualidad el Ecuador posee una superioridad en este producto: más del 70% de la producción mundial de cacao fino y de aroma se cultivan en el país, convirtiéndolo en el mayor productor de cacao de aroma del mundo. Este tipo de cacao tiene características individuales distintivas con toques florales, frutales, de nueces y almendras que lo hacen único y especial, sobresaliendo con su ya conocido sabor (Pineda, 2016).

El cacao es de importancia relevante en la economía del Ecuador, por ser un producto de exportación y que constituye una fuente de empleo para un alto porcentaje de habitantes de los sectores rurales y urbanos. Esta especie representa uno de los rubros más importante para el país, siendo también uno de los cultivos tradicionales de interés comercial. La actividad cacaotera en Ecuador involucra alrededor de 100 000 familias de pequeños y medianos productores (Mosquera, 2014).

Las principales áreas de siembra se encuentran en las provincias de Los Ríos (Vinces, Babahoyo, Palenque Baba, Pueblo Viejo, Catarama y Ventanas), en el sur de la provincia del Guayas (Naranjal, Balao y Tenguel), y en la provincia de El Oro (Machala y Santa Rosa). Actualmente se extiende en alrededor de 320 000 ha, donde se registran plantaciones de cacao nacional, forastero y criollos en un 80% y con CCN-51 se cree que alcanza a un 20% (Morante, 2014).

En la región Amazónica del Ecuador (RAE) encontramos cacao en las provincias de Napo, Pastaza, Morona Santiago y Zamora Chinchipe. Aunque la RAE se encuentra situada en el centro del origen del cacao, los colonos no tienen mayor interés sobre este cultivo (Pico et al., 2012).

El cultivo de cacao como todo cultivo, requiere ser fertilizado para posibilitar el incremento de la productividad y mejora de la calidad de las cosechas para mantener una producción estable. Al fertilizar aportamos al suelo los nutrientes que han sido absorbidos por el cultivo y mantenemos el vigor en las plantas, al no hacerlo con el transcurso del tiempo el suelo se desgastará, perderá su fertilidad, ocasionando baja producción y rentabilidad (INIAP, 2016). La fertilización es el único recurso que permite corregir las deficiencias de minerales en los cultivos, mejorando la calidad del suelo.

Actualmente la agricultura orgánica es una de las alternativas más confiables, saludables y amigables con el ambiente, la elaboración de Biol y su posterior aplicación en cultivos de ciclo corto, semi-perenne y perenne garantizan una alimentación sana y disminución considerable en el uso de agroquímicos que ocasionan efectos nocivos tanto al hombre, los animales, al suelo y el ambiente que en la mayoría de los casos son irreversibles (Puga, 2017).

1.1. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN Y JUSTIFICACIÓN

El cultivo de cacao en la región Amazónica no alcanza los rendimientos que el cultivo podría generar en condiciones adecuadas. En los últimos años, se ha reducido el uso de fertilizantes químicos por sus costos altos y sin un manejo adecuado en las plantaciones no es posible obtener el resultado esperado en cuanto a costo-beneficio, razón por la cual los agricultores no fertilizan sus cultivos.

Los fertilizantes de origen sintético han sido los más utilizados en la fertilización de cacao, pero su uso excesivo provoca daños en la fertilidad, en el deterioro de las características fisicoquímicas y en la pérdida de flora y fauna del suelo. Por lo que se empezó a utilizar productos orgánicos como alternativa de manejo integrado que puede mejorar la producción y a la vez conservar el ambiente.

El cacao es uno de los productos destacados en el mercado internacional por sus buenas características organolépticas. En la región Amazónica ecuatoriana genera fuentes de trabajo y es considerado un cultivo respetuoso con el medio ambiente por su condición de establecerlo en sistemas agroforestales, siendo de gran ayuda en la economía de los productores. Sin embargo, no se ha logrado obtener los rendimientos que se esperan de dicho cultivo, ya que se ve afectado por las enfermedades, los bajos niveles de fertilidad del suelo y falta de manejo agronómico, al ser un cultivo que demanda de macro, micronutrientes y atenciones culturales, para aprovechar todo su potencial genético de producción.

Diversos estudios han demostrado que el uso de fertilizantes orgánicos contribuye a mejorar la fertilidad del suelo, por lo cual es una buena alternativa para ayudar en las propiedades fisicoquímicas además favorece a la retención de nutrientes del suelo, según manifiesta Toalombo (2013), que la necesidad de disminuir la dependencia de productos químicos artificiales en los distintos cultivos está obligando a la búsqueda de alternativas fiables y sostenibles. En la agricultura ecológica, se le da gran importancia a este tipo de abonos, y cada vez más, se están utilizando en cultivos intensivos

Este proyecto se realizó este proyecto con la finalidad de aportar con una alternativa de fertilización orgánica de tipo Biol a base de estiércol de bovino y microorganismos de montaña para solucionar los problemas que presenta este cultivo principalmente en la fertilización deficiente lo cual causa el bajo rendimiento del cacao y la necesidad de reducir

el consumo de fertilizantes químicos, debido a las exigencias ambientales y el uso excesivo de las mismas, que día a día van deteriorando de manera progresiva el suelo y ocasionando diversos daños colaterales en quienes aplican estos agroquímicos y en los que consumen los productos obtenidos de estas explotaciones.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Podrán influir el uso de bioles a base de estiércol y microorganismos de montaña sobre el rendimiento del cultivo de Cacao (*Theobroma cacao* L.) en el Centro De Investigación, Posgrado Y Conservación Amazónica- CIPCA?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar los efectos de dos tipos de bioles elaborados a base de estiércol y microorganismos de montaña, sobre el rendimiento del cultivo de cacao en el CIPCA.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar las comunidades de bacterias y hongos presentes en bioles elaborados a base estiércol y microorganismos de montaña.
- Determinar las propiedades químicas de los bioles elaborados a base estiércol y microorganismos de montaña.
- Determinar el efecto de la aplicación de bioles sobre el rendimiento del cultivo de cacao según sus variables morfológicas y de producción.

CAPITULO II

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. GENERALIDADES DEL CULTIVO

2.1.1. ORIGEN

El cultivo de cacao es una planta de hoja perenne de la familia Malvaceae originaria de los trópicos húmedos de América, su centro de origen se cree estar situado en el noroeste de América del Sur, en la zona Amazónica (Paspuel, 2018).

2.1.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA

Según indica CATIE (2011), el cacao tiene constante demanda y es reconocido a nivel mundial, su precio en el mercado es estable, a diferencia de otros cultivos como el café o el frijol, que además de tener precios variables, enfrentan mayores riesgos de pérdida de la producción, especialmente en el trópico húmedo.

El cultivo de cacao es uno de los más significativos símbolos de Ecuador. Durante casi un siglo, el desarrollo económico ecuatoriano surge en gran medida alrededor del mercado internacional del cacao. Actualmente, Ecuador produce más del 70% de la producción mundial de cacao fino de aroma convirtiéndose en el mayor productor de cacao fino de aroma del mundo. Además, es un importante generador de empleo y se estima que aproximadamente 600 000 personas participan directamente en toda la cadena cacaotera. Existen 490 000 hectáreas de cacao, distribuidas básicamente en las provincias de la Costa y en las estribaciones occidentales de la Región Andina según manifiesta (Anecacao, 2014).

2.2. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

El Cacao es una especie diploide ($2n = 20$ cromosomas). Puede alcanzar alturas hasta 20 m o más cuando crece libremente y presenta un ciclo vegetativo perenne. Es una especie alógama ya que se estima que su polinización cruzada está por encima del 95%. Crece y se desarrolla usualmente bajo sombra en los bosques tropicales húmedos de América del Sur. (Cevallos, 2015).

2.2.1. SISTEMA RADICAL

El crecimiento del tronco se inicia en el sistema radicular, en el que existe una zona de transición bien definida conocida como cuello de la raíz. En plantas reproducidas por

semillas, el sistema radicular está compuesto por una raíz principal, denominada raíz pivotante o raíz primaria, la cual crece hacia abajo de forma recta, se desarrollan las raíces secundarias a 15 – 20 cm de profundidad, que tienen un crecimiento hacia abajo en dirección a la roca madre o hacia la capa freática (Gómez, 2017).

2.2.2. TALLO

Naula (2016), indica que tiene un tipo de crecimiento lateral o plagiotrópico, el cual puede variar su ángulo de crecimiento. Se desarrolla en formas muy variadas, según las condiciones ambientales y de manejo.

2.2.3. HOJAS

Las hojas adultas del cacao son simples, enteras y con una distinta pigmentación, presentan pigmentación color verde, el mismo que varía desde verde pálido a café claro a veces con tonalidades rojizas de acuerdo a la edad de la planta. El tamaño varía mucho, con una alta respuesta al ambiente; con menos luz es más grande, con más luz, más pequeña. El peciolo de la hoja del tronco es largo (7 a 9 cm) con un pulvinus bien marcado (Kuja, 2015).

2.2.4. FLORACIÓN

Las flores del cacao son hermafroditas donde se desarrollan cojinetes florales, son de color rosado pentámeras es decir que están constituida de cinco sépalos, cinco pétalos, cinco estambres, cinco ovarios y cinco estaminodios que crecen en simetría radiada. Las flores tienen una viabilidad de hasta dos días; luego de lo cual, si no son fecundadas se caen (Mosquera, 2014).

2.2.5. FRUTO

De acuerdo a Enríquez (2004), los frutos son bayas indehiscentes, conocidas como mazorcas, las cuales se encuentran sostenidas por el pedúnculo no muy largo que se origina del crecimiento del pedicelo de la flor. Según el origen genético del cacao estos pueden variar de forma, espesor, rugosidad, color y tamaño. Presentan una exodermis o cascara gruesa muy resistente, cuando maduros la cascara se separa de la semilla que se va secando. Los frutos presentan una gama de colores que en estado inmaduro van de tonos verdes, rojizos y cafés; con surcos y lomos pigmentados, mientras que en estado maduro varían de amarillo a rojizos anaranjados. Las bayas tienen cinco lóculos y cada uno tiene dos partes formadas por dos lomos o un surco interno, lo que en algunos frutos es evidente y en otros casi ha desaparecido

2.2.6. SEMILLAS

Las semillas, o almendras son de tamaño variables cubiertas con un mucílago o pulpa de color blanco cremoso, de distintos sabores y aromas y grados de acidez, dulzura y astringencia. Al interior de la almendra están los cotiledones, que pueden ser de color morado, violeta, rosado o blanco. El tallo es glabro o parcialmente pubescente en ejes jóvenes. La corteza es oscura, gris-café (Holguín, 2018).

2.3. REQUERIMIENTOS AGROCLIMÁTICOS

A continuación, se describe los requerimientos Agroclimáticos de acuerdo con (INIFAP, 2013)

- ✓ **Altitud:** 0-1000 m. En regiones muy cercanas al Ecuador, el cacao es cultivado con éxito a mayor altitud.
- ✓ **Fotoperiodo:** Es una planta de día neutro
- ✓ **Radiación (Luz):** Requiere sombra, no tolera altas intensidades de luz.
- ✓ **Temperatura:** Rango 21-35°C, con un óptimo para crecimiento de 25.5°C.
- ✓ **Precipitación (agua):** El cacao requiere de precipitación anual no menor que 1,200 mm bien distribuidos durante el año.
- ✓ **Humedad relativa:** Prefiere una humedad relativa de 80-90%.

2.4. REQUERIMIENTOS EDÁFICOS

De acuerdo con INIFAP (2013), los requerimientos Edáficos son:

- ✓ **Profundidad de suelo:** Más de 60 ó 70 cm.
- ✓ **Textura:** Requiere suelos arcillosos o arcillo-arenosos.
- ✓ **Drenaje:** No tolera encharcamientos, por lo que requiere buen drenaje.
- ✓ **Exposición de terreno:** Los vientos fuertes y constantes pueden dañar severamente.
- ✓ **pH:** 5.5 -7.
- ✓ **Salinidad:** No tolera salinidad ni alcalinidad.

2.5. FERTILIZACIÓN

En un estudio realizado por Huachos (2015), la fertilización se debe trabajar de acuerdo a recomendaciones basadas según la fertilidad del suelo, clima, densidad de plantas y variedad. Se recomienda una fertilización en altos contenidos de nitrógeno y potasio, pero no así con el fósforo. Las aplicaciones deben de hacer fraccionadas, la mayor cantidad de veces posible, en la etapa de crecimiento.

2.6. REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES

Tabla 1. Requerimientos Nutricionales del cultivo de cacao

Estado de cultivo	Edad de la planta (meses)	Requerimiento Nutricional - Promedio en Kg/Ha						
		N	P	K	Ca	Mg	Mn	Zn
Vivero	05 - 12	2,4	0,6	2,4	2,3	1,1	0,04	0,01
Establecimiento	28	136	14	156	113	47	3,9	0,5
Inicio de producción	39	212	23	321	140	71	7,1	0,9
Plena Producción	50 - 87	438	48	633	373	129	6,1	1,5

Fuente: (Leiva, 2012)

2.7. BIOL

El Biol es un abono líquido, fuente de fitorreguladores resultado de la descomposición de los residuos animales y vegetales, en ausencia de oxígeno (anaeróbica), en mangas de plástico (biodigestores), actúa como bioestimulante orgánico en pequeñas cantidades y es capaz de promover el crecimiento y desarrollo de las plantas (Rendón, 2013). Según Puga (2017), los abonos líquidos, dan como resultado un fertilizante foliar que contiene fitohormonas. (Auxinas, Giberelinas y Citoquininas).

El Biol contiene bastante materia orgánica, en el caso del Biol de bovino podemos encontrar hasta 40.48% y en el de porcino 22.87%. El Biol agregado al suelo provee materia orgánica que resulta fundamental en la génesis y evolución de los suelos, constituye una reserva de nitrógeno y ayuda a su estructuración, particularmente la de textura fina. La cantidad y calidad de esta materia orgánica influirá en procesos físicos, químicos y biológicos del sistema, fortaleciendo de manera importante su fertilidad (Sistema Bio Bolsa, 2017). La aplicación del Biol según (Warnars y Oppenoorth, 2014) el Biol se puede aplicar:

1. como fertilizante foliar, pulverizado sobre los cultivos.
2. de forma líquida (diluido) en las raíces.
3. de forma seca o como compostaje

2.8. IMPORTANCIAS DEL BIOL

Montesinos (2013), manifiesta que los bioles provee capacidad para regenerar suelos y ayudar a los fertilizantes tradicionales como el N, P y K a ser absorbidos por la planta, evitando la evaporación y la lixiviación, ayuda al efecto enraizador en cacao y otros cultivos, mantiene la planta sana, acelera el crecimiento y desarrollo de la planta y mejora la producción y por ende la productividad de las cosechas

2.9. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL BIOL

Tabla 2. Composición química del Biol de estiércol

Componentes	%
Agua	15,7
Sustancias orgánicas secas	60,3
pH	7,6
Nitrógeno total	2,7
Fosforo	1,6
Potasio	2,8
Calcio	3,5
Magnesio	2,3
Sodio	0,3
Azufre	0,3
Boro (ppm)	64,0

Fuente: (Cedeño y Sabando, 2016)

2.10. ESTUDIOS SOBRE EL EFECTO DEL USO DE BIOL A BASE DE ESTIERCOL

Según Potesta (2018), evaluó el efecto del abono orgánico líquido bajo la técnica drench en las propiedades del suelo y la producción de cacao (*Theobroma cacao* L.) donde determino que la aplicación del fertilizante líquido orgánico bajo la técnica drench no mejoró las propiedades del suelo, con excepción de la materia orgánica, pero si, produjo un incremento significativo positivo en la producción del cultivo.

Según Cedeño y Sabando (2016), concluyo en la evaluación de tres frecuencias de aplicación de biol de bovino en el cultivo de pimiento (*Capsicum annum* L.) determinó una mejor repuesta en el uso de Biol de bovino, aplicado a una frecuencia de 21 días, para la variable rendimiento en kg/ha.

Guanopatín (2012), manifiesta en la investigación realizada sobre “Aplicación de Biol en el Cultivo establecido de Alfalfa” (*Medicago sativa*), que se obtuvo mejores resultados con respecto a la altura y con aplicaciones de 5 cc/l cada 15 días después del corte, superó en la mayoría de los parámetros tomados en cuenta como número de hojas, altura de planta, volumen.

2.11. MICROORGANISMOS EFICIENTES

Los microorganismos eficientes es un producto microbiano multipropósito, el cual contiene varios tipos de organismos vivos. Los microorganismos eficientes son una cultura mixta de microorganismos benéficos que pueden aplicarse como inoculante para incrementar la diversidad microbiana de los suelos y son capturados de sistemas naturales, los cuales no han sido sometidos a modificación genética y se relacionan de forma simbiótica coexistiendo entre sí, lo cual ha generado efectos positivos para un ambiente en equilibrio (Vera, 2016).

Según Toalombo (2012), indica que los microorganismos eficientes son una combinación de microorganismos beneficiosos de cuatro géneros principales: bacterias fototróficas, levaduras, bacterias productoras de ácido láctico y hongos de fermentación. Estos microorganismos efectivos, cuando entran en contacto con materia orgánica, secretan sustancias beneficiosas, como vitaminas, ácidos orgánicos, minerales quelatados y fundamentalmente sustancias antioxidantes.

2.11.1. TIPOS DE MICROORGANISMOS QUE CONFORMAN

Los microorganismos eficientes contienen un promedio de 80 especies de microorganismos de unos 10 géneros, que pertenecen básicamente a cuatro grupos según argumenta (Morocho y Mora 2019).

- ✓ Bacterias fotosintéticas
- ✓ Actinomycetos
- ✓ Bacterias productoras de ácido láctico
- ✓ Levaduras

2.11.2. IMPORTANCIA DE LOS MICROORGANISMOS EFICIENTES

Los microorganismos eficientes, como inoculante microbiano, reestablece el equilibrio microbiológico del suelo, mejorando sus condiciones fisicoquímicas, incrementando la producción de los cultivos y su protección; propiciando una agricultura sostenible, al permitir la conservación de los recursos naturales. Se reconoce que los microorganismos son más diversos y versátiles que los macroorganismos, debido a su historia evolutiva y a su rápida capacidad para adaptarse a los cambios ambientales. Entre los beneficios del uso de microorganismos en la agricultura están su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, la descomposición de residuos orgánicos, la desintoxicación con plaguicidas, la supresión de enfermedades en las plantas, el aporte de nutrientes al suelo y la producción de compuestos bioactivos como vitaminas y hormonas, que estimulan el crecimiento de las plantas. Esta mezcla biológica de microorganismos ha demostrado tener un poder regenerativo sobre la materia orgánica que puede ser empleada para múltiples aplicaciones (Vera, 2016).

2.12. MICROORGANISMOS DE MONTAÑA

Los microorganismos de tierra de montaña son una combinación de microorganismos que se encuentran en ecosistemas o entornos naturales, los mismos que pueden ser aplicados como inoculantes para ayudar a mejorar los suelos y el rendimiento de los cultivos. Estos microorganismos son capaces de descomponer la materia orgánica, a su vez compiten con los microorganismos dañinos. Reciclan los nutrientes para las plantas. Fijan el nitrógeno en el suelo. Degrada las sustancias tóxicas (pesticidas). Producen sustancias y componentes naturales que mejoran la textura del suelo (Moreno y Velarde 2016).

2.13. ESTUDIOS SOBRE EL EFECTO DEL USO DE MICROORGANISMOS DE MONTAÑA

Según Medina y Talavera (2014), concluyo en el efecto de dosis y aplicaciones edáficas y foliar de microorganismos de montaña con y sin sales minerales en el rendimiento del cacao determino una mejor respuesta en las variables número de flores y frutos por planta en el tratamiento de microorganismos de montaña sin sales.

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. LOCALIZACIÓN

La investigación se desarrolló en el Centro de investigación, Posgrado y Conservación Amazónica (CIPCA), que se halla situado en la Región Amazónica ecuatoriana, localizada en las provincias de Pastaza y Napo, en los cantones Santa Clara y Arosemena Tola; junto a la desembocadura de los ríos Piatúa y Anzu (Figura 1).

El experimento se realizó en el área del programa Agroforestal en el cultivo de cacao el mismo que tiene 7 años de establecido.

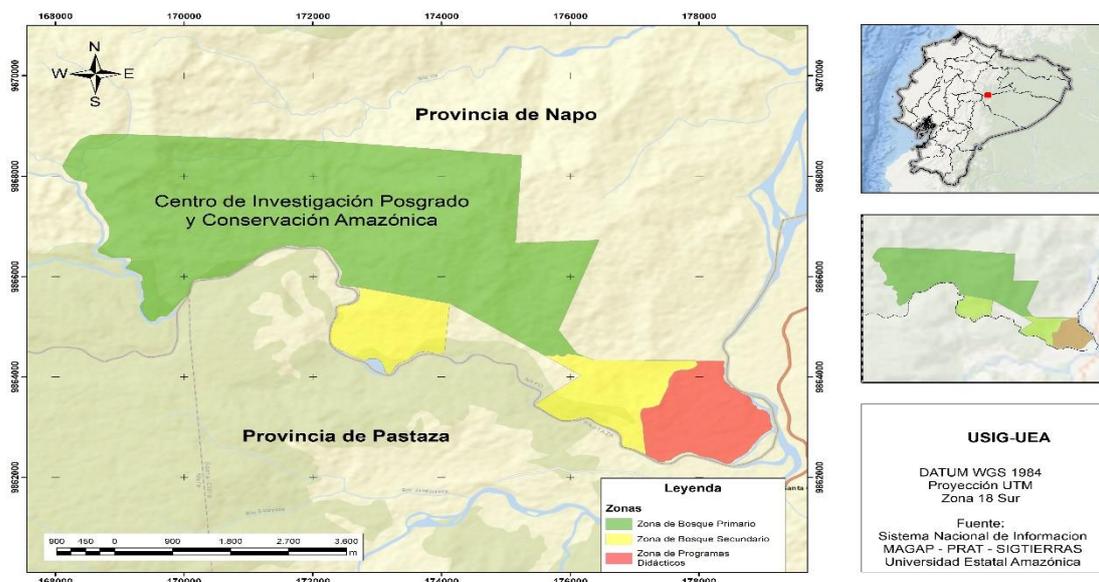


Figura 1. Ubicación de Centro de Investigación, Posgrado y Conservación Amazónica
Fuente: (SIG-UEA, 2017)

3.1.1. CONDICIONES METEOROLÓGICAS

El CIPCA presenta una altitud que oscila entre 443 msnm y 1 137 msnm. La temperatura promedio es de 24/ °C, con clima Tropical húmedo y precipitación anual entre 3 654,5 a 5 516 mm. Comprende 2 840,28 ha, con un 70% de bosque maduro, con vegetación característica de los bosques húmedos lluviosos tropicales (SIG-UEA, 2017).

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El proyecto de investigación es experimental y aplicada, para la obtención de datos e información en el cual se diseñaron cuatro tratamientos.

3.3. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

Para el proyecto de investigación se implementó un diseño de bloques al azar en un área total de 2 436 m² distribuidos en cuatro tratamientos con cuatro replicas (Tratamiento 1: Biol 1 Estiércol, Tratamiento 2: Biol 2 Microorganismos, Tratamiento 3: NPK Y Tratamiento 4: Control) cada parcela comprende de 10,5 m² x 14,5 m² con 20 árboles de cacao cada subparcela, con un total de 320 plantas con un marco de siembra de 3,5 m² x 3,5 m² de los cuales se escogió 4 árboles, sin tomar en cuenta a los que se encuentran en los bordes, y saltándonos un árbol por parcela.

3.3.1. CUANTIFICACION DE LAS COMUNIDADES DE BACTERIAS Y HONGOS EN LOS BIOLES ELABORADOS A BASE ESTIÉRCOL Y MICROORGANISMOS DE MONTAÑA.

3.3.1.1. PROCESO DE FABRICACION DE BIOLES

Se elaboraron 2 tipos de bioles a base de estiércol de bovino y microorganismos de montaña a partir del empleo de diferentes fuentes y combinaciones de materias primas.

3.3.1.1.1. ELABORACIÓN DE BIOL A BASE DE ESTIÉRCOL DE BOVINO

La elaboración del Biol se desarrolló acorde con las indicaciones tomadas de Puga. (2017).

Materiales:

Se elaboró el Biol en un tanque de capacidad de 200 L, el tiempo de fermentación fue de 45 días.

- ✓ Un tanque plástico con tapa (200 litros).
- ✓ Un balde
- ✓ Manguera (40cm)
- ✓ Una botella transparente con agua
- ✓ 50 kilos de estiércol fresco de ganado vacuno, (sexta parte del tanque)
- ✓ 6 litro de leche
- ✓ 15 libras de maní forrajero
- ✓ 15 libras de alfalfa

- ✓ 10 libras de plátano maduro
- ✓ 6 litros de melaza
- ✓ 300 gramos de levadura
- ✓ 4 libras roca fosfórica

Procedimiento para la elaboración del Biol de estiércol

- ✓ Se ubicó el tanque bajo sombra y alejado de la vivienda.
- ✓ Se añadieron todos los ingredientes (maní forrajero, alfalfa, levadura, roca fosfórica y plátano maduro) y se revolvió intensamente hasta obtener una mezcla homogénea.
- ✓ Se añadió sobre la mezcla de los materiales el estiércol fresco, el agua, la melaza y la leche y se revolvió.
- ✓ Se completó con agua hasta aproximadamente 20 centímetros bajo el nivel superior del tanque, se selló herméticamente el tanque y se colocó una manguera que vaya un extremo en el espacio vacío del tanque y el otro en la botella transparente con agua, se dejó la mezcla en fermentación entre 30 a 45 días, hasta que no se observen burbujas en la botella con agua.
- ✓ Luego del proceso de fermentación, el preparado se revolvió intensamente y luego se cernió con una tela o lienzo.

Aplicación

Se procedió a realizar la aplicación cada 15 días con dosis recomendadas según la propuesta por (Puga, 2017) que a nivel de viveros plantea en dosis de 1 litro de Biol + 19 litros de agua (5%), en frecuencias quincenales, mientras que en plantaciones recomienda aplicar 6 litros de Biol + 14 litros de agua (30 %), con una periodicidad de 30 días.

3.3.1.1.2. PREPARACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS DE MONTAÑA

El procedimiento de la captura y preparación de microorganismos de montaña se desarrolló acorde con las indicaciones tomadas de (JICA, 1998).

Reproducción de microorganismos de montaña en medio sólido (mms)

Materiales:

- ✓ 35 kg de Microorganismos de Montaña (MM)
- ✓ 19.5 kg de polvillo de arroz. (pulimento), harina de maíz o sorgo.

- ✓ 3.5 litros de melaza
- ✓ 1 tanque plástico de 60 litros de capacidad, con tapadera y cincho metálico
- ✓ 1 litro de leche
- ✓ 1 pala
- ✓ 1 regadera
- ✓ 1 mazo de madera

Procedimiento para la elaboración del Biol de microorganismos de montaña

La primera etapa consistió en la reproducción de los microorganismos de montaña en medio solido (mms) para ello, se realizó una recolecta de hojas y suelo superficial (mantillo de bosque) proveniente del sector las antenas vía a la comunidad San Francisco de Punin cantón Santa Clara en la provincia de Pastaza, Ecuador. Los microorganismos de montaña se mezclaron con los siguientes materiales que se muestra a continuación:

- ✓ Se procedió con la limpieza y desmenuzando del material, eliminando piedras y palos gruesos se utilizó un mazo de manera manual.
- ✓ Se agregaron 35 kg de polvillo de arroz a los microorganismos de montaña, mezclando con una pala hasta tener una masa uniforme.
- ✓ En un balde plástico con capacidad de 20 L se diluyó 3,5 L de melaza en 10 L de agua sin cloro.
- ✓ Con la melaza diluida en agua se humedeció la mezcla de hojarasca y polvillo de arroz, hasta que se logró una consistencia uniforme y se comprobó la humedad con la “prueba de puño”, de tal manera que se formara el puño con el material sin que escurriera agua
- ✓ Se colocó la mezcla dentro del tanque, haciendo capas de 15 cm y compactando con un mazo de madera para no dejar espacios aireados hasta llenar el tanque.
- ✓ Finalmente, se procedió a sellar el tanque con aro metálico. La mezcla se dejó en reposo por 15 a 20 días, en un lugar fresco y sombreado para favorecer su reproducción y para su utilización.

Activación de microorganismos de montaña en medio líquido (ml)

Materiales

Una vez pasado los 30 días necesarios se elaboró la activación de microorganismos de montaña en medio líquido (MI) en un tanque de capacidad de 200 litros utilizando los siguientes materiales:

- ✓ 5 kg de microorganismos sólidos
- ✓ 5 litros de melaza
- ✓ 180 litros de agua sin cloro
- ✓ 1 tanque plástico de 200 litros de capacidad, con tapadera y cincho metálico.
- ✓ 1 saco de manta o sintético
- ✓ balanza
- ✓ manila

Procedimiento

La segunda etapa consistió en la reproducción de los microorganismos de montaña de medio solido a medio líquido.

- ✓ Se mezcló en el tanque 150 L de agua sin cloro, 5 L de melaza y se removió con una paleta de madera; Se agregó 5 kg de microorganismos sólidos (mms) contenidos dentro de una tela o manta, sumergiéndolos en el tanque como si fuera bolsita de té.
- ✓ Se completó el tanque con agua hasta su llenado.
- ✓ Finalmente, se cerró y se selló el tanque, dejándolo en reposo y protegido de la luz, sol y lluvia durante 15 días.

Aplicación

La aplicación se procedió a realizar con la misma metodología del Biol de estiércol enunciado en el punto anterior.

3.3.2. CUANTIFICACIÓN DE COMUNIDADES DE BACTERIAS Y HONGO EN DOS TIPOS DE BIOL

Mediante la metodología propuesta por Cruz (2019), se cuantificaron las comunidades de bacterias y hongos totales de cada muestra de los dos tipos de Biol a base de estiércol y microorganismos de montaña objeto de estudio. Para ello se dispuso de medios de cultivos generales para bacterias (Agar Nutritivo-NA) y para hongos (Agar Rosa Bengala-ARB). La elaboración de los medios de cultivos se realizó siguiendo las instrucciones del manual del fabricante (28 g L⁻¹ para NA y 33.7 g L⁻¹ para ARB). Ambos medios fueron autoclavados a 121 °C y 200 ATM durante 15 min.

Se implementó el método del Numero Más Probable (NMP) y diluciones cuantitativas y siembra en cajas de Petri para la cuantificación de las comunidades microbianas. Esto consistió en la realización de diluciones cuantitativas de 1 ml de Biol de las muestras en agua

peptonada estéril desde 10^{-1} hasta 10^{-6} . Al primer tubo de ensayo se le adiciono 1 ml de Biol de las muestras, esto constituyo la muestra inicial para la realización de las diluciones cuantitativas (Figura 2).

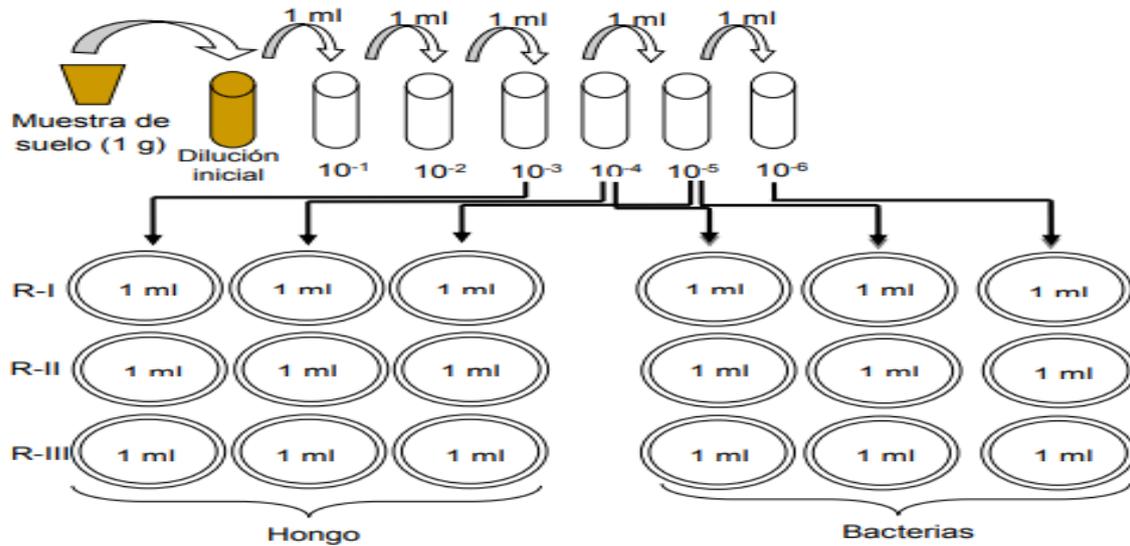


Figura 2. Metodología de la cuantificación microbiana basada en el número más probable de microorganismos, mediante las diluciones cuantitativas y la siembra en cajas Petri.

Diluciones Cuantitativas

Las diluciones que se emplearon para la determinación de bacterias fueron 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} , mientras que para hongos se sembraron de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} , considerándose estas como un estándar para la determinación de las unidades formadoras de colonias por gramo de suelo (UFC g suelo⁻¹) para cada grupo microbiano. La siembra consistió en tomar de cada dilución 1 mL de la dilución en cuestión, se depositó uniformemente en cajas de Petri y posteriormente se adiciono el medio de cultivo respectivo para bacterias u hongos en una relación de 20 mL por caja aproximadamente. Depositado el medio de cultivo y se realizó movimientos en dirección a los 4 cuadrantes con la finalidad de conseguir un crecimiento homogéneo puntiforme de las colonias. Para la siembra se tomó 3 réplicas por cada dilución. Inoculadas las cajas de Petri con cada dilución, se incubo a 30 °C para bacterias y 28 °C para hongos durante 72 horas para la cuantificación de la UFC g suelo⁻¹.

Para tener variabilidad en los resultados se recolecto dos muestras por cada Biol elaborado a base de estiércol y microorganismo de montaña, de las cuales se realizaron las diluciones por cada una de las muestras para la determinación de bacterias y hongos como indica en la Tabla 3.

Tabla 3. Diluciones que se emplearon para la determinación de bacterias y hongos por cada muestra de Biol de estiércol y microorganismos de montaña.

Bioles elaborados	Diluciones (Bacterias)	Diluciones (Hongos)
Biol 1 estiércol muestra 1	$10^4 - 10^5 - 10^6$	$10^3 - 10^4 - 10^5$
Biol 1 estiércol muestra 2	$10^4 - 10^5 - 10^6$	$10^3 - 10^4 - 10^5$
Biol 2 microorganismos de montaña muestra 1	$10^4 - 10^5 - 10^6$	$10^3 - 10^4 - 10^5$
Biol 2 microorganismos de montaña muestra 2	$10^4 - 10^5 - 10^6$	$10^3 - 10^4 - 10^5$

La cuantificación de las colonias (UFC), tanto para bacterias como hongos en los bioles se realizó a 24 horas, 48 horas, 72 horas y 7 días mediante la siguiente formula:

$$(1) \text{ (UFC g suelo}^{-1}\text{)} = \left(\frac{\sum N^{\circ} C p^c}{N^{\circ} C} \right) * FD$$

Donde:

$\sum N^{\circ} C p^c$: Sumatoria del número de colonias por cada caja de Petri

$N^{\circ} C$: número de cajas de Petri

v: Volumen inoculado en la caja de Petri

F.D: Factor de dilución

UFC totales para bacterias y hongos: Se implementó el método del Numero Más Probable (NMP) por cada muestra recolectada, en los cuatro tiempos evaluados para obtener la sumatorio total de las cuatro muestras y obtener un promedio de UFC general de bacterias y hongos de los dos bioles elaborados a base de estiércol y de microorganismos de montaña.

3.3.3. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES QUÍMICAS DE LOS BIOLES A BASE ESTIÉRCOL Y MICROORGANISMOS DE MONTAÑA

Para el evaluar los parámetros químicos se recolectaron dos muestras de los dos tipos de Biol a base de estiércol y microorganismos de montaña de 150 mL, cada una de las cuales fue realizado para conocer la concentración de macroelementos y microelementos. Estos análisis se realizaron a cabo en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Ecuador (INIAP) de Quevedo en la que se realizó el respectivo análisis de macronutrientes

(Nitrógeno, Potasio, fosforo, Calcio, Magnesio, Azufre) y micronutrientes (Boro, Zinc, Cobre, Hierro, Manganeso). El análisis de los bioles se realizó según los métodos que se señalan en la Tabla 4.

Tabla 4. Métodos utilizados para los análisis de bioles de estiércol y microorganismo de montaña realizados en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Ecuador (INIAP) de Quevedo.

Determinación	Método
Nitrógeno	Método de Micro-Kjedahl.
Potasio, Fosforo, Calcio, Magnesio, Azufre; Zinc, Cobre, Hierro, Manganeso	Las determinaciones se le obtuvieron de la digestión húmeda usando Ácidos clorhídrico y Perclórico.
Potasio, Calcio, Magnesio, Zinc, Cobre, Hierro, Manganeso	Se cuantificaron en absorción atómica.
Fosforo y Azufre	La caracterización se realizó por Colorimetría.
Boro	Para la determinación se realizó mediante calcinación en mufla y su cuantificación por colorimetría.

3.3.4. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE BIOLES SOBRE EL RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE CACAO SEGÚN SUS VARIABLES MORFOLÓGICAS Y DE PRODUCCIÓN

Para dar cumplimiento a este objetivo se seleccionó 64 árboles y se escogió 4 ramas por árbol de características similares, distribuidas en los 4 puntos cardinales de la planta. Se realizó el respectivo etiquetado de los árboles y se evaluó cada 15 días las variables morfológicas según lo indica (Chillo, 2019).

El proyecto de investigación duró 4 meses. Para cada tratamiento se realizaron 4 réplicas (Tratamiento 1: Biol 1 Estiércol, Tratamiento 2: Biol 2 Microorganismos, Tratamiento 3: NPK Y Tratamiento 4: Control): Las dosificaciones de los bioles fue de 6 litros de Biol + 14 litros de agua (30%) con una frecuencia de 15 días como referencia según la metodología tomada de Puga (2017), el Tratamiento 3 NPK se aplicó con una formula 20-20-20 en una dosis de 50g por planta mensualmente según la metodología (Rúales et al., 2011).

Biol (Estiércol) T1R1	Biol (Microorganismos) T2R1	NPK T3R1	Control T1R1
Biol (Microorganismos) T2R2	Biol (Estiércol) T1R2	Control T4R2	NPK T3R2
NPK T3R3	Control T4R3	Biol (Estiércol) T1R3	Biol (Microorganismos) T2R3
Control T4R4	NPK T3R4	Biol (Microorganismos) T2R4	Biol (Estiércol) T1R4

Figura 3. Diseño de bloques al azar para el ensayo de investigación en el cultivo de cacao, CIPCA

- 1. Longitud de la rama (cm):** Se midió desde la superficie de la rama principal hasta el final con cinta métrica de 4 ramas previamente escogidas por planta.
- 2. Número de ramas laterales:** Se realizó el conteo de todas las ramas secundarias de 4 ramas previamente escogidas por planta.
- 3. Diámetro del tallo (cm):** Las medidas se realizó 20 centímetro desde la base de la rama para esta medida se utilizó el pie de rey (calibrador) de 4 ramas previamente escogidas por planta.
- 4. Numero de hojas:** Se realizó el conteo de todas las hojas de las 4 ramas previamente escogidas por planta
- 5. Número de cojinetes florales:** Mediante observaciones visuales en cada parcela experimental se contabilizaron la cantidad de cojines flores de las 4 ramas previamente escogidas por planta
- 6. Número de frutos:** Se evaluó en las cuatro plantas al azar por parcela dentro del área útil, contando el número de frutos sanos por planta.

3.4. PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO DE DATOS.

Los datos del experimento serán procesados en el programa estadístico SPSS ver 22. El efecto de la aplicación de bioles sobre el rendimiento del cultivo de cacao según sus variables morfológicas y de producción fue analizado mediante el análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de Tukey para estimar las diferencias significativas entre los tratamientos.

CAPÍTULO IV.

4. RESULTADOS ESPERADOS

Los resultados obtenidos en la presente investigación se detallan a continuación:

4.1. CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS Y HONGOS PRESENTES EN BIOLES

4.1.2. POBLACIÓN DE BACTERIAS

En la Figura 4, se representa la cinética de crecimiento de las bacterias en diferentes tiempos (24 h, 48 h, 72 h y 7 días). A las 24 horas desde la siembra, se puede identificar que ya existe crecimiento bacteriano en los dos bioles, pero no hay diferencias estadísticas entre las dos muestras. Las comunidades bacterianas del Biol 1, logran adaptarse mejor que en el Biol 2, obteniendo un incremento significativo en el número de UFC para las 48 h y 72 h, existiendo diferencias estadísticas entre los dos bioles. Finalmente, a los 7 días se reporta en los dos bioles diferencia estadística, se percibe un crecimiento lento poblacional en el Biol 1 a base de estiércol con un promedio de $3,7E+06$ UFC de bacterias a comparación del Biol 2 a base de microorganismos de montaña su incremento poblacional fue menor obteniendo un resultado final de $2,9E+05$ UFC de bacterias.

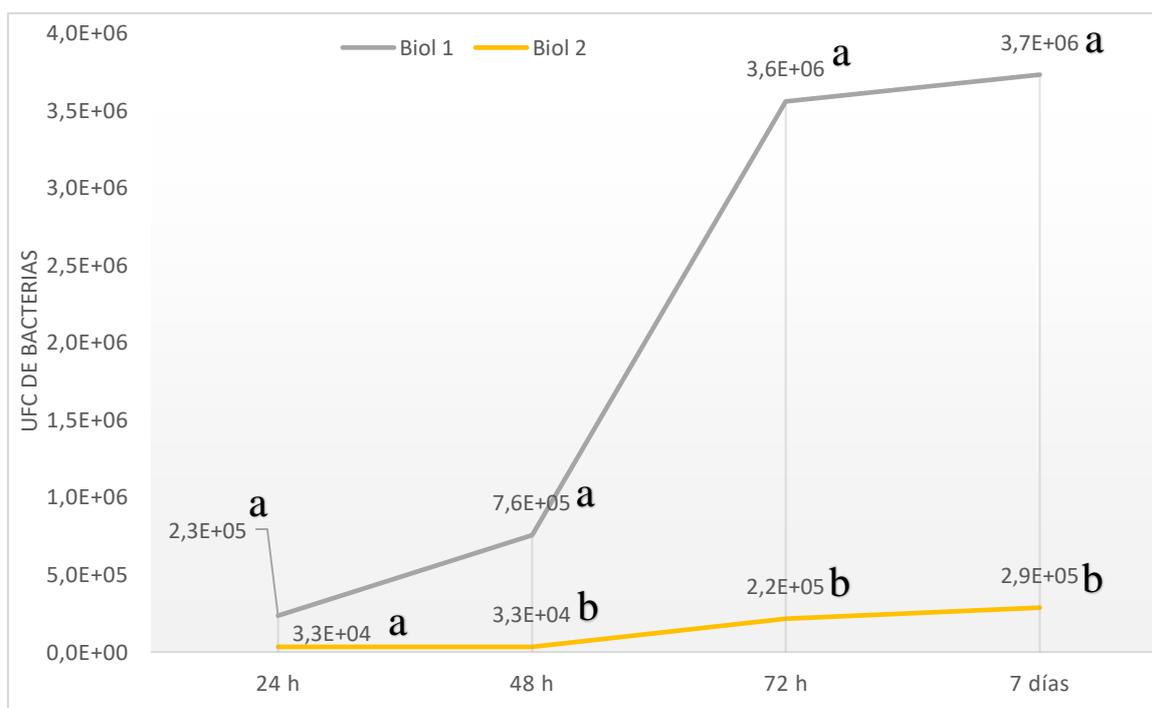


Figura 4. Cinética de crecimiento de unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias en los bioles a las 24, 48, 72 horas y 7 días

4.1.3. COMPARACIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE BACTERIAS TOTALES

La comparación de las UFC de bacterias en los dos bioles se presenta en la Figura 5. El Biol 1 presentó la mayor población bacteriana durante todo el proceso presentando mejor respuesta y existiendo diferencias estadísticas, aunque en el Biol 2 hay un lento incremento de las UFC de bacterias totales. Según Kuzyakov y Blagodatskaya (2015), resalta que las bacterias tienden a formar agregados en los ambientes donde habitan y forman lo que se ha referido como “Hotspots microbianos”. Estos Hotspots son zonas en las cuales la actividad microbiana es más rápida e intensa comparada con las condiciones promedio de los suelos. Al relacionar estos resultados a nuestro proyecto de investigación, se deduce que en el Biol 1 de estiércol se crean “Hotspots bacterianos” que aceleran la actividad de las colonias, proporcionando un elevado número de UFC en comparación con aquellas derivadas del Biol 2 de microorganismos de montaña.

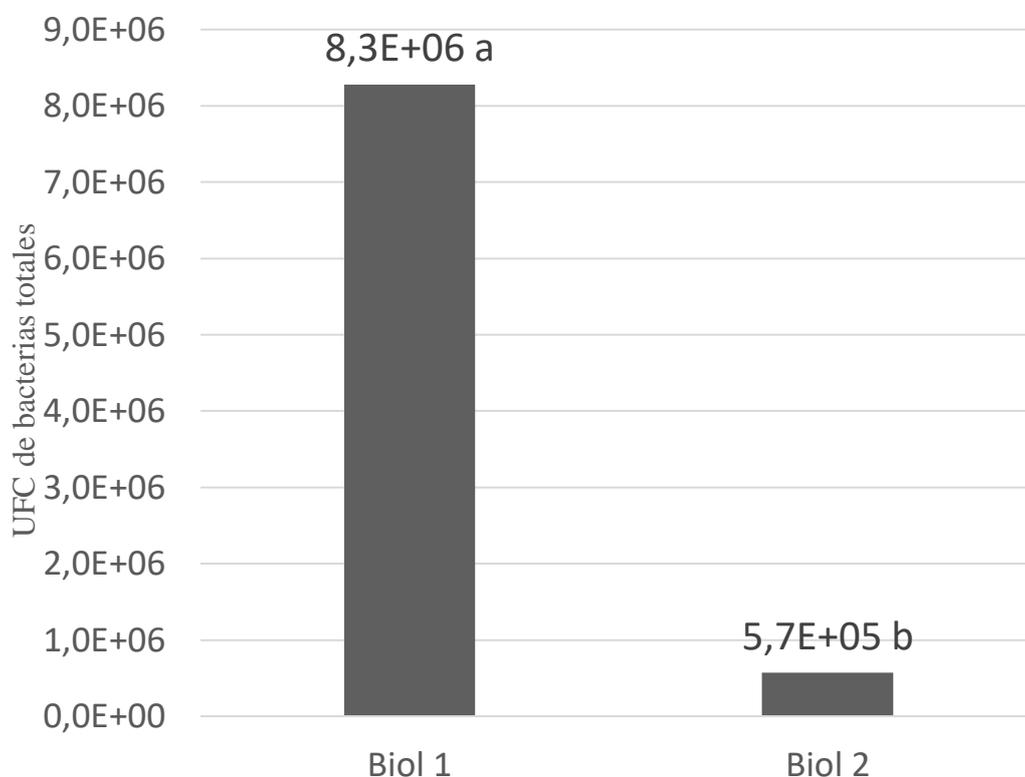


Figura 5. Comparación de unidades formadoras de colonias (UFC) del Biol 1 a base de estiércol y Biol 2 a base de microorganismos de montaña en el cultivo de cacao

4.1.4. POBLACIÓN DE HONGOS

En relación al comportamiento de la población de hongos (UFC) en dos tipos de Biol respectivamente elaborados a base de estiércol (Biol 1) y microorganismos de montaña (Biol 2) en los diferentes tiempos evaluados, donde se demuestra que hay crecimiento lento de la población de hongos el cual va en aumento en el tiempo Figura (6).

En las 24h y 72h horas no existen diferencias estadísticas en las dos muestras de bioles, mientras que a las 48 h y 7 días el Biol 2, presentó mayor población de hongos versus al Biol 1, existiendo diferencias significativas entre los dos bioles estudiados. A los 7 días, el Biol 2 fue el que presentó el mayor incremento poblacional con un promedio de $5,4E+06$ UFC a comparación del Biol 1, que obtuvo $2,4E+06$ UFC existiendo diferencias significativas entre los dos bioles.

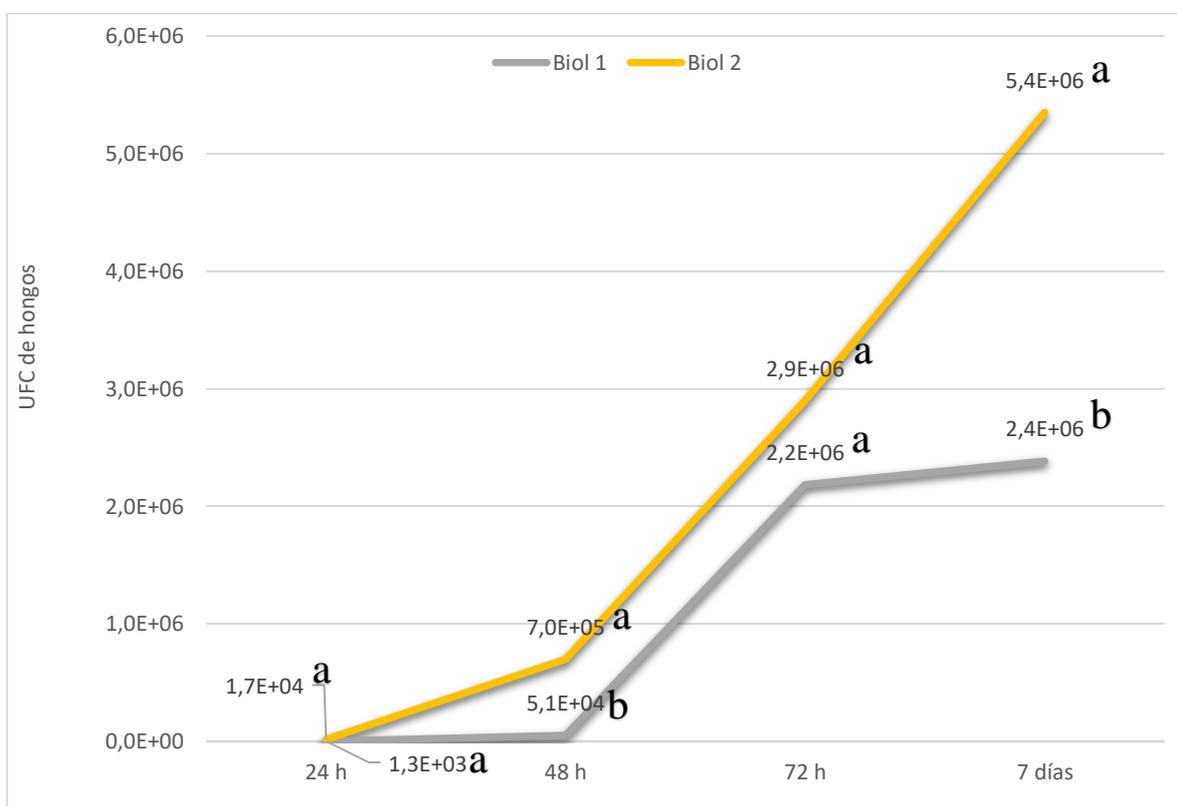


Figura 6. Cinética de crecimiento de unidades formadoras de colonias (UFC) de hongos en los bioles a las 24, 48, 72 horas y 7 días en el cultivo de cacao

4.1.5. COMPARACIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE HONGOS

La comparación de las UFC de hongos para los dos tratamientos de bioles en la (Figura 7). Se pudo determinar que las muestras Biol 1 y Biol 2, no hubo diferencias estadísticas entre los bioles, aunque en la muestra de Biol 2 de microorganismos de montaña hay un incremento de las UFC de hongos con un resultado de $9,0E+06$ UFC en comparación con el Biol 1 que muestra una población inferior de $4,6E+06$ UFC de hongos. Este hecho pudo haberse debido a que lo microorganismos de montaña son microorganismos que viven y se encuentran en (suelo de montañas, bosques, lugares sombreados) sitios donde no se han utilizado agroquímicos. Según Araya (2010), manifiesta que este comportamiento podría deberse a la presencia de alguna cepa de hongo con la capacidad de adaptarse a estas condiciones o también por los insumos utilizados en el proceso de elaboración de Biol de microorganismos de montaña.

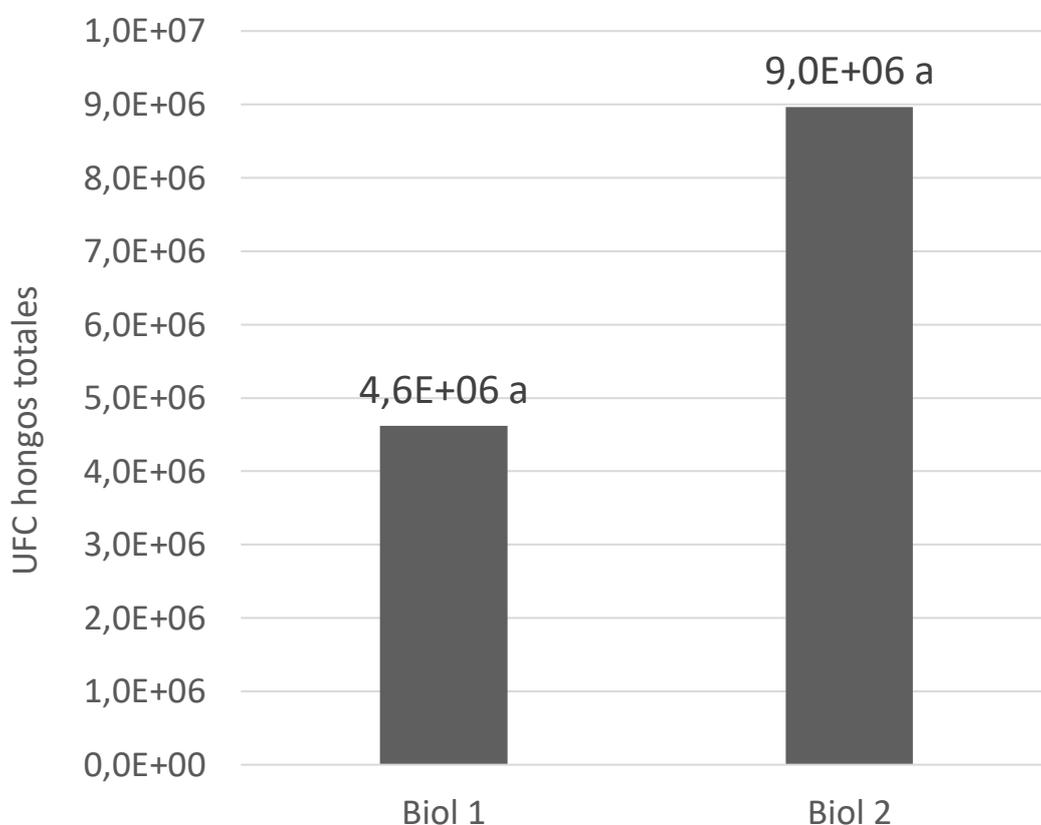


Figura 7. Comparación de unidades formadoras de colonias (UFC) del Biol con estiércol y Biol con microorganismos de montaña en el cultivo de cacao

4.1.6. COMPARACIÓN DE COMUNIDAD MICROBIANAS EN LOS DIFERENTES BIOLES

La comparación de comunidades microbianas se muestra UFC totales entre los dos bioles, se demuestra que en hongos no hay diferencias significativas, pero las UFC de hongos se ven incrementadas significativamente en el Biol 2 de microorganismos de montaña con $8.97E+06$ UFC respecto al Biol 1 (Figura 8)

Al analizar las comunidades bacterianas totales en el Biol 1 a base de estiércol se pone de manifiesto un elevado incremento de $8.28E+08$ UFC a diferencia del Biol 2 a base de microorganismos que su crecimiento fue lento de $5.70E+05$ UFC de bacterias existiendo diferencias estadísticas entre ambos bioles.

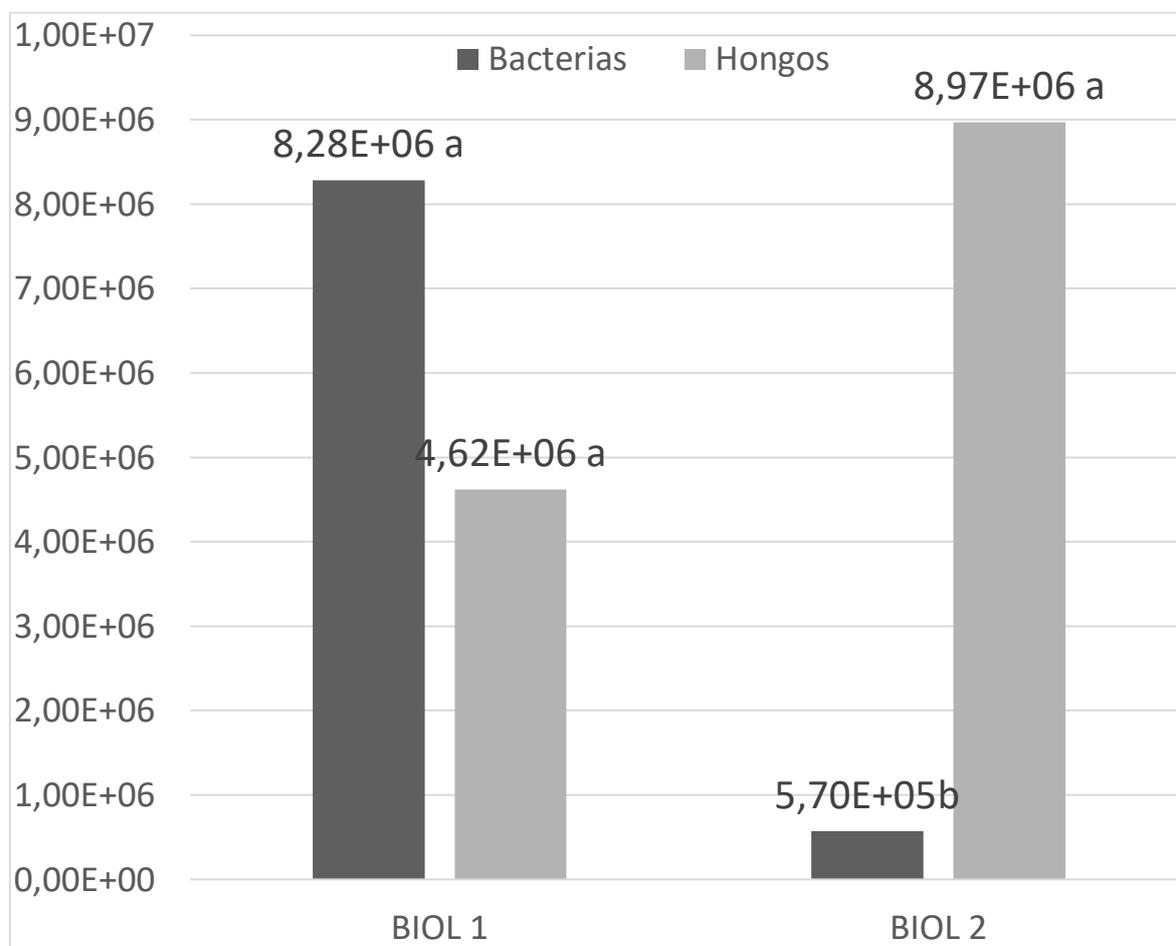


Figura 8. Comparación de unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias y hongos totales en los diferentes bioles de estiércol y microorganismos de montaña

4.2. DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES QUÍMICAS DE LOS BIOLES ELABORADOS CON ESTIÉRCOL Y MICROORGANISMOS DE MONTAÑA

En relación a la composición química de macroelementos de dos tipos de bioles elaborados a base de estiércol y microorganismos de montaña llevado a cabo en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Ecuador (INIAP) de Quevedo en donde se puede determinar que el Biol 1 de estiércol obtuvo un mejor porcentaje en los macroelementos como Potasio (0,7), Calcio (0,54) y Magnesio (0,09) mientras que en el Biol 2 microorganismos de montaña poseen mejores porcentajes en Nitrógeno (0,5) y Azufre (0,21) y en el Fosforo el porcentaje fueron resultados similares. (Tabla 5).

Tabla 5. Composición química de macroelementos presentes en bioles de estiércol y microorganismos de montaña

Identificación de las muestras	Concentración %					
	Nitrógeno	Fosforo	Potasio	Calcio	Magnesio	Azufre
Biol 1 estiércol	0,1	0,03	0,7	0,54	0,09	0,16
Biol 2 microorganismo de montaña	0,5	0,03	0,59	0,47	0,07	0,21

Estos resultados difieren con los obtenidos por Puga (2017), quien realizó un estudio en el proceso de elaboración y utilización del abono orgánico (Biol) en el cultivo de cacao donde obtuvieron valores diferentes en el análisis químico donde sus resultados obteniendo fueron elevados (Nitrógeno 2.7, Fosforo 1.6, Potasio 2.8, Calcio 3.5 y Azufre 0.3), como se observa los porcentajes fueron superiores a comparación del Biol 1 de estiércol y Biol 2 de microorganismos de montaña elaborado en el presente proyecto de investigación esto se podría atribuir a los diferentes ingredientes de cada Biol.

Según Solano et al., (2009), manifiesta que al inicio de la fermentación el Nitrógeno se encuentra en cantidades mayores y después de la fermentación disminuye por que los microorganismos consumen el Nitrógeno para su reproducción y sintetizar proteínas, por lo tanto, los niveles de Nitrógeno y Fósforo en los bioles son muy similares a excepción del Potasio donde tuvo diferentes porcentajes en cada Biol, como se observa en el Biol 1 de estiércol, supera al Biol 2 de microorganismo. La variación probable de N, P y K en cada

Biol pudo ser influenciados por los tiempos de descomposición y materiales utilizados para la realización del Biol.

Tabla 6. Composición química de microelementos presentes en bioles de estiércol y microorganismos de montaña

Identificación de las muestras	Ppm				
	Boro	Zinc	Cobre	Hierro	Manganeso
Biol 1 estiércol	3	12	6	70	78
Biol 2 microorganismo de montaña	2	4	2	33	4

En cuanto a los resultados de la composición de microelementos se observa Tabla 6, la diferencia química de microelementos realizados en el Biol 1 de estiércol y el Biol 2 de microorganismos de montaña donde se puede determinar que el Biol 1 de estiércol obtuvo valores altos en Boro (3), Zinc (12), Cobre (6), Hierro (70) y Manganeso (78) a comparación del Biol 2 de microorganismos de montaña que consiguió resultados menores.

Según Guanopatin (2012), que realizo una investigación sobre la aplicación de Biol en el cultivo establecido de alfalfa los resultados fueron mayores (Cobre 78,0, Manganeso 89,0 y Zinc 36,7) a los alcanzados en el presente trabajo de investigación, estos resultados son diferentes por los materiales utilizados en el los bioles (estiércol vacuno, alfalfa picada, agua necesaria, melaza).

4.3. DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE BIOLES SOBRE EL RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE CACAO SEGÚN SUS VARIABLES MORFOLÓGICAS Y DE PRODUCCIÓN.

Los resultados obtenidos en el análisis del efecto de la aplicación de bioles en la variable morfológica longitud de la rama (cm) Tabla 7, muestra que durante la primera evaluación (15 días) para los cuatro tratamientos no existe diferencias significativas y presenta valores similares, Biol 1 de estiércol 82,38cm, seguido del tratamiento Biol 2 de microorganismos de montaña con un promedio de 85,97cm, NPK con 72,09 y por último el tratamiento 4 control con una media de 85,75 cm se debe considerar que el tiempo que se tomó para medir el resultado es corto para obtener un efecto inicial considerable ya que un producto orgánico de este tipo se observa resultados en tiempo prolongado.

Durante el periodo de 30 a 60 días el comportamiento de longitud de la rama es normal para los 4 tratamientos donde no existen diferencias estadísticas. En la quinta evaluación (75 días) el comportamiento de longitud de la rama demuestra un incremento mayor el tratamiento 1 (Biol 1 estiércol) a diferencias de los demás tratamientos, pero no presenta diferencias estadísticas. Según Sajami (2013), que manifiesta que los abonos orgánicos, primero activan y luego aumentan la cantidad de microorganismos benéficos del suelo para después mejorar las condiciones nutricionales del suelo, facilitando la absorción de los nutrientes (minerales, vitaminas, aminoácidos, ácidos orgánicos, etc.) y producir efectos positivos en la multiplicación celular de las plantas.

Tabla 7. Análisis del efecto de la aplicación de bioles en cacao para la variable morfológica longitud de la rama (cm) en las cinco evaluaciones a los 15, 30, 45, 60, y 75

Tratamientos	días				
	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días
Biol 1	82,38 a	84,65 a	84,80 a	85,59 a	88,49 a
Biol 2	85,97 a	86,81 a	88,12 a	88,44 a	91,44 a
NPK	72,09 a	72,51 a	74,45 a	74,82 a	77,74 a
Control	82,75 a	85,05 a	85,67 a	85,79 a	86,80 a

En relación a la variable diámetro del tallo (cm) en las cinco evaluaciones en el cultivo de cacao donde a los 15 días no presenta diferencias significativas para los 4 tratamientos estudiados donde el Biol 1 de estiércol obtiene una media inicial de 1,56cm seguido del tratamiento control con un promedio de 1,49cm, el tratamiento NPK con 1,45cm y por último el tratamiento Biol 2 de microorganismos de montaña con un promedio inicial de 1,36cm (Tabla 8).

Durante los 30 días a 60 días se percibe un incremento lento y uniforme del diámetro del tallo y no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos para este periodo de tiempo; sin embargo, a los 75 días mostraron mayor grosor del diámetro del tallo, el Tratamiento 1 (Biol 1 con estiércol) con un grosor de 1,85cm seguido por los Tratamientos 3 y Tratamientos 4 que no presenta una diferencia en los resultados con 1,61cm y 1,64cm respectivamente el Tratamiento con menor crecimiento fue el Tratamiento 2 (Biol 2 con microorganismo de montaña) con una mínima diferencia del 1,58cm de diámetro del tallo del cultivo pero no presentan diferencias significativas para el efecto de los tratamientos.

Tabla 8. Análisis del efecto de la aplicación de bioles en cacao para la variable morfológica diámetro del tallo (cm) en las cinco evaluaciones a los 15, 30, 45, 60, y 75 días

Tratamientos	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días
Biol 1	1,56 a	1,62 a	1,67 a	1,68 a	1,85 a
Biol 2	1,36 a	1,41 a	1,52 a	1,55 a	1,58 a
NPK	1,45 a	1,50 a	1,56 a	1,59 a	1,61 a
Control	1,49 a	1,53 a	1,55 a	1,63 a	1,64 a

En cuanto a los resultados, del análisis del efecto de la aplicación de bioles en la variable morfológica número de hojas en el cultivo de cacao (*T. cacao*) obteniendo los siguientes resultados en el análisis de varianza no reportó diferencias estadísticas. En el periodo de 15 días hasta los 75 días se percibe un crecimiento con formación de hojas verdaderas para los tratamientos estudiados; El Tratamiento con mayor número de hojas fue el Tratamiento 3 (NPK) con un promedio de 46,56 seguido por los tratamientos T1 y T2 que alcanzaron promedios similares máximo de hojas de 51,38 y 46,59 y el Tratamiento con menor

crecimientos fue el Tratamiento 4 (Control) con una mínima diferencia con un promedio de hoja de 44.88 en las cinco evaluaciones no presenta diferencia estadística según la prueba de Tukey en los cuatro tratamientos (Tabla 9).

Tabla 9. Análisis del efecto de la aplicación de bioles en cacao para la variable morfológica número de hojas en las cinco evaluaciones a los 15, 30, 45, 60, y 75 días

Tratamientos	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días
Biol 1	44,39 a	45,20 a	46,69 a	49,68 a	51,38 a
Biol 2	41,34 a	42,20 a	43,48 a	45,44 a	46,59 a
NPK	38,48 a	40,30 a	41,95 a	44,47 a	46,56 a
Control	42,88 a	43,91 a	44,33 a	44,45 a	44,88 a

Los resultados obtenidos en cuanto a la variable número de ramas laterales muestra que en los cuatro tratamientos T1 T2, T3, T4, obtuvieron resultados similares, el Tratamiento con mejor incremento de ramas laterales durante los 75 días de evaluación en el cultivo de cacao fue el Tratamiento 1 (Biol 1 estiércol) con 6,14 de promedio de ramas laterales seguido por el Tratamiento 2 (Biol 2 microorganismos de montaña) con una media de 6,86 y los tratamientos 3 y 4 que obtuvieron resultados similares con un promedio de 5,22 y 5,17 respectivamente. En las cinco evaluaciones no existieron diferencias estadísticas entre los cuatro tratamientos estudiados (Tabla 10).

Tabla 10. Análisis del efecto de la aplicación de bioles en cacao para la variable morfológica número de ramas laterales en las cinco evaluaciones a los 15, 30, 45, 60, y 75 días

Tratamientos	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días
Biol 1	5,42 a	5,58 a	5,69 a	5,84 a	6,14 a
Biol 2	6,38 a	6,50 a	6,63 a	6,64 a	6,86 a
NPK	4,78 a	5,02 a	5,02 a	5,02 a	5,22 a
Control	4,97 a	5,17 a	5,17 a	5,17 a	5,17 a

En la variable de producción cojinetes florales, en la investigación realizada no presenta diferencia estadística según la prueba de Tukey a los 15 días de evaluación se determinó que el mayor resultado fue para el Tratamiento 1 (Biol 1 con estiércol) con 8,16 seguido del Tratamiento 3(NPK) con una media de 7,82 y por último el Tratamiento 4 y 3 con resultados semejantes de 4,14 y 3,69 respectivamente. A los 30 días de evaluación si existe diferencias significativas en los 4 tratamientos estudiados dando como resultado con el mayor promedio el tratamiento 3 (NPK) con un promedio de 8,45 seguido del Tratamiento 1 (Biol 1 estiércol) con un promedio de 8,20 de cojinetes florales, sin embargo, los tratamientos 2 y 4 no presenta diferencias significativas obteniendo resultados similares entre el Tratamiento 2 y el Tratamiento 4 (Tabla 11).

En la tercera evaluación a los 45 días los tratamientos 3, 2 y 1 si presentan diferencias estadísticas significativas para el Tratamiento 4 donde se destaca el mayor rendimiento el Tratamiento 1 (Biol 1 estiércol) con un promedio de cojinetes florales de 8,32 seguido del Tratamiento 3 (NPK) con una diferencia mínima de 8,07 promedio. En la cuarta evaluación (60 días) en los cuatro tratamientos T1 T2, T3, T4 no existe diferencias significativas. Finalmente, a los 75 días, se observa que si existe diferencias significativas entre las variables siendo el mejor rendimiento el Tratamiento 3 (NPK) con un promedio de cojinetes florales de 12,20 seguido con menor diferencia el Tratamiento 1 (Biol 1 Estiércol) con resultado de 12,01.

Tabla 11. Análisis del efecto de la aplicación de bioles en cacao para la variable de producción cojinetes florales en las cinco evaluaciones a los 15, 30, 45, 60, y 75 días

Tratamientos	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días
Biol 1	8,16 a	8,20 a	8,32 ab	8,66 a	12,01 a
Biol 2	3,69 a	3,75 b	5,41 ab	5,99 a	7,31 b
NPK	7,82 a	8,45 a	8,07 ab	8,18 a	12,20 a
Control	4,14 a	3,51 b	4,00 b	4,23 a	4,48 b

Letras desiguales en las columnas difieren para $p < 0.05$ por Tukey HSD

En cuanto a los resultados del análisis del efecto de la aplicación de bioles del parámetro número de frutos el análisis estadístico Tabla 12, muestra que existe diferencia significativa para $p < 0.05$ entre los tratamientos a los 15 días. A partir de los días 30 a 60 días los

tratamientos T1 T2, T3, T4, el promedio de numero de frutos vario en los cuatro tratamientos, existiendo diferencias estadísticas.

Finalmente a los 75 días, observamos de acuerdo al análisis realizado, en la variable de producción número de frutos si existe diferencias significativas entre los tratamientos con un mayor resultado el Tratamiento 3 (NPK) cabe recalcar que (Alcívar y Loor 2016) indica que la fertilización química, es un método de fertilización que consiste en alimentar a las plantas directamente mediante sustancias nutritivas químico-sintéticas solubles en agua por ello el Tratamiento 3 (NPK) obtuvo un mayor rendimiento a los demás tratamientos con un promedio de 0,73 frutos seguido del Tratamiento 2 (Biol 2 Microorganismos) con un valor de 0,66 el Tratamiento 1 (Biol 1 estiércol) con 0,52 frutos y por último el Tratamiento 4 (Control) con un crecimiento mínimo de 0,13 número de frutos.

Tabla 12. Análisis del efecto de la aplicación de bioles en cacao para la variable de producción número de frutos en las cinco evaluaciones a los 15, 30, 45, 60, y 75 días

Tratamientos	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días
Biol 1	0,28 b	0,31 ab	0,27 ab	0,28 ab	0,38 ab
Biol 2	0,28 b	0,25 ab	0,36 ab	0,52 ab	0,66 ab
NPK	1,83 a	0,66 a	0,69 a	0,73 a	0,84 a
Control	0,20 b	0,09 b	0,11 b	0,13 b	0,13 b

Letras desiguales en las columnas difieren para $p < 0.05$ por Tukey HSD

EFFECTO DE LOS BIOLES SOBRE EL INCREMENTO O DISMINUCIÓN DEL CRECIMIENTO DE LAS VARIABLES MORFOLÓGICAS.

El efecto de los bioles sobre el incremento o disminución del crecimiento de las variables morfológicas en el tiempo en el cultivo de cacao mostrando en la variable longitud de las ramas obtuvo mayor crecimiento con el 6,11 tratamiento 1 (Biol 1 estiércol) a diferencia de los demás tratamientos. En la variable de estudio de diámetro de los tallos obtuvo mayor resultado el tratamiento 1 (Biol1 estiércol) con un promedio de 0,29 cm seguido del tratamiento 2 (Biol 2 Microorganismos) con un promedio de 0,21cm y con resultados similares los tratamientos 3 y 4 (Figura 9).

En la variable número de cojinetes florales se observa que logró mayor resultado con un promedio de 4,38 de cojinetes florales fue el tratamiento 3 (NPK) versus a los demás tratamientos obteniendo menores resultados. El número de frutos que obtuvo mayor resultado con el 0,38 de frutos es el tratamiento 2 (Biol 2 con microorganismos) en segundo lugar el tratamiento 1 (Biol 1 con estiércol) 0.09 de frutos mientras que el tratamiento 3 (NPK) que presenta un declive del número de frutos.

Estos resultados pueden ser por el efecto de los factores climáticos como lluvia y viento además de aplicación de fertilizantes químicos que afectan a la presencia de los insectos polinizadores quienes contribuyen en la fase de la polinización y por ende en la fructificación, una de las razones por la que los bioles contribuyeron de mejor manera en la fructificación por su contenido de macro y micronutrientes los cuales son indispensables para el buen desarrollo productivo de la planta.

En las siguientes variables se muestra que el número de hojas obtuvo mayor resultado el tratamiento 3 (NPK) presentando un 8,08 de número de hojas a diferencia de los demás tratamientos que presentan menores resultados. En la variable de estudio morfológico número de ramas laterales en los 4 tratamientos se obtuvieron resultados similares, el tratamiento con mejor promedio de ramas laterales durante los 75 días el tratamiento 1 (Biol 1 Estiércol) con 0,72 de promedio de ramas laterales.

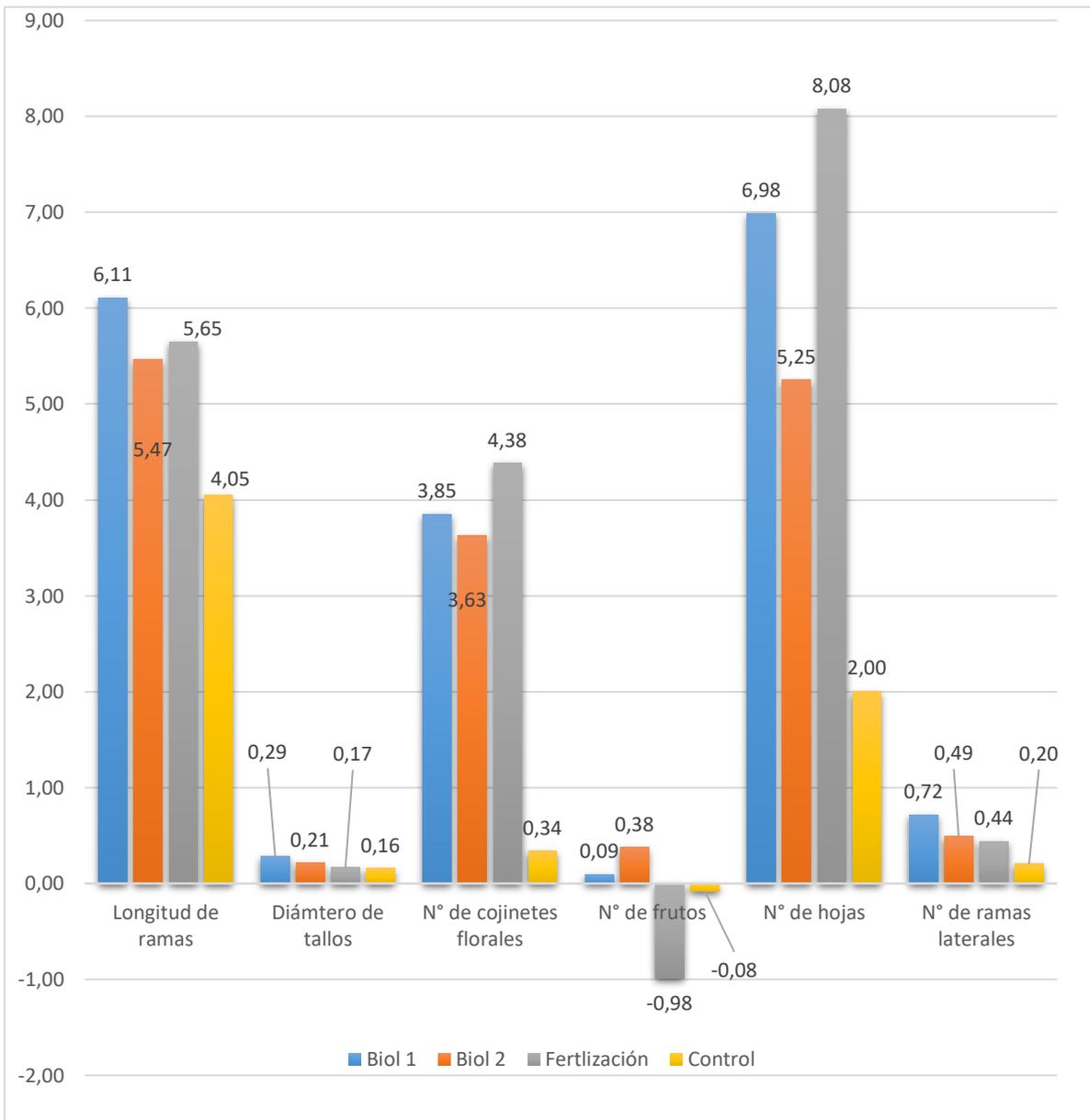


Figura 9. Efecto de los bioles sobre el incremento o disminución del crecimiento de las variables morfológicas en el cultivo de cacao.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

- La cinética del crecimiento de bacterias y hongos evaluados se evidenció que en el Biol 1 de estiércol obtuvo mayor crecimiento poblacional UFC en bacterias. Para UFC de hongos logró mayor cantidad el Biol 2 de microorganismos de montaña esto quiere decir que la incorporación de los bioles a la fertilización del cultivo de cacao es muy importante por sus microorganismos que son descomponedores de materia orgánica coadyuvando de esta forma al aceleramiento de todos los procesos microbianos que provocan el aumento de la cantidad de nutrientes asimilables por la planta.
- En la determinación de las propiedades químicas de los dos bioles se observó mayor porcentaje de macronutrientes y micronutrientes en el Biol 1 de estiércol. Se demostró que los componentes incluidos en la mezcla influyeron en la calidad nutricional de los bioles, que favorecieron la floración, al fortalecimiento de las raíces, actuando como una especie de activador enzimático que promueve la actividad fisiológica estimulando el crecimiento vegetativo del cultivo de cacao esto nos permite afirmar que el Biol constituye una fertilización amigable para el medio ambiente y para la salud humana.
- El rendimiento del cultivo de cacao valorado según sus variables morfológicas y de producción, se vio favorecido por la aplicación de los bioles, en especial el Biol 1 (con estiércol) que provocó mayores valores para la longitud de la rama, diámetro del tallo y número de ramas laterales. Este resultado demuestra que el abono orgánico líquido Biol ayuda al vigor y desarrollo productivo de la planta. La mejor respuesta en la variable número de cojinetes florales fue el tratamiento 3 (NPK) pero esto no influyó en el incremento de número de frutos que obtuvo mejor respuesta el tratamiento Biol 1 de estiércol, debido a que el uso de fertilizantes químicos afecta a la presencia de los insectos polinizadores quienes contribuyen en la fase de la polinización y por ende en la fructificación eso quiere decir que los bioles por ser orgánico ayudan a la conservación de insectos beneficiosos y el fortalecimiento del fruto.

RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones para determinar la dosificación exacta y adecuada de Biol para el cultivo ya que es un cultivo establecido hace 7 años el cual requiere mayor aplicación de fertilizantes ya que la remoción de nutrientes por el cultivo de cacao se incrementa rápidamente a partir de los 5 años y necesita un adecuado plan de fertilización.
- Se recomienda que, a futuro se analice la diversidad de hongos y bacterias que existe en el Biol de estiércol y microorganismos de montaña para tener un resultado exacto de fertilizantes que se está utilizando en el cultivo esto ayudará a conocer que tipo microorganismos estamos incorporando al cultivo.
- Incorporar más componentes para enriquecer el Biol ya que el cultivo de cacao es exigente en fertilización, se recomienda la utilización del Biol en el cultivo de cacao siendo beneficioso para el agricultor por su bajo costo en la elaboración y su efecto en la planta y elaborar un plan de fertilización acorde con las necesidades del cultivo

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

- Agencia de Cooperación Internacional de Agricultura del Gobierno de Japón (JICA), 1998. Microorganismos Guía Técnica 4. https://www.jica.go.jp/project/elsalvador/0603028/pdf/production/vegetable_04.pdf Recuperado: 29/08/2019
- Alcívar, J. y Loor, M. (2016). Respuesta del cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) a la poda y fertilización orgánica y química (Tesis previa la obtención del título de Ingeniero Agrícola). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Manabí.
- Araya, F. (2010). Producción y caracterización de bioles para su uso en el cultivo de banano (*musa* sp), rio frio, sarapiquí, heredia, costa rica (Tesis presentada a la Escuela de Agronomía como requisito para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía). Instituto Tecnológico de Costa Rica sede Regional San Carlos, Costa Rica.
- Asociación Nacional de Exportadores de Cacao- Ecuador (ANECACAO), 2014. Actualidad y perspectivas del sector cacaoero en Ecuador. <http://www.anecacao.com/uploads/2014/09/1-El-Ecuador-Actualidad-y-Perspectivas-del-Sector-Cacaoero-ANECACAO-cumbre-mundial-del-cacao-2014.pdf> Recuperado; 25/09/2019
- Asociación Nacional de Exportadores de Cacao- Ecuador (ANECACAO), 2015. Actualidad y perspectivas del sector cacaoero en Ecuador. <http://www.anecacao.com/index.php/es/quienessomos/historia-del-cacao.html> Recuperado; 25/09/2019
- Cedeño, R. y Sabando, L. (2016). Evaluación de tres frecuencias de aplicación de Biol de bovino en el cultivo de pimiento (*Capsicum annum* l.) (Tesis previa a la obtención del Título de Ingeniero Agrícola). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Manabí.

Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), 2011. “GUÍA TÉCNICA DEL CULTIVO DE CACAO MANEJADO CON TÉCNICAS AGROECOLÓGICAS”

<http://orton.catie.ac.cr/REPDOC/A8425E/A8425E.PDF>.

Recuperado:

28/09/2019

Cevallos, K. (2015). Caracterización patogénica de aislados de *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al., en cacao (*Theobroma cacao* L), en tres provincias amazónicas del Ecuador (Tesis previa a la obtención del Título de: Ingeniera Agropecuaria). Universidad Estatal Amazónica, Pastaza.

Cruz, L. (2019). Influencia del cultivo intensivo de pitahaya (*Hylocereus triangularis*) sobre propiedades fisicoquímicas y parámetros microbiológicos de suelos amazónicos (Proyecto de Titulación Previo a la Obtención del Título de Ingeniera Ambiental). Universidad Estatal Amazónica, Pastaza.

Chillos, J. (2019). “Evaluación de defoliantes químicos en el cultivo de manzana (*Malus domestica* Borkh.) cv. Anna en la granja El Romeral” (Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo). Universidad de Cuenca.

Enríquez, G. 2004. Cacao orgánico. Guía para productores ecuatorianos. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. Manual No. 54. Quito, Ecuador. pág. 360.

Gómez, P. (2017). “Validación de dos opciones de fertilización en el cultivo de cacao (*Theobroma Cacao* L.)” (Trabajo de titulación previo a la obtención del título Ingeniero Agrónomo). Universidad de Guayaquil.

Guanopatin, R. (2012). Aplicación de Biol en el cultivo establecido de alfalfa. (Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo). Universidad técnica de Ambato.

Holguín, A. (2018). Enraizamiento de ramas de cacao (*Theobroma cacao* L.) ccn-51 utilizando hormonas sintéticas de Ácido Naftalenacético (ANA) y Ácido Indolbutírico (AIB); (Anteproyecto de Investigación previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario). Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

- Huachos, H. (2015). Fertilización con nitrógeno y potasio en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) clon ics 95 en cubantia- pangoa (Título profesional de Ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional del Centro del Perú.
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), 2013. REQUERIMIENTOS AGROECOLÓGICOS DE CULTIVOS. http://www.inifapcirpac.gob.mx/publicaciones_nuevas/Requerimientos%20Agroec%20de%20Cultivos%20da%20Edici%F3n.pdf Recuperado: 01/10/2019
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Ecuador (INIAP), 2016. Fertilización del cultivo de Cacao. <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/3524/1/iniapeetp-psn2016.PDF>. Recuperado: 12/12/2019
- Kuja, T. (2015). “Caracterización cultural, morfológica y fisiológica in vitro de aislados de *Moniliophthora roreri* procedentes de tres provincias amazónicas del Ecuador” (Tesis previa a la obtención del Título de: Ingeniera Agropecuaria). Universidad Estatal Amazónica, Pastaza.
- Kuzyakov, Y. y Blagodatskaya, E. (2015). Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biology & Biochemistry*, Vol. 83: 184-199.
- Leiva, E. (2012). ASPECTOS PARA LA NUTRICIÓN DEL CACAO *Theobroma cacao* L. <http://www.bdigital.unal.edu.co/50450/1/ednaivonneleivarojas.2012.pdf.L>. Recuperado: 30/09/2019
- Medina, C. y Talavera, J. (2014). Efecto de dosis y aplicaciones edáfica y foliar de microorganismos de montaña con y sin sales minerales en el rendimiento del cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad criolla, municipio San José de Bocay, Jinotega; Trabajo presentado como requisito parcial para obtener el título de Ingeniero en Agroecología Tropical. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.
- Montesinos, D. (2013). Uso de lixiviado procedente de material orgánico de residuos de mercados para la elaboración de Biol y su evaluación como fertilizante para pasto. (Tesis previa a la obtención del título de Magister en Agroecología y Ambiente). Universidad de Cuenca.

- Morante, J. (2014). “Efecto del activador de microorganismo Biorootz, sobre el comportamiento agronómico de plántulas en semilleros de cacao en la zona de Caracol, Los Ríos”. (Tesis previa a la obtención del Título de: Ingeniera Agrónomo). Universidad Técnica de Babahoyo.
- Moreno, J. y Velarde, K. (2016). “Aislamiento, caracterización y usos potenciales de microorganismos de tierra de montaña y subtropical durante el periodo 2016” (Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de: Ingeniera en Biotecnología Ambiental). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Morocho, M. y Mora, M. (2019). Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. Centro. Agr. vol.46 no.2. Pág. 3.
- Mosquera, L. (2014). “Caracterización cultural, morfológica y fisiológica in vitro de *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al., agente causante de la Moniliasis del cacao (*Theobroma cacao* L), en comunidades kichwas amazónicas de la provincia de Napo-Ecuador” (Tesis previa a la obtención del Título de: Ingeniera Agropecuaria). Universidad Estatal Amazónica, Pastaza.
- Naula, A. (2016). “Caracterización morfológica en la adaptabilidad de tres clones de cacao (*Theobroma cacao* L.), en el CIPCA provincia de Napo, Ecuador” (Proyecto previa a la obtención del Título de: Ingeniera Agropecuaria). Universidad Estatal Amazónica, Pastaza.
- Paspuel, M. (2018). Respuesta del cacao a la aplicación del fertilizante “full cacao” en comparación con la fertilización convencional en Pangua (Trabajo de Titulación presentado como requisito previo a la obtención del Título de Ingeniero Agrónomo). Universidad Central del Ecuador, Quito.
- Pico, J.; Calderón, D.; Fernández, F., Díaz, A. 2012, Guía del manejo integrado de enfermedades del cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Amazonia, INIAP. <http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/guia-del-manejointegrado-de-enfermedades-del-cultivo-de-cacao-theobroma-cacao-l-en-laamazonia.pdf> Recuperado: 12/12/2019

- Pineda, B. (2016). Precocidad de tres clones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) En el CIPCA Provincia de Napo. (Tesis previa a la obtención del Título de: Ingeniera Agropecuaria). Universidad Estatal Amazónica, Pastaza.
- Potesta, J. (2018). Efecto del abono orgánico líquido bajo la técnica drench en las propiedades del suelo y la producción de cacao (*Theobroma cacao* L.) orgánico en el centro poblado alto palcazú; Para optar el título de (Ingeniero en Recursos Naturales Renovables mención conservación de suelos y agua). Universidad Nacional Agraria de la Selva.
- Puga, E. (2017). Proceso de elaboración y utilización del abono orgánico (biol) en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). (Componente práctico del examen de grado de carácter comprensivo presentado al Consejo Directivo, como requisito previo a la obtención del Título de: Ingeniero Agrónomo). Universidad Técnica de Babahoyo.
- Rendón, A. (2013) “Elaboración de abono orgánico tipo biol a partir de estiércol de codorniz enriquecido con alfalfa y roca fosfórica para elevar su contenido de nitrógeno y fósforo” (Trabajo de Investigación como requisito previo a la obtención del título Ingeniero Bioquímico). Universidad Técnica de Ambato.
- Ruales, J. L., Burbano, H., Ballesteros, W. (2011). Efecto de la fertilización con diversas fuentes sobre el rendimiento de cacao (*Theobroma cacao* L.). Revista de Ciencias Agrícolas, Volumen XXVIII No. 2, pp. 81 – 94.
- Sajami, C. (2016). Determinación de la influencia de seis concentraciones de biofermentos en el crecimiento de plantones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la fase de vivero (Para optar el título de: Ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional Agraria de la Selva.
- Solano-Rivas, O; Faith-Vargas, M; Guillén-Watson, R. (2009). Biodigestores: factores químicos, físicos y biológicos relacionados a su productividad. Tecnología en Marcha, Vol. 23(1), pp. 39 - 46.
- SIG-UEA (2017). Centro de Investigación, Posgrado y Conservación Amazónica. Recuperado de: <https://www.uea.edu.ec/cipca/index.php/home/mision-vision/2013-09-24-08-38-45>

- Sistema Bio Bolsa, 2017. Manual de Biol. <http://sistemabiobolsa.com/wp-content/uploads/2017/07/Manual-de-biol.27072017.1.pdf> Recuperado el 01 de octubre del 2019.
- Toalombo, (2012). “Evaluación de microorganismos eficientes autóctonos aplicados en el cultivo de cebolla blanca (*allium fistulosum*)” (Trabajo de investigación estructurado de manera independiente presentado como requisito para optar el Título de Ingeniera Agrónoma). Universidad Técnica de Ambato.
- Toalombo, (2013). “aplicación de abonos orgánicos líquidos tipo biol al cultivo de mora (*rubusglaucus benth*).” (Trabajo de investigación estructurado de manera independiente como requisito para optar el Título de Ingeniero Agrónomo). Universidad Técnica de Ambato.
- Vera, (2016). Composición de microorganismos eficientes autóctonos de un suelo contaminado por hidrocarburos (tesis previa a la obtención del título de: ingeniero en medio ambiente). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Manabí.
- Warnars y Oppenoorth, (2014) estudios sobre el biol, usos y resultados. 1ª Ed.15-16 pág.20

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Anexo 1. Delimitación de subparcelas



Anexo 2. Elaboración de Biol con estiércol



Anexo 3. Reproducción de microorganismo de montaña en medio solido



Anexo 4. Proceso de descomposición de los dos bios



Anexo 5. Rotulado y etiquetado de los arboles



Anexo 6. Activación de microorganismos de montaña en medio líquido



Anexo 7. Toma de muestras de variables morfológicas



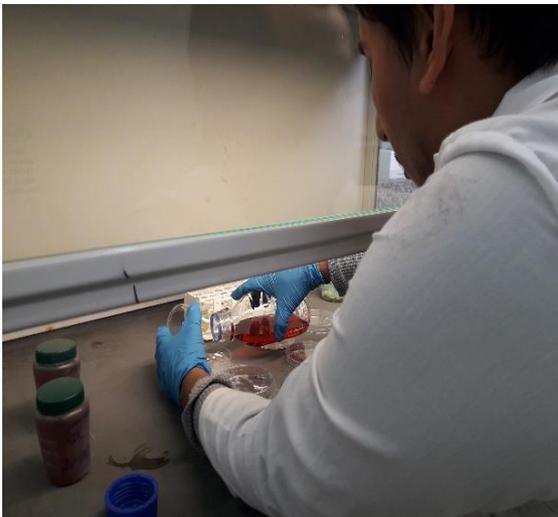
Anexo 8. Labores culturales en el cultivo de cacao



Anexo 9. Toma de muestras por cada Biol elaborado



Anexo 10. Cuantificación de bacterias y hongos presentes en bioles



Anexo 11. Resultado de la siembra de microorganismos (hongos y bacterias)

