

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
ECUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN CONSERVACIÓN DE
SUELOS Y AGUA



EFFECTO DE MICROORGANISMOS EFICIENTES EN INDICADORES DE CALIDAD DEL SUELO EN PLANTACIÓN DE *Theobroma cacao* L. (cacao) EN MARIANO DÁMASO BERAÚM.

Tesis

para optar el título de:

INGENIERO EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES- MENCIÓN CONSERVACIÓN DE SUELOS Y AGUA

PRESENTADO POR:

KARINA RAMIREZ MARRACHE

Tingo María – Perú

2019



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

Tingo María – Perú



FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los que suscriben, miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 02 de Julio del 2019 a hora 10:00 a. m. en la sala de sesiones de la Escuela Profesional de Ingeniería en Conservación de Suelos y Agua de la Facultad de Recursos Naturales Renovables para calificar la Tesis titulada:

EFFECTO DE MICROORGANISMOS EFICIENTES EN INDICADORES DE CALIDAD DEL SUELO EN PLANTACION DE *Theobroma cacao* L. (cacao) EN MARIANO DAMASO BERAUN

Presentado por la Bachiller: **RAMIREZ MARRACHE, Karina**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara **APROBADO** con el calificativo de “**BUENO**”

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el Título de **Ingeniero en Recursos Naturales Renovables**, mención: **Conservación de Suelos y Agua**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para el otorgamiento del Título correspondiente.

Tingo María, 02 de Diciembre de 2021

Ing. MSc. **JOSÉ LÉVANO CRISÓSTOMO**
PRESIDENTE

Ing. **JAIME TORRES GARCÍA**
MIEMBRO

Dr. **ROBERTO OBREGÓN PEÑA**
MIEMBRO



Dr. **NELINO FLORIDA ROFNER**
ASESOR



"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

CERTIFICADO DE SIMILITUD T.I. N° 349 - 2024 - CS-RIDUNAS

El Director de la Dirección de Gestión de Investigación de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, quien suscribe,

CERTIFICA QUE:

El Trabajo de Investigación; aprobó el proceso de revisión a través del software TURNITIN, evidenciándose en el informe de originalidad un índice de similitud no mayor del 25% (Art. 3° - Resolución N° 466-2019-CU-R-UNAS).

Programa de Estudio:

Ingeniería en Recursos Naturales Renovables, Mención Conservación de Suelos y Agua

Tipo de documento:

Tesis	X	Trabajo de Suficiencia Profesional	
-------	---	------------------------------------	--

TÍTULO	AUTOR	PORCENTAJE DE SIMILITUD
EFFECTO DE MICROORGANISMOS EFICIENTES EN INDICADORES DE CALIDAD DEL SUELO EN PLANTACIÓN DE Theobroma cacao L. (cacao) EN MARIANO DÁMASO BERAÚM	KARINA RAMIREZ MARRACHE	19 % Diecinueve

Tingo María, 28 de noviembre de 2024


 UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
 UNIDAD DE GESTIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

 Dr. Tomas Menacho Mallqui
 JEFE
 C.C. Archivo

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
ECUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN CONSERVACIÓN DE
SUELOS Y AGUA



EFECTO DE MICROORGANISMOS EFICIENTES EN INDICADORES DE
CALIDAD DEL SUELO EN PLANTACIÓN DE *Theobroma cacao* L. (cacao) EN
MARIANO DÁMASO BERAÚM.

Autor	: Karina Ramirez Marrache
Asesor	: Dr. Nelino Florida Rofner
Programa de Investigación	: Manejo y Conservación de Suelos
Línea (s) de Investigación	: Ciencias básicas del Suelos
Eje Temático de Investigación	: Sistemas de producción orgánica
Lugar de Ejecución	: Rio Oro, Mariano Dámaso Beraúm
Duración	: 07 meses
Fecha de inicio	: Noviembre 2018
Fecha de término	: Mayo 2019
Financiamiento	: Propio S/. 6 536.00

Tingo María – Perú

2024



**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
OFICINA DE INVESTIGACIÓN**

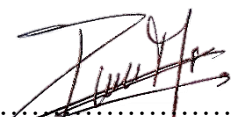
**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
REGISTRO DE TESIS PARA LA OBTENCION DEL
TITULO UNIVERSITARIO, INVESTIGACIÓN DOCENTE
Y TESISISTA**


(Resol. N° 113-2019-CU-R-UNAS)

I. Datos generales

Universidad : Universidad Nacional Agraria de la Selva
Facultad : FRNR-EPICSA-UNAS
Título de la tesis : Efecto de microorganismos eficientes en indicadores de calidad del suelo en plantación de *Theobroma cacao* L. (cacao) en Mariano Dámaso Beraúm.
Objetivo general : Evaluar el efecto de la aplicación de EM en la calidad del suelo, en plantación de T. cacao, en Rio Oro- Las Palmas
Autor : Bach. Karina Ramirez Marrache
Asesor (es) : Dr. Florida Rofner, Nelino
Programa de investigación : Manejo y Conservación de Suelos
Línea de investigación : Ciencias básicas del Suelos
Eje temático : Sistemas de producción orgánica
Lugar de ejecución : Mariano Dámaso Beraúm, Leoncio Prado-Huánuco
Duración : Fecha de inicio : Noviembre 2018
: Fecha de término : Mayo 2019
Financiamiento : FEDU : S/. 0,00
: Propio : S/. 6 536,00
: Otros : S/. 0,00

Tingo María, Perú, enero 2024.


.....
Bach. Karina Ramirez Marrache
Tesisista


.....
Dr. Nelino, Florida Rofner
Asesor



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

Tingo María – Perú



FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los que suscriben, miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 02 de Julio del 2019 a hora 10:00 a. m. en la sala de sesiones de la Escuela Profesional de Ingeniería en Conservación de Suelos y Agua de la Facultad de Recursos Naturales Renovables para calificar la Tesis titulada:

EFFECTO DE MICROORGANISMOS EFICIENTES EN INDICADORES DE CALIDAD DEL SUELO EN PLANTACION DE *Theobroma cacao* L. (cacao) EN MARIANO DAMASO BERAUN

Presentado por la Bachiller: **RAMIREZ MARRACHE, Karina**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara **APROBADO** con el calificativo de **“BUENO”**

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el Título de **Ingeniero en Recursos Naturales Renovables**, mención: **Conservación de Suelos y Agua**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para el otorgamiento del Título correspondiente.

Tingo María, 02 de Diciembre de 2021

Ing. MSc. **JOSÉ LÉVANO CRISÓSTOMO**
PRESIDENTE

Ing. **JAIME TORRES GARCÍA**
MIEMBRO

Dr. **ROBERTO OBREGÓN PEÑA**
MIEMBRO



Dr. **NELINO FLORIDA ROFNER**
ASESOR

DEDICATORIA

A Dios, por su inmensa misericordia y amor, por mostrarme siempre que no estoy sola, la fortaleza y sabiduría para seguir cada día.

A mis amados y siempre recordados abuelos: Daniela y Julio, por ser mis padres, su esfuerzo, trabajo, ejemplo y cariño, que brindaron en toda mi crianza y hoy pueda cumplirles un sueño, mi desarrollo profesional.

A mis amigos hermanos en cristo y María "EJE", por ser mi segunda familia, enseñándome valores como perseverancia y amor propio, muchas gracias.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, tu amor y tu bondad no tienen fin, me permites disfrutar de todos mis logros que son resultado de tu ayuda, los obstáculos me sirven para mejorar como ser humano. La tesis ha sido una bendición en todo sentido y estaré agradecido, pues la meta está cumplida.

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por haber permitido formarme, gracias a todos los docentes que fueron partícipes de este proceso, ya sea de manera directa o indirecta, gracias a todos ustedes, fueron ustedes con sus aportes, que hoy se ve reflejada en la culminación de mi paso por la universidad.

A mis familiares: tío Hugo Ramírez Acacio por siempre brindarme su apoyo y mi primo Sebastian Ramírez Pezo por su amistad y apoyo en el trabajo en campo de la tesis, muchas gracias.

Al ingeniero Fernando Reátegui Díaz, por ser mi maestro, oportunidades laborales y guía como profesional especialista en abonos orgánicos.

Al Dr. Nelino Florida Rofner, por el asesoramiento en la formulación del proyecto, la ejecución, redacción y sustentación de la tesis.

A todos los amigos, compañeros y colegas que me apoyaron en la realización de la tesis, gracias por la paciencia, motivación y solidaridad, muchas gracias.

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivos	
1.1.1 Objetivo general	2
1.1.2 Objetivos específicos.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Los microorganismos eficientes (EM).....	3
2.1.1 Bacterias Fotosintéticas.....	3
2.1.2 Bacterias ácido lácticas.....	4
2.1.3 Actinomicetos.....	4
2.1.4 Hongo de fermentación (mohos y levaduras).....	5
2.2 Efecto de los EM en el suelo.....	6
2.3 Características de los Microorganismos eficientes.....	7
2.4 Activación de los Microorganismos eficientes.....	8
2.5 El cultivo del cacao en la Amazonía.....	9
2.5.1 Descripción taxonómica del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L).....	9
2.5.2 Descripción general de la especie <i>Theobroma cacao</i>	9
2.5.3 Clon CCN-51.....	10
3.6 Antecedentes internacionales.....	11
3.7 Antecedentes Nacionales y locales.....	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1 Lugar de ejecución.....	15
3.2 Ubicación geográfica.....	15
3.3 Clasificación ecológica.....	15
3.4 Condiciones climáticas.....	15
3.5 Hidrografía.....	15
3.6 Materiales, equipos y herramientas.....	15
3.6.1 Material biológico.....	15
3.6.2 EM y su activación.....	16
3.6.3 Materiales y equipos de campo	16

3.7	Metodología.....	16
3.7.1	Fase de pre campo.....	16
a)	Elección del área experimental.....	16
b)	Activación de los microorganismos eficientes.....	17
3.7.2	Fase de campo.....	17
a)	Análisis físico y químico del suelo.....	17
b)	Caracterización de los EM.....	18
c)	Análisis microbiológico del suelo.....	18
3.8	Tipo de investigación y diseño experimental.....	18
3.8.1	Modelo lineal.....	19
3.8.2	Variables a evaluar.....	20
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
4.1	Efecto de los EM en indicadores físicos del suelo.....	21
4.2	Efecto de los EM en indicadores químicos del suelo.....	22
4.3	Efecto de los EM en indicadores microbiológicos del suelo.....	26
V.	CONCLUSIONES.....	28
VI.	PROPUESTA A FUTURO.....	29
VII.	REFERENCIAS.....	30
IX.	ANEXOS.....	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Técnicas aplicadas para el análisis del suelo.....	17
2. Técnicas aplicadas para el análisis microbiológico de las muestras de suelo.....	18
3. Descripción de los tratamientos en estudio.....	18
4. Modelo del análisis de varianza.....	19
5. Estadística descriptiva de indicadores físicos.....	21
6. Análisis de varianza para la fracción Limo.....	21
7. Estadística descriptiva para los indicadores químicos.....	22
8. Análisis de varianza para MO.....	24
9. Análisis de varianza para MO.....	24
10. Prueba de Duncan para MO.....	25
11. Prueba de Duncan para N.....	25
12. Comparaciones múltiples de Tukey.....	25
13. Principales grupos microbianos evaluados.....	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Modelo de biofermentador para producción de EM.....	16
2. Diseño del campo experimental.....	19
3. Detalle de la unidad experimental.....	20
4. Poda y limpieza del área experimental.....	36
5. Diseño y delimitación del área experimental.....	36
6. Identificación de las unidades experimentales.....	37
7. Dosificación del EM.....	37
08. Aplicación del EM.....	38
9. Extracción de muestras según tratamientos.....	38
10. Extracción de sub muestras.....	39
11. Estado de la planta al final del experimento.....	39

RESUMEN

A los microorganismos eficientes (EM) se les atribuye diversos beneficios sobre el suelo, nutrición y la sostenibilidad del agroecosistema, factores fundamentales en todo proceso productivo. Por ello, se evaluó el efecto de la aplicación de los EM en la calidad del suelo con plantación de *T. cacao*, sector de Rio Oro - Las Palmas. Se aplicó un diseño de bloque completo al azar (DBCA) con cuatro tratamientos y repeticiones, teniendo 0,00 L (T1), 2,00 L (T2), 4,00 L (T3) y 6,00 L EM/bomba de 20 L (T4), equivalen a concentraciones de 0%, 10%, 20% y 30% de EM respectivamente. Se evaluó la textura a través de las fracciones arena, limo y arcilla como indicadores físicos del suelo; como indicadores químicos: MO, N, P, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺, H⁺, CICE, % AC % SAI y como indicadores biológicos, grupos microbianos como bacterias fototróficas, actinomicetos y Fungi. Los indicadores físicos no mostraron diferencias, excepto la fracción limo, los únicos indicadores químicos que presentaron diferencias significativas fueron MO y N, en los demás casos no se observó diferencias, sin embargo, se aprecia valores medios con tendencias de incremento. Respecto a los grupos microbianos, presentan medias similares y no presentan diferencias estadísticas entre los tratamientos aplicados. Los EM tuvieron efectos positivos sobre el suelo en cortos periodos de aplicación, y se perfila como alternativa con gran potencial para la sostenibilidad de los agroecosistemas.

Palabras clave: Calidad del suelo, fijadores de nitrógeno, manejo orgánico, microorganismos.

The Effect of Efficient Microorganisms on the Quality Indicators for Soil on a Plantation of *Theobroma cacao* L. (Cacao) in Mariano Damaso Beraum

Abstract

Diverse benefits for soil fertility, nutrition, and the sustainability of agroecosystems are attributed to efficient microorganisms (EM), which are fundamental factors in all of the production process. Thus, the effect of the application of EMs on the quality of soil for a *T. cacao* plantation in the Rio Oro sector of Las Palmas, [Peru] was evaluated. A completely randomized block design (CRBD; DBCA in Spanish) with four treatments and repetitions was applied. The treatments were: 0.00 L (T1), 2.00 L (T2), 4.00 L (T3), and 6.00 L EM/20 L backpack (T4), at concentrations of 0%, 10%, 20%, and 30% of EM, respectively. The texture was evaluated using the sand, silt, and clay fractions as physical indicators of the soil; the chemical indicators were: OM (MO in Spanish), N, P, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺, H⁺, CEC (CIC in Spanish), % AC, % Sal; and the biological indicators were microbial groups such as phototrophic bacteria, actinomycetes, and fungi. The physical indicators did not reveal any differences, except the silt fraction. The only chemical indicators that presented significant differences were OM and N; for the rest of the cases, no differences were observed, nonetheless, average values were seen, with tendencies to increase. With respect to the microbial groups, no significant differences were shown, with respect to the treatments that were applied. It was concluded that EMs, for short periods of application, improved the chemical indicators of the soil, proving to have a large potential for the sustainability of agroecosystems.

Keywords: soil quality, nitrogen fixatives, organic management, microorganisms

I. INTRODUCCIÓN

En el trópico peruano, los valles del Huallaga, Ucayali, Apurímac, Ene, Urubamba y Marañón muestran semejanzas bioclimáticas óptimas para el crecimiento y mayores rendimientos en plantaciones de *T. cacao* (Ministerio de Agricultura y Riego-MINAGRI, 2016). Sin embargo, el manejo aplicado durante el proceso de producción es el convencional, con prácticas que incluyen el uso de agroquímicos de alta toxicidad y la instalación de los cultivos en áreas que en años anteriores se cultivaron convencionalmente la hoja de coca; Ambos aspectos, son determinantes en los bajos niveles de rendimiento del *T. cacao* en nuestros principales valles productores.

En general, los microorganismos en los suelos desarrollan múltiples procesos microbiológicos, que juegan un rol determinante en la mejora de las características del suelo y en la biodisponibilidad de nutrientes (Nikolaevich & Borisovich, 2019; Ferrera & Alarcón, 2001). Frente a esto, en la actualidad los productores están adoptando y aplicando nuevas técnicas para conservar la calidad del suelo y mejorar la biodisponibilidad de nutrientes; estas técnicas incluyen: buenas prácticas agrícolas, fertilización orgánica (biofertilización), y control de plagas y enfermedades con biocidas, entre otras. Además, la incorporación de estas nuevas técnicas está mejorando significativamente los rendimientos del cultivo a nivel nacional. Dentro de estas nuevas técnicas, se encuentra la aplicación de los EM, a quienes las investigaciones recientes le atribuyen múltiples beneficios sobre la calidad suelos (Merino, 2013; Toalombo, 2012; Zúñiga et al., 2011). En ese contexto, el trabajo plantea el problema central a través de la interrogante: ¿En qué medida la aplicación de EM influirá en los indicadores de calidad del suelo, en plantación de *T. cacao*, en la zona de Rio Oro-Las Palmas?.

El trabajo se justifica teniendo en cuenta aspectos teóricos, en el que, los estudios muestran que la aplicación del EM mejora la biota del suelo y este favorece integralmente la calidad del suelo, crecimiento y producción de los cultivos. La justificación practica se fundamenta en la necesidad de generar conocimientos que expliquen los verdaderos aportes de los EM sobre la calidad del suelo y los beneficios en el cultivo de cacao en condiciones locales. Además, esta información puede incorporarse como criterio técnico en el planteamiento y desarrollo de proyectos alternativo a la hoja de coca en el ámbito local y regional, por instituciones públicas como: Municipalidades distritales, provinciales y regionales, y ha organizaciones de productores,

también, como alternativa directa para el agricultor en el marco de una producción orgánica como propuesta viable económica y técnica en la mejora de los suelos.

Los resultados del trabajo permitieron contrastar la hipótesis planteada, “La aplicación de EM mejora los indicadores físicos, químicos y microbiológico del suelo en plantaciones de *T. cacao*, en la zona de Rio Oro- Las Palmas, en este sentido, los resultados nos permitieron validar la eficiencia de los EM en la mejora de los indicadores de calidad de los suelos. Por lo expuesto, el trabajo para contrastar la hipótesis trabajó con los siguientes objetivos:

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación de EM en la calidad del suelo, en plantación de *T. cacao*, en Rio Oro- Las Palmas.

1.1.2. Objetivos específicos

- Determinar los grupos microbiológicos del suelo: Bacterias totales, ácido láctico, Fungí y actinomicetos.
- Determinar indicadores fisicoquímicos del suelo: textura, pH, MO, N, P, K⁺, CIC, Fe²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺, %SB y %SAI

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Microorganismos eficientes (EM)

Propuesta tecnológica desarrollada en 1980 por Teuro Higa, de la Universidad de Ryukyus en Okinawa, consistente en el uso de microbios de diferentes géneros en los procesos de producción agrícola (Luna & Mesa, 2016). La nueva propuesta tecnológica trata de un cultivo de microorganismos de origen espontáneo y natural, pueden aplicarse como inóculos para bioaumentar la diversidad microbiana en los suelos (Fundación de Asesorías para el Sector Rural Ciudad de Dios - FUNDASES, 2008). Los EM son suspensiones con una elevada carga de diferentes grupos microbianos, entre ellos: Bacterias fototróficas como la *Rhodospseudomonas plastrus* y *Rhodobacter sphaeroides*, ácido lácticas del género *L. plantarum*, *L. casei*, y *Streptococcus lactics*, y levaduras como *S. cerevisiae* y *Candida utilis*, Actinomicetes del género *Streptomyces albus*, *S. griseus* y Hongos del género *Aspergillus sp*, y *Mucorhiemalis*, entre otros géneros beneficiosos en la mineralización de compuestos orgánicos y en el control de grupos patógenos (FUNDASES, 2014; Aitaj, 2013; Banco Interamericano de Desarrollo - BID, 2009). Cada grupo tienen sus respectivas funciones, siendo el principio fundamental de esta tecnología mejorar la calidad del suelo, suprimir putrefacción, suprimir patógenos y acelerar el ciclaje de nutrientes (EM Producción y Tecnología S.A - EMPROTEC, 2003).

EM, es el acrónimo de un término en inglés “Effective Microorganisms” (Microorganismos eficientes), que incluye géneros de origen natural, sin manipulación genética, fisiológicamente compatibles entre ellos (Luna & Mesa, 2016). Los EM fueron utilizados al inicio de su propuesta como un mejorador de suelos, sin embargo, actualmente el concepto de sus beneficios se ha extendido a otras áreas y es muy utilizado en el tratamiento de diversos componentes generados en: los procesos agrícolas, industriales, curtiembres, plantas de beneficio de animales, entre otros (Díaz & Montero, 2006).

2.1.1. Bacterias Fotosintéticas

Grupo que sintetiza compuestos a partir de secreciones de raíces, MO y gases no deseados en el suelo (Merino, 2013; Torres & Silva, 2006). Los compuestos sintetizados por este grupo de microorganismos incluyen aminoácidos, ácidos nucleicos, enzimas, hormonas y otros, que mejoran y promueven una adecuada nutrición de las plantas, incluso suprimen la proliferación de patógenos (Akhtar et al., 2018; Merino, 2013; Gimeno, 2011). Además, son el

grupo más numeroso en los suelos, su población varía desde un a varios miles de millones por gramo de suelo, esto por la existencia de diferentes tipos taxonómicos de suelos (Coyne, 2000).

Dentro de este grupo el género representativo es *Rhodopseudomonas*, género con especies que pueden crecer facultativamente respecto al oxígeno, utilizan la luz, compuestos inorgánicos y orgánicos para producir energía, además, obtienen carbono de residuos orgánicos o procesos de fijación de dióxido de carbono; los compuestos sintetizados por este grupo favorecen la formación de simbiosis (micorrizas y actinorrizas) (Aitaj, 2013; Merino, 2013).

2.1.2 Bacterias ácido-lácticas

Representado por algunos géneros bacterianos que producen esta sustancia (AL) producto de metabolizar azúcares simples y carbohidratos producidas por bacterias fototróficas y levaduras (Merino, 2013; Torres & Silva, 2006; Bures, 1997). Presentan un metabolismo fermentativo que oxidan azúcares simples para transformar la energía en ATP (Merino, 2013). El AL es un antiséptico fuerte, elimina patógenos y aumenta la degradación de la MO (Arias, 2010) y materiales resistentes a la biodegradación como: lignina, celulosa, hemicelulosa, reduciendo efectos tóxicos de la MO en proceso de descomposición (Otero, 2011).

Los géneros *L. casei* y *L. plantarum*, sintetizan sustancias con gran capacidad antagonista frente a patógenos y pueden controlar *Staphylococcus aureus*, *Ralstonia sp.*, *Fusarium* y algunos nematodos (Aitaj, 2013). Además, sintetizan compuestos del tipo Bactericinas, que inhiben *Enterococcus*, *Clostridium* y *Streptococcus* (Otero, 2011). También, los ácidos producidos por estas bacterias provocan un descenso del pH en el sustrato e inhiben el crecimiento de otros grupos. Por lo que, muestran gran potencial para el control biológico en los sistemas agrícolas (Luna & Mesa, 2016).

2.1.3 Actinomicetos

Grupo de bacterias, estructuralmente presentan características intermedias entre bacterias y hongos. Son bacterias fotosintéticas y filamentosas con una amplia producción de sustancias antimicrobianas (Luna & Mesa, 2016), heterótrofas, aerobios, mesófilas y crecimiento óptimo entre 25-30 °C, pH neutro y su población varía de 10^6 a 10^8 UFC/g de suelo (González, 2010; Coyne, 2000).

Producen sustancias antagonistas (biostáticos y biocidas) de muchas bacterias y fungi patógenos en cultivos y favorece la actividad del azotobacter y micorrizas (Haro, 2013).

Los actinomicetos coexisten con otras bacterias fotosintéticas, mejorando la calidad del agroecosistema, propiciando el equilibrio en la comunidad microbiológica (Luna & Mesa, 2016).

Este grupo es capaz de solubilizar fosfatos, este mineral se encuentra entre un 95-99% en forma insoluble y no disponible para las plantas (González, 2010). Esta capacidad de solubilización del fosfato se realiza a través de procesos de acidificación, quelación y reacciones de intercambio. Además, sintetizan promotores de crecimiento, como el ácido indol acético (AIA) que activa el crecimiento de pelos radicales, mejorando la nutrición vegetal (Soriano B & Soriano E, 2010).

2.1.4 Hongo de fermentación (mohos y levaduras)

Haro (2013) indica que los hongos facilitan el fraccionamiento de la estructura compleja de la materia orgánica, así mismo, Bures (1997) reafirma la capacidad del género *Aspergillus* y *Penicillium* en la rápida mineralización de materia orgánica, resultando como subproducto: alcohol, ésteres y sustancias antimicrobianas, que eliminan malos olores y evitan la proliferación de insectos y gusanos considerados como plagas en los sistemas agrícolas. Además, el 80 % de las especies vegetales, establecen simbiosis con los hongos (Correa, 2016)

Se los considera como un grupo importante por su papel en la mineralización de los residuos orgánicos en todos los ambientes ácidos (Coyne, 2000); descomponiendo: celulosa, hemicelulosa, pectinas, almidón, grasas y compuestos de lignina; además, actúa en la formación de los ácidos húmicos y su estructura filamentosa favorece la estabilidad de agregados (Ulacio et al., 1998).

Este grupo es el principal responsable de la aparición de diversas enfermedades en plantaciones de cacao, que en muchos países mantienen bajos los rendimientos de este cultivo. Los suelos ácidos favorecen su proliferación y su capacidad patogénica, convirtiéndose en dominantes del agroecosistema, por su parte, las bacterias sensibles a la acidez reducen drásticamente su población (Arévalo, 2014; He *et al.*, 2003)

Las levaduras son importantes dentro de los fungi y se caracterizan por ser unicelulares que utilizan los aminoácidos y azúcares secretados por bacterias y raíces vegetales, para sintetizar sustancias antagónicas, hormonas y enzimas que activan el crecimiento radicular (Luna & Mesa, 2016). En este grupo, los *Saccharomyces spp*, son reconocidos por sus habilidades para mineralizar diversos componentes orgánicos y producir diversas vitaminas, hormonas y enzimas (Aitaj, 2013; Arias, 2010; Bures, 1997).

2.2. Efecto de los EM en el suelo

En los suelos la dinámica de los microorganismos depende de factores como: disponibilidad de MO, textura, pH, temperatura, porosidad, etc., las bacterias tienen la mayor población ($10^8 - 10^{10}$ UFC/g de suelo), los actinomicetes ocupan el segundo lugar ($10^6 - 10^8$ UFC/g de suelo), le siguen los hongos y las algas ($10^4 - 10^6$ y $10^3 - 10^4$ UFC/g de suelo) (Otero, 2011; Coyne, 2000). Los factores que determinan su crecimiento y desarrollo pueden ser alteradas por la aplicación de distintas prácticas de manejo, esto puede afectar la dinámica del agroecosistema, al modificar positiva o negativamente a los diferentes grupos de macroorganismos.

La tecnología de los EM se basa en su carácter antioxidante, la descomposición de los residuos, secreción de vitaminas, ácidos orgánicos y minerales. Además, los diferentes grupos que conforman los EM prosperan en los agroecosistemas por exclusión competitiva (Arias, 2010). Los EM como biofertilizantes, restablecen y propician el equilibrio microbiológico del suelo, mejorando los indicadores fisicoquímicos, elevando los rendimientos del cultivo al reducir la proliferación de plagas y enfermedades, generando una agricultura sostenible (Luna & Mesa, 2016).

Los microorganismos tienen un rol determinante en la mejora de la calidad del suelo y disponibilidad de nutrientes (Nikolaevich & Borisovich, 2019), y en gran medida definen el equilibrio ecológico en los agroecosistemas (Siebert et al., 2019). Cuando los EM son aplicados como biofertilizantes al medio natural, su acción individual de cada microorganismo es multiplicada en comunidad, es así, que la microflora alcanza niveles máximos y los agroecosistemas alcanzan ecológicamente el equilibrio, evitando el dominio de potenciales patógenos (Akhtar et al., 2018; Centro Internacional de Investigación para la Agricultura Natural-CIIAN, 1994).

Las propiedades del suelo dependen en cierta medida de los procesos microbiológicos que en él ocurren, y están, vinculadas con la diversidad de este; por tanto, el mantenimiento de la estructura microbiológica es buen indicador de diagnóstico para medir la calidad del suelo (Ullah et al., 2012; Abril, 2003). La aplicación de los EM al ecosistema suelo planta, se traduce en una mejora integral en el desarrollo de los cultivos (Haro, 2013) recuperando el equilibrio ecológico del suelo, mejorando los indicadores fisicoquímicos, elevando los niveles de protección y rendimiento de los cultivos (Díaz & Montero, 2006).

CIIAN (1994) señala las principales acciones de los EM como resultado de su aplicación:

- Sobre indicadores físicos del suelo: favorece integralmente la agregación del suelo, evita la compactación, incremento de la densidad aparente y la formación de microporos, y mantiene un adecuado flujo hídrico en el perfil del suelo.
- Sobre indicadores químicos del suelo: Actúa sobre la solubilidad y la biodisponibilidad de los nutrientes, mejorando la absorción por el sistema radical.
- Sobre los indicadores microbiológicos del suelo: regula por competencia la proliferación de patógenos, eleva la biodiversidad microbiana, generando, el equilibrio ecológico en el agroecosistema.

Moya (2012) y Arias (2010) señalan algunos efectos generales positivos resultado del uso de los EM:

- activan la germinación, floración, formación de frutos.
- Mejora integral del suelo y supresión de patógenos por efectos antagónicos.
- Acelera la mineralización y aprovechamiento de la materia orgánica.
- Elimina la putrefacción y el uso de antisépticos.
- Promueve el reciclaje y aprovechamiento de residuos.
- Acelera el proceso de producción de bioabonos.
- Promueve la oxidación, en evita la formación de gases sulfurosos y amoniacaes.
- Elimina la acumulación de lodos en sistemas de tratamientos.

Además, Suquilanda (1995), citado por Haro (2013) señala que los microorganismos efectivos aplicados al suelo actúan como:

- Mejorador de salinidad: su capacidad de intercambiar iones en el suelo favorece el lavado de sales.
- Desbloqueador de suelos: solubiliza minerales como los carbonatos y los fosfatos.
- Acelerador de procesos fermentativos.

2.3. Características de los Microorganismos eficientes

Los inóculos de EM se preparan y conservan en suspensión. No se les considera o denomina como fertilizante, tampoco es un producto de origen químico o sintético, se trata de microorganismos que no han sufrido ningún cambio genético. Su aplicación en los cultivos se

recomienda hacerlo junto a un plan de aplicación de enmiendas orgánicas, para potenciar sus efectos y mejorar positivamente la capacidad nutricional del suelo (Hurtado, 2001)

Los EM presentes en una suspensión, son de color amarillo-marrón, con buen olor y gusto dulce-amargo, y el pH del medio debe ser menor a 3.5. Cuando la suspensión presenta un olor putrefacto o el pH sube a valores mayores de 4, significa que los EM no han prosperado, no se recomienda su uso en estas condiciones (Diaz & Montero, 2006).

Diaz & Montero (2006) señalan que para maximizar los beneficios de los EM se debe considerar:

- No actúa como los fertilizantes químicos.
- No se aplica con la misma técnica que los agroquímicos.
- El agua no debe ser clorada, para activar los EM.
- Almacenar los EM activados un plazo máximo de 3 días.
- Almacenar la cepa madre de los EM hasta 6 meses en un envase de plástico y en lugar fresco y oscuro.
- No debe presentar un olor putrefacto u otros olores no agradables.

2.4. Activación de los Microorganismos eficientes

BID (2009) señala que los EM necesitan ser previamente activados para su aplicación en los sistemas de producción. La relación del inoculo para su activación a partir de la cepa madre es de 5% de EM. La activación requiere utilizar lo siguiente:

- 1L EM para 20 L de EM activado
- 5 % de melaza
- 90 % de agua, si contiene cloro dejar en reposo por 24 h.
- Colocar melaza en agua caliente para facilitar su dilución, luego se calienta la mezcla durante 20 minutos a 60 - 80 °C.
- Mezclada los ingredientes, cerrar herméticamente por 7 a 10 días a temperatura ambiente (25 y 40 °C).
- Es necesario colocar un respirador para eliminar los gases.
- El producto al final presenta olor agradable, sabor agridulce y pH menor a 3,8, listo para utilizar.
- los EM Activados se pueden conservar en un lugar fresco y oscuro hasta por 60 días.

2.5. El cultivo del cacao en la Amazonía

El *T. cacao* es una especie cultivada en regiones tropicales de América del sur (Arguello et al., 2016). Es nativa de América, aun no se precisa el lugar exacto de origen y distribución. Además, su cultivo se inició en México y América Central y con la llegada de los españoles, no se confirma su cultivo en América del Sur, aunque lo encontraron creciendo en forma espontánea en las cuencas del Amazonas y el Orinoco (Batista, 2009).

La especie es oriunda del trópico Amazónico, al parecer, las variadas condiciones ambientales favorecieron su crecimiento y diversificación de genotipos. Los arqueólogos señalan que la especie es consumida desde hace más de 4 mil años (Gómez, 2014). Perú es un gran productor de *T. cacao*, representa el segundo cultivo permanente con mayor extensión, con un total de 199 000 h al 2018, con tasa de crecimiento anual de 10,5 % en los últimos 10 años (MINAGRI, 2019).

2.5.1. Descripción taxonómica del cacao (*Theobroma cacao* L)

Romero (2016); Cronquist (1981) y APG (2009) describen a la especie de la siguiente manera:

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta* (Cronquist, 1981)
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Dilleniidae
Orden	: Malvales* (APG, 2009)
Familia	: Malvaceae
Género	: <i>Theobroma</i>
Especie	: <i>cacao</i>
Nombre científico	: <i>Theobroma cacao</i> L.
Nombre común	: Cacao

2.5.2 Descripción general del *T. cacao*

El *T. cacao* es cultivada en la zona baja de la vertiente occidental de los andes, básicamente en el trópico peruano entre los 250 y 900 de altitud. La cuenca del Huallaga, presentan suelos y climas óptimos para el crecimiento y desarrollo de esta especie (MINAGRI, 2016; Romero, 2016; IICA, 2009).

Familia Malvaceae, originaria de América del Sur entre Colombia, Ecuador y Perú, alcanza una altura de hasta 6,00 m, tronco ortotrópico, con formación del primer verticilo de 0,80 a 1,00 m de altura provistas de ramas laterales (plagiotrópicas). Al año brota un nuevo verticilo y sus respectivas ramas laterales (Cerrón, 2012; APG, 2009; IICA, 2009). El árbol es sostenido por una raíz pivotante y sus flores emergen de las yemas axilares que dejan las hojas del tronco y ramas laterales.

El *T. cacao* es propia de climas tropicales y subtropicales entre las latitudes 26° N y 26°S, con temperatura optima entre 25-29 °C, temperaturas bajas afectan negativamente la inflorescencia, el crecimiento del tallo y favorecen la proliferación y ataque de hongos, afectando los niveles de rendimiento del cultivo (Cerrón, 2012). Un factor importante en el desarrollo de *T. cacao* es el clima, fundamentalmente la precipitación, este debe fluctuar entre 1500-2500 mm anuales, el exceso o deficiencia puede ocasionar pérdidas de cosecha por la aparición de enfermedades fúngicas (Girón, 1998).

En el trópico peruano se cultiva en un rango de altitud que varía desde los 300 a 900 msnm, con rendimientos diferenciados entre las regiones productoras, la zona de Quillabamba arroja 500 Kg/h. El rendimiento medio para Leoncio Prado es de 550 Kg/ha (Cerrón, 2012), al 2018 el rendimiento promedio nacional es de 720 Kg/h (MINAGRI, 2019) y al 2021 se proyecta un rendimiento medio nacional de 820 kg/h (Florida, 2021)

Esta especie es poco exigente respecto a la fertilidad del suelo, generalmente requiere suelos profundos entre 0,60 a 1,50 m, textura franca, franco-arcilloso y arenoso, los suelos finos o gruesos no favorecen su desarrollo. Además, es poco tolerante a suelos arcillosos, pobres en aireación y baja capacidad de filtración del agua, peor aún, si presenta pH bajos con toxicidad por aluminio (MINAGRI, 2016). Además, Romero (2016) señala que los suelos con textura más apropiada para esta especie son los aluviales, que generalmente presentan texturas francas, franco-arcillosos y francos arenosos, muy profundos (mayores de 1.0 m) que facilitan el anclaje de la raíz pivotante.

2.5.3. Clon CCN-51

El genotipo fue desarrollado en Naranjal, Guayas-Ecuador, en 1965, por Homero Castro Zurita. CCN-51 es un acrónimo de “Colección Castro Naranjal-cruce 51”, presenta un gran potencial productivo en comparación con otros genotipos, por su tolerancia a enfermedades, pero pobre en calidad aromática (Ávila & Cuenca, 2014).

No requiere polinización cruzada, pueden auto polinizarse para su fructificación, inicia su producción a los dos años y muestra gran resistencia al ataque de las enfermedades comunes de esta especie, causada por Moniliasis, escoba de bruja y *Ceratocystis fimbriata* (Huera & Nieto, 2018). Además, tiene gran capacidad de adaptabilidad a diversas zonas tropicales y subtropicales, sin embargo, su desventaja son sus características pobres en aroma, sabor ácido y astringente (MINAGRI, 2016).

2.6. Antecedentes internacionales

Alvarez et al. (2018) evaluó el efecto de los EM en el cultivo de fresa en la provincia de Azuay – Ecuador, en áreas con características climatológicas diferentes. Se demostró que, según el origen de los EM, presentaron efectos variados en el desarrollo de las plantas. Concluye que, en cada rango altitudinal se tienen microorganismos benéficos diferentes, influenciados por las especies vegetales de la conforman. Además, su aplicación al suelo mostro mejoras en el crecimiento en número de hojas, longitud y diámetro del tallo y numero de raíces.

Bargaz et al. (2018) en su artículo de revisión, señala que los macronutrientes como el nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K) y El azufre (S) suministrado por los fertilizantes minerales es vital para la producción agrícola, agrícola y los microorganismos beneficiosos también pueden contribuir directamente (es decir, la fijación biológica de N₂, Solubilización de P, y producción de fitohormonas, etc.) o indirectamente (es decir, antimicrobianos compuestos de biosíntesis y provocación de la resistencia sistémica inducida, etc.) al cultivo. Además, los Biofertilizantes basadas en microbios aumentan el rendimiento de la planta y exhiben efectos complementarios y sinérgicos con la fertilización mineral. De hecho, el uso combinado de microbios, es decir, microorganismos beneficiosos (fijadores de N₂, solubilizadores de P, y movilizadores de P, etc.) y los recursos minerales son una emergente área de investigación que tiene como objetivo diseñar y desarrollar formulaciones microbianas con impactos positivos en la absorción de minerales y la resistencia a las restricciones ambientales.

Holečková et al. (2018) estimó la influencia de una aplicación de microorganismos activos del género *Pseudomonas* (BE) sobre el rendimiento de materia seca y el contenido de nutrientes (P, K, Ca, Mg, S) en el maíz entre 2014 y 2016, en Sourcon Padena, Tübingen, Alemania. se realizó un experimento de campo con maíz de ensilaje como planta de prueba en el limo arenoso Cambisol. La aplicación de *Pseudomonas sp.* en combinación con fósforo (fosfato de roca (RP), superfosfato triple (TSP) y fertilizantes de nitrógeno (nitrato de amonio con urea, nitrato de amonio

con piedra caliza, nitrato de calcio o sulfato de amonio con un inhibidor de la nitrificación) y con diferentes estrategias de aplicación. Se mostraron mayores rendimientos de materia seca en tratamientos donde se aplicaron fertilizantes con P. Casi no hubo diferencia entre la aplicación de RP y TSP. Esto podría deberse al hecho de que el suelo tenía un valor de pH ligeramente ácido. En este caso, el RP mostró resultados similares al TSP. La aplicación de *Pseudomonas* aumentó significativamente los contenidos de Mg, K y S en la biomasa sobre el suelo del maíz. El aumento del contenido de Ca fue casi significativo y también se registró una tendencia hacia un mayor contenido promedio de fósforo.

Umaña (2017) Con el objetivo de analizar el potencial de los (EM) como sistemas de biofertilización de suelos, en Rodrigo Facio, Costa Rica. Inicialmente realizó la activación con tres periodos de incubación (7 días, 15 días, 22 días). Esto fue inoculado en forma de fertirriego en plantas de culantro y espinaca. Después de 09 semanas, encontró mayor actividad microbiana y una mejora en los tratamientos con respecto al control, mostrando diferencias la incubación de 15 días. No se encontraron diferencias estructurales en el suelo posiblemente por el poco tiempo de experimentación.

Terry et al. (2015) evaluó la efectividad del *Azospirillum sp*, como inóculo en el cultivo del tomate en la Habana, San José de las Lajas. Para ello, identificó y aisló el género dominante en la rizosfera del cultivo y a partir de este realizó la inoculación en plantas de tomate. Se identificó al *Azospirillum* como género dominante, la inoculación de esta rizobacteria generó efecto positivo sobre el crecimiento del tomate, así como en el estado nutricional de las plantas, mejorando el rendimiento en 11% con respecto al tratamiento testigo.

Toalombo (2012) evaluó la aplicación de EM en el rendimiento de Cebolla blanca, en Chilco la Esperanza, Cantón Tisaleo, Ecuador. Evaluó diferentes dosis y frecuencias y encontró que los tratamientos con EM y el tratamiento control, son estadísticamente iguales, sin embargo, matemáticamente el tratamiento D1F3 (1cc de EM + 1cc melaza/ 1lt cada 21 días) presentó el mayor promedio en altura 34,44 cm a los 60 días y estadísticamente el tratamiento D3F2 se recomienda como alternativa para mejorar el rendimiento en cultivos de Cebolla blanca.

Zúñiga et al. (2011) evaluó diferentes tecnologías no convencionales utilizadas como mejorados de suelos salinos, según la respuesta del maíz en Roldanillo, Valle del Cauca, Colombia. Aplicaron 3 tratamientos: 1) Biofertilizantes, 2) Biopolímeros y 3) Electromagnetismo, 4) enmiendas químicas (yeso - azufre), y un tratamiento control sólo drenaje. Los tratamientos más

efectivos en cuanto respuesta fisiológica y productividad fueron los biológicos con uso de microorganismos y la estimulación electromagnética aceleró la actividad microbiana y redujo el tiempo de recuperación de suelos salinos.

Díaz et al. (2009) evaluó la aplicación de EM sobre la capacidad de intercambio de cationes (CIC) para la recuperación de un suelo en Mondoñedo, Cundinamarca. Los EM se aplicaron en un periodo de tres meses: el primer mes, se aplicó cuatro veces por semana, el segundo mes, dos veces, cada quince días y el tercer mes una sola aplicación. Los resultados mostraron diferencias entre los tratamientos y la mejor dosificación fue la suspensión con un inoculo de 5% EM, magnificando el efecto sobre la CIC al combinar su aplicación con enmiendas orgánicas (compost, mulch y gallinaza) en dosis de una libra cada uno.

Cóndor et al. (2007) describe un experimento en *Citrus sinensis* y *C. limonia*, cítricos brasileños, donde, el suelo y las plantas fueron analizadas para ver los efectos de las aplicaciones de EM. Aplicaron dosis de 2,5 ml EM/m² al suelo y superficie del árbol. Después de la quinta aplicación de las dosificaciones de EM, los niveles de materia orgánica aumentaron significativamente ($P < 0,05$) en estratos de 0-0,2 y 0,2-0,4 m. El pH y la capacidad de intercambio (CIC) mostro tendencias de incrementó, aunque, no se encontró diferencias significativas, también se aprecia mejoras en la densidad aparente y la compactación.

Torres (2006) evaluó la recuperación de un suelo con Acacia Japonesa (*Acacia Melanoxylon*), en Mondoñedo, con aplicación de micorrizas vesículo arbusculares y EM en combinación con compost, mulch, gallinaza y fertilizante químico. Los EM y enmiendas orgánicos aportaron al suelo concentraciones importantes de Ca, Mg, Na, K. Los tratamientos con EM en el T2 promovieron la formación de simbiosis entre Hongo-Acacia, incrementando la infección en un 12 %, en comparación del tratamiento control (T1). En general, el uso de EM en todos los casos no mostró diferencias en el pH, indicador importante en la biodisponibilidad y asimilación de nutrientes por la Acacia.

2.7. Antecedentes Nacionales y locales

Vargas (2018) aplicó EM en la producción de plantones de *T. cacao* en, en Santa Rosa, La Mar, Ayacucho. Evaluó la altura, número de hojas y el grosor del tallo a la altura del cuello de los plantones ,15 días antes de cada aplicación. No encontró diferencias entre los tratamientos y las variables altura y grosor, sin embargo, el número de hojas mostro diferencias

con EM autóctonos puro (T1), el mayor número de hojas con 11 hojas en comparación con el testigo (T5) con promedio de 10 hojas.

Recharte (2015) evaluó el efecto del uso de los EM en la producción del tomate en Pisonaypata-Abancay. Aplicó dosis de 12,5, 25 y 50 mL aplicados cada 7, 14 y 21 días respectivamente. Encontró cambios positivos sobre la altura de planta, número de tallos, número de flores, área foliar y el rendimiento. Además, encontró que 25 mL aplicados cada 14 días, obtuvo el mayor rendimiento de 5 440,90 kg/h, en contraste con el testigo que alcanzó 3 198,50 kg/h.

Merino (2013) estudió la aplicación combinada de enmiendas orgánicas y EM de montaña y EM comercial, en plántones de cacao CCN - 51, en Leoncio Prado. Los resultados demostraron que tales combinaciones no influyen significativamente en la germinación y volumen radicular; sin embargo, existen diferencias en otras variables evaluadas. El trabajo demuestra que la combinación de las enmiendas es favorable para determinados parámetros del crecimiento del cacao, por lo que pone en juicio el uso de las enmiendas combinadas con otros productos como EM y NPK ya que estos representan hasta un costo del 50% adicional al costo total de los productos aplicados.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El trabajo se desarrolló en el fundo Amancio de propiedad de Amancio del Águila Rivera, ubicado en el poblado de Rio Oro, en el distrito Mariano Dámaso Beraúm, provincia de Leoncio Prado.

3.2. Ubicación geográfica

La ciudad capital del distrito se encuentra en las coordenadas siguientes:

Distrito	: Las Palmas
Zona	: 18 L
Datum	: WGS 84
Coordenadas UTM	: Este 386092 Norte 8 968134
Altitud	: 731 msnm.

3.3. Clasificación ecológica

De acuerdo con la clasificación de zonas bioclimáticas propuestas por Holdridge (2000) la parte baja del valle del Monzón, en el que se encuentra el área de estudio, corresponde a un bosque muy húmedo-Sub Tropical (bmh-ST). Específicamente el poblado de Rio Oro tiene una fisiografía muy variada, con pendientes corta y largas entre 20 a 75 %, que según Pulgar (2014) pertenece a la ecorregión Rupa Rupa o selva alta.

3.4. Condiciones climáticas

Según, Meza (2010) se caracteriza por presentar más de 85 % de humedad relativa, con una pluviometría anual mayor a 3,000 mm y una temperatura media de 22 °C, su variada característica geográfica permite observar microclimas diversos incluyendo presencia de nubosidad permanente en las áreas con mayor altitud.

3.5. Hidrografía

La principal fuente de agua es el rio Huallaga, hay otros tributarios como el rio Oro, quebrada Cuevas de las Pavas, quebrada Tambillo, rio Perdido y otros de menor nivel quienes forman parte importante del valle del Alto Huallaga.

3.6. Materiales, equipos y herramientas

3.6.1. Material biológico

Se utilizó microorganismos eficientes y plantas de cacao en producción.

3.6.2. EM y su activación

La preparación de la cepa madre requirió: Microorganismo eficiente comercial (Bioceps®) 5 L, 10 kg de estiércol de vacuno, 5 kg de melaza, 5 L de leche de vacuno, 20 L de mucilago de cacao, 0,50 kg de levadura, 1 kg de polvillo de arroz, 1 cilindro de 80 L, 1 conector, 1 manguera de 0,50 m y 1 botella plástica de 625 mL.



Figura 1. Modelo de biofermentador para producción de EM.

3.6.3. Materiales y equipos de campo

Se utilizó GPS, cámara fotográfica, mochila fumigadora, tijera de podar, machetes y balde 20 L y bidón de 80 L.

3.7. Metodología

La investigación se desarrolló en tres momentos: la primera se ubicó y se instaló la parcela experimental y se realizó el mantenimiento de la plantación en cuanto a control de malezas, poda, limpieza del tallo y hojas; en la segunda etapa se instaló un criadero de microorganismos eficientes para su activación y la tercera la aplicación y evaluación de los efectos de los EM en la calidad del suelo.

3.7.1. Fase de pre-campo

c) Elección del área experimental

El área experimental es una parcela de cacao en producción de 5 años y una extensión de 1 ha, con manejo tradicional convencional sin un plan de fertilización y con un rendimiento aproximado de 400 kg/ha. Esta parcela se subdividió de acuerdo con los tratamientos y al respectivo ajuste estadístico (DBCA) que se detallan en los siguientes ítems.

d) Activación de los microorganismos eficientes

Los microorganismos fueron activados siguiendo la metodología propuesta por Restrepo (2007): en un timbo de 80 L preparado con válvula, chupón, manguera y botella de plástico (figura 1) se colocó 30 L de agua y se añadió 10 kg de estiércol fresco de vaca, se removió con un palo de madera hasta disolverlo, se agrega 5 kg de melaza de caña disuelta, 5 L de leche fresca y se continua mezclando, a continuación se añadió 20 L de mucilago de cacao, 5 L de Microorganismos eficientes y se removió por un periodo de 3 a 5 minutos, se añade la levadura de pan y se remueve constantemente, se retira el jebe hermético de la tapa del timbo y se procedió a tapar para su fermentación. Dejar cerrado por 30 días. De este preparado se tomó para aplicar al suelo y una muestra para la identificación de los grupos microbianos presentes.

3.7.2. Fase de campo

d) Análisis físico y químico del suelo

Al finalizar la investigación se realizó el muestreo de suelo, tomado de puntos distintos en cada unidad experimental, siguiendo los criterios de la Soil Taxonomy versión 2014. El muestreo fue aleatorio en estrato superficial de 0-0,30 m y 0,50 kg en 05 puntos diferentes en cada unidad experimental, estas submuestras se mezclaron y se extrajo muestra compuesta de 1 kg por unidad y se derivó al laboratorio de suelos de la Universidad Nacional Agraria de la Selva-UNAS. Las variables físicas y químicas determinadas son:

Tabla 1. Técnicas aplicadas para el análisis del suelo.

Tipo de análisis del suelo	Parámetro	Método
Físico	Textura	Bouyoucos
	pH	Potenciómetro
	MO	Walkley y Black
Químico	K ⁺ , Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Al ³⁺ e H ⁺	AA
	P	Olsen modificado
	N total	Micro Kjeldahl

AA absorción atómica

e) **Caracterización de los EM**

Se tomó una muestra del Microorganismo eficiente Bioceps® para realizar el aislamiento e identificación de los microorganismos que lo componen mediante el protocolo estándar de aislamiento e identificación API20E.

f) **Análisis microbiológico del suelo**

También se realizó al final de la investigación, la determinación de la población de los diferentes grupos microbianos se realizó a través de la técnica de recuento en placa (Salazar et al., 2014; Baldani, 2007); para el aislamiento se tomó 10 g de suelo en 90 mL de agua peptonada (AP) 0,1%, a partir de esta, se replica un inóculo de 1 mL de solución y adicionando 10 mL de AP hasta la dilución 10^{-3} (Tabla 2), en el laboratorio de microbiología y biotecnología de la UNAS.

Tabla 2. Técnicas aplicadas para el análisis microbiológico de las muestras de suelo.

Microorganismos	Metodología PCA
Bacterias fototróficas	plate count + manitol 1%
Actinomicetos	agar actinomyces + glicerina
Fungi (mohos y levaduras)	agar sabouraud glucosado 4% + ceftriaxona

3.8. Tipo de investigación y diseño experimental

El trabajo, se ajustó a un diseño estadístico DBCA, con 04 tratamientos y 04 repeticiones. Los tratamientos aplicados son: EM de 0 L (T1), 2 L (T2), 4 L (T3) y 6 L/mochila de 20 L para T4; que corresponden a concentraciones de 0%, 10%, 20% y 30% de EM en la suspensión aplicada. Se aplicó el análisis de varianza (ANVA) para encontrar diferencias entre los tratamientos a un nivel de confianza de 95 % para repeticiones y tratamiento y para las comparaciones múltiples la prueba HSD de Tukey, a un nivel de confianza del 95 %, utilizando el paquete estadístico IBM SPSS 25 de libre acceso.

Tabla 3. Descripción de los tratamientos en estudio.

EM (L/Mochila de 20 L)	Tratamiento
Sin dosis de Microorganismos eficientes	T1
2 litros de microorganismos eficientes	T2
4 litros de microorganismos eficientes	T3
6 litros de microorganismos eficientes	T4

T1, ..T4 son los tratamientos

Tabla 4. Modelo del análisis de varianza.

FV	GL	SC	CM	Valor de F
Bloques	r - 1	$\sum_{j=1}^r \frac{Y_j^2}{t} - \frac{Y^2}{tr}$		
Dosis de ME	t - 1	$\sum_{i=1}^t \frac{Y_i^2}{r} - \frac{Y^2}{tr}$	SCtrat /gl trat	CMtrat/CMee
Error Exp.	(t - 1) (r - 1)	SCtotal - (SCtrat + SC bloque)	SCee /glee	
Total	tr - 1	$\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r y_{ij}^2 - \frac{Y^2}{tr}$		

3.8.1. Modelo lineal

El modelo lineal es:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + \mathcal{E}_{ij}$$

Donde:

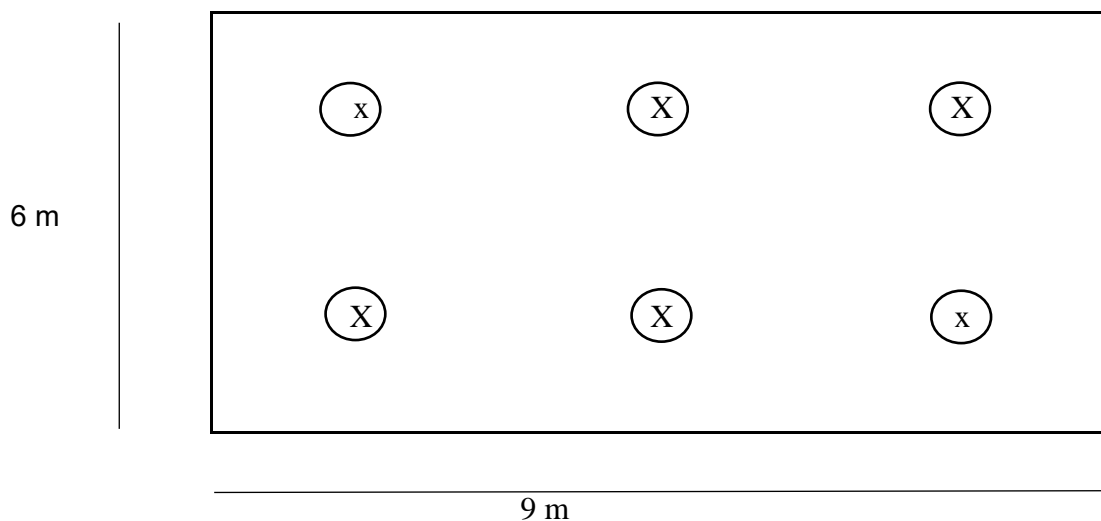
- Y_{ij} = Observación
- μ = Media general
- T_i = Efecto de los microorganismos eficientes
- β_j = Efecto de bloques
- \mathcal{E}_{ij} = Error experimental

Las variables medidas y analizadas estadísticamente a través del ANVA serán: la dosis de EM y su efecto en indicadores fisicoquímicos y microbiológicos.

		T1		T3		T4		T2
B1	x	x	x	x	x	x	x	x
	x	x	x	x	x	x	x	x
		T2		T4		T3		T1
B2	x	x	x	x	x	x	x	x
	x	x	x	x	x	x	x	x
		T4		T2		T1		T3
B3	x	x	x	x	x	x	x	x
	x	x	x	x	x	x	x	x
		T3		T1		T2		T4
B4	x	x	x	x	x	x	x	x
	x	x	x	x	x	x	x	x

T1,..Tn son tratamientos, B1,..Bn repeticiones, y x plantas de cacao a evaluarse en cada unidad

Figura 2. Diseño experimental



Leyenda: (X) planta con aplicación de EM

Figura 3. Detalle de la unidad experimental

3.8.2. Variables evaluadas

a) variable independiente

- Microorganismos eficientes EM

b) Variables dependientes

- Indicadores físicos del suelo
- Indicadores químicos del suelo
- Poblaciones microbiológicas del suelo

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Efecto de los EM en indicadores físicos del suelo

En la Tabla 5, se presentan las medias de las diferentes fracciones que definen la textura del suelo, se aprecia que no hay un cambio de la clase textural, sin embargo, hay diferencias estadísticas en la fracción limo entre los diferentes tratamientos.

Tabla 5. Estadística descriptiva de indicadores físicos

Indicadores	Tratamientos				Estadísticos	
	T1	T2	T3	T4	SEM	Sig.
Arena	51,5±1 ^a	49,5±3 ^a	49±2 ^a	47,5±4,12 ^a	7,75	0,288
Arcilla	17,5±1 ^a	16,5±1 ^a	18±2,58 ^a	16±1,15 ^a	2,5	0,310
Limo	31±1,63 ^a	34±2,58 ^{ab}	33±1,63 ^{ab}	36,5±3 ^b	3,98	0,035*
Textura	Franco	Franco	Franco	Franco	-	-

Medias seguidas de la misma letra en la columna, no se diferencian entre sí por la prueba de Duncan (p=0.05)

Tabla 6. Análisis de varianza para la fracción Limo

Origen	\sum^2	Gl	Media cuadrática F	Sig.	
Modelo corregido	62, 750a	3	20,917	3,984	0,035
Intersección tratamiento	18090,250	1	18090,250	3445,762	0,000
Error	62,750	3	20,917	3,984	0,035*
Total	63,000	12	5,250		
Total, corregido	18216,000	16			
	125,750	15			
R ² =0,499 (R ² ajustada = 0,374)					

La Tabla 5, muestran las medias de las diferentes fracciones que definen la textura del suelo, se aprecia que no hay un cambio de la clase textural, clasificado como franco según el triángulo textural del USDA; sin embargo, se aprecia diferencias estadísticas en la fracción limo entre los diferentes tratamientos. La clase textural encontrada (franco), es ideal para el desarrollo del cultivo de cacao, ya que los suelos arcillosos no presentan condiciones apropiadas de aireación y filtración del agua (MINAGRI, 2016; Romero, 2016). Al respecto, las investigaciones señalan que la aplicación de EM reestablece el equilibrio microbiológico del suelo, mejorando sus características fisicoquímicas (Díaz & Montero, 2006) en cortos periodos de aplicación (Díaz et al., 2009). Además, funcionan como acondicionador, mejoran la estructura, los agregados, evita

compactación, aumenta el espacio aéreo y la infiltración del agua, evitando procesos erosivos (Moya, 2012; Arias, 2010; CIIAN, 1994).

Los resultados no muestran un cambio de clase textural con la aplicación de los EM, si bien hay diferencias estadísticas en la fracción limo, la clase textural no se ve afectado. Este resultado es aparentemente incoherente con la teoría, pero coherente con resultados ya reportados, entre ellos, Umaña (2017) al evaluar el potencial de los microorganismos de montaña (MM) como sistemas de biofertilización de suelos, en Rodrigo Facio, Costa Rica, no se encontró diferencias estructurales en el suelo en un periodo corto de experimentación. También, Córdor et al. (2007) describe un experimento realizado en un huerto de cítricos brasileños, realizado en otoño: marzo-junio, no encontró diferencias significativas en las propiedades físicas como la densidad aparente y la compactación entre los tratamientos. Por lo tanto, los resultados de la investigación después de 5 meses de aplicación concuerdan con las referencias, al no encontrarse diferencias entre los tratamientos y la clase textural del suelo, explica este comportamiento el corto periodo de evaluación del efecto de los EM en el suelo.

4.2 Efecto de los EM en indicadores químicos del suelo

La Tabla 7, muestra los valores promedios, la desviación estándar y la significancia entre los tratamientos e indicadores químicos evaluados, se muestran diferencias para los niveles de MO y N; sin embargo, los demás indicadores evaluados no muestran diferencias respecto al tratamiento control. En general, se aprecia numéricamente un ligero incremento para los indicadores P, K⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺.

Tabla 7. Estadística descriptiva de indicadores químicos

Indicadores	Tratamientos				Estadísticos	
	T1	T2	T3	T4	SEM	Sig.
pH	4,8775±0,238	4,9125±0,203	4,88±0,224	4,8725±0,234	0,051	0,994
MO (%)	1,85±0,161 ^b	1,57±0,075 ^a	1,915±0,159 ^b	1,57±0,084 ^a	0,016	0,003**
N (%)	0,092±0,01 ^b	0,0775±0,01 ^a	0,095±0,006 ^b	0,0775±0,01 ^a	0,000044	0,003**
P (ppm)	6,161±0,318	6,15±0,735	6,162±0,616	6,257±0,397	0,295	0,991
K (ppm)	96,435±40,95	108,705±35,9	95,195±41,42	94,747±40	1570,44	0,951
Ca (Cmol/kg)	4,517±0,69	4,555±0,317	4,557±0,343	4,727±0,553	0,252	0,934
Mg (Cmol/kg)	1,966±0,203	1,986±0,141	2,13±0,293	2,146±0,340	0,066	0,664

Al (Cmol/kg)	1,056±0,53	1,11±0,479	1,11±0,616	1,086±0,559	0,301	0,998
H (Cmol/kg)	0,068±0,087	0,0775±0,084	0,12±0,0668	0,186±0,063	0,006	0,172
BC (%)	85,056±6,246	84,876±4,568	84,518±6,878	84,352±6,63	37,769	0,999
AC (%)	14,941±6,246	15,12±4,568	15,483±6,879	15,648±6,62	37,769	0,999
S Al (%)	14,10±7,187	14,101±5,56	13,971±7,554	13,41±6,923	46,887	0,998

SEM= Error estándar de la media, Sig= Significancia, T= Tratamientos, **= altamente significativo

La Tabla 7, muestra diferencias altamente significativas para los indicadores MO y N, los demás indicadores no mostraron diferencias respecto a los tratamientos aplicados. Además, en general el suelo evaluado tiene pH ácido.

Los EM, mejoran integralmente la calidad del suelo (Luna & Mesa, 2016) y la actividad microbiológica desempeña un rol determinante en la fertilidad del suelo y consecuentemente en la nutrición de los vegetales (Nikolaevich y Borisovich, 2019; Van Wyk et al., 2017). Por ello, el uso de esta tecnología permite mejorar los indicadores químicos, aumentar la CIC del suelo, la materia orgánica y elevar el pH, favoreciendo la absorción de nutrientes (Díaz et al., 2009). Moya (2012) y Arias (2010) señalan que los EM en general mejoran la biodisponibilidad de nutrientes por su acción directa en la solubilización de minerales, dejando los elementos libres en la solución para ser absorbidos por el sistema radical. Además, los EM aplicados al suelo aceleran la mineralización de compuestos orgánicos (Haro, 2013) y exhiben efectos adicionales si se aplican juntamente con la fertilización mineral, con impactos positivos en la absorción por las plantas (Bargaz et al., 2018)

Se encontró diferencias para los indicadores MO y N; aspecto ya descrito por otros investigadores, entre ellos, Córdor et al. (2007) cita un experimento realizado en cítricos en Brasil, en ella se evidencia mejoras en el contenido de materia orgánica, pH y CIC, mostrando diferencias a profundidades de 0-0,20 y 0,20-0,40 m, atribuye el efecto a la acción de los EM para transformar los residuos de la superficie.

Los resultados de la Tabla 7, muestran tendencias de aumento del P, K⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺, aunque, aunque no presentan diferencias. Esta tendencia también es mostrada por otros trabajos. Holečková et al. (2018) aplicando *Pseudomonas*, incremento significativamente los contenidos de Ca²⁺, Mg²⁺, P, K y S del suelo en maíz. Diaz et al. (2009) aplicando EM mejoro los niveles de CIC en un proceso de recuperación de un suelo degradado, en Mondoñedo, Cundinamarca. También, Torres (2006) en la recuperación de un suelo con Acacia Japonesa, a través de micorrizas vesículo

arbusculares y EM, encontró mejoras en los niveles de Ca, Mg, Na y K. Los resultados de este trabajo coinciden con lo reportado por las referencias y evidencian que en periodos cortos los EM pueden tener efectos significativos en los indicadores de calidad del del suelo, aun, en periodos cortos de aplicación.

Los indicadores que mostraron diferencias altamente significativas son la materia orgánica MO y el nitrógeno N, en la Tabla 8 y 9, se muestran los análisis de varianza para MO, N y la prueba de Duncan (Tabla 10 y 11) para determinar los subconjuntos homogéneos para la media de los diferentes tratamientos.

Tabla 8. Análisis de varianza para MO

Origen	Σ^2	Gl	Media		
			cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	,399 ^a	3	,133	8,292	0,003
Intersección	47,679	1	47,679	2972,199	0,000
tratamiento	0,399	3	0,133	8,292	0,003**
Error	0,193	12	0,016		
Total	48,271	16			
Total, corregido	0,592	15			

$R^2 = 0,675$ (R^2 ajustada =0,593)

Sig= Significancia, **= altamente significativo

Tabla 9. Análisis de varianza para N

Origen	Σ^2	Gl	Media		
			cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	0,001 ^a	3	0,000	8,143	0,003
Intersección	0,117	1	0,117	2681,286	0,000
tratamiento	0,001	3	0,000	8,143	0,003**
Error	0,001	12	4,3755		
Total	0,119	16			
Total, corregido	0,002	15			

a. R al cuadrado = 0,671 (R al cuadrado ajustada = 0,588)

Sig= Significancia, **= altamente significativo

La prueba de Duncan (Tabla 10 y 11) muestra efectos similares entre el tratamiento 2 y 4 (subconjunto a) y también efecto similar entre el tratamiento 1 y 3 (subconjunto b); siendo el T3 el que presento el mayor promedio en MO y N

Tabla 10. Prueba de Duncan para MO

Tratamiento	N	Subconjunto	
		a	b
T2	4	1,57	
T4	4	1,57	
T1	4		1,85
T3	4		1,915
Sig.		1,00	0,482

Tabla 11. Prueba de Duncan para N

Tratamiento	N	Subconjunto	
		a	b
T2	4	0,0775	
T4	4	0,0775	
T1	4		0,0925
T3	4		0,0950
Sig.		1,00	0,603

Los únicos indicadores que muestran diferencias son la MO y el N; la Tabla 12, muestra las comparaciones múltiples, a través de la diferencia honesta significativa HSD-Tukey para la MO. Los tratamientos T2 y T4 son los que presentan mayores diferencias (Sig=0.038) con respecto al testigo absoluto.

Tabla 12. Comparaciones múltiples HSD-Tukey

		Diferencia de			
	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	medias (I-J)	Desv. Error	Sig.
HSD Tukey	T1	T2	0,280*	0,089	0,038
		T3	-0,065	0,089	0,885
		T4	0,280*	0,089	0,038

HSD= Diferencia honesta significativa, Sig= significancia

4.3 Efecto de los EM en indicadores microbiológicos del suelo

En la Tabla 13, muestra los valores medios según la estadística básica aplicados a los diferentes parámetros microbiológicos evaluados, poniendo en evidencia que en cortos periodos de aplicación de los tratamientos no se observa diferencias estadísticas significativas.

Tabla 13. Principales grupos microbianos evaluados

Indicadores	Tratamientos				Estadísticos	
	T1	T2	T3	T4	SEM	Sig.
Bacterias fototróficas	107750±98591	58000±13366	64500±29949	57000±26495	287447916	0,510
Actinomicetos	27000±13490	42500±42649	63500±33171	23750±16820	846062500	0,251
Fungi	5750±5123	8750±8341	7750±8732	3250±5251	499166666	0,707

T1, ...T4= Tratamientos, SEM= Error estándar de la media, Sig= Significancia

La tabla 13, la población media de bacterias varía entre de 57 000 (T4) a 107 000 (T1); Actinomicetos de 27 000 (T1) a 63 500 (T3) y Fungi de 3 250 (T4) a 8750 UFC/g suelo (T2), lo que equivalen a una población de 10^4 para bacterias y actinomicetos y 10^3 para fungi. Además, el número de bacterias tiende a disminuir a medida que las dosis de EM aumentan, los actinomicetos y hongos muestran un comportamiento contrario, con T2 (10 % de EM) y T3 (20 % de EM) y luego tiende a disminuir T4 (con 30 % de EM). En general, se tiene una población muy baja, considerando valores normales de bacterias entre $10^8 - 10^{10}$, actinomicetos $10^6 - 10^8$ y los hongos de $10^4 - 10^6$ UFC/g de suelo (Otero, 2011; Coyne, 2000).

Las bacterias presentes en los EM, al ser aplicados como inoculante incrementan la diversidad microbiana de los suelos y producen sustancias útiles que incluyen: aminoácidos, ácidos nucleicos, sustancias bioactivas y azúcares que activan el crecimiento de los vegetales y suprimen la proliferación de patógenos (Akhtar et al., 2018; Merino, 2013; Gimeno, 2011), son el grupo más dominante (Coyne, 2000).

Las bacterias ácido lácticos, liberan dicha sustancia (Merino, 2013; Torres y Silva, 2006; Bures, 1997), y en el suelo actúa como potente antiséptico, capaz de inhibir el desarrollo de patógenos y facilita la mineralización de componentes orgánicos resistentes como lignina y celulosa (Otero, 2011; Arias, 2010). Por su parte, los actinomicetos, bacterias filamentosas gran positivas, producen sustancias antimicrobianas de propias bacterias y hongos, esto, favorece la acción del azotobacter, micorrizas (Luna & Mesa, 2016; Haro, 2013; Bures, 1997) y estos son fundamentales en la solubilización de fosfatos (González, 2010). Los hongos fragmentan los componentes principales de la materia orgánica (Haro, 2013) para producir alcohol, ésteres y sustancias antimicrobianas (Bures, 1997), las levaduras, hongos unicelulares sintetizan sustancias antimicrobiales, hormonas y enzimas que promueven el crecimiento radicular (Luna & Mesa, 2016). Estos grupos forman parte de los EM, aunque su aplicación, no siempre se traduce en

incrementos significativos en la población de los grupos que aporta, pero, genera equilibrio entre las poblaciones, entre otros beneficios (Terry et al. 2015), situación observada en este trabajo.

V. CONCLUSIONES

1. La aplicación de los EM no muestra cambios en la clase textural del suelo, encontrándose diferencias estadísticas significativas solo en la fracción limo; la clase textural es clasificado como franco según el triángulo textural del USDA y es considerado como un suelo con textura ideal para el desarrollo del cultivo de cacao
2. Los indicadores químicos muestran diferencias para MO y N, el resto de los indicadores no muestran diferencias respecto al tratamiento control, sin embargo, se evidencia ligero incremento en los niveles de P, K⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺, aunque, sin mostrar diferencias, en general los indicadores muestran niveles de un suelo típico de baja calidad.
3. La población de grupos microbianos no presenta diferencias, con una población equivalen a 10⁴ UFC/g suelo para bacterias y actinomicetos y 10³ UFC/g suelo para fungi. Se aprecia tendencia a disminución de la población bacteriana a mayor dosis de EM y en el caso de los actinomicetos y hongos muestran comportamiento contrario, con incremento de la población a mayor dosis de EM.

VI. PROPUESTAS A FUTURO

1. Aplicar EM en concentraciones de 20 y 30 %, porque mejoran significativamente los niveles de materia orgánica y nitrógeno en cortos periodos de aplicación en suelos con producción de cacao.
2. Evaluar el efecto de los EM en periodos más amplios, para determinar sus potenciales efectos y la concentración indicada para su dosificación y recomendación para su aplicación.
3. Investigar la capacidad de los EM en el control de enfermedades en el cultivo de cacao y como este influye en el rendimiento y rentabilidad.
4. Evaluar la capacidad de los EM para controlar la presencia de malezas en el área de cultivo, como estrategia ecológica y evitar el uso de herbicida.

VII. REFERENCIAS

1. Abril A. (2003). ¿Son los microorganismos edáficos buenos indicadores de impacto productivo en los ecosistemas? Asociación Argentina de Ecología. Córdoba (Argentina). *Rev. Ecol. Austral*, 13, 195-204.
2. Akhtar, N., Naveed, M., Khalid, M., Ahmad, N., Rizwan, M. & Siddique, S. (2018). Effect of bacterial consortia on growth and yield of maize grown in *Fusarium* infested soil. *Soil and Environment* 37(1): 35–44. <https://doi.org/10.25252/SE/18/872>
3. Alvarez, M., Tucta, F., Quispe, E. & Meza, V. (2018). Incidencia de la inoculación de microorganismos benéficos en el cultivo de fresa (*Fragaria* sp.) *Scientia Agropecuaria* 9(1), 33–42. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.04>
4. Argüello, N. A., Madiedo, S. N. & Moreno, R. L. (2016). Cuantificación de bacterias diazótrofias aisladas de suelos cacaoteros (*Theobroma cacao* L.), por la técnica de Número Más Probable (NMP) *Rev. Colomb. Biotecnol*, 18(2), 40-47. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n2.47678>
5. Arias-Hoyos, A. (2010). Microorganismos eficientes y su beneficio para la agricultura y el medio ambiente. *Journal de ciencia e ingeniería*, 2(2), 42–45
6. Ávila, P. D. & Cuenca C. E. (2014). *Estudio de la fertilización del cultivo de cacao (Theobroma cacao L.) nacional en suelos volcánicos de Quevedo*. [Tesis pregrado, Universidad Técnica de Manabí.]. Repositorio UTM. <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/handle/28000/4465>
7. Baldani, V. (2007). Aislamiento, colonización e identificación de bacterias diazotróficas en plantas de arroz (*Oryza sativa*). En: Segundo curso internacional microorganismos promotores del crecimiento vegetal: rizobacterias y solubilizadores o movilizadores de fosfatos. Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia–IBUN
8. Banco Interamericano de Desarrollo. (2009). Manual práctico de uso de Microorganismos efectivos. BID - Convenio Fondo Especial de Japón / BID ATN/JO-10792 UR, Montevideo (Uruguay). Manual N° 1. 37 p.
9. Batista, L. (2009). Guía Técnica el Cultivo de Cacao en la República Dominicana. CEDAF. Santo Domingo, República Dominicana. 250 p.

10. Bargaz, A., Lyamlouli, K., Chtouki, M., Zeroual, Y. & Dhiba, D. (2018). Soil Microbial Resources for Improving Fertilizers Efficiency in an Integrated Plant Nutrient Management System. *Front. Microbiol.* 9(1), Article 1606. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.01606/full>
11. Burés. 1997. Sustratos. 1 ed. Madrid, España, Agro técnicas S.L. 280 p.
12. Centro Internacional De Investigación Para La Agricultura Natural-CIIAN (1994). Microorganismos Beneficios y Efectivos. Atami (Japón) Guía técnica. www.agriton.nl/higa.html
13. Cerrón, G. (2012). Asistencia técnica dirigida en manejo integrado del cultivo de cacao. Guía técnica. UNALM – Agrobanco. Perú.
14. Correa, O. S. (2016). Aportes de la microbiología a la producción de cultivos. Tercera jornada del instituto de investigaciones en biociencias agrícolas y ambientales. Agosto 2016.
15. https://www.researchgate.net/publication/306960003_LOS_MICROORGANISMOS_DE_L_SUELO_Y_SU_ROL_INDISCUTIDO_EN_LA_NUTRICION_VEGETAL
16. Córdor, G.A., González, P. P. & Lokare, C. (2007). Effective Microorganisms: Myth or reality?. *Rev. peru. biol.* 14(2), 315-319. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v14n2/a26v14n02>
17. Coyne, M. (2000). Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio. Editorial Paraninfo ITP an Intemational Thomson Publishing Company. Madrid España.
18. Cronquist, A. (1981). Un sistema integrado de clasificación de las Angiospermas. Ed. Columbia University Press.
19. Díaz, O., Montero, D. & Lagos J. (2009). Acción de microorganismos eficientes sobre la actividad de intercambio catiónico en plántulas de acacia (*acacia melanoxylon*) para la recuperación de un suelo del municipio de Mondoñedo, Cundinamarca. *Revista Colombia Forestal*, 12(1), 141-160.
20. EM Producción y Tecnología S.A -EMPROTEC. 2003. Guía de la tecnología de Microorganismos eficaces., San Juan de Tibas (Costa Rica). Guía técnica.
21. EEAITAJ (Estación Experimental Agropecuaria para la Introducción de Tecnologías Apropriadas de Japón). (2013). Microorganismos eficaces. Soriano (Uruguay). Guía técnica. 4 p.

22. FUNDASES (Fundación de Asesorías para el Sector Rural Ciudad De Dios). (2008). Microorganismos benéficos y efectivos para una agricultura y medio ambiente sostenible. Ciudad de Dios (Colombia).
23. Gimeno. J. (2008). Microorganismos efectivos: ¿una panacea o una realidad? *Ecomaria.com*, Visto el 5 de junio en <http://ecomaria.com/blog/microorganismos-efectivos%20BFuna-panacea-o-una-realidad/>
24. Giron, G. (1998). *Theobroma cacao* L. (Sterculiaceae) en la región nororiental de la Isla de Margarita, Estado Nueva Esparta, Venezuela. *FAO-Biodiversity*, 138, 1-4.
25. González, J. Y. (2010). *Los actinomicetos: Una visión como promotores de crecimiento vegetal*. [Tesis, pregrado, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositorio Javeriana <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8665/tesis618.pdf;sequence=1>
26. Gómez, R. (2014). Paquete tecnológico del cultivo del cacao fino de aroma. Documento técnico. UNODC–DEVIDA. Perú. http://www.devida.gob.pe/uploads/libros/Paquete_Tecnologico_Cultivo_Cacao.pdf
27. Grupo para la Filogenia de las Angiospermas-APG III. (2009). Sistema de clasificación. <http://www.efn.uncor.edu/departamentos/divbioeco/divveg2/CLADOS%20curso%202010.pdf>.
28. Haro, R. 2013. *Aplicación de Biol enriquecido con microorganismos eficientes para la producción limpia de Brócoli (Brassica oleracea var. Italica) híbrido Legacy*. [Tesis postgrado, en Agroecología y Ambiente.. Universidad Técnica de Ambato, Ecuador]. Repositorio UTA <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/6477>
29. Holdridge, R.L. (2000). *Ecología basada en zonas de vida*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) San José- Costa Rica. 5ª reimpresión.
30. Holečková, Z., Kulhánek, M., Hakl, J. & Balík, J. (2018). Use of active microorganisms of the Pseudomonas genus during cultivation of maize in field conditions. *Plant Soil Environ*, 64(1), 26–31. <https://doi.org/10.17221/725/2017-PSE>
31. Huera. P. M. & Nieto C. C. (2018). *Respuesta del cacao a la aplicación del fertilizante “full cacao” en comparación con la fertilización convencional en Pangua*. [Tesis pregrado, Universidad Central del Ecuador]. Repositorio UCE, <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/15195>

32. Hurtado, E. (2001). ¿Qué son microorganismos eficientes?
<http://es.answers.yahoo.com/question/index?qid=20080731132826aa6mgbr>.
33. IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). (2009). Situación y perspectiva de la cadena del cacao -chocolate en el Perú. IICA – MINAG. Lima-Perú.
34. INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática). (2012). IV Censo nacional agropecuario. CENAGRO 2012. Lima. Perú.
35. Laborda, R. (2003). Métodos de evaluación en protección de cultivos.
<https://cropprotection.files.wordpress.com/2008/12/mc3a9todos-de-evaluacic3b3n-en-proteccic3b3n-de-cultivos.pdf>
36. Luna, F. M. & Mesa R. J. (2016). Microorganismos eficientes y sus beneficios para los agricultores. Revista científica Agroecosistemas. Vol. 4 (02): 31-40.
<http://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/index>
37. Merino M. E. (2013). *Efecto de la aplicación de abonos procesados con microorganismos eficientes en la producción de plántones de cacao (Theobroma cacao L.) clon CCN- 51*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria de la Selva]. Repositorio UNAS, <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/161>
38. Mejía, F.R. (2005). *Eficiencia de los microorganismos efectivos (EM) y bokashi en la recuperación de suelos contaminados con glifosato*. [Tesis doctoral, Universidad Nacional de Trujillo]. Repositorio UNITRU, <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/5998>
39. Meza, C. (2010). Percepción ambiental de los paisajes y sus potencialidades: provincia de Huamalíes. Artículo investigaciones sociales Vol.14 N°25. UNMSM/IIHS, Lima, Perú. p.47 – 62.
40. MINAGRI (Ministerio De Agricultura & Riego). (2016). Estudio del cacao en el Perú y en el mundo; Situación Actual y Perspectivas en el Mercado Nacional e Internacional al 2015. MINAGRI-DGPA-DEEIA. Disponible en <http://www.minagri.gob.pe/portal/analisis-economico/analisis-2016?download=10169:estudio-del-cacao-en-el-peru-y-en-el-mundo>
41. Moya, J.C. (2012). Cómo hacer microorganismos eficientes. Ministerio de agricultura y ganadería dirección regional central occidental. <http://fundases.com/p/solbac.html>
42. Nikolaevich, L.F. & Borisovich, V. D. (2019). Microbiota's response to natural-anthropogenic changes in moisture in a trans-zonal aspect: A case study for the south part of East European Plain. Soil Environ. 38(1): 21-30. DOI:10.25252/SE/19/71769

43. Otero J. V. (2011). Aislamiento, Selección e Identificación de Actinomicetos, Bacterias Fotosintéticas No Sulfurosas y Bacterias Ácido Lácticas con Potencial Biofertilizante, a Partir de Suelos Asociados al Cultivo de Plátano en la Costa Atlántica Colombiana. [Tesis]. Universidad Nacional de Colombia. Disponible en:
44. <http://www.bdigital.unal.edu.co/5324/1/vanessaoterojimenez.2011.pdf>
45. Pulgar, V.J. 2014. Las ocho regiones naturales del Perú. *Terra Brasilis (Nova Série)* 3: 1-20. <https://doi.org/10.4000/terrabilis.1027>
46. Recharte, D. C. (2015). *Evaluación de microorganismos eficientes autóctonos en el rendimiento del cultivo de tomate (Lycopersicon esculentum, mill) en San Gabriel – Abancay*. Tesis de pregrado. Facultad de Ingeniería - Universidad Tecnológica de los Andes, Perú
47. Romero, H. (2016). *Evaluación ecomorfológica de cacao (Theobroma cacao L.) sometido a distintas fertilizaciones, en la comunidad de nuevo Ojital, municipio de Papantla, Veracruz*. [Tesis pregrado, Universidad Veracruzana]. Repositorio Veracruzana:.
48. Siebert, J., Sünnemann, M., Auge, H., Berger, S., Cesarz, S., Ciobanu, M., Guerrero, R.N. & Eisenhauer, N. (2019). The effects of drought and nutrient addition on soil organisms vary across taxonomic groups but are constant across seasons. *Scientific Reports* 9(1), article No 639. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36777-3>
49. Soriano, B.& Soriano E. (2010). Degradación de pesticidas por Actinomicetos. UCV Scientia. 2 (01): 34-37. Disponible en file:///C:/Users/Downloads/Dialnet-DegradacionDePesticidasPorActinomicetos-6181506.pdf
50. Terry, A. E., Leyva, A. & Hernández, A. (2005). Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum, Mill*) *Rev. Colomb. Biotecnol* 7(2), 47-54. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77670207>
51. Torres, G. & Silva, X. (2006). *Evaluación del efecto que tienen los EM (Microorganismos Eficientes) en las Micorrizas para la recuperación de suelos intervenidos del área de Mondoñedo*. [Tesis pregrado. Universidad de La Salle]. Repositorio La Salle, https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria?utm_source=ciencia.lasalle.edu.co%2Fing_ambiental_sanitaria%2F260&utm_medium=PDF&utm_campaign=PDFCoverPages

52. Toalombo, R. M. (2012). *Evaluación de microorganismos eficientes autóctonos aplicados en el cultivo de cebolla blanca (Allium fistulosum)* [Tesis pregrado. Universidad Técnica de Ambato, Ecuador]. Repositorio UTA, <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/2217>
53. Ullah, R., Lone, M.I., Mian, S.M., Ali, S., Ullah, K.S. Sheikh A.A. & Ali, I. (2012). Impact of seasonal variations and cropping systems on soil microbial biomass and enzymatic activities in slope gradient moisture stressed soils of Punjab-Pakistan. *Soil and Environment* 31(1): 21–29.
54. Umaña, S. (2017). *Ingeniería Ecológica: efecto del uso de microorganismos de montaña sobre el suelo con base en dos cultivos agrícolas*. Tesis de pregrado. Facultad de Ingeniería- Universidad de Costa Rica
55. Van Wyk, D.A., Adeleke, R., Rhode, O.H., Bezuidenhout, C.C. & Mienie, C. (2017). Ecological guild and enzyme activities of rhizosphere soil microbial communities associated with Bt-maize cultivation under field conditions in North West Province of South Africa. *Journal of Basic Microbiology* 57(9): 781–792.
56. Vargas, G. R. (2018). *Aplicación de microorganismos eficientes EM en la producción de plántones de Theobroma cacao L. "cacao" en condiciones de vivero*. Tesis de pregrado. Facultad de Ciencias Biología- Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Perú.
57. Zúñiga, E. O., Osorio, J. C., Cuero, G. R. & Peña, O. J. (2011). Evaluación de Tecnologías para la Recuperación de Suelos Degradados por Salinidad *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*, 64(1), 5769-5779. Recuperado de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/26378>

VIII. ANEXOS

Instalación y aplicación del EM



Figura 4. Poda y limpieza del área experimental



Figura 5. Diseño y delimitación del área experimental



Figura 6. Identificación de las unidades experimentales



Figura 7. Dosificación del EM



Figura 8. Aplicación del EM

Extracción de muestras de suelo



Figura 9. Extracción de muestras según tratamientos



Figura 10. Extracción de submuestras



Figura 11. Estado de la planta al final del experimento