

# FERTILIZACIÓN BIOLÓGICA DE *BACILLUS SUBTILIS* EN CACAO FASE DE VIVERO



**UTEQ**  
UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE  
**QUEVEDO**

JOSÉ HUMBERTO MACAY MOREIRA  
LUIS LLERENA RAMOS



# FERTILIZACIÓN BIOLÓGICA DE *BACILLUS* *SUBTILIS* EN CACAO FASE DE VIVERO

JOSÉ HUMBERTO MACAY MOREIRA  
LUIS LLERENA RAMOS



TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS:

© Ediciones GESICAP y Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador; Dirección de Investigación Ciencia y Tecnología (DICYT) 2022. Se autoriza la reproducción de esta publicación con fines educativos y otros que no sean comerciales sin permiso escrito previo detentar el derecho de autor, mencionando la cita.

© José Humberto Macay Moreira

© Luis Llerena Ramos

© Editorial: Ediciones GESICAP

El Carmen, Manabí, Ecuador

[www.gesicap.com](http://www.gesicap.com)

© Universidad Técnica Estatal de Quevedo UTEQ

Quevedo, Ecuador.

[www.uteq.edu.ec](http://www.uteq.edu.ec).

ISBN: 978-9942-626-03-5

Depósito Legal:

1ra Edición: Ediciones Gesticap, Calle 24 de julio y Ave 3 de julio, El Carmen Manabí Ecuador.

Copyright © Diciembre 2022.

COMO CITAR ESTE LIBRO:

Macay-Moreira, J.H y Llerena-Ramos, L. 2022. Fertilización biológica de *Bacillus subtilis* en cacao fase de vivero. Ediciones GESICAP, Ecuador, 55pp.

EQUIPO EDITORIAL:

Edición y Diagramación: Sergio Alejandro Rodríguez Hernández

Revisión y Corrección: Justo Antonio Rojas Rojas.

Diseño de cubierta: Sergio Alejandro Rodríguez Hernández

Imagen de Cubierta: Wikimedia Commons.

Nombre de archivo: Joba Arriba - Villa de Cacao.jpg. Autor: Jobateam.

Licencia bajo CC-BY-SA 3.0.

Localizable en: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Joba\\_Arriba\\_-\\_Villa\\_de\\_Cacao.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Joba_Arriba_-_Villa_de_Cacao.jpg)

## **AGRADECIMIENTOS**

---

A Dios por haber permitido llegar a lograr una más de mis metas.

A mis padres y hermanas por su gran esfuerzo, apoyo y dedicación que me han brindado ya que gracias a ellos ahora he llegado a dar un paso más en el ámbito profesional.

A mis amigos y compañeros de clases durante todos los niveles de estudios que pasamos al apoyo moral que nos brindamos por salir adelante y cumplir esta meta.

A los miembros del Tribunal de sustentación.

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo por darme la oportunidad de estudiar en ella y así poder llegar a alcanzar esta meta importante en mi vida.

José Humberto Macay Moreira



## **DEDICATORIA**

---

Este proyecto de investigación se lo dedico a Dios por darme fortaleza en seguir adelante.

A mis padres por ser el pilar fundamental en mi vida, sé que sin ellos no hubiera hecho realidad esta meta.

A mis hijos por ser mi motivación en cada una de las metas que me propongo.

José Humberto Macay Moreira

# TABLA DE CONTENIDO

---

Agradecimientos / v
Dedicatoria / vii
Índice de tablas / x
Índice de figuras / x
I. / INTRODUCCIÓN / 3
1.1. / Problema científico / 4
1.2. / Objetivo general / 4
1.2.1. / Objetivos específicos / 4
1.3. / Hipótesis / 5
II. / MARCO TEÓRICO / 7
2.1. / Historia del cacao / 9
2.2. / Requerimientos edafoclimáticos / 10
2.2.1. / Precipitación / 11
2.2.2. / Viento / 11
2.2.3. / Humedad / 11
2.2.4. / Temperatura / 11
2.2.5. / Suelo / 11
2.2.6. / Heliofanía / 12
2.3. / Usos del cacao / 12
2.4. / Grupos genéticos de cacao / 14
2.4.1. / Cacao criollo / 14
2.4.2. / Cacao forastero / 14
2.4.3. / Cacao trinitario / 14
2.4.4. / CCN-51 / 15
2.5. / Vivero de cacao / 17
2.6. / Antecedentes del uso de biofertilizantes / 18
III. / MATERIALES Y MÉTODOS / 21
3.1. / Localización de la investigación / 23
3.2. / Tratamientos evaluados / 23
3.3. / Diseño experimental y análisis estadístico / 23
3.4. / Manejo específico del experimento / 24
3.4.1. / Preparación del terreno / 24
3.4.2. / Elaboración del sustrato / 24
3.4.3. / Llenado de fundas / 24

3.4.4. / Siembra / 24
3.4.5. / Riego / 24
3.4.6. / Fertilización / 25
3.4.7. / Control de malezas / 25
3.4.8. / Control de plagas y enfermedades / 25
3.5. / Variables evaluadas / 25
3.5.1. / Altura de planta (cm) / 25
3.5.2. / Diámetro del tallo (mm) / 25
3.5.3. / Número de hojas / 25
3.5.4. / Área foliar / 25
3.5.5. / Supervivencia (%) / 26
3.5.6. / Longitud de raíz (cm) / 26
3.5.7. / Volumen de la raíz (cc) / 26
3.5.8. / Análisis económico / 26
IV. / RESULTADOS / 27
4.1. / Altura de plántulas / 29
4.2. / Diámetro del tallo / 30
4.3. / Número de hojas por plántula / 31
4.4. / Área foliar / 33
4.5. / Supervivencia / 34
4.6. / Longitud radicular / 34
4.7. / Volumen radicular / 35
4.8. / Análisis económico / 36
V. / DISCUSIÓN / 38
VI. / CONCLUSIONES / 45
VII. / RECOMENDACIONES / 46
VIII. / REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS / 47

## ÍNDICE DE TABLAS

---

Tabla 1. Características climáticas del sitio experimental / 23

Tabla 2. Altura de plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero / 29

Tabla 3. Diámetro del tallo en plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero / 31

Tabla 4. Número de hojas por plántula de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero / 32

Tabla 5. Análisis económico de la producción de 1000 plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero / 37

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

Figura 1. Área foliar en plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero / 33

Figura 2. Sobrevivencia de plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero / 34

Figura 3. Longitud radicular en plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero / 35

Figura 4. Volumen radicular en plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero / 36

# CAPÍTULO I



## MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN



## INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao L.*) es un cultivo originario de América que ha sido difundido en el mundo; es utilizado como materia prima para diversos productos de la agroindustria (Quintero y Díaz, 2004). Tiene gran importancia en la economía de los países productores por ser un producto muy cotizado en los mercados (Verdesoto, 2009). El cacao nacional, considerado como cacao fino de aroma, es apetecido en el mercado internacional por sus características organolépticas; por lo que, en el país se ha reconocido la necesidad de mantener su oferta de cacao fino, por lo tanto, es necesario priorizar la conservación, mejoramiento y multiplicación de plantas y germoplasma de cacao nacional (Loayza, 2018).

Este cultivo se enfrenta a limitantes tecnológicas que se muestran en bajo rendimiento y calidad. Los nuevos nichos de mercado exigen atributos tecnológicos, tales como tamaño, color de las semillas y porcentaje de grasa; como también atributos organolépticos como el sabor y aroma especiales que podrían encontrarse en las plantaciones nativas e híbridas (López *et al.*, 2020). Este tipo de cacao recibe mayores precios en los mercados internacionales. Los productores, actualmente, se encaminan hacia la incursión en estos mercados especializados, por lo que se necesita rescatar el material que cumpla con estos requisitos de calidad (Castro *et al.*, 2018).

Las plantas no sólo necesitan, para crecer, agua, nutrientes del suelo, luz solar y bióxido de carbono atmosférico; ellas, como otros seres vivos, necesitan de otras sustancias como aminoácidos, enzimas, hormonas para lograr un crecimiento armónico, esto es, pequeñas cantidades de sustancias que se desplazan a través de sus fluidos que regulan su crecimiento (González *et al.*, 2014).

Con el auge de la agricultura orgánica, se han explorado diferentes tecnologías de producción que sean de menor impacto en el medio ambiente, entre ellas el uso de fertilizantes biológicos. Estos potencialmente pueden mejorar el crecimiento y desarrollo de las plantas al modificar procesos fisiológicos, a la vez que no atentan contra el equilibrio medioambiental de los sistemas de producción (Mateus y Rodríguez, 2019).

La utilización de productos a base de fertilizantes biológicos ha captado la atención de muchas personas dedicadas a la producción de plántulas de cacao, sin embargo, no se tiene información de referencia sobre los efectos de dichos productos sobre plántulas de cacao en etapa de vivero. Es por ello que se hace necesaria la ejecución de una investigación orientada a dar

respuesta a dicha interrogante, ya que existen muchos productos comerciales, entre uno de ellos Serenade el cual contiene *Bacillus subtilis* (Ehrenberg 1835), Cohn 1872 de la cepa QST-713 con una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC g<sup>-1</sup>, pero, no existen precedentes de la dosis de aplicación adecuada de este producto en plántulas de cacao a nivel de vivero. Se hace necesario la conducción de un estudio que permita esclarecer esta situación, puesto que una mala elección de la dosis de un determinado producto podría traer consigo un efecto negativo por una dosis muy alta, o a su vez no generar un efecto significativo sobre el desarrollo de los cultivos.

## **1.1. PROBLEMA CIENTÍFICO**

El uso o manejo inadecuado, así como la aplicación intensiva de agroquímicos a nivel mundial, ha provocado en éstos, severos procesos de deterioro ambiental que se reflejan en su desactivación biológica y en la pérdida de sus condiciones para producir. Esta situación pone en riesgo la seguridad alimentaria de la sociedad, por lo que es necesario la implementación de alternativas para suplir o minimizar el uso intensivo de agroquímicos.

La obtención de plántulas con las mejores características posibles en cuanto a resistencia y adaptación en campo abierto, es el mayor reto para los productores, ya que es ampliamente reconocido que cuando se utilizan plántulas frágiles, éstas se mueren en campo abierto, lo que a su vez representa un gasto innecesario dentro de un sistema de producción, es por ello que con el pasar del tiempo se han unido esfuerzos por parte de técnicos de campo, en la consecución y adopción de tecnologías de producción que ayuden a mitigar dicha problemática.

## **1.2 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la aplicación de cuatro dosis de fertilización biológica a base de *B. subtilis* sobre el crecimiento y desarrollo de plántulas de cacao en etapa de vivero.

### **1.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar el efecto de la fertilización con *B. subtilis* sobre la altura y grosor del tallo de las plántulas.
- Establecer la respuesta de la emisión foliar de las plántulas a la aplicación de la fertilización biológica a base de *B. subtilis*.
- Realizar el análisis económico de los tratamientos estudiados.

### 1.3 HIPÓTESIS

La aplicación de al menos una dosis del fertilizante biológico a base de *B. subtilis* Serenade potencia el crecimiento y desarrollo de plántulas de cacao en etapa de vivero de tal manera que produce resultados similares al bioestimulante Evergreen.



# CAPÍTULO II



## MARCO TEÓRICO DE LA INVESTIGACIÓN



## 2.1. HISTORIA DEL CACAO

El cacao (*Theobroma cacao L.*) fue el nombre dado por Carl von Linne quien clasificó por primera vez el árbol del cual provienen las semillas de cacao (Soraya, 2009). Es un cultivo tropical originario de la región amazónica (cuenca alta del río Amazonas) que en la actualidad comprende territorios de los países Ecuador, Colombia, Brasil, Perú y Bolivia (Guamán, 2007).

Cuando los españoles llegaron a América encontraron el cacao en México, importante centro de dispersión de la especie. Los aborígenes lo usaban desde tiempos remotos para hacer bebidas y como alimento mezclado con maíz. También era utilizado como moneda en las transacciones comerciales. Actualmente es cultivado en la mayoría de los países tropicales, en una zona comprendida entre los 20° de latitud norte y los 20° de latitud sur (Enríquez, 2004).

Existen otras certezas en la historia que dicen que la transformación del cacao empezó a cultivarse y consumirse por los Toltecas, Aztecas y Mayas. Ellos fueron unas civilizaciones que habitaron en el territorio que actualmente comprende México (Campeche, Chiapas, Quintana Roo, Tabasco y Yucatán) y en América Central (Belize, Guatemala, Honduras y El Salvador). Por lo menos un milenio antes del descubrimiento de América, estuvieron quienes les daban un gran valor y significado a las semillas, los mismos que además la usaban como moneda y como alimento nutricional, de esta manera se la daba un gran realce a este grano en dicha época (García, 2014).

En cuanto a la historia de los mayas, al igual con los Olmecas (1200 – 400 AC), habían establecido una extensa región que va desde la península de Yucatán (México) en América Central hasta la región de Chiapas, Tabasco y la costa de Guatemala en el Pacífico. Los Mayas llamaban al árbol de cacao “Ka´kaw”, frase que fue relacionada con el fuego (kakh), sabor escondido por sus almendras. Al chocolate solían llamarlo “Chocolhaa”, ó agua (haa) amarga (chocol). Así mismo para estas culturas el cacao simbolizaba vigor físico y longevidad (García, 2014).

FAO e IICA (2008), indican que, durante la época de La Colonia, el cacao en el Ecuador se expandió principalmente en cuatro zonas ecológicas: (FAO-IICA, 2008)

- La zona denominada como “Arriba” que comprende la zona de la cuenca baja del río Guayas, básicamente las actuales provincias de Los Ríos y Guayas;

- La zona de Manabí, con el cacao llamado de Bahía, que corresponde a la zona húmeda de la provincia de Manabí;
- Zona de Naranjal, hacia el sur, que comprende una pequeña parte de la provincia del Guayas y la provincia de El Oro;
- Zona de Esmeraldas, que tenía un cacao acriollado muy especial, al que se le denominaba esmeraldas

En Ecuador, a inicios de los años 1600 ya en ese entonces había pequeñas plantaciones de árboles de cacao a orillas del río Guayas. Estas se esparcieron a lo largo del afluente de Babahoyo y de Daule, lo que originó el nombre de “cacao arriba” en los mercados internacionales. Cacao, que en la variedad nacional se reconoce por tener una fermentación corta. Como resultado se obtiene un chocolate de buen sabor y aroma. Así el país se convirtió en productor de cacao arriba y reconocido mundialmente por su aroma floral. Se hace con el nombre de cacao nacional y, hoy se sabe que es originario de los árboles forasteros amazónicos (García, 2014).

Ecuador fue el mayor exportador mundial de cacao durante el período 1880 – 1915, pero perdió este estatus debido al ataque de dos enfermedades conocidas como la monilia (*Moniliophthora roreri*) y la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*). Entre 1915 y 1930 la producción disminuyó en un 63% (Quingaísa, 2007). Sin embargo, después de la crisis ocasionada por las enfermedades, la producción de cacao ha experimentado una recuperación notable con la siembra de materiales resistentes, especialmente a la escoba de bruja, dentro de los que destaca nítidamente el clon del híbrido denominado CCN-51 (Colección Castro Naranjal) desarrollado en el año 1960 por Homero Castro Zurita, en su finca “Theobroma” localizada en Naranjal, cuyos primeros fueron sembrados en la Hacienda “Sofía” de Naranjal y de propiedad del Sr. César Amador Baquerizo (Carrión, 2012).

En el país se produce desde hace más de 500 años el mejor Cacao Fino de aroma indispensable en la elaboración de chocolates finos de las más afamadas marcas del mundo. La exportación ecuatoriana representa más del 77% del cacao al mundo. Los belgas, que se dice son los mejores chocolates del mundo, se llevan un gran porcentaje de este cacao para su elaboración propia y luego llega en grandes bolsas para ser vendidas a gran precio en el país y sobre todo en América (Carrión, 2012).

## **2.2. REQUERIMIENTOS EDAFOCLIMÁTICOS**

Los factores edafoclimáticos son los de mayor influencia debido a que

brindan un carácter más participativo al proceso de la definición del lugar adecuado para el desarrollo del cultivo (Suárez *et al.*, 2013). (Suárez, Soto, & Caballero, 2013).

### **2.2.1. PRECIPITACIÓN**

El cultivo de cacao requiere adecuado abastecimiento de agua para efectuar sus actividades metabólicas. En otras palabras, una precipitación de 1,600 a 2,500 mm distribuidos durante todo el año. Mientras que precipitaciones superiores a los 2,600 mm pueden afectar la producción del cultivo de cacao. De ahí que su distribución varía dependiendo del lugar o región (Paredes, 2004).

### **2.2.2. VIENTO**

Es el factor que determina la velocidad de evapotranspiración del agua en la superficie del suelo y de la planta. En las plantaciones expuestas continuamente a vientos fuertes se produce la defoliación o caída prematura de hojas. Se hace necesaria la siembra de barreras rompe vientos y de sombras temporales y definitivas, para reducir la evapotranspiración (Álvarez y Mendoza, 2013).

### **2.2.3. HUMEDAD**

La humedad en el cultivo de cacao está estrechamente relacionada con la presencia de enfermedades de tipo fúngicas como Monilla y Escoba de Bruja. Siendo así necesaria una humedad relativa de 75 a 80% para un óptimo desarrollo y producción del cultivo (Morán, 2008).

### **2.2.4. TEMPERATURA**

La planta de cacao necesita una temperatura media anual de 25 °C. Mientras que en temperaturas bajas la floración se inhibe y los frutos tardan en madurar. La temperatura máxima que soporta el cultivo de cacao es de 32°C y una temperatura mínima de 21°C (Egas, 2010).

### **2.2.5. SUELO**

El suelo para el establecimiento del cultivo de cacao debe cumplir con serie de características. Ser planos o ligeramente inclinados, de buena fertilidad suelo y profundo. Abundante materia orgánica, drenaje y un pH entre 6.0 y 7.0 (Quiroz y Mestanza, 2010). Deben evitarse suelos arcillosos,

arenosos, o muy superficiales con presencia de rocas, capas arcillosas en el subsuelo o con nivel freático poco profundo. Todas estas estimaciones antes mencionadas se pueden detectar fácilmente haciendo barrenaciones o calicatas (Estrada *et al.*, 2011). (Estrada, Romero, & Moreno, 2011).

### **2.2.6. HELIOFANÍA**

La radiación solar influye en el crecimiento y fructificación del árbol de cacao, en las zonas productivas es necesario el brillo solar en cantidad de 800 a 1000 horas/año, por lo que es preciso saber que el grado de luz que debe recibir una plantación de cacao está en concordancia a la disponibilidad de agua y nutrientes presentes en el suelo (Armijos, 2015).

### **2.3. USOS DEL CACAO**

El cacao es un importante producto básico, en cuanto a su valor comercial tanto a nivel local como mundial. Representa una parte sustancial en la economía que sirve de sustento para muchas familias campesinas que tradicionalmente han sembrado cacao por años, e incluso cuando las tierras se han ido pasando de generación en generación (García, 2014).

Este cultivo es una fuente de ingresos de divisas. Representa un rol importante para el sustento de millones de familias campesinas, dedicadas a la actividad de siembra y cosecha de cacao, quienes dependen en gran parte de la actividad cacaotera. En muchos países en vías de desarrollo, como el caso de Ecuador el sector agrícola agrupa un rubro significativo de la PEA (García, 2014).

Ecuador produce dos tipos de cacao, CCN51 y Cacao Nacional. Este último es la Variedad con la que se ha construido una reputación como un origen de “fino o sabor” cacao. Los cacaos nacionales son de bajo rendimiento y se limitan en su mayor parte a Granjas medianas. El tipo CCN51 por el contrario es un híbrido de alto rendimiento y es sobre todo producido en plantaciones de gran escala. Sus sustitutos más cercanos son los cacaos de África Occidental, pero aún no ha encontrado un importante mercado de exportación debido a alta acidez. Los productores locales de cacao y chocolate en Ecuador prefieren al CCN51 porque tiene alto contenido de grasa de manteca de cacao y no sufre problemas de moho, resultado de las cuidadosas prácticas post-cosecha que se siguen en las plantaciones comerciales (Collinson y Leon, 2000).

Los agricultores de cacao sostenibles aplican buenas prácticas agrícolas y de negocios, lo que resulta en mejores rendimientos e ingresos. Participan en prácticas laborales responsables, protegen el medio ambiente y son capaces de satisfacer las necesidades de su familia. Los agricultores de cacao a menudo no tienen acceso a la financiación. Sin embargo, algunas entidades trabajan con agricultores, organizaciones de agricultores e instituciones de microfinanzas para permitir oportunidades de ahorro para los agricultores y facilitar el acceso al crédito para insumos agrícolas como fertilizantes (Barry Callebaut, 2017).

La principal preocupación de los agricultores de cacao es tener los mejores medios de subsistencia que puedan: lograr un ingreso decente para que puedan comer bien, pagar los costos escolares de sus hijos y vivir en una casa y comunidad con servicios de mejoramiento (Cargill, 2017).

El cacao ecuatoriano se comercializa sin interferencia gubernamental. Los precios locales son impulsados por los precios internacionales y por la oferta y la demanda locales. La demanda de la industria ecuatoriana de procesamiento de cacao y de países vecinos ocasionalmente hace que los precios locales se muevan fuera de la simpatía con los precios de Nueva York y Londres. En contraste con su posición preeminente a principios de este siglo, Ecuador es ahora una minoría exportadora de cacao, ya que Costa de Marfil se ha convertido en el principal productor mundial (Collinson y Leon, 2000).

Los productos primarios constituyen la materia prima para obtener bienes finales a ser consumidos por la población y contribuir así con la satisfacción de los requerimientos energéticos y nutricionales. No obstante, algunos rubros como el cacao y el café son considerados bienes de lujo, en vista de que no son indispensables, es decir no son considerados bienes de primera necesidad en la alimentación. De las almendras de cacao, fermentadas y secas (o sin fermentar) se obtienen subproductos y productos finales a través de procesos industriales. Los primeros son la pasta o licor, la manteca, la torta y el polvo de cacao. Los productos finales de cacao son principalmente los chocolates y demás artículos elaborados a base de chocolate, tales como coberturas, golosinas, barras de chocolate amargo, de leche, blanco, con frutas, nueces, bombones, entre otros. Además, la manteca de cacao se emplea en la industria farmacéutica y en la elaboración de cosméticos (Quintero y Díaz, 2004).

## **2.4. GRUPOS GENÉTICOS DE CACAO**

En forma general se conoce que el cacao se divide genéticamente en tres grandes grupos: los Criollos, los Forasteros y una mezcla de ellos que se le denomina Trinitario (Quingaísa, 2007).

### **2.4.1. CACAO CRIOLLO**

Se cultiva principalmente en México, Guatemala y Nicaragua en pequeñas cantidades. Venezuela, Colombia, islas del Caribe, Trinidad, Jamaica e isla de Granada. En Madagascar, Java e islas Comores (Huamanchumo, 2017). Posee un amargor suave, sabores ácidos y afrutados, es poco astringente, posee una sutileza y delicadeza aromática. Esta variedad de cacao se suele demandar para chocolatería fina y elaboraciones más selectas, además los árboles de esta variedad son más delicados y propensos a plagas, por lo que está disminuyendo su área de cultivo (Arpide, 2007).

El cacao criollo se caracteriza por tener estaminoides rosados, mazorcas verdes o rojas del tipo Cundeamor, de superficie rugosa y surcos profundos; posee entre 20 y 30 semillas de color blanco ó crema, alto contenido de grasa, sin astringencia y bastante aroma; son usados en la industria cosmética. Los principales tipos criollos incluyen cacao Pentágona, cacao Real y cacao Porcelana (Arguello *et al.*, 2000).

### **2.4.2. CACAO FORASTERO**

Este grupo es muy diversificado y representa especies mucho más resistentes y mucho más productivas que Criollo. Cultivados al principio en alta amazonia, constituyen hoy la producción principal de África del oeste y, en extenso, el 80 % de la producción total mundial (Quintana y Aguilar, 2018). Se trata pues de unos cacaos de calidad ordinaria (un aroma poco pronunciado y una amargura fuerte y corta) que entran en la fabricación de los chocolates corrientes. Los Trinitarios (proviendo de Trinidad) Esta especie de cacao es un híbrido biológico natural entre Criollos y Forasteros, que fue exportado por Trinidad donde los colonos españoles habían establecido plantaciones. No tiene atributo puro a su especie y la calidad de su cacao varía de media a superior, con un contenido fuerte en manteca de cacao. Representa el 15 % de la producción mundial (Cevallos, 2011).

### **2.4.3. CACAO TRINITARIO**

Se cultiva en países donde se encuentra la variedad criolla, ya que es una

variedad híbrida entre el cacao forastero y el criollo. En Trinidad e islas Antillas. También en Java, Sri Lanka y Papua- Nueva Guinea. En Camerún, hay una producción importante. Incorpora aspectos de las variedades criollo y forastero, es afrutado y perfumado, tiene un amplio rango de sabores, aromático y persistente en boca, puede apreciarse sabores a heno, roble miel y notas verdes (manzana, melón) (Arpide, 2007).

Este grupo se usa como material de injerto para multiplicarlo sin perder sus características, las mejores cruza combinan el sabor del cacao criollo con la rusticidad del Forastero, produciendo cacao de mucha demanda por su aplicación en los chocolates de alto grado de “sabor” (Ramírez *et al.*, 2018)

#### 2.4.4. CCN-51

Ante la baja producción del cacao ecuatoriano (Nacional) y a las enfermedades que lo afectan, el agrónomo ambateño Homero Castro Zurita, inicia en Naranjal en 1960 en las Haciendas Pechichal, Sofía y Theobroma una dificultosa labor encaminada al hallazgo de materiales apropiados y consigue seleccionar algunos híbridos con características superiores en cuanto a producción, calidad y resistencia a enfermedades que aquejan al cacao, para a continuación clonar a varios de ellos a los que se identificó con las siglas, CCN que significa “Colección Castro Naranjal” y de los cuales prevaleció el CCN-51, el mismo que ya reconocidas todas sus preponderantes características empezó a propagárselo desde el año 1965 (Carrión, 2012; Villalta, 2015). () ()

Los diferentes clones CCN fueron obtenidos del híbrido entre los clones ICS-95 x IMC-67 (Imperial College Selection e Iquitos Mixed Cabacillo), posteriormente se procedió a realizar un segundo cruce entre dicho híbrido con un cacao encontrado por él en el Oriente ecuatoriano y denominado “Canelos” (Cedeño, 2004). Los híbridos, entre los que destaca el trinitario es un cruce entre el criollo y el forastero, aunque su calidad es más próxima al del segundo (Carrión, 2012). De todos los CCN seleccionados a Homero Castro le llamó especialmente la atención el CCN-51, ya que reunía todas las características buscadas por él durante tantos años, por lo que se le dio dicha denominación (Chávez *et al.*, 2018). ().

Este perseverante científico llevaba a cabo su investigación en plantaciones de cacao en la parte alta del Amazonas, con la finalidad de seleccionar material genético para utilizarlos en el cruzamiento de variedades trinitarias y otros cultivares, buscando un clon altamente productivo y que a su vez

sea de buena calidad de grano, resistente a enfermedades que afectan en nuestro medio como mal de machete (*Ceratocystis cacaofunesta*), escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) y miniliasis (*Moniliophthora roreri*) (Villalta, 2015).

El CCN-51 tiene un mayor potencial de rendimiento y resistencia a las enfermedades fungosas comunes (Andino *et al.*, 2005). Esto ha generado que se incremente la producción de cacao de este tipo que en la actualidad la producción de cacao CCN-51 alcanza al 20% de la producción total de cacao del Ecuador. No obstante, el CCN-51 (Colección Castro Naranjal) carece de las características organolépticas (aroma y sabor) del cacao nacional “Fino de Aroma” (Cevallos, 2011). ( ).

El cacao CCN-51 es más demandado por el sector de la industria del cacao que se dedica a los chocolates más comerciales del mercado, en general, mientras que el cacao fino es para un mercado selecto de chocolatería fina que requiere granos de muy alta calidad (Albán, 2011).

Si el proceso de fermentación es el adecuado puede llegar a tener buenas características de calidad. Este clon puede alcanzar a un rendimiento de 4,000 kg de semillas secas/hectárea bajo exposición solar y alta densidad. Esta variedad de cacao tiene un rendimiento más alto comparado con el criollo; con un manejo adecuado desde la siembra hasta el secado del grano, este clon puede ser utilizado como cacao de calidad para la elaboración de chocolate. Posee un índice de semilla de 1.54 gramos y un alto contenido de grasa, lo cual lo hace adecuado para la extracción de manteca. Sus características favorecen un alto rendimiento industrial”, por lo que la siembra de esta variedad resulta altamente rentable para producción y comercialización (Andino *et al.*, 2005). ( ).

En la Hacienda Sofía, localizada en la zona de Naranjal, se encuentra uno de los sembríos más antiguos de cacao CCN-51, el cual fue establecido en el año 1965, sin embargo, actualmente luego de más de 40 años de producción, esta huerta de cacao aún mantiene una producción mayor a los 40 quintales por hectárea (Villalta, 2015).

En general, los productores más grandes son los que han tecnificado el cultivo de cacao y están utilizando variedades como CCN-51 en un sistema de producción más tecnificado (monocultivos) y con alta utilización de insumos. Sin embargo, el CCN-51 no presenta las características únicas del cacao arriba, tan solicitadas en el mercado internacional y que han permitido que el producto cuente con un premio sobre el precio de bolsa, incentivando así a la mayoría de productores a mantener sus cultivos (Albán, 2011).

Hasta el 2010 se exportaron 81 mil toneladas de CCN-51, lo que significó un incremento de 473% en los cuatro años. Es decir, un aumento de 118% por año. Las cualidades de este cacao y la demanda de éste han logrado tal incremento. Con respecto a las exportaciones de cacao CNN51, medidos en dólares, el incremento es aún mayor. La ganancia aumentó cerca de 786%, del 2007-2010. Lo que representa que las ganancias casi se duplicaron por cada año durante el período de análisis, que parece un buen generador de divisas que se puede explotar mucho más (Albán, 2011).

## 2.5. VIVERO DE CACAO

La construcción del vivero tiene como objetivo facilitar el normal desarrollo inicial de las plantas de cacao, proporcionando las mejores condiciones de temperatura, humedad, sombra, para la planta de cacao. Además, se puede controlar y mejorar el porcentaje de germinación de las semillas, producir grandes cantidades de plántulas, permitir trabajos comunitarios y seleccionar plántulas por tamaño y vigor para de esta manera programar las mejores épocas de siembra, también se puede controlar de manera más efectiva el apareamiento de plagas y enfermedades (Torres , 2012).

En este lugar generalmente provisto de una cubierta, se realiza la producción de plantas. En él se producen plántulas de calidad y en cantidad necesaria para la plantación en el sitio definitivo. Los viveros pueden ser establecidos dentro de las fincas como también en lugares que reúnan las condiciones favorables para el desarrollo de las plántulas. En un vivero debe haber suficiente agua para el riego, terrenos con buen drenaje para evitar los encharcamientos y que se encuentren cerca de los sitios de la plantación para facilitar el transporte de las plantas (Pinzon, 2006).

El sistema comercial recomendado para siembra de cacao, es la utilización de semillas híbridas o de clones (injertos) y requiere la construcción de viveros de muy fácil manejo, en el cual se protege las plántulas en su etapa inicial, lo cual facilita las labores que éstas requieren en dicha etapa (Zambrano, 2010).

Se estima que, para producir de 1000 a 1200 plantas, se requiere un área de 20 m<sup>2</sup> (de 50 a 60 fundas por m<sup>2</sup>) esta área ya incluye los espacios o calles para facilitar las labores de manejo y mantenimiento. El tamaño del vivero estará en función del tamaño de las fundas a utilizar para el presente caso se ha estimado el uso de fundas de polietileno de 7 a 8 pulgadas: los materiales

deben provenir de las fincas ocho pedazos de caña guadua, cada uno de tres metros de largo, para la protección de las plántulas de los rayos solares se debe utilizar sarán u hojas de plátano (Enriquez, 2004).

El establecimiento del vivero está sujeto a la disponibilidad de semilla, se puede realizar en cualquier época del año. Sin embargo, se debe programar de forma tal que las plantas estén listas para la siembra al inicio de la temporada de lluvia (Gómez & Ormeño, 2013).

La ubicación del vivero es de vital importancia ya que así se facilita el manejo de las labores culturales y control fitosanitario. Se debe ubicar el vivero en lugares de fácil acceso y que cuente con agua para riego. Antes de realizar la instalación del vivero, se debe eliminar todas las malezas del área donde se va a ubicar el vivero. El área donde se va a ubicar el terreno debe ser plano o en su defecto debe tener una ligera inclinación para facilitar el drenaje. Si el terreno es irregular se debe proceder a nivelar (Torres, 2012).

El vivero se considera como el área delimitada de terreno y debidamente preparada, con el propósito fundamental de obtener la multiplicación y producción de plantas resistentes, libres de enfermedades y con características fenotípicas y genotípicas únicas, hasta el momento en que estén en condiciones para ser plantadas en el sitio definitivo (Rodríguez, 2013). En época de sequía o poca lluvia es necesario regar el almácigo mínimo cada dos días y el vivero debe constar con pequeñas zanjas de drenaje (Zambrano, 2010).

## **2.6. ANTECEDENTES DEL USO DE BIOFERTILIZANTES**

Los biofertilizantes a base de microorganismos (fertilizantes biológicos) ofrecen un potencial para mejorar la producción y calidad de las cosechas (Quintero *et al.*, 2018). Estos productos pueden reducir el uso de fertilizantes y mejorar la resistencia de las plantas al estrés (Padilla, 2010).

Con el uso de productos a base de fertilizantes biológicos, la producción de plantones en viveros se hace más eficiente, ya que estos permiten obtener plantas vigorosas las mismas que por tener cualidades especiales, vigor y mayor resistencia de los plantones a las plagas y enfermedades, se desarrollan con más rapidez esto hace que los plantones reúnan rápidamente todas las características para ir al campo definitivo (González *et al.*, 2013). El futuro de una plantación está asegurado con la calidad de los plantones que se obtienen y para esto interesa mucho el tratamiento que se de en vivero (Ochoa y Licon, 2017).

Existen amplios antecedentes sobre los efectos de la fertilización biológica en diferentes aspectos de la producción de los cultivos. El género *Bacillus* se encuentra ampliamente distribuido en los agro-sistemas y una de sus principales aplicaciones es el control de enfermedades de cultivos agrícolas (Villarreal *et al.*, 2018), sin embargo algunas cepas de esta bacteria han puesto en evidencia su potencial biofertilizante.

Los miembros del género *Bacillus* desempeñan un papel dual en muchas actividades humanas. Por una parte, especies como *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* y *B. licheniformis*, se utilizan industrialmente en la producción de enzimas, antibióticos, disolventes y otras moléculas que podrían ser empleadas en la agricultura (Tejera *et al.*, 2011). Otras especies como *B. thuringiensis* son utilizadas en la protección de las cosechas de diferentes cultivos (Carreras *et al.*, 2009), por su capacidad de ser insecticidas naturales, mientras que *B. subtilis* tiene la capacidad de promover el crecimiento vegetal (Adesemoye *et al.*, 2008). Por otra parte, algunas especies como *B. anthracis* y *B. cereus* son patógenos de los animales y los humanos (Hoton *et al.*, 2005). Debido a la capacidad de formación de endosporas, este tipo de microorganismo puede tolerar condiciones adversas mejor que las bacterias no esporuladas enteropatógenas y pueden proliferar en una amplia variedad de ambientes incluidos el agua y los alimentos (Granum, 2001).

Calero (2019), evaluó el efecto entre microorganismos eficientes y Fitomas E en el incremento productivo del fréjol común en dos épocas de siembra. Desarrollaron dos experimentos fueron desarrollados, de octubre de 2014 a abril de 2015. Los tratamientos utilizados fueron: el control, inoculación y aplicaciones foliares de microorganismos eficientes, inoculación y aplicaciones foliares con Fitomas E y la asociación entre estos. Los indicadores evaluados fueron: el número de hojas por planta, materia seca, número legumbres por planta, granos por legumbre, masa de 100 granos y el rendimiento.

Los resultados obtenidos por el autor anterior mostraron que las mayores respuestas, fueron obtenidas en época de siembra intermedia y la producción de fréjol fue favorecida con la aplicación asociada entre microorganismos eficientes y Fitomas E, comparado con las formas individuales, porque aumentó el número de hojas por planta, masa seca, cantidad de legumbre por planta, promedio de granos por legumbre, la masa de 100 granos y producir 1090 kg.ha<sup>-1</sup> en época intermedia y 660 kg.ha<sup>-1</sup> en la tardía en relación al control.

En la variedad de fréjol Bat-304, Quintero *et al.* (2018), evaluaron el efecto de diferentes bioestimulantes sobre el incremento de los indicadores morfofisiológicos y productivos de este cultivar sembrado a 0.8 m entre surcos y 0.15 m entre plantas. Se evaluaron los siguientes tratamientos: Microorganismos Eficientes (ME-50), ME-Agitado y LEBAME, Fitomas E, Biobras-16<sup>®</sup> y un control (sin aplicación). Sus resultados mostraron que la aplicación foliar de los diferentes bioestimulantes incrementan los indicadores morfofisiológicos y de rendimiento evaluados. Los rendimientos fueron superiores cuando se aplican los bioestimulantes ME-50 que contiene *B. subtilis* B/23-45-10 Nato ( $5.4 \times 10^4$  ucf mL<sup>-1</sup>), *Lactobacillus bulgaricum* B/103-4-1 ( $3.6 \times 10^4$  ucf mL<sup>-1</sup>), y *Saccharomyces cerevisiae* L-25-7-12 ( $22.3 \times 10^5$  ucf mL<sup>-1</sup>) y Biobras-16<sup>®</sup>, con 2.01 y 2.00 t ha<sup>-1</sup> respectivamente.

# CAPÍTULO III



**MATERIALES  
Y MÉTODOS**



### 3.1. LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación se llevó a cabo en terrenos de la finca “La Rebeldía”, localizada en el Km. 1.5 de la vía Valencia – Chiipe, entre las coordenadas 0°57’39.0” latitud Sur y 79°20’53.7” longitud Oeste, a una altitud de 62 m.s.n.m. Las características climáticas del sitio experimental se presentan en la Tabla 1:

Tabla 1. Características climáticas del sitio experimental

Clima:	Tropical húmedo
Temperatura media anual:	24.8 °C
Precipitación:	2252.5 mm/año
Humedad relativa:	84%
Heliofanía:	894 horas/año

Fuente: Estación meteorológica Pichilingue, INAMHI, 2010 – 2020

### 3.2. TRATAMIENTOS EVALUADOS

Se evaluaron seis tratamientos conformados por cuatro dosis de Serenade (*B. subtilis* 1x10<sup>9</sup> UFC/g) y dos testigos:

T<sub>1</sub>: 500 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade

T<sub>2</sub>: 750 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade

T<sub>3</sub>: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade

T<sub>4</sub>: 1250 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade

T<sub>5</sub>: 1000 cc ha<sup>-1</sup> Evergreen (Testigo bioestimulante)

T<sub>6</sub>: Testigo sin fertilización

### 3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El ensayo se realizó bajo un diseño completamente al azar (DCA) con seis tratamientos en cuatro repeticiones, considerando como unidad experimental a 20 plantas agrupadas de acuerdo a cada tratamiento.

Las variables de respuesta fueron sometidas al correspondiente análisis de varianza (ADEVA), y se utilizó la prueba de Tukey ( $p \geq 0.05$ ) para la comparación de las medias de los tratamientos. La tabulación de los datos se llevó a cabo en Excel 2019, y el procesamiento estadístico en Infostat versión 2017.1.2.

### **3.4. MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO**

#### **3.4.1. PREPARACIÓN DEL TERRENO**

El lugar donde se ubicó el vivero fue de un área de 60 m<sup>2</sup>, se realizó la limpieza y eliminación de la maleza presente con la ayuda de machetes y rastrillos, y finalmente se niveló el terreno.

#### **3.4.2. ELABORACIÓN DEL SUSTRATO**

Una vez acopiado en montículos por separado cada uno de los insumos necesarios para la elaboración del sustrato (tierra, arena y aserrín de madera); y se tuvo en cuenta que a la tierra se le realiza el proceso de solarización; el cual consiste en exponer la tierra por un periodo de 3 a 4 días a plena exposición solar, y se realizaron volteos periódicos para luego cubrirla con plástico buscando así obtener una desinfección.

Para realizar la mezcla de los insumos con la ayuda de carretillas se preparó la composición que es de 3:1:1, tres carretillas de tierra (la cual es previamente cernida con un tamiz) por una de aserrín de madera (balsa u otro aserrín que no contenga taninos) y una de arena (de río). Con la ayuda de una pala manual se procedió a realizar la mezcla de cada insumo que conformó el sustrato buscando uniformizar y eliminar partículas no deseables como troncos, piedras y grumos entre otros.

#### **3.4.3. LLENADO DE FUNDAS**

Se utilizaron un total de 15 mazorcas de las cuales se extrajo un total de 480 semillas, es decir 32 semillas por mazorca, luego se procedió a llenar las fundas de polietileno de 6x8” de 2 mm de grosor perforadas, con 500 g de sustrato, se evitó dejar espacios de aire en las mismas. Posteriormente, se colocaron de acuerdo a las unidades experimentales.

#### **3.4.4. SIEMBRA**

Para el proceso de siembra, se seleccionaron las mejores semillas de las mazorcas de cacao nacional, para luego sembrarlas a 2 cm de profundidad en sus respectivas fundas de polietileno, teniendo en cuenta colocar el embrión hacia abajo para evitar problemas de germinación.

#### **3.4.5. RIEGO**

Esta labor se realizó cada 2 a 3 días para lo cual se utilizó una regadera para no provocar ningún daño a la planta.

### **3.4.6. FERTILIZACIÓN**

Se aplicó 5 g de fertilizante completo 8-20-20 a los 10 días de edad de las plántulas. Posteriormente se realizaron dos aplicaciones de los productos estudiados a los 20 y 40 días de edad de las mismas.

### **3.4.7. CONTROL DE MALEZAS**

Se realizaron controles de malezas manualmente con la finalidad de causar el menor daño en las plántulas y evitar la competencia nutricional con las mismas.

### **3.4.8. CONTROL DE PLAGAS Y ENFERMEDADES**

Para el control de insectos plagas se utilizó alternadamente Kohinor 350 SC (Imidacloprid) en dosis de  $0.5 \text{ L ha}^{-1}$  y Pynrex 48 EC (Clorpirifos) en dosis de  $200 \text{ cc ha}^{-1}$ , mientras que para el control de enfermedades se aplicará Mancosol 80 (Mancozeb) en dosis de  $1.5 \text{ L ha}^{-1}$  que se alternará con Ridomil Gold 68 WG (Metalaxil+Mancozeb) en dosis de  $0.5 \text{ kg ha}^{-1}$ .

## **3.5. VARIABLES EVALUADAS**

### **3.5.1 ALTURA DE PLANTA (CM)**

Para la evaluación de esta variable, a los 30, 50 y 70 días, se tomaron 10 plantas al azar por cada tratamiento, las cuales se medirán con la ayuda de una cinta métrica desde el suelo hasta el ápice de la hoja más joven.

### **3.5.2. DIÁMETRO DEL TALLO (MM)**

El diámetro del tallo se midió con un calibrador pie de rey a los 30, 50 y 70 días después de la siembra, en 10 plantas tomadas al azar por cada tratamiento.

### **3.5.3. NÚMERO DE HOJAS**

A los 30, 50 y 70 días se contabilizó el número de hojas tomando 10 plantas al azar por cada tratamiento.

### **3.5.4. ÁREA FOLIAR**

Se siguió la metodología utilizada por Valenzuela (2018), se tomaron fotografías con cámara digital a las hojas de 10 plantas al azar por cada unidad experimental a los 40 días de edad de las plántulas. Posteriormente se procesaron con ayuda del programa Image J versión 1.52v desarrollado por el National Institutes of Health (2020) para estimar el área foliar.

### 3.5.5. SOBREVIVENCIA (%)

Se realizó un conteo del número de plantas existentes en cada unidad experimental al final del ensayo, para posteriormente determinar el porcentaje de sobrevivencia mediante la fórmula utilizada por Álvarez y Lara (2008), se calculó la relación porcentual del número de plántulas vivas por el número de semillas sembradas por cada unidad experimental:

$$\text{Sobrevivencia (\%)} = \text{NPV}/\text{NPE} \cdot 100$$

Dónde:

NPV: Número de plántulas vivas

NPE: Número de plántulas emergidas

### 3.5.6. LONGITUD DE RAÍZ (CM)

Por cada tratamiento se tomaron tres plantas al azar y se midió la longitud de su raíz a los 30, 50 y 70 días.

### 3.5.7. VOLUMEN DE LA RAÍZ (CC)

Para determinar el volumen de la raíz, se dejó completamente desnuda la raíz sin tallo. Se utilizó una probeta con una capacidad de 1000 ml, al cual se le agregó 800 ml de agua destilada, sobre la cual se sumergió la raíz completamente, se obtuvo el volumen de la raíz por desplazamiento del líquido.

### 3.5.8. ANÁLISIS ECONÓMICO

El análisis económico se realizó sobre la base de los costos de cada uno de los tratamientos estudiados, y el ingreso generado por la venta de 1000 plántulas, para luego hallar la relación beneficio/costo utilizando la fórmula:

$$\text{B/C} = \text{I.B.} / \text{C.T.P.}$$

Dónde:

B/C: Relación beneficio – costo

I.B.: Ingreso bruto

C.T.P.: Costo total de producción

# CAPÍTULO IV



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN



#### 4.1. ALTURA DE PLÁNTULAS

En la Tabla 2 se presentan los promedios de la altura de plántulas de cacao en fase de vivero en respuesta a la aplicación de fertilización biológica a los 30, 50 y 70 días después de la siembra. En las tres evaluaciones se pudo apreciar que los tratamientos alcanzaron alta significancia estadística, con coeficientes de variación de 6.02, 11.07 y 8.27%, respectivamente.

Cuando las plántulas tuvieron 30 días de edad, la mayor altura se registró en T5: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Evergreen, con 17.34 ± 0.30 cm, mostrando diferencias significativas respecto a los demás tratamientos que registraron altura de plántula entre 14.24 ± 0.32 y 17.03 ± 0.17 cm. La menor altura de plántulas se presentó en T6: Testigo sin fertilización.

Con la aplicación de T5: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Evergreen se obtuvieron plántulas de mayor altura a los 50 días de edad, con 22.56 ± 0.51 cm, exhibiendo diferencias significativas respecto a los demás tratamientos que presentaron promedios entre 19.41 ± 0.45 y 22.32 ± 0.40 cm, correspondiendo la menor altura al T6: Testigo sin fertilización.

A los 70 días después de la siembra, las plántulas alcanzaron mayor altura con T5: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Evergreen, con 28.25 ± 0.57 cm, superando estadísticamente a los demás tratamientos que registraron altura promedio entre 25.09 ± 0.55 y 27.94 ± 0.59 cm. Con T6: Testigo sin fertilización se obtuvieron las plántulas de menor altura.

Tabla 2. Altura de plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero

Tratamientos	Altura de plántulas (cm)		
	30 días después de la siembra	50 días después de la siembra	70 días después de la siembra
T <sub>1</sub> : 500 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	15.32 ± 0.19 d	20.40 ± 0.47 d	26.11 ± 0.58 d
T <sub>2</sub> : 750 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	15.36 ± 0.16 d	20.47 ± 0.45 d	26.18 ± 0.61 d

T <sub>3</sub> : 1000 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	16.23 ± 0.27	c	21.32 ± 0.51	c	26.94 ± 0.64	c
T <sub>4</sub> : 1250 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	17.03 ± 0.17	b	22.32 ± 0.40	b	27.94 ± 0.59	b
T <sub>5</sub> : 1000 cc ha <sup>-1</sup> de Evergreen	17.34 ± 0.30	a	22.56 ± 0.52	a	28.25 ± 0.57	a
T <sub>6</sub> : Testigo sin fertilización	14.24 ± 0.32	e	19.41 ± 0.45	e	25.09 ± 0.55	e
Promedio	15.92 ± 1.09		21.08 ± 1.14		26.75 ± 1.13	
Coefficiente de variación (%)	6.02		11.07		8.27	

Promedios con la misma letra en cada grupo de datos ni difieren estadísticamente según a prueba de Tukey ( $p \geq 0.05$ )

## 4.2. DIÁMETRO DEL TALLO

Los promedios del diámetro del tallo en plántulas de cacao a los 30, 50 y 70 días después de la siembra en etapa de vivero en respuesta a los tratamientos estudiados se presentan en la Tabla 3.

El análisis de varianza determinó que los tratamientos estudiados alcanzaron alta significancia estadísticas para las evaluaciones a los 30, 50 y 70 días después de la siembra. Los coeficientes de variación fueron 11.23, 8.71 y 11.69%, en su orden.

A los 30 días después de la siembra, al aplicarse T5: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Evergreen se obtuvieron plántulas con mayor diámetro del tallo, con  $13.54 \pm 0.18$  mm, mostrando diferencias significativas por encima de los demás tratamientos que registraron valores entre  $12.15 \pm 0.21$  y  $13.39 \pm 0.14$  mm. Las plántulas con menor diámetro del tallo se presentaron en T6: Testigo sin fertilización.

La aplicación de T5: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Evergreen produjo plántulas con mayor diámetro del tallo a los 50 días, con  $16.21 \pm 0.23$  cm, superando estadísticamente a los tratamientos restantes que presentaron promedios entre  $14.78 \pm 0.26$  y  $15.98 \pm 0.24$  mm. En T6: Testigo sin fertilización, se presentó el menor promedio de diámetro del tallo en esta evaluación.

En el tratamiento T5: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Evergreen se apreciaron las plántulas con mayor diámetro del tallo, con 22.56 ± 0.27 mm, registrando diferencias significativas respecto a los demás tratamientos que presentaron valores entre 19.41 ± 0.31 y 22.32 ± 0.27 mm. El menor promedio se observó en T6: Testigo sin fertilización.

Tabla 3. Diámetro del tallo en plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero

Tratamientos	Diámetro del tallo (mm)					
	30 días después de la siembra		50 días después de la siembra		70 días después de la siembra	
T <sub>1</sub> : 500 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	12.61 ± 0.17	d	15.28 ± 0.20	d	20.40 ± 0.33	d
T <sub>2</sub> : 750 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	12.58 ± 0.15	d	15.19 ± 0.29	d	20.47 ± 0.35	d
T <sub>3</sub> : 1000 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	13.18 ± 0.19	c	15.82 ± 0.27	c	21.32 ± 0.33	c
T <sub>4</sub> : 1250 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	13.39 ± 0.14	b	15.98 ± 0.24	b	22.32 ± 0.27	b
T <sub>5</sub> : 1000 cc ha <sup>-1</sup> de Evergreen	13.54 ± 0.18	a	16.21 ± 0.23	a	22.56 ± 0.27	a
T <sub>6</sub> : Testigo sin fertilización	12.15 ± 0.21	e	14.78 ± 0.26	e	19.41 ± 0.31	e
Promedio	12.91 ± 0.51		15.54 ± 0.51		21.08 ± 1.14	
Coefficiente de variación (%)	11.23		8.71		11.69	

Promedios con la misma letra en cada grupo de datos ni difieren estadísticamente según a prueba de Tukey (p≥0.05)

### 4.3. NÚMERO DE HOJAS POR PLÁNTULA

En la Tabla 4, se presentan los promedios del número de hojas por plántula de cacao en fase de vivero en respuesta a los tratamientos estudiados. En

ninguna de las evaluaciones se observó que los tratamientos alcanzaron significancia estadística. Los coeficientes de variación fueron de 8.54, 7.77 y 14.11 en las evaluaciones a los 30, 50 y 70 días, respectivamente.

A los 30 días de edad de las plántulas, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos estudiados, evidenciándose entre  $3.40 \pm 0.53$  y  $3.68 \pm 0.52$  hojas por plántula. El mayor número de hojas por plántula se registró en T4: 1250 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade, mientras que el menor promedio se obtuvo en T6: Testigo sin fertilización.

En la evaluación a los 50 días después de la siembra se observó que los tratamientos no mostraron diferencias significativas entre sí, con promedios entre  $4.80 \pm 0.71$  y  $5.15 \pm 0.75$  hojas por plántula. El mayor promedio se obtuvo en T4: 1250 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade, mientras que el menor número de hojas por plántula se registró en T2: 750 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade.

Cuando las plántulas alcanzaron los 70 días de edad de las plántulas, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos estudiados, evidenciándose entre  $6.35 \pm 0.78$  y  $6.85 \pm 0.90$  hojas por plántula. El mayor número de hojas por plántula se registró en T4: 1250 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade, mientras que el menor promedio se obtuvo en T5: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Evergreen.

Tabla 4. Número de hojas por plántula de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero

Tratamientos	Número de hojas por plántula					
	30 días después de la siembra		50 días después de la siembra		70 días después de la siembra	
T <sub>1</sub> : 500 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	3.55 ± 0.48	a	5.13 ± 0.65	a	6.65 ± 0.85	a
T <sub>2</sub> : 750 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	3.40 ± 0.47	a	4.80 ± 0.71	a	6.38 ± 0.88	a
T <sub>3</sub> : 1000 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	3.53 ± 0.50	a	5.05 ± 0.76	a	6.43 ± 0.98	a
T <sub>4</sub> : 1250 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	3.68 ± 0.52	a	5.15 ± 0.75	a	6.85 ± 0.90	a
T <sub>5</sub> : 1000 cc ha <sup>-1</sup> de Evergreen	3.50 ± 0.49	a	4.88 ± 0.67	a	6.35 ± 0.78	a

T <sub>6</sub> : Testigo sin fertilización	3.40 ± 0.53	a	5.08 ± 0.71	a	6.60 ± 0.09	a
Promedio	3.51 ± 0.15		5.01 ± 0.23		6.54 ± 0.31	
Coefficiente de variación (%)	8.54		7.77		14.11	

Promedios con la misma letra en cada grupo de datos ni difieren estadísticamente según a prueba de Tukey ( $p \geq 0.05$ )

#### 4.4. ÁREA FOLIAR

Los promedios del área foliar de las plántulas de cacao en fase de vivero en respuesta a los tratamientos estudiados se presentan en la Figura 1. Los tratamientos mostraron alta significancia estadística, registrando un coeficiente de variación de 13.41%. Con T4: 1250 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade se registró la mayor área foliar, con  $463.88 \pm 67.63$  cm<sup>2</sup>, en ausencia de diferencias significativas con T5: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Evergreen que mostró plántulas con área foliar promedio de  $453.24 \pm 61.95$  cm<sup>2</sup>. Los mencionados tratamientos se ubicaron por encima de los demás que registraron valores entre  $360.25 \pm 51.01$  y  $433.30 \pm 65.04$  cm<sup>2</sup>. La menor área foliar se presentó en T6: Testigo sin fertilización.

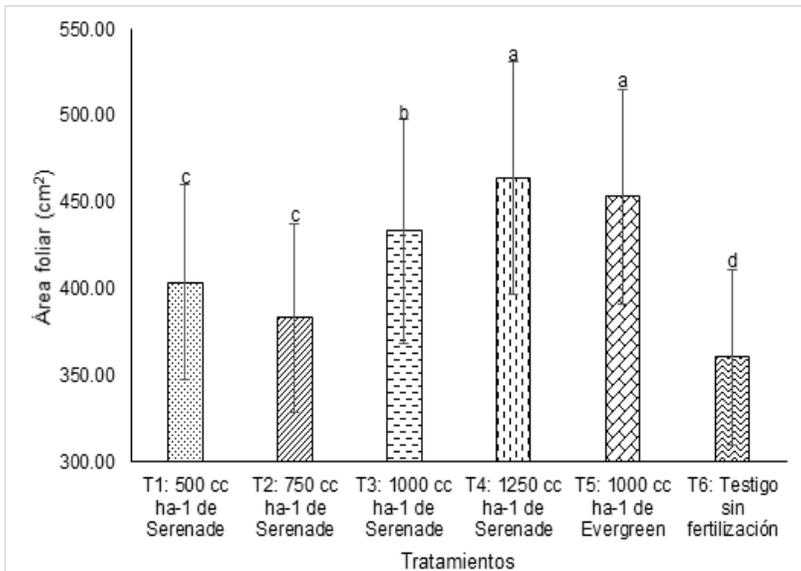


Figura 1. Área foliar en plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero. Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $p \geq 0.05$ )

#### 4.5. SOBREVIVENCIA

En la Figura 2 se presentan los promedios del porcentaje de sobrevivencia de plántulas de cacao en fase de vivero en respuesta a los tratamientos estudiados. El análisis de varianza reflejó que los tratamientos alcanzaron alta significancia estadística, con un coeficiente de variación de 6.37 %.

En el tratamiento T5: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Evergreen se registró mayor porcentaje de sobrevivencia, con 91.25 ± 4.79%, sin diferir estadísticamente T4: 1250 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade y T3: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade, que presentaron valores de 88.75 ± 7.50 y 80.00 ± 4.08%. Estos tratamientos mostraron diferencias significativas respecto a los tratamientos restantes que registraron promedios de sobrevivencia entre 66.25 ± 4.79 y 72.50 ± 6.45%. El menor porcentaje de sobrevivencia se registró en T6: Testigo sin fertilización.

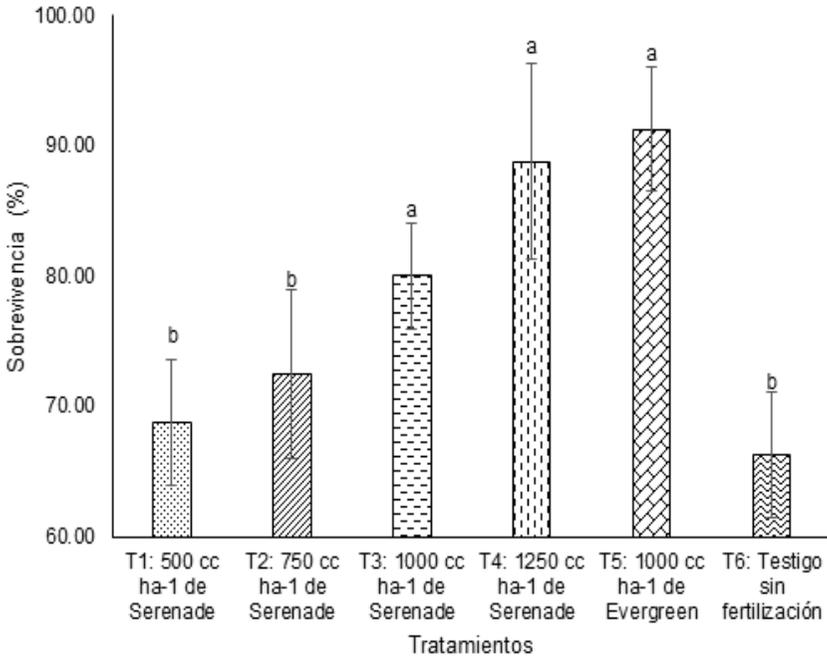


Figura 2. Sobrevivencia de plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero. Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $p \geq 0.05$ )

#### 4.6. LONGITUD RADICULAR

Los promedios de la longitud radicular de las plántulas de cacao en fase de

vivero se presentan en la Tabla 3. Los tratamientos alcanzaron alta significancia estadística, con un coeficiente de variación de 13.11%. En el tratamiento T5: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Evergreen se presentó la mayor longitud radicular, con  $22.72 \pm 0.42$  cm, en igualdad estadística con T4: 1250 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade que presentó plantas con longitud radicular promedio de  $22.44 \pm 0.32$  cm. Estos tratamientos superaron significativamente a los demás tratamientos que registraron valores entre  $19.58 \pm 0.39$  y  $21.50 \pm 0.42$  cm. Las plántulas con menor longitud radicular se obtuvieron en T6: Testigo sin fertilización.

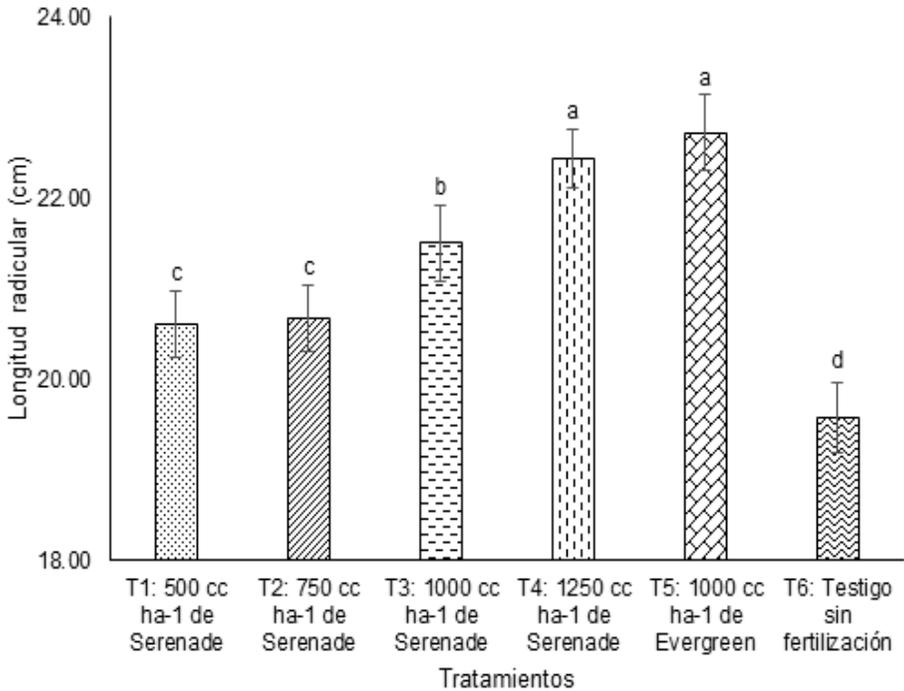


Figura 3. Longitud radicular en plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero. Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $p \geq 0.05$ )

#### 4.7. VOLUMEN RADICULAR

La respuesta del volumen radicular de las plántulas de cacao en fase de vivero por efecto de los tratamientos estudiados se presenta en la Figura 4. Los tratamientos alcanzaron alta significancia estadística, siendo el coeficiente de variación de 7.28%.

En el tratamiento T5: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Evergreen se registró mayor volumen radicular, con  $3.42 \pm 0.24$  cm<sup>3</sup>, sin diferir estadísticamente de T4: 1250 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade y T3: 1000 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade, que registraron valores de  $3.36 \pm 0.21$  y  $3.20 \pm 0.22$  cm<sup>3</sup>. Estos tratamientos mostraron diferencias significativas respecto a los demás tratamientos que registraron promedios entre  $3.16 \pm 0.23$  y  $3.23 \pm 0.19$ . En T6: Testigo sin fertilización se registró el menor volumen radicular.

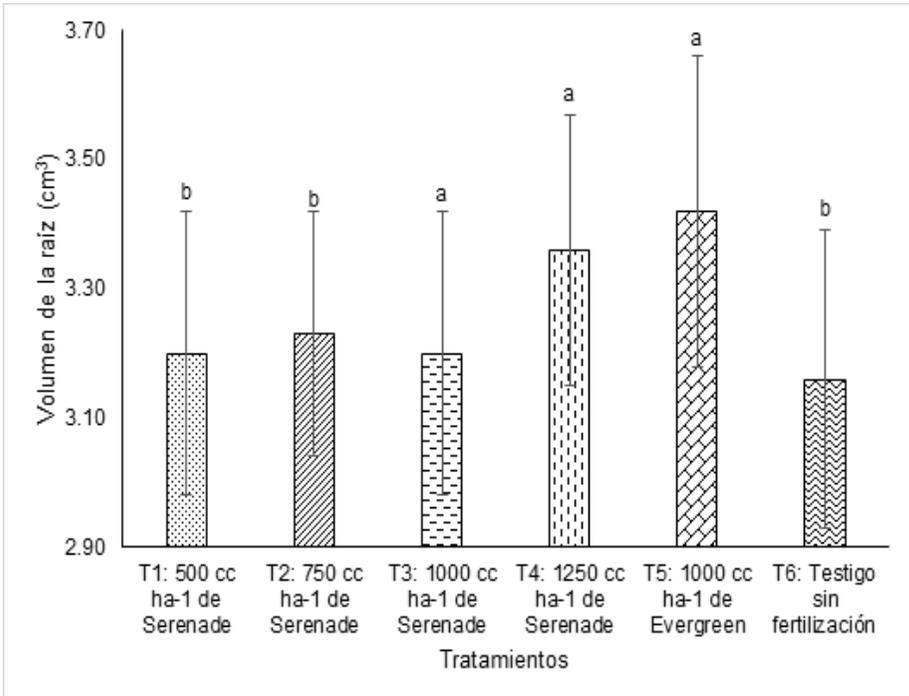


Figura 4. Volumen radicular en plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero. Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey ( $p \geq 0.05$ )

#### 4.8. ANÁLISIS ECONÓMICO

En la Tabla 5, se presenta el análisis económico de los tratamientos estudiados en función de la producción de 1000 plántulas de cacao. Con T5:1000 cc ha<sup>-1</sup> Evergreen, se produjo la mayor cantidad de plántulas, con 912.00 plántulas, a consecuencia de un mayor porcentaje de sobrevivencia. Con el mencionado tratamiento se registró mayor rentabilidad, con 79.25%, con una relación B/C de 1.79, lo que se traduce en una utilidad de \$ 0.79

por cada dólar invertido, a un costo de tratamiento de \$ 22.40, con un costo variable de \$ 109.44, reflejando un costo total de \$ 279.84. El tratamiento T4: 1250 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade se ubicó por debajo, con una rentabilidad de 72.27%, con una relación B/C de 1.72, lo que significa que por cada dólar invertido se obtiene una ganancia de \$ 0.72.

Tabla 5. Análisis económico de la producción de 1000 plántulas de cacao en respuesta a la fertilización biológica a base de *B. subtilis* en fase de vivero

Tratamientos	Sobrevivencia	Plantas producidas	Ingreso bruto (\$)	Costo Variable (\$)	Costo del tratamiento (\$)	Costo total (\$)	Ingreso neto (\$)	B/C	Rentabilidad (%)
T <sub>1</sub> : 500 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	68.75	687.00	377.85	82.44	11.50	241.94	135.91	1.56	56.18
T <sub>2</sub> : 750 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	72.50	725.00	398.75	87.00	17.25	252.25	146.50	1.58	58.08
T <sub>3</sub> : 1000 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	80.00	800.00	440.00	96.00	23.00	267.00	173.00	1.65	64.79
T <sub>4</sub> : 1250 cc ha <sup>-1</sup> de Serenade	88.75	887.00	487.85	106.44	28.75	283.19	204.66	1.72	72.27
T <sub>5</sub> : 1000 cc ha <sup>-1</sup> Evergreen	91.25	912.00	501.60	109.44	22.40	279.84	221.76	1.79	79.25
T <sub>6</sub> : Testigo sin fertilización	66.25	662.00	364.10	79.44	0.00	227.44	136.66	1.60	60.09

Costo fijo	\$ 148.00
Precio de venta	\$ 0.55
Costo variable	\$ 0.12
Costo Serenade	\$ 23.00
Costo Evergreen	\$ 22.40

## DISCUSIÓN

Los resultados de la presente investigación aportan hallazgos importantes en el campo de la aplicación de fertilización biológica en el cultivo de cacao a nivel de vivero. De esta manera se provee información que permite identificar los beneficios de la fertilización a base de *B. subtilis* tanto a la resistencia de plántulas en esta etapa, así como en la promoción del crecimiento y desarrollo de las mismas. La marcada diferencia significativa observada en el crecimiento de las plántulas muestra que a pesar de que Evergreen mostró plántulas de mayor altura, al aplicarse el bioestimulante a base de *B. subtilis* fue posible obtener plántulas con altura cercana a este bioestimulante el cual es uno de los de mayor uso en la agricultura ecuatoriana, sin embargo, es preciso indicar que la aplicación de la dosis de 1250 cc ha<sup>-1</sup> se destacó entre las dosis de Serenade. Esto posiblemente muestra que *B. subtilis* en una dosis adecuada podría estimular el crecimiento de plántulas, lo que concuerda con Calvo & Zúñiga (2010), quien sostiene que bacterias del género *Bacillus* se han encontrado, quien sostiene que como habitantes de la rizosfera de plantas de papa y se ha demostrado su papel como promotoras del crecimiento vegetal al inocular tubérculos (Alvarado *et al.*, 2015).

Generalmente se ha asociado a la cepa QST-713 de *B. subtilis*, la cual es el componente activo de Serenade, como agente de biocontrol de patógenos como: *Phytophthora capsici* en ají (De La Cruz *et al.*, 2016), *Botrytis cinerea* y *Uncinula necator* en uva de mesa (Muñoz, 2015), y patógenos de los géneros *Pseudomonas* y *Xanthomonas* (Maeso *et al.*, 2016). Sin embargo, en el presente estudio, también se puede relacionar a esta cepa del mencionado microorganismo como promotora del crecimiento de plántulas de cacao. Esto concuerda con reportes de la literatura científica que describen a *B. subtilis* como una rizobacteria promotora del crecimiento vegetal por la producción de metabolitos como auxinas, sideróforos, ácidos orgánicos y antibióticos (Alcedo y Reyes, 2018), no obstante, se ha reportado que todas las cepas de *B. subtilis* tienen el mismo efecto promotor de crecimiento, aun cuando pudieran producir distintas concentraciones de metabolitos promotores de crecimiento (Anguiano *et al.*, 2019).

Lo descrito anteriormente, aporta mayor peso a la idea de que la cepa QST-713 de *B. subtilis* interviene en el engrose del tallo, evidenciándose un efecto similar al observado en el crecimiento de las plántulas de cacao, de manera que con 1250 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade, las plántulas exhibieron características aceptables en comparación con aquellas tratadas con 1000 cc ha<sup>-1</sup> de

Evergreen, y considerablemente mejores resultados que el testigo. Estos resultados concuerdan con los observados por Lara *et al.* (2020), quienes en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L.), al tratar las plantas con *B. subtilis*, observaron plantas de 11.23 % más altas y con tallos de 29.27% más gruesos que aquellas fertilizadas con 12 g de fosfato diamónico (18-46-00) y de 12-12-17+2MgO cada 10 días después del trasplante y los siguientes fertilizantes foliares: 7.2 g L-1 Nitrosol (cada 8 días (de los 20 hasta los 40 ddt), 5 g L-1 de Syntek y Ca-Bo cada 8 días (de los 40 hasta los 90 ddt).

Además, es importante destacar un aspecto importante de Serenade, el cual es la capacidad de *B. subtilis* para producir ácidos orgánicos de bajo peso molecular que permiten la liberación del fósforo soluble del suelo, este macro-elemento es utilizado por las plantas para su fotosíntesis, energía y síntesis y degradación de fuentes de carbono que les permite alcanzar un mayor crecimiento vegetal (Wang *et al.*, 2019), que se ve traducido en plantas de mayor altura, cuyos órganos también experimentan un mayor desarrollo (Roychowdhury *et al.*, 2017).

Por otra parte, la inexistencia de diferencias significativas entre los tratamientos estudiados en cuanto a la emisión foliar, permite especular que posiblemente las dosis tanto del producto a base de *B. subtilis*, así como la de Evergreen, no generó un efecto notorio en este evento del ciclo de vida de las plántulas de cacao, pero si se observó un mayor desarrollo de las hojas, de manera que el área foliar fue notablemente superior en los tratamientos de Evergreen y de 1250 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade. Con esto se puede indicar que el tiempo de evaluación fue muy corto como para poder observar emisiones foliares notables, pero el desarrollo de las hojas aporta con información destacada sobre el efecto de estos tratamientos en esta variable (Soni y Kapoor, 2019). De esto es prudente acotar que posiblemente *B. subtilis* interviene en el proceso de elongación de las células, como parte de los eventos fisiológicos a los que aporta, lo que ayudó a la obtención de resultados que se acerquen a los obtenidos con la fertilización sintética representada por el bioestimulante Evergreen, el cual se caracteriza por ser uno de los de mayor uso, con resultados observados cultivos como maíz, arroz, pepino, pimiento y otras hortalizas (Gonzales, 2011; Zamora, 2015; Alarcón, 2016).

Entre las características del género *Bacillus* destaca su crecimiento aerobio o en ocasiones anaerobio facultativo, cuyo crecimiento óptimo ocurre a pH neutro, presentando un amplio intervalo de temperaturas

de crecimiento (Falardeau *et al.*, 2013), aunque la mayoría de las especies son mesófilas (temperatura entre 30 y 45 °C), su diversidad metabólica asociada a la promoción del crecimiento vegetal y control de patógenos (Errigton, 2003); además destaca su capacidad de producir endosporas (ovales o cilíndricas) como mecanismo de resistencia a diversos tipos de estrés (Calvo y Zúñiga, 2010; Layton *et al.*, 2011; Tejera *et al.*, 2011). Esto podría ser un factor que podría haber ayudado a una mayor sobrevivencia de plántulas al aplicarse la dosis más alta del producto a base de *B. subtilis*, con lo que se puede contribuir a un mayor aprovechamiento de las plántulas provenientes del vivero (Osorio *et al.*, 2017), lo que a su vez aportaría a una mayor adaptabilidad en campo abierto (Mokany *et al.*, 2006), y una mayor resistencia de las condiciones del medio (Angulo *et al.*, 2021).

Los indicadores de desarrollo radicular mostraron que es factible aplicar 12500 cc ha<sup>-1</sup> de Serenade para la producción de plántulas de cacao en fase de vivero, de manera que tanto el crecimiento como el volumen radicular, exhibieron promedios cercanos a los obtenidos con Evergreen, lo que refleja que es viable sustituir progresivamente las fuentes de fertilización sintéticas en esta fase del proceso de producción de cacao. Además, al observarse los indicadores tanto de la parte aérea como radicular de las plántulas, se fundamenta que ayudan a una mayor sobrevivencia, lo que a su vez ayudaría a la obtención de mayor nivel de rentabilidad. La rentabilidad obtenida, justifica el costo de los tratamientos a base de *B. subtilis*, a la vez que se salvaguarda el equilibrio del medio ambiente a través de una producción más limpia, lo que a futuro podría ayudar a darle valor agregado a la producción cacaotera (Padilla, 2010), sin embargo, es imprescindible que se realice estudios a nivel de campo que fundamenten el efecto de este fertilizante biológico de manera que se identifique el efecto en ambas fases de la producción cacaotera.

*B. subtilis* produce metabolitos como citoquininas, sideróforos, auxinas, antibióticos, entre otros. Las citoquininas pueden ser producidas endógenamente por la planta, pero la adición exógena de citoquininas aumenta el proceso de crecimiento (Arkhipova *et al.*, 2005). Las funciones de las citoquininas son la inducción de la actividad amilasa y proteasa y la síntesis de auxinas (Mantilla, 2007). Mientras tanto, los sideróforos quelan el hierro ambiental y lo hacen más asequible para las plantas (Abdel, 2013). Algunos sideróforos se consideran antibióticos porque limitan el hierro para el crecimiento de patógenos (Aguado *et al.*, 2012). El ácido 3-indólico

acético (IAA), una de las auxinas más importantes, controla el proceso como la división celular, la diferenciación del tejido vascular, la formación del dominio apical y el desarrollo del órgano (Blakeslee y Murphy, 2005; Tsavkelova *et al.*, 2006). En cuanto a los antibióticos, *B. subtilis* es capaz de producir más de una docena de antibióticos con una gran diversidad de estructuras químicas, entre ellos surfactina, iturina A y bacillibactina, los cuales son capaces de controlar el crecimiento de patógenos (Stein, 2005).

No obstante, autores como Bharucha y Patel (2013) y Buensanteai *et al.* (2008) han señalado que la promoción del crecimiento depende del equilibrio entre las auxinas y otras fitohormonas (Buensanteai *et al.*, 2008). La presencia de triptófano, ácido jasmónico y sideróforos en el medio de cultivo puede mejorar la producción de auxinas (Bharucha y Patel, 2013), y por lo tanto regular la promoción de crecimiento (Muñoz, 2015).



# CAPÍTULO V



## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



## CONCLUSIONES

---

- La dosis de 1250 cc ha-1 de Serenade aplicada a las plántulas de cacao, se destacó entre las demás dosis de manera que permitió la obtención de plántulas con altura y tallos de grosor, cuyos promedios se acercaron más a los obtenidos con 1000 cc ha-1 Evergreen, por lo que podría usarse para reemplazar a este bioestimulante cuyo uso es ampliamente distribuido.
- Los tratamientos estudiados no condicionaron la emisión foliar de las plántulas de cacao, sin embargo, el área foliar fue mayor a aplicarse 1000 cc ha-1 Evergreen y 1250 cc ha-1 de Serenade, cuyos promedios no difirieron significativamente, observándose una tendencia similar en el desarrollo radicular.
- Con la aplicación de 1000 cc ha-1 Evergreen se obtuvo mayor nivel de rentabilidad económica, sin embargo, con la aplicación de 1250 cc ha-1 de Serenade se obtuvo un nivel de rentabilidad similar, a consecuencia de la obtención de similares porcentajes de sobrevivencia de plántulas.

## RECOMENDACIONES

---

- Considerar el uso de la dosis de 1250 cc ha<sup>-1</sup> el producto a base de *B. subtilis* Serenade para la biofertilización de plántulas de cacao, puesto que en este estudio mostró resultados alentadores.
- Replicar el presente estudio en otro material genético de cacao de manera que se puedan identificar variaciones o similitudes en los resultados obtenidos en respuesta a la aplicación del producto a base de *B. subtilis*.
- Realizar estudios de la aplicación de distintas dosis a nivel de campo con el producto a base de *B. subtilis* a fin de identificar el efecto de este producto bajo las condiciones ambientales.
- Evaluar otras dosis del producto a base de *B. subtilis* con la finalidad de cuantificar la respuesta de plántulas de cacao a mayores dosis

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- Abdel-Aziz, E. (2013). Extracellular Metabolites produced by a novel strain, *Bacillus alvei* NRC-14:5. Multiple plant-growth promoting properties. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 3(1), 670-682.
- Adesemoye, A., Obini, M., & Ugoji, E. (2008). Comparison of plant growth-promotion with *Pseudomonas aeruginosa* and *B. subtilis* in three vegetables. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39, 423-426.
- Aguado-Santacruz, G., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E., & Preciado-Ortiz, R. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosidéforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 9-21.
- Alarcón-Terán, A. (2016). Respuesta del cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) a la aplicación de tres dosis de evergreen y biosil, en condiciones de secano en la zona de Mocache. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo-Ecuador. 83 p.
- Albán, D. (2011). Estructura y dinámica de las exportaciones de cacao ecuatoriano en el período 2007-2010. Universidad de Guayaquil. Guayaquil-Ecuador. 102 p.
- Alcedo, Y., & Reyes, I. (2018). Microorganismos promotores de crecimiento en el biocontrol de *Alternaria alternata* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Bioagro*, 30(1), 59-66.
- Alvarado-Capó, Y., Leiva-Mora, M., Cruz-Martín, M., Mena, E., Acosta-Suárez, M., Roque, B., . . . Padrón, L. (2015). Efecto de *Bacillus* spp. sobre el crecimiento y rendimiento agrícola de plantas in vitro de papa cv. 'Romano' en casa de cultivo. *Biotecnología Vegetal*, 15(2), 115-122.
- Álvarez, C., & Lara, A. (2008). Crecimiento de una plantación joven en fajas con especies nativas en la Cordillera de Los Andes de la provincia de Valdivia. *Bosque (Valdivia)*, 29(3), 181-191.
- Álvarez, J., & Mendoza, L. (2013). Evaluación de la cosecha inicial de

- cuatro clones de cacao (*Theobroma cacao* L.), en Asociación con Fernán Sánchez (*Triplaris cumingiana* F.) y Teca (*Tectona grandis* L.). Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo-Ecuador. 106 p.
- Andino, J., Espinosa, J., Mite, F., Cedeño, S., & Barriga, S. (2005). Manejo por sitio específico del cacao basado en sistemas de información geográfica. INIAP, Estación Experimental Pichilingue. Quevedo, Ecuador.
- Anguiano, J., Flores, A., Olalde, V., Arredondo, R., & Laredo, E. (2019). Evaluación de cepas de *B. subtilis* como promotoras de crecimiento vegetal. *Revista BioCiencias*, 6: e418.
- Angulo-Villacorta, C., Mathios-Flores, M., Racchumi-García, A., Bardales-Lozano, R., & Ayala-Montejo, D. (2021). Crecimiento de plántulas de cacao (*Theobroma cacao*) en vivero, usando diferentes volúmenes de sustrato. *Manglar*, 18(3), 261-266.
- Arguello, O., Mejía, L., & Palencia, C. (2000). Origen y descripción botánica. En *Tecnología para el mejoramiento de sistemas de producción de cacao*. Corpoica. Bucaramanga-Colombia. 10-12 pp.
- Arkhipova, T., Veselov, S., Melentiev, A., Martynenko, E., & Kudoyarova, G. (2005). Ability of bacterium *B. subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant and Soil*, 272, 201-209.
- Armijos, A. (2015). Validación de tres métodos de propagación en cacao (*Theobroma cacao* L.) nacional y trinitario en la Finca Experimental La Represa, UTEQ. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo-Ecuador. 88 p.
- Arpide, J. (2007). Los tipos de cacao. Obtenido de <http://www.afuegolento.com/articulos/17/los-tipos-de-cacao>
- Barry Callebaut. (2017). Barry Callebaut helps cocoa farmers improve productivity and sustainability. <https://www.barry-callebaut.com/sustainability/cocoa-sustainability/increasing-productivity>
- Bharucha, U., & Patel, K. (2013). Optimization of Indole Acetic Acid production by *Pseudomonas putida* UB1 and its effect as plant growth-promoting rhizobacteria on mustard (*Brassica nigra*). *Investigacion Agricola*, 2(3), 215-221.
- Blakeslee, J., & Murphy, A. (2005). mdr/PGP Auxin transport proteins and endocytic cycling. *Plant Endocytosis*, 1, 159-176.

- Buensanteai, N., Yuen, G., & Prathuangwong, S. (2008). The biocontrol bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 produces auxin, surfactin and extracellular proteins for enhanced growth of soybean plant. *Thai Journal of Agricultural Science*, 41(3-4), 10.
- Calero-Hurtado, A., Quintero-Rodríguez, E., Pérez-Díaz, Y., Olivera-Viciedo, D., Peña-Calzada, K., & Jiménez-Hernández, J. (2019). Efecto entre microorganismos eficientes y Fitomas-E en el incremento agroproductivo del frijol. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 17(1), 25-33.
- Calvo, P., & Zúñiga, D. (2010). Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la rizósfera de papa (*Solanum tuberosum*). *Ecología Aplicada*, 9, 31-39.
- Cargill. (2017). Understanding productivity: Improving farm productivity through improving livelihoods. <http://www.cargillcocoachocolate.com/sustainability/understanding-productivity/index.htm>
- Carreras, B., Rodríguez, D., & Piedra, F. (2009). Evaluación de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* Berliner para el control de *Heliothis virescens* Fabricius en el cultivo del tabaco en Cuba. *Fitosanidad*, 13(4), 277-80.
- Carrión, J. (2012). Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN-51, Jama-Manabí. Universidad San Francisco de Quito. Quito-Ecuador. 65 p.
- Carrión, J. (2012). Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN-51, Jama-Manabí. Tesis de grado presentado como requisito para la obtención del título de Ingeniero en Agroempresas. Universidad San Francisco de Quito. Quito-Ecuador. 65 p.
- Castro, L., Gómez, R., & Vignati, F. (2018). Observatorio del Cacao Fino y de Aroma para América Latina. Banco de Desarrollo de América Latina. Caracas-Venezuela. 19 p
- Cedeño, S. (2004). El gran cacao CCN-51. APROCAFA (Asociación de Productores de Cacao Fino y de Aroma. Ecuador. 23 p.
- Cevallos, J. (2011). Producción y comercialización cacao en el Ecuador período 2009 – 2010. Universidad de Guayaquil. Guayaquil-Ecuador. 87 p.
- Chávez, G., Olaya Cum, R., & Maza, J. (2018). Costo de producción de cacao

- clonal ccn-51 en la Parroquia Bellamaria, Ecuador. *Revista Universidad y Sociedad*, 10(4), 179-185.
- Collinson, C., & Leon, M. (2000). Economic viability of ethical cocoa trading in Ecuador. Natural Resources Institute. University of Greenwich. United Kingdom. 36 p.
- De La Cruz, E., Méndez, D., & Valera, L. (2016). Cultivo de *B. subtilis* Cepa QST-713 en reactor tipo airlift y su actividad antagónica contra *Phytophthora capsici*. *Revista de Ingeniería y Tecnologías para el Desarrollo Sustentable*, 1, 38-42.
- Egas, J. (2010). Efecto de la inoculación con *Azotobacter* sp. en el crecimiento de plantas injertadas de cacao (*Theobroma cacao*), genotipo nacional, en la provincia de Esmeraldas. Escuela Politécnica Nacional. Quito-Ecuador. 106 p.
- Enriquez, G. (2004). Cacao orgánico. Guía para productores ecuatorianos. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. Quito-Ecuador. 67 p.
- Enríquez, G. (2004). Tecnología del cacao, manejo de la plantación. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura San José - Costa Rica. 56 p.
- Errigton, J. (2003). Regulation of endospore formation in *B. subtilis*. *Nature Reviews Microbiology*, 1, 117-126.
- Estrada, W., Romero, X., & Moreno, J. (2011). Guía técnica del cultivo de cacao manejado con técnicas agroecológicas. CATIE-CONFRAS. San Salvador-El Salvador. 22 p.
- Falardeau, J., Wise, C., Novitsky, L., & Avis, T. (2013). Ecological and mechanistic insights into the direct and indirect antimicrobial properties of *B. subtilis* lipopeptides on plant pathogens. *Journal of Chemical Ecology*, 39, 869-878.
- FAO-IICA. (2008). Calidad de los alimentos vinculados al origen y las tradiciones en América Latina: estudios de casos. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José-Costa Rica. 218 p.
- García, C. (2014). El cacao y su incidencia en la industria nacional de elaborados de cacao en el período 2008-2012. Universidad de Guayaquil. Guayaquil-Ecuador. 141 p.
- Gómez, A., & Ormeño, M. (2013). Selección de semilla y establecimiento de vivero de cacao. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas.

Maracay-Venezuela. 63 p

- Gonzales-Piñan, H. (2011). Efecto del bioestimulante Evergreen en tres dosis y tres fraccionamientos en el rendimiento del maíz (*Zea mays* L.) Cv. Marginal 28-T en Tingo María. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María - Perú. 81 p.
- González, C., Martínez, C., & García, S. (2014). El modelo de nutrición vegetal a través de la historia y su importancia para la enseñanza. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 11(1), 2-12 pp.
- González-Mancilla, A., Rivera-Cruz, M., Ortiz-García, C., Almaraz-Suárez, J., Trujillo-Narcía, A., & Cruz-Navarro, G. (2013). Uso de fertilizantes orgánicos para la mejora de propiedades químicas y microbiológicas del suelo y del crecimiento del cítrico Citrange troyer. *Universidad y ciencia*, 29(2), 123-139.
- Granum, P. (2001). *Bacillus cereus*. In *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 2nd edition. ASM Press. Washington D.C.-Unites States. 381 p.
- Guamán, C. (2007). Estudio de factibilidad para el cultivo de “cacao 51” en la parroquia Cristóbal Colon de la ciudad de Santo Domingo de los Colorados y su comercialización.
- Hoton, F., Andrup, L., Swiecicka, I., & Mahillon, J. (2005). The cereulide genetic determinants of emetic *Bacillus cereus* are plasmidborne. *Microbiology*, 151, 2121-2124.
- Huamanchumo, O. (2017). Cacao: Producción, consumo y comercio del período prehispánico a la actualidad en América Latina. *Fronteras de la Historia*, 22(1), 237-242.
- Lara-Capistrán, L., Zulueta-Rodríguez, R., Murillo-Amador, B., Romero-Bastidas, M., Rivas-García, T., & Hernández-Montiel, L. (2020). Respuesta agronómica del chile dulce (*Capsicum annuum* L.) a la aplicación de *B. subtilis* y lombricomposta en invernadero. *Terra Latinoamericana*, 38(3), 693-704.
- Layton, C., Maldonado, E., Monroy, L., Corrales, L., & Sánchez, L. (2011). *Bacillus* spp.: perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. *Revista NOVA Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 9, 177-187.
- Loayza, F. (2018). Análisis de la cadena productiva del cacao ecuatoriano para el diseño de una política pública que fomente la productividad y

- la eficiencia de la producción cacaotera período 2007-2016. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito-Ecuador. 109 p.
- López, Y., Cunias, M., & Carrasco, Y. (2020). El cacao peruano y su impacto en la economía nacional. *Revista Universidad y Sociedad*, 12(3), 344-352.
- Maeso, D., Fernández, A., & Walasek, W. (2016). Control de la mancha bacteriana del tomate (*Xanthomonas* spp.) en cultivo a campo para industria mediante aplicaciones foliares, 2015-2016. INIA. Salto Grande-Uruguay. 10 p.
- Mantilla, M. (2007). Evaluación de la acción de un bioinoculante sobre un cultivo de crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* var. Yoko ono) en período de enraizamiento. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá-Colombia. 127 p.
- Mateus-Cagua, D., & Rodríguez-Yzquierdo, G. (2019). Effect of biostimulants on dry matter accumulation and gas exchange in plantain plants (*Musa AAB*). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 13(2), 151-160.
- Mokany, K., Raison, R., & Prokushkin, A. (2006). Critical analysis of root: shoot ratios in terrestrial biomes. *Global Change Biology* 12, 84-96.
- Morán, I. (2008). Factibilidad de la producción y comercialización de cacao. Instituto de Altos Estudios Nacionales. Quito-Ecuador. 58 p.
- Muñoz-Vásquez, C. (2015). Caracterización de cepas bacterianas silvestres con actividad fungicida como potenciales agentes para el control biológico del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*. Universidad de Chile. Santiago de Chile-Chile. 119 p.
- National Institutes of Health. (2020). ImageJ versión 1.52v. <https://imagej.nih.gov/ij/>.
- Ochoa, J., & Licona, G. (2017). Efecto del uso de ácidos húmicos, fúlvicos y su interacción con fertilizante nitrogenado en el crecimiento de plántulas de café (*Coffea arabica* L.) en vivero. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. Zamorano-Honduras. 23 p.
- Orosio, M., Leiva, E., & Ramírez, R. (2017). Crecimiento de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en diferentes tamaños de contenedor. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 34(2), 73-82.
- Padilla, M. (2010). Desde el Surco: Manual de fertilización orgánica y química. reguladores de crecimiento en cultivos. SENAE. Quito-Ecuador. 79 p.
- Paredes, M. (2004). Manual del cultivo del cacao. Ministerio de Agricultura

- Programa ProAmazonía. Lima-Perú. 83 p.
- Pinzon, R. (2006). Guía para el establecimiento de plantaciones de cacao, Proyecto de Reforestación y Conservación de la Cordillera ChongónColonche.
- Quingaísa, E. (2007). Consultoría realizada para la FAO y el IICA en el marco del estudio conjunto sobre los productos de calidad vinculada al origen, “Estudio de caso: denominación de origen “cacao arriba”. Quito-Ecuador.
- Quintana, M., & Aguilar, J. (2018). Denominación de origen de cacao ecuatoriano: ¿un aporte de marketing global? *INNOVA Research Journal*, 3(101), 68-76.
- Quintero, E., Calero, A., Pérez, Y., & Enríquez, L. (2018). Efecto de diferentes bioestimulantes en el rendimiento del frijol común. *Centro Agrícola*, 45(3), 73-80.
- Quintero, M., & Díaz, K. (2004). El mercado mundial del cacao. *Agroalimentaria*, 9(18), 47-59.
- Ramírez-Guillermo, M., Lagunes-Espinoza, L., Ortiz-García, C., Gutiérrez, O., & De La Rosa, R. (2018). Variación morfológica de frutos y semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) de plantaciones en Tabasco, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 41(2), 117-125.
- Roychowdhury, D., Mondal, S., & Banerjee, S. (2017). The effect of biofertilizers and the effect of vermicompost on the cultivation and productivity of maize-a review. *Advances in Crop Science and Technology*, 5, 1-4.
- Soni, B., & Kapoor, C. (2019). Comparative study of synthetic fertilizer: Organic fertilizer & their effects on seeds germination. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8, 2196-2199.
- Soraya, P. (2009). Caracterización química preliminar de cacao (*Theobroma cacao*) de los municipios de Omoa y La Masica, Honduras. Honduras. 97 p.
- Stein, T. (2005). *B. subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Molecular microbiology*, 56(4), 845-857.
- Suárez, G. F., Soto, F., & Caballero, A. (2013). Bases para la zonificación agroecológica en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) por medio del criterio de expertos. *Cultivos Tropicales*, 34(2), 30-37.
- Tejera-Hernández, B., Rojas-Badía, M., & Heydrich-Pérez, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento

- vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. Revista CENIC: Ciencias Biológicas, 42(3), 131-138.
- Torres , L. (2012). Manual de producción de cacao fino de aroma a través de manejo ecológico. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3250/1/TESIS.pdf>
- Tsavkelova, E., Klimova, S., Cherdyntseva, T., & Netrusov, A. (2006). Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. Applied Biochemistry Microbiology, 42(2), 117-126.
- Valenzuela, K. (2018). Comparación de métodos de programación de riego para el cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* Var. *Itálica*). Universidad Técnica de Ambato. Ambato-Ecuador. 63 p.
- Verdesoto, P. (2009). Caracterización química preliminar de cacao (*Theobroma cacao*) de los municipios de Omoa y La Masica, Honduras. Universidad Zamorano. Zamora, Honduras. 74 p.
- Villalta, J. (2015). Costos de producción de 2 hectáreas de cacao CCN-51 de la Finca Mónica Narcisa, recinto Cañalito, cantón Quevedo, año 2014. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo-Ecuador. 74 p.
- Villarreal-Delgado, M., Villa-Rodríguez, E., Cira-Chávez, L., Estrada-Alvarado, M., Parra-Cota, F., & Santos-Villalobos, S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. Revista mexicana de fitopatología, 36(1), 95-130.
- Zambrano, L. (2010). Establecimiento, manejo y capacitación en vivero de cacao (*Theobroma cacao* L.) utilizando dos tipos de injertos en la comunidad de Naranjal y del cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas. [http://www.ruta.org/CDOC-Deployment/documentos/Establecimiento\\_vivero\\_utilizando\\_dos\\_tipos\\_de\\_injertos.pdf](http://www.ruta.org/CDOC-Deployment/documentos/Establecimiento_vivero_utilizando_dos_tipos_de_injertos.pdf)
- Zamora-Muñoz, J. (2015). Respuesta del cultivo de pimiento (*Capsicum annum* L.) A la utilización de bioestimulantes en época lluviosa en la zona de Buena Fe. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo-Ecuador. 79 p.





**UTEQ**  
UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTADAL DE  
**QUEVEDO**



[www.uteq.edu.ec](http://www.uteq.edu.ec)

ISBN: 978-9942-626-03-5



9 789942 626035

El cacao es un cultivo originario de América que ha sido difundido en el mundo; es utilizado como materia prima para diversos productos de la agroindustria. Tiene gran importancia en la economía de los países productores por ser un producto muy cotizado en los mercados. El cacao nacional, considerado como cacao fino de aroma, es apetecido en el mercado internacional por sus características organolépticas; por lo que, en el país se ha reconocido la necesidad de mantener su oferta de cacao fino, por lo tanto, es necesario priorizar la conservación, mejoramiento y multiplicación de plantas y germoplasma de cacao nacional.