



Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

DIRECCIÓN DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

Trabajo de Tesis

**Diversidad microbiana asociada a
plantaciones de cacao (*Theobroma cacao L.*),
en el departamento de Rio San Juan, 2023.**

Autor

Br. Isaura Alicia López Rodríguez

Asesores

MSc. Markelyn Jose Rodriguez Zamora

PhD. Alfonso Martinuz Guerrero

MSc. Jorge Antonio Gómez Martínez

Presentado a la consideración del honorable comité
evaluador como requisito final para optar al grado de
Ingeniero Agrónomo

Managua, Nicaragua
Noviembre, 2024

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable comité evaluador designado por la Dirección de Ciencias Agrícolas como requisito final para optar al título profesional de:

Ingeniero Agrónomo

Miembros del Comité Evaluador

MSc. Juan Carlos Moran Centeno
Presidente

MSc. Ariel Mena Garcia
Secretario

MSc. Javier Silva Rivera
Vocal

Lugar y fecha: Managua, Nicaragua, 21 de noviembre 2024

DEDICATORIA

A Dios por brindarme la salud, capacidad, fortaleza y la sabiduría y ser mi guía durante todo el proceso de realización de esta tesis. Y hacer de este proyecto de vida profesional, una realidad.

A mis padres, Moisés Dagoberto López Roblero y Escharleht Dominga Rodríguez Cruz, por sus innumerables sacrificios y por ser el apoyo invaluable e incondicional en cada momento de mi vida durante cada paso de este camino académico. Su dedicación y amor han sido mi inspiración y motor para alcanzar mis metas. Este logro es el fruto de su amor y enseñanzas.

A mis hermanas Liana López Rodríguez y Tania López Rodríguez, y a mis padrinos Carlos Reñazco Zepeda y Heydi Reñazco Zepeda por su compañía, comprensión y aliento en los momentos más difíciles. Gracias por estar siempre a mi lado, celebrando mis triunfos y compartiendo mis preocupaciones.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por el don de la vida, la salud, la sabiduría y la fortaleza ante las adversidades presentes durante mi carrera universitaria y la elaboración de mi tesis.

A mis asesores de tesis, MSc. Markelyn José Rodríguez Zamora, y MSc. Jorge Antonio Gómez Martínez, Alfonso Martinuz Guerrero por su orientación experta, paciencia y dedicación a lo largo de este proceso. Sus conocimientos y consejos fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo.

A La Universidad Nacional Agraria por la realización de mi tema de investigación, en el laboratorio de microbiología.

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
ÍNDICE DE CONTENIDO	iii
ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos específicos	3
III. MARCO DE REFERENCIA	4
3.1 Diversidad microbiana	4
3.2 Microbioma, microbiota, rizosfera y endófitos.	5
3.3 Hongos endófitos	6
3.4 Importancia de los hongos y bacterias en el suelo	7
3.5 Hongos descomponedores del suelo	8
3.6 Hongos biocontroladores presente en el suelo	8
3.7 Hongos como reguladores de crecimiento y endófitos.	9
3.8 Bacterias descomponedores del suelo	10
3.9 Importancia de las bacterias en el suelo.	11
3.10 Bacterias como biocontroladores presente en el suelo	11
3. 11 Micorrizas	12
3.12 Importancia de las micorrizas	12
3.13 Biofertilizantes a base de microorganismos	13
3.14 Importancia de los hongos y bacterias en un agroecosistemas	13
3.15 Estudios realizados del microbiota del suelo	14
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	17
4.1 Ubicación del estudio	17

4.2 Diseño metodológico	17
4.3 Diseño experimental	17
4.4 Colecta de muestra de suelo	17
4.5 Aislamiento de hongos de suelo	18
4.6 Aislamiento de Bacterias de suelo	19
4.7 Identificación de hongos de suelo	20
4.8 Identificación de bacterias de suelo	20
4.9 Método de tamizado y decantación en húmedo para separación de esporas de micorrizas en muestras de suelo	20
4.10 Método de centrifugación para separación de esporas de micorrizas y nematodos en muestras de suelo	20
4.11 Identificación de géneros de micorrizas y nematodos a nivel de género	21
4.12 Variables a evaluar	21
4.12.1 Número total de hongos	21
4.12.2 Número total de bacterias	21
4.12.3 Número total de actinomicetos	21
4.12.4 Número total de Nematodos	21
4.12.5 Número de nematodos encontrado en 200 gramos de suelo	21
4.12.6 Número Total, de micorrizas cuantificadas	22
4.13 Análisis de Datos	22
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
5.1 Relación de las propiedades fisicoquímicas en las fincas con cacao	23
5.2 Géneros de hongos encontrados en fincas productoras de cacao	24
5. 3 Género de bacterias encontrada en fincas productoras de Cacao	26
5.4 Frecuencia de Nematodos fitoparasitos	28
5.5 Frecuencia total de generos micorrizas arbusculares en siete agroecosistemas con cacao	30
5.6 Número total de Actinomicetos	32
VI. CONCLUSIONES	344
VII. RECOMENDACIONES	355
VIII. LITERATURA CITADA	366
IX. ANEXOS	466

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1.	Ubicación de los sitios donde se recolectaron las muestras	19
2.	Separación de media (Tukey=0.05). En hongos por fincas y géneros	27
3.	Promedio de esporas de micorrizas por fincas y géneros	33

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1.	Ilustracion del procedimiento de la técnica de dilución en serie	20
2.	Propiedades físicas y químicas a las fincas con cacao	24
3.	Número de unidades formadoras de colonias de hongos por finca	26
4.	Número de unidades formadoras de colonias de bacterias por fincas	28
5.	Géneros de bacterias asociado a fincas con cacao	29
6.	Número total de nematodos por fincas	30
7.	Numero de nematodos por géneros asociados en fincas de cacao	31
8.	Cantidad de esporas de micorrizas por fincas	32
9.	Número de unidades formadoras de colonias de actinomicetos por finca	34

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO		PÁGINA
1.	Cuadro de análisis de varianza para los diferentes organismos bajo estudio	46
2.	Cuadro de resultado de ANDEVA para actinomicetos	47
3.	Cuadro de resultados de análisis de suelo por finca	49

RESUMEN

En Nicaragua, el cultivo del cacao está en manos de pequeños productores indígenas y campesinos de escasos recursos con poca tecnología. El cultivo de cacao se encuentra establecido cerca de áreas protegidas con áreas de producción promedio de 2 a 5 manzanas. Las comunidades microbianas presentes en el suelo ofrecen una variedad de servicios ecosistémicos como, la degradación de la materia orgánica, el ciclo de nutrientes e interacción con las raíces de las plantas y otros microorganismos. Los datos fueron analizados estadísticamente mediante un análisis descriptivo (Frecuencia) aplicando modelos lineales, seleccionando el que mostró el menor valor de Akaike (AIC), empleando distribución de poisson, declarando efecto fijo las fincas, las muestras y las especies y efecto aleatorios las especies de microorganismos (Hongos, bacterias, nematodos, micorrizas y Actinomicetos). Los resultados muestran que hubo diferencia significativa entre los géneros de hongos evaluados y las fincas en el análisis el modelo explico un 61% de variabilidad de los datos los cuales cambiaron un 36.28 % con relación a su media. Demostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre las fincas y géneros evaluados ($P=0.0001$) con un índice de akaike de 3.81. En las micorrizas solo hubo diferencia estadísticamente significativa entre géneros. Los géneros que se presentaron con mayor frecuencia en hongos fueron: *Aspergillus* y *trichoderma*, los géneros de bacterias fueron: *Bacillus* sp y *Pseudomona* sp. El género *Helicotylenchus* sp fue el más frecuente y el género *Glomus* se presentó con mayor frecuencia en las micorrizas.

Palabras Clave: Actinomicetos, Hongos, Bacterias, Micorrizas

ABSTRACT

In Nicaragua, cocoa cultivation is in the hands of small indigenous producers and low-income farmers with little technology. Cocoa cultivation is established near protected areas with average production areas of 2 to 5 blocks. The microbial communities present in the soil offer a variety of ecosystem services such as the degradation of organic matter, nutrient cycling and interaction with plant roots and other microorganisms. The data were statistically analyzed through a descriptive analysis (Frequency) applying linear models, selecting the one that showed the lowest Akaike value (AIC), using a poisson distribution, declaring a fixed effect for the farms, samples and species and a random effect for the species. of microorganisms (Fungi, bacteria, nematodes, mycorrhizae and Actinomycetes). The results show that there was a significant difference between the mushroom genera evaluated and the farms in the analysis, the model explained 61% of the versatility of the data, which changed 36.28% in relation to its mean. It demonstrated that there are statistically significant differences between the farms and genera evaluated ($P=0.0001$) with an arkaike index of 3.81. In mycorrhizae there was only a statistically significant difference between genders. The genera that occurred most frequently in fungi were: *Aspergillus* and *Trichoderma*, the bacterial genera were: *Bacillus* sp and *Pseudomona* sp. The genus *Helicotylenchus* sp was the most frequent and the genus *Glomus* occurred most frequently in mycorrhizae.

Key word: Fungi, bacteria, nematodes, mycorrhizae and Antinomycetes

I. INTRODUCCIÓN

En Nicaragua, el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.), está en manos de pequeños productores indígenas y campesinos de escasos recursos y poca tecnología. El cultivo de cacao se encuentra establecido cercas de áreas protegidas con productores promedio de dos a cinco manzanas. (Cadenacacaoca, 2010, p.5)

La Bolsa Agropecuaria de Nicaragua (BAGSA) califica al cacao como un producto que aporta a la sostenibilidad ambiental, social y económica de los productores y fortalece la oferta exportable de los países que cosechan el producto. (FORESTAL, 2021).

Los sistemas de agricultura moderna tienen un gran impacto negativo sobre la biodiversidad por el uso creciente de fertilizante: plaguicidas, insecticidas, herbicidas, fungicidas y otros para evitar las adversidades bióticas. Esta liberación continua y acumulativa de plaguicidas afecta, no sólo a la biodiversidad propia de los agroecosistemas, sino que tiene una enorme influencia sobre la biodiversidad de los ambientes naturales circundante ya que pueden recorrer grandes distancias y afectar lagos, arroyos y otros ambientes naturales afectando la flora y fauna asociada a ellos. (Sarandón, 2020).

Las comunidades microbianas presentes en el suelo ofrecen una variedad de servicios ecosistémicos como, por ejemplo, la degradación de la materia orgánica, el ciclado de nutrientes e interacción con las raíces de las plantas y otros microorganismos. De esta manera los grupos funcionales microbianos conformados principalmente por bacterias y hongos resultan importantes al momento de evaluar la calidad del suelo debido a que responden de manera sensible a las alteraciones causadas por la introducción de agentes xenobióticos, quemados o incendios forestales, actividades como labranzas y ganadería, erosión entre otros. (Gómez y Luna, 2018)

Los hongos son vitales para el funcionamiento de los ecosistemas terrestres, principalmente por ser autótrofos; se pueden clasificar en tres grupos funcionales: controladores biológicos, reguladores ecosistémicos y descomponedores de materia orgánica.

Los hongos equilibran los ecosistemas de diferentes maneras, como controladores biológicos regulan plagas que causan enfermedades en las plantas; como reguladores ecosistémicos modifican hábitats y cambian la estructura del suelo donde viven, mitigando el impacto de los procesos ecológicos; como descomponedores de materia orgánica, reciclan nutrientes como nitrógeno y fósforo y liberan CO₂ a la atmósfera. (Alarcón y Ramírez, 2023).

Las bacterias son uno de los grupos clave en la transformación de la materia mineral y orgánica del suelo que contribuye a su fertilidad, así como a la salud de raíces vegetales, del ganado y humanas. El suelo es un lugar propicio para las bacterias, de ellas hay millones de especies. Gran parte de las bacterias son necesarias para los ciclos geoquímicos del suelo y del ambiente. Las bacterias también degradan compuestos que nadie más puede degradar. Es así como las bacterias procesan la basura del suelo de los bosques y la convierten en un material accesible a fin de que las plantas puedan reutilizarla”. (Pérez, 2018).

Los actinomicetos o actinobacterias son microorganismos de importancia en la industria y en la agricultura debido a la gran cantidad de compuestos antimicrobianos que producen, característica que los hace excelentes candidatos para su empleo como agentes de control biológico de microorganismos fitopatógenos, estos representan a un grupo ubicuo de microorganismos ampliamente distribuidos en los ecosistemas naturales en todo el mundo y particularmente importantes debido a su papel en el reciclaje de la materia orgánica. (Quiñones *et al.*, 2013).

En los últimos años, el estudio del papel desempeñado por las comunidades asociadas a las plantas ha ganado un enorme interés en el área agrícola, debido a la creciente evidencia de que estas comunidades pueden afectar el desarrollo, productividad y resiliencia de los cultivos. Incluso, algunos estudios recientes muestran que el microbioma puede tener un efecto directo en la fenología de las plantas en el que se demuestra que los microorganismos asociados a la raíz tienen un efecto directo sobre el tiempo de floración. (Caro *et al.*, 2019).

En Nicaragua, no existen estudios realizados acerca de la diversidad microbiana (hongos y bacterias) dentro de un agroecosistema; la presente investigación tiene como objetivo principal generar información de la abundancia y diversidad de las comunidades de bacterias y hongos asociados a suelo.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Identificar la frecuencia de las comunidades microbianas (Hongos, Bacterias, micorrizas, Actinomicetos y nematodos fitoparasitos) asociados a la rizosfera de siete plantaciones de cacao del departamento Rio San Juan, Nicaragua.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar las comunidades microbianas asociadas a la rizosfera de siete fincas con cacao
- Comparar la frecuencia de microorganismos asociados a la rizosfera de siete fincas con cacao.

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1 Diversidad microbiana

Los microorganismos constituyen un grupo de seres vivos sumamente heterogéneo cuya única característica común es su reducido tamaño: todos son lo suficientemente pequeños como para pasar inadvertidos al ojo humano, siendo preciso el uso de dispositivos de aumento como el microscopio óptico o en algunos casos, el microscopio electrónico para poder observarlos (Méndez, 2018).

En el Planeta no solo existen y habitan especies que se ven a simple vista. A nivel microbiano hay una amplia diversidad, la que aún no es comprendida del todo. Estos microorganismos tienen la capacidad de realizar funciones asociadas a la captura de CO₂ y el reciclado de otros elementos presentes en la biósfera, siendo particularmente sensibles a los cambios que ha sufrido ésta en los últimos años(Jofre,2020).

En cualquier ambiente la diversidad microbiana, en particular, la procariota (bacterias y arqueas), supera ampliamente la diversidad de especies multicelulares. Según el censo oceánico realizado en el 2010 existen aproximadamente 230.000 especies macroscópicas que habitan los océanos, mientras que las especies bacterianas se calculan en 2×10^6 . Este mero hecho hace sumamente interesante el estudio de la biodiversidad microbiana de cualquier ambiente.

El abordaje de la temática presenta algunas características que lo vuelven particularmente complejo. Una, muy importante, es la incapacidad de detectar los individuos a simple vista. Aun utilizando microscopía, las especies microbianas no poseen características morfológicas precisas que permitan distinguirlas unas de las otras. Otro problema es definir una unidad para cuantificarla y compararla. Por estos motivos, el estudio de la biodiversidad microbiana precisó del desarrollo de nuevas metodologías y definiciones. (Urbieto, 2013).

La actividad y diversidad de la microbiota son algunas de las condicionantes en la fertilidad, estabilidad y funcionamiento de ecosistemas y agroecosistemas. La diversidad microbiana es esencial para garantizar los ciclos de nutrientes y procesos de descomposición del material vegetal en cualquier ecosistema terrestre debido a que procesos biológicos tales como, oxidación, reducción, descomposición de materia orgánica y mineralización, así como,

interacciones interespecíficas e intraespecíficas que se establecen, están reguladas por microorganismos que habitan en ese nicho. Por ello el aumento en el conocimiento de la diversidad microbiana se ha convertido en una de las líneas de investigación más relevantes de la ecología; pues sus múltiples aportes en el conocimiento de la función, estructura, evolución y relación de poblaciones que la componen la postulan como una fuente emergente en la investigación agrícola, medica, farmacéutica y biotecnológica. (Cadena *et al.*, 2016).

3.2 Microbioma, microbiota, rizosfera y endófitos.

El termino microbiota surge como complemento del término biomasa microbiana; la biomasa microbiana se conceptuó como el conjunto de microorganismos que hacen parte de un suelo, una planta o un organismo y que cumple alguna función. La microbiota, son grupos de microorganismos que hacen parte de un sistema específico y en el caso de suelos se reconocen cuatro grupos principales de taxas: bacterias, archaeas, fungí y protozoos. Estos grupos son esenciales para todos los procesos del suelo, es decir juegan papeles importantes en funciones como la formación del suelo, el ciclo de nutrientes, la supresión de enfermedades y la estructura del suelo (Rubio, 2021).

Se llama microbioma al conjunto de microorganismos que habita un lugar, en forma organizada, en comunidades complejas formadas por hongos, bacterias y arqueas, incluyendo una gran diversidad acorde a las diversas funciones que cumplen estos organismos en el sistema. La descripción de los microbiomas amplía la complejidad del suelo y la complejidad de las plantas que crecen en él. Con respecto al suelo, los integrantes del microbioma lo habitan de a miles de millones de individuos por gramo de suelo: en 1 gramo de suelo se estima que viven unos 10 mil millones de procariotas (organismos unicelulares formados por células sin núcleo) que son las Bacterias y Arqueas, los organismos más pequeños que se conocen. (Wall, 2019).

La rizófora es el suelo en el que se envuelve la raíz, así como los microorganismos que están bajo la influencia de los exudados radiculares, además, de sugerir que lo microorganismo rizosfericos tenían una gran importancia para el crecimiento y la salud del. La rizófora se caracteriza por presentar una elevada abundancia de microorganismo, que están activos y cuya actividad se ha demostrado esencial para el crecimiento de la planta, creando un primer escudo

protector contra los patógenos del suelo. La ratio de microorganismo estimada por gramo de raíz es de 10-11 células. (Carrasquilla, 2020).

La palabra 'endófito' etimológicamente significa 'dentro de la planta' (endon: dentro, phyton: planta). En un principio, el término endófito se refería a cualquier organismo que colonizara el interior de los tejidos de las plantas, pero fue Wilson en 1995 quien restringió el término únicamente a microorganismos, refiriéndose sólo a bacterias y a hongos que no provocan daño aparente a la planta hospedera. Actualmente, este término se refiere a bacterias, hongos, algas e insectos, en donde los hongos son los microorganismos que se han aislado con mayor frecuencia como endófitos (Sánchez *et al*, 2013).

3.3 Hongos endófitos

Estudios recientes demuestran la enorme capacidad que tienen los hongos endófitos para producir compuestos activos que le confieren protección a su hospedera contra el ataque de patógenos y herbívoros, constituyendo una nueva vía para la obtención de diversos precursores o moléculas novedosas de utilidad en la agricultura y en la medicina. Donde describen diferentes aspectos relacionados con los hongos endófitos, abarcando su definición, descubrimiento, clasificación, interacción con su hospedera, papel ecológico, sobre metabolitos secundarios bioactivos, así como estrategias metodológicas para su obtención. Por último, se presentan algunos resultados recientes, de estudios realizados en nuestro grupo de trabajo mostrando que los hongos endófitos son una fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos (Sánchez-Fernández, *et al.*, 2013).

Actualmente, el Banco de Recursos Genéticos Microbianos (BRGM) del Instituto Nacional de Innovación Agraria. (INIA) en Chillán, cuenta con una colección de más de 1.300 cepas nativas de hongos de los géneros *Beauveria* y *Metarhizium*, de las cuales 140 cepas han sido evaluadas en su capacidad de colonizar endófitamente distintas especies cultivadas. Los resultados han sido muy promisorios, ya que el 88 % de las cepas colonizan distintos órganos de las plantas; es decir, 73 cepas pueden ingresar a la planta y, muchas de ellas, desarrollarse de forma sistémica o moverse de las raíces a las hojas o viceversa. Estos estudios de colonización se han realizado en un importante número de especies. Desde el punto de vista de sus aplicaciones en

la agricultura, varios investigadores sugieren que estos endófitos podrían tener la capacidad de controlar, simultáneamente, plagas y enfermedades (Barra, *et al.*, 2020).

3.4 Importancia de los hongos y bacterias en el suelo

El suelo en sí es un ecosistema muy complejo, éste podría ser considerado como un microcosmos donde minerales y materia orgánica (viva o muerta), el agua y el aire, comparten un espacio de gran actividad fisicoquímica. El suelo es una combinación de fases que interactúan íntimamente entre ellas en un sistema que no tiene comparación. Tal complejidad puede ser percibida por la heterogeneidad de estos componentes minerales y las diversas propiedades fisicoquímicas que se generan, lo cual varía debido al grado de meteorización del suelo. De manera similar, la materia orgánica es heterogénea, porque puede tener múltiples orígenes y diferentes estados de descomposición (Osorio, 2009).

Los hongos y las bacterias son piezas fundamentales en el reciclaje de nutrientes, precisamente se reportó que influyen en la movilidad y transformación de N incluyendo la mineralización del N atmosférico, así mismo, las bacterias intervienen en la mineralización del amonio a nitratos que favorece la asimilación de N por las plantas (Ordúz *et al.*, 2020).

Los hongos del suelo juegan un papel clave en los procesos de descomposición que mineralizan y reciclan nutrientes de plantas. En los suelos, los hongos interactúan con una compleja comunidad microbiana que incluyen: bacterias, actinomicetos y pequeños invertebrados. Los hongos son una parte importante de la cadena alimenticia en el suelo, principalmente para la mesofauna que habita en el suelo (Nataren, 2016, p.6).

Los hongos son microorganismos productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo filamentosos, carecen de clorofila y tienen paredes celulares que contienen quitina, celulosa, o ambos componentes. La mayoría de las 100 000 especies de hongos conocidas son estrictamente saprófitas y viven sobre materia orgánica en descomposición (Romero *et al.*, 2022).

3.5 Hongos descomponedores del suelo

Los hongos descomponen la materia orgánica más resistente, reteniendo en el suelo los nutrientes obtenidos bajo forma de biomasa de hongos y liberación de dióxido de carbono (CO₂). El material menos resistente es descompuesto primero mientras que el material más resistente, como la lignina y las proteínas, es descompuesto en varias etapas. Muchos de los productos de desechos secundarios son ácidos orgánicos; por ello, los hongos ayudan a incrementar la acumulación de materia orgánica rica en ácidos húmicos, resistentes a una degradación posterior. Los descomponedores son además importantes para la descomposición de las estructuras de los anillos de carbono de algunos agentes contaminantes Universidad Complutense de Madrid (2010).

Actualmente conocemos que la descomposición de los residuos orgánicos (biomasa y necromasa) son procesos mayoritariamente biológicos. Entre el 80-100% del CO₂ liberado en el suelo proviene de oxidaciones metabólicas llevadas a cabo por los organismos del suelo, especialmente los microorganismos, tales como bacterias, hongos y protozoos. Su actividad está mediada por la fauna del suelo (macro, meso y microbiota), como lombrices, hormigas, ácaros, milpiés, termitas y otros (Carrillo, 2012).

3.6 Hongos biocontroladores presente en el suelo

Teniendo en cuenta que el suelo es el medio natural donde las comunidades microbianas encuentran condiciones favorables para su desarrollo y también es el escenario donde pueden llevar a cabo complejas y diversas interacciones entre los componentes abióticos y otros componentes bióticos del suelo (Granobles y Torres, 2013, p.152).

Los agentes de biocontrol microbiano (BCA) para las enfermedades de las plantas son generalmente cepas fúngicas o bacterianas aisladas de la filosfera, la endosfera o la rizosfera, y desempeñan un papel crucial en el manejo de organismos patógenos de plantas. Los productos químicos de control biológico o los antagonistas microbianos impiden que el patógeno infecte la planta huésped o se establezca en la planta huésped. Se cree que los mecanismos de control que actúan principalmente sobre los patógenos son los más importantes. Los hongos antagonistas, entomopatógenos, micorrícicos y nematófagos pueden tener una variedad de

métodos de acción directa e indirecta que ayudan a regular las enfermedades biológicas (Rizos, 2022, p.38).

Si bien diversos microorganismos del suelo pueden ser considerados BCA, entre los hongos más citados e investigados como biocontroladores de nematodos fitoparásitos, se encuentran los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) y varias especies del género *Trichoderma*.

El efecto de *Trichoderma* sobre nematodos como BCA, se ha evidenciado a través de parasitismo, por la secreción de enzimas y metabolitos como quitinasa y proteasas similares a los hongos nematófagos para atacar a los nematodos tanto en el suelo, en el interior de las raíces o sobre la superficie de estas, entre otros. Los HMA (Phylum Glomeromycota), por su parte, parecen ejercer efecto de reducción de la enfermedad por ocupación de nicho (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, 2013).

3.7 Hongos como reguladores de crecimiento y endófitos.

Los hongos son organismos eucariotas heterótrofos, capaces de producir esporas, hechos que les permite reproducirse rápidamente cuando las condiciones les son favorables. En cuanto su desarrollo, la mayoría se caracteriza o bien por un crecimiento filamentoso, lo cual implica que sus células se desarrollan formando estructuras interconectadas conocidas como hifas, o por un crecimiento como levaduras unicelulares. Dentro de la amplia biodiversidad que se asocia así al reino de los hongos, los endófitos suponen un grupo heterogéneo de especies capaces de crecer y colonizar, asintóticamente el interior de las plantas (García, 2017, p.11).

Los hongos endófitos, que colonizan los tejidos de plantas sin causarles síntomas aparentes de enfermedad, han sido reconocidos recientemente como una nueva herramienta en la producción de metabolismo antimicrobiano. En un estudio realizado por Schuiz y colaboradores (2002) encontró que el 58% de los metabolitos bioactivos aislado de hongos endófitos fueron novedosos, en comparación con el 38% de aquellos producidos por hongos aislados en el suelo (Meléndez, 2012, p. 18).

Los microorganismos endófitos se dividen en:

Micorrizas: Los hongos micorrizas forman asociaciones prácticamente ubicuas con las raíces de la planta. Los recursos del suelo son tomados por los hongos y canjeados por los asimilados derivados de plantas, también tiene múltiples efectos sobre la resistencia de la planta.

Fijadores de nitrógeno: son microorganismos de las plantas de la familia Fabaceae y bacterias (*Rhizobium*) y géneros relacionados, todos pertenecientes a la Rhizobiales orden que infectan raíces de las plantas donde hay nódulos. Proporcionan a la planta de nitrógeno fijado de la atmósfera.

Tipo I de hongos endófitos clavicipitaceos: son un grupo de la familia Clavicipitaceae que se transmite verticalmente a través de las semillas de sus huéspedes y por lo tanto causan una infección sistémica de ciertas hierbas. Debido a la producción de alcaloides, estos endófitos contribuyen directamente a la resistencia de sus plantas huésped a los herbívoros, pero numerosos estudios también han informado de efectos sobre la sequía y la tolerancia a las inundaciones, la producción de biomasa y, en consecuencia, la capacidad competitiva de la hierba.

Tipo II hongos endófitos: Hongos no sistémicos, transmisión horizontal, recién se están descubriendo. Comprenden especies tanto de Ascomycota y Basidiomycotas (Leyva, 2013, p.16).

3.8 Bacterias descomponedores del suelo

En general, las bacterias descomponen los sustratos de fácil uso, los compuestos de carbono simple tales como las exudaciones de las raíces y los residuos frescos de las plantas. Los desechos producidos por las bacterias se convierten en materia orgánica. Este desecho es menos descomponible que el material original de plantas y animales, pero puede ser usado por un gran número de organismos. Algunos de estos «descomponedores» pueden descomponer incluso pesticidas y agentes contaminantes en el suelo. Son especialmente importantes en la inmovilización y retención de nutrientes en sus células y, por lo tanto, previenen la pérdida de nutrientes de la zona de las raíces (Universidad Complutense de Madrid, 2010).

3.9 Importancia de las bacterias en el suelo.

Las bacterias son organismos procariotas unicelulares, que se encuentran en casi todas las partes de la Tierra. Son vitales para los ecosistemas del planeta. Algunas especies pueden vivir en condiciones realmente extremas de temperatura y presión. Las bacterias son microorganismos que pueden tener distintas formas. Pueden ser esféricas, alargadas o espirales (El National Human Genome Research Institute, 2023).

Las bacterias edáficas benéficas de vida libre se denominan Rizo bacterias Promotoras del Crecimiento de las Plantas o PGPR (Plant Growth Promoting Rizo bacteria). Estas bacterias colonizan las raíces de las plantas, y al hacerlo, promueven su crecimiento y/o reducen las enfermedades producidas por patógenos. Algunas de estas bacterias invaden los tejidos de las plantas vivas y causan infecciones asintomáticas e inaparentes (Ochoa *et al.*, 2010)

3.10 Bacterias como biocontroladores presente en el suelo

Existe un grupo importante de bacterias que presentan efectos antagónicos con otros microorganismos y esta acción puede ser aprovechada como una forma de control biológico de patógenos vegetales. Las bacterias son parte de las cadenas alimenticias del suelo, sirviendo de alimento a otros microorganismos como protozoarios, los cuales pueden ser antagonistas de organismos fitopatógenos (Corrales *et al.*, 2012).

La producción de fitohormonas por bacterias, que favorecen el crecimiento vegetal, representa una interacción indirecta entre el biocontrolador y el patógeno, mientras que la producción de enzimas líticas por biocontroladores, que afectarían negativamente el patógeno, ejemplifica una interacción directa biocontrolador del patógeno. La fitohormona es considerada uno de los mecanismos más importantes para la promoción del crecimiento vegetal, estos compuestos orgánicos regulan el crecimiento y desarrollo en plantas, y en bajas concentraciones influyen en procesos bioquímicos, fisiológicos y morfológicos (Soler *et al.*, 2012).

Las Bacterias Aerobias Formadoras de Endospora (BAFES) corresponden a 31 especies de *Bacillus* y siete de otros géneros de bacterias Gram positivas, aerobias y característica especial es la formación de endospora. Se encuentran presentes en todos los sistemas agrícolas y gracias a sus características microbianas pueden sobrevivir en ambientes hostiles y bajo condiciones de

estrés. Varios autores han propuesto las BAFES como candidatos para el control biológico de plagas y enfermedades por sus características metabólicas, dentro de las que se destacan la producción de antibióticos (Pedraza, 2015, p.33).

3.11 Micorrizas

Se denomina micorrizas a las asociaciones simbióticas y mutualistas que se crean entre las raíces de las plantas terrestres y ciertos tipos de hongos de suelo. Estos fueron descubiertos en el año 1885 y llamaron la atención de los expertos por su relación, hasta la fecha, excepcional y eficaz. Tanto es así, que se estima que más del 97% de especies vegetales que existen sobre la superficie terrestre están micorrizadas. Llamamos micorrización al proceso, natural o artificial, que consiste en poner en contacto una raíz de crecimiento activo con algún tipo de hongo micorrízico. Esta fusión se realiza a través de un proceso de inoculación gracias al uso de esporas o micelio. (Acosta, 2021)

3.12 Importancia de las micorrizas

Las micorrizas contribuyen a la nutrición, particularmente en la absorción de fósforo por las plantas, tanto en ecosistemas agrícolas como naturales. Esta relación simbiótica también mejora la captación de agua y otros nutrientes, además de la transferencia de nitrógeno a partir de distintas fuentes. La simbiosis micorrízica no sólo influye en el ciclado de nutrientes en el sistema suelo-planta, sino que también mejora la sanidad vegetal a través de una protección incrementada contra el estrés, ya sean biótico (por ej., ataque de patógenos), o abiótico (por ej., sequía, salinidad, metales pesados, contaminantes orgánicos, etc.), y mejoran la estructura del suelo a través de la formación de micro agregados, necesarios para un buen estado nutricionales hídrico del suelo (Pedraza *et al.*, 2010).

El 80% de las plantas en el planeta Tierra se benefician de la influencia productiva que les otorgan las micorrizas. A través del tiempo, los estudios micológicos y ecológicos han probado que los hongos micorrízicos llevan a cabo una parte importante de los ciclos bioquímicos, como el ciclo de carbono, el ciclo de nitrógeno y el ciclo de fósforo, entre otros, para casi todos los ecosistemas. Esto es porque las micorrizas son reguladores dinámicos que almacenan minerales, como el carbono, por la descomposición de materia orgánica, luego las reserva en sus cavidades,

bajo tierra y se las provee al ecosistema a través de rizomas, hifas de hongo o redes micorrízicas, específicamente en terrenos o áreas agrícolas donde la tierra es pobre en minerales nutritivos (Canchani *et al.*, 2018).

3.13 Biofertilizantes a base de microorganismos

Los biofertilizantes o bioestimulante a base de microorganismos promueven y benefician la nutrición y el crecimiento de las plantas. Se trata de microorganismos del suelo, generalmente hongos y bacterias, que se asocian de manera natural a las raíces de las plantas. Existe una gran diversidad de microorganismos beneficiosos para las plantas cuya simbiosis con la raíz es esencial para mejorar la absorción de nutrientes y agua. Los principales grupos utilizados son las micorrizas, las rizobacterias y las Trichoderma (Tarazona, 2021).

3.14 Importancia de los hongos y bacterias en un agroecosistema

El suelo es un medio dinámico que alberga y nutre diferentes comunidades microbianas tales como bacterias, actinomicetos, hongos, algas, protozoos, nematodos, etc., los cuales juegan un papel significativo en el ciclado de nutrientes, conversiones biológicas, formación de humus, mantenimiento de ecosistema y otras acciones encaminadas a garantizar la vida y la productividad de las plantas. Las interacciones de los microorganismos de las plantas con el suelo contribuyen a mantener la agricultura sostenible.

Las bacterias, hongos, amebas y actinomicetos, por ser muy pequeños, están obligados a digerir o predigerir el alimento fuera de sus organismos, es decir, en el suelo. Para ello secretan enzimas con las cuales descomponen la materia orgánica; en esta forma un suelo activo se caracteriza por la cantidad de enzimas existentes en él. Por lo tanto, las redes tróficas que observamos en la troposfera son una continuación de las que se desarrollan en el interior del suelo y se caracterizan por flujos de energía, de nutrientes y pérdidas asociadas.

Así, se comprende que los flujos de energía química que se originan en el suelo circulan a través del ecosistema y son resultado de complejas interacciones tróficas que conllevan la movilidad de los elementos (ciclos de nutrientes). Los organismos del suelo y su actividad metabólica son fundamentales en el movimiento de los nutrientes, distribución con pérdidas mínimas, al igual que en la velocidad con que son reciclados. (Carrillo, 2012)

3.14 Estudios realizados del microbiota del suelo

En un estudio realizado en el cultivo de soja, fue evaluar el impacto del manejo bajo monocultivo vs. La rotación de cultivos, sobre la diversidad microbiana del suelo y su interacción con parámetros químicos y físicos edáficos de enfermedades causadas por hongos de suelo. Se tomaron muestras litosféricas de distintos lotes. Se evaluaron diversos parámetros biológicos, químicos y físicos, junto a la incidencia de enfermedades causadas por hongos de suelo y el rendimiento del cultivo. Obteniendo el siguiente resultado. La deforestación y las actividades agrícolas convencionales modificaron la estructura y función de las comunidades microbianas del suelo, además de los agentes potenciales de biocontrol de enfermedades. Los manejos convencionales estuvieron asociados a bajos niveles de la mayoría de los parámetros biológicos y presentaron los mayores niveles de incidencia para todas las enfermedades registradas. Además, estuvieron asociados a mayores emisiones de óxido nitroso, lo que contribuye al calentamiento global. Se pudo determinar a *Fusarium crassispitatum* Scandiani, T. Aoki et O'Donnell, sp. nov., como la especie más predominante en la zona de estudio (Pérez, 2014).

En un estudio de bioensayo realizado bajo condiciones controladas de vivero comercial, el objetivo de esta tesis se planteó el estudiar, muestras de suelo recopiladas en fincas del municipio de San Vicente de Chucurí (Departamento de Santander) cultivadas con plantaciones comerciales de cacao en presencia de distintas concentraciones de Cd, la filogenia molecular y su microbiota bacteriana con tolerancia asociada a Cd, identificando sus mecanismos de acción y para algunas de estas, determinar el factor de translocación del metal a la planta. Entre los resultado más importante son las muestras de estudio donde se identificó los géneros bacterianos que conforman la comunidad central, los cuales están presentes en todas las muestras como *Nitrospira* sp., *Cupriavidus* sp., *Burkholderia* sp., *ADurb.Bin063-1*, *Haliangium* sp., *candidate Udaeobacter*, *MND1*, *Kitasatospora*, *Acidothrmus*, *Acidibacter*, *Streptomyces*, *Gaiella*, *candidate Solibacter* y *Terramonas*, géneros que pueden jugar un papel fundamental en el funcionamiento del ecosistema, siendo indicativos de fenómenos que ocurren en el ambiente.

Otros resultados mostraron que, independiente del género bacteriano, la biomasa en la planta de cacao aumenta y la concentración de Cd se distribuyó y bioacumuló en las partes de las plantas (Feria, 2021).

Un estudio análisis sobre la caracterización morfológica y molecular de la comunidad microbiana cultivable asociada a la degradación de celulosa, solubilización de fosfatos (fosfato tricálcico, de hierro y aluminio) y fijación de nitrógeno libre en suelos y compost presentes en dos fincas cacaoteras ubicadas en el municipio de Nilo, Para ello, se colectaron muestras compuestas de suelo rizosférico de plantas de cacao provenientes de una finca con fertilización convencional o química y otra orgánica. Se determinó el log UFC por gramo seco de suelo como medida indirecta de la abundancia de microorganismos encontrada en cada muestra.

Los resultados más importantes encontrados fue la abundancia de bacterias celulíticas y hongos solubilizadores de fosfatos fue mayor en el suelo con manejo orgánico y el compost presentó la mayor diversidad y abundancia de microorganismos celulolíticos. Del total de 63 hongos con potencial de degradación de celulosa, *Fusarium* sp. Obtuvo el mejor resultado con un factor de hidrólisis de 2.3. De un total de 38 hongos potenciales solubilizadores de fósforo, *Ustilaginpoidea* sp., presentó el mejor resultado con factor de solubilización en fosfato tricálcico de 1.5. Respecto a bacterias fijadoras de nitrógeno, la abundancia de morfotipos fue mayor en la finca orgánica, aunque sin diferencias significativas, siendo el género *Bacillus* sp. El potencial fijador. Este estudio permite resaltar el papel del microbiota nativo en el ciclaje de carbono, fósforo y nitrógeno, así como su contribución a la fertilidad natural de suelos cacaoteros y la productividad del cultivo (Córdoba *et al.*, 2017).

Se realizó un estudio exploratorio que se centró en cuatro paisajes agrarios bajo diferentes condiciones de suelo y humedad inicial. Los paisajes incluyeron: forestal, agricultura convencional, agroecología y ganadería para la estación seca; manejo convencional y agroecológico para la estación húmeda. El componente microbiológico suele ser un buen indicador del estado general del suelo. Las variables evaluadas fueron la población bacteriana y de hongos mediante el conteo de unidades formadoras de colonia en platos Petri, para poder determinar la mejor dilución para estudiar estos organismos en futuras investigaciones. En el contexto de este estudio, se determinó que las diluciones más apropiadas para evaluar la población bacteriana y micótica es 6.0206×10^{-1} (104) y 4.7713×10^{-1} (103) respectivamente. Del

mismo modo, el sistema agroecológico mostró tener mayor diversidad micótica para ambas estaciones evaluadas (Bobadilla, 2022).

El estudio realizado en muestras de suelo rizosférico y raicillas en cacaotales en sistema de producción autosostenible, en zona de vida Bosque Húmedo Premontano. Se extrajeron los microorganismos por siembra directa y mediante agitación. Obteniendo los siguientes resultados la separación de bacterias y los hongos por morfotipos, se purificaron y se determinó su grupo funcional: solubilizadores de fosfato, fijadores de nitrógeno, proteolíticos, celulolíticos y amilolíticos. En estos suelos volcánicos se aislaron en total 26 morfotipos de bacterias y 12 de hongos; el 45% de los morfotipos de bacterias aislados presentó actividad fijadora de nitrógeno o solubilizadora de fosfatos; los hongos presentaron baja actividad funcional, solo dos cepas con capacidad amilolítica, cuatro proteolítica y solo uno con actividad solubilizadora de fosfatos (Leiva *et al.*, 2013).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Ubicación del estudio

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología propiedad de la Universidad Nacional Agraria (UNA) ubicada en el km 12 ½ carretera norte, con las coordenadas 12°08' de latitud Norte y 86°10' de longitud Oeste, una altitud de 56 msnm. Entre los meses de octubre del 2023 a febrero 2024.

4.2 Diseño metodológico

La investigación es de tipo experimental cuantitativa con enfoque propositivo con el objetivo de determinar la frecuencia y abundancia de las comunidades microbianas asociadas a el microbiota del suelo.

4.3 Diseño experimental

Se realizó un diseño completamente al azar (DCA) con cinco repeticiones. Para un total de 35 muestras de suelo correspondiente a siete fincas en estudio. Cada unidad experimental consistió en un plato Petri de 90 mm conteniendo 20 ml de medio de cultivo patata dextrosa Agar (PDA), Agar nutritivo (AN) y Agar Avena en las cuales se evalúa la frecuencia de aislamiento de los géneros de hongos, Bacterias, actinomicetos y Micorrizas.

4.4 Colecta de muestra de suelo

Se recolectaron las muestras de suelo de siete fincas agroforestales de cacao en diferentes municipios del departamento de Rio San Juan. Las muestras se recolectaron en el periodo de septiembre a octubre del 2023. Para el análisis patológico (hongos y bacterias) y físico químico de suelo se recolectaron cinco muestras de suelo en cada finca. Las muestras se recolectaron al azar a una profundidad de 15 a 20 cm, con la ayuda de un palín graduado. Se conformó una muestra compuesta de aproximadamente 1 kg de suelo. Las muestras de suelo fueron empacadas en papel y bolsas plásticas y debidamente rotuladas para su traslado al laboratorio.

Cuadro 1. Ubicación de los sitios donde se recolectaron las muestras

Municipio y comunidad	Nombre de la Finca	Coordenadas	Nombre de los productores
Los Guatuzos, San Amador Carlo, El Coral		N 11°00. 0572 O 085° 00.9548	Alejandro Amador Mendoza
Los Chiles, San Carlos, Comunidad Venada	Benavides	N 11°11. 0449 O 084° 36. 5837	Denis Benavides V
Las Azucenas, San Carlos	Duarte	N 11°09. 6406 O 084° 36. 9164	Alejandro Duarte Pérez
San Isidro, San Carlos	La Florida	N 11°09. 9336 O 084° 36. 9058	Issac Pérez Ruiz
Los Guatuzos, San Carlos, Santa Elena	La Palmera	N 11°01. 6940 O 085° 01. 3417	Pablo Isidoro Ramírez Argüello
Los Guatuzos, San Carlos, Valle De Guadalupe	Quintana	N 11°00. 5529 O 085° 02. 5724	Luis Alberto Meza
Los Guatuzos, San Carlos, Papaturro	Unión "1"	N 11° 01. 1102 O 085° 03. 4135	Armando Martínez Hernández

4.5 Aislamiento de hongos de suelo

La técnica utilizada fue la de dilución en serie y al método de vertido en placa para detectar el número de UFC (unidades formadoras de colonias) de hongos. La diluciones se preparó añadiendo 10 g de suelo a 90 ml de agua estéril (1/5 patrón de solución) y luego se agito durante 15 minutos. Para la solución en serie se tomó un mililitro de la solución madre y se añadió a 9 ml de agua estéril (1/5) y así sucesivamente hasta obtener la dilución adecuada. Luego, se usaron alícuotas de 0,2 ml para la dilución de hongos 10^{-4} se extendieron sobre la superficie de agar. Se utilizó, agar papa dextrosa (PDA) para hongos en placas Petri de 9 cm; Se utilizaron tres placas por muestra. Las placas de Petri inoculadas se incubaron a temperatura ambiente (24 °C),

se observaron las poblaciones de hongos a los 7 días después de la inoculación, respectivamente (Reyes *et al.*, 2007).

4.6 Aislamiento de Bacterias de suelo

Se realizó la técnica de dilución en serie y al método de vertido en placa para contabilizar el número de UFC de bacterias; las diluciones se prepararon añadiendo 10 g de suelo a 90 ml de agua estéril (1/5 patrón de dilución), luego se agitaron durante de 15 minutos. Para la solución en serie se tomó un mililitro de este de la solución madre y se añadió a 9 ml de agua estéril (1/5) así sucesivamente hasta obtener la dilución adecuada para bacteria de 10^{-5} se extendieron sobre la superficie de agar. Se utilizó agar nutritivo (NA) en placas de 9 cm; se empleó tres placas por muestra. Las placas de Petri inoculadas se incubaron a temperatura ambiente (24 °C), se observaron las poblaciones de bacteria a las 48 horas después de la inoculación respectivamente. (Reyes *et al.*, 2007).

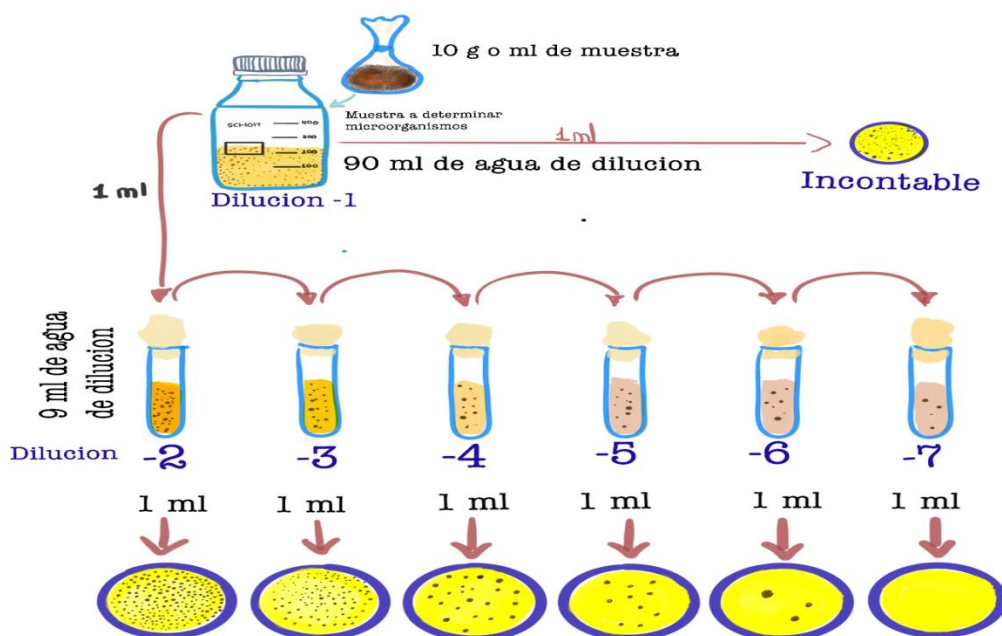


Figura 1. Ilustración del procedimiento de la técnica de dilución en serie (Cortez, 2023)

4.7 Identificación de hongos de suelo

Para la identificación de hongos aislados de suelo se utilizó las claves taxonómicas donde se describe la morfología. Se utilizó el clave ilustrado de géneros de hongos imperfecto de Barnett y Hunter (1999).

4.8 Identificación de bacterias de suelo

La identificación de géneros de bacterias fitopatógenas se desarrolló a partir de cultivos puros de colonias bacterianas, con crecimiento de 24 horas; este consistió, en observar las características macro morfológicas de crecimiento de colonias bacterianas que incluyen forma, color, aspecto y presencia de pigmentos fluorescentes en medio agar *Pseudomonas* (King B). Se efectuó las pruebas de KOH al 3%, oxidasa y Tinción Gram. Schaad, *et al.* (2001).

4.9 Método de tamizado y decantación en húmedo para separación de esporas de micorrizas en muestras de suelo

Se pesó 200 gramos de suelo y se mezcló con 1000 ml de agua en un Beaker plástico con capacidad de 1500 ml, posteriormente se agitó manualmente con la ayuda de una espátula por un período de cinco a diez minutos y se dejó reposar por tres minutos, con el propósito de eliminar las partículas grandes de suelo por sedimentación, luego la solución se decantó en tamices graduados colocados en orden decreciente (500, 250, 150, 25 μm). Se agregó agua al decantado, para reposar y pasar nuevamente por la columna de tamices, este paso se repitió nuevamente dos veces más (Modificado de Gerdemann y Nicolson, 1963), la fracción de suelo obtenida de cada tamiz se colectó en un tubo Falcon de 50 ml para someterlo al método de centrifugación.

4.10 Método de centrifugación para separación de esporas de micorrizas y nematodos en muestras de suelo

Se colectó la fracción de suelo obtenida de los tamices de 150 y 25 μm en tubo Falcón de 50 ml, se le adicionó 30 ml de agua y se centrifugó por 5 minutos a 1,800 rpm, posteriormente se eliminó el sobrenadante, se adicionó 30 ml de solución de sacarosa al 50 % y se centrifugó por 2 minutos a 1,800 rpm. Se decantó la solución en el tamiz de 25 μm y se lavaron las esporas con

agua. Posteriormente se pasaron a un plato petri para separar y contar las esporas (Modificado de Jenkins, 1964).

4.11 Identificación de géneros de micorrizas y nematodos a nivel de género

Se efectuó con ayuda de claves taxonómicas ilustradas de González, 1989 e INVAM, el porcentaje de géneros de HMA (hongos micorrízicos arbusculares) se calculó por regla de tres con base a cien esporas.

4.12 Variables evaluadas

4.12.1 Número total de hongos

Las placas Petri se incubaron por un periodo de tiempo de siete días, se observó el crecimiento de las Unidades formadoras de colonias (UFC) en la placa y se procede al recuento de estas; esto se hizo utilizando el método de conteo visual por microscopía de luz

4.12.2 Número total de bacterias

Las placas Petri se incubaron por un periodo de tiempo de dos días, el crecimiento de las colonias formada en la placa y se procede al recuento de estas; esto se hizo utilizando el método de conteo visual

4.12.3 Número total de actinomicetos

Las placas Petri se incubaron por un periodo de tiempo de dos días, se observó la ubicación y el crecimiento de las colonias formada en la placa y se procede al recuento de estas; esto se hizo utilizando el método de conteo visual

4.12.4 Número total de Nematodos

Se tomo 1 ml de la solución de nematodos se contabilizo el total de géneros encontrado en toda la solución, utilizando el método de microscopia de luz.

4.12.5 Número de nematodos encontrado en 200 gramos de suelo

Se cuantifico el total de nematodos con tenido en una gradilla de conteo.

Para el análisis de la frecuencia absoluta y frecuencia relativa se realizarán mediante las siguientes formulas propuestas por Balzarini *et al.* (2015).

Frecuencia absoluta:

$$FA = \frac{\text{Número.muestras.que.contiene.una.especie}}{\text{Número.total.de.muestra.colectada}} * 100$$

Frecuencia relativa

$$FR = \frac{\text{Frecuencia.de.una.especie}}{\text{Suma.de.frecuencia.total.de.una.especie}} * 100$$

4.12.6 Número Total, de micorrizas cuantificadas

Se tomó 1 ml de la solución de micorrizas se contabilizo el total de géneros encontrado en toda la solución, utilizando el método de microscopía de luz.

4.13 Análisis de Datos

Para la evaluación de la información, se usó análisis descriptivo (Frecuencia), las variables se transformaron mediante escala logarítmica (base 10 + 1), para ajustar a la normalidad, se aplicaron modelos lineales, seleccionando el que mostró el menor valor de Akaike (AIC), empleando distribución de poisson, declarando efecto fijo las fincas, las muestras y las especies y efecto aleatorios las especies de microorganismos (Hongos, bacterias, nematodos, micorrizas y Antinomicetos). La normalidad se comprobó mediante el Test de Bartlett, homogeneidad de varianza (Kolmogorov-Smirnov), se empleó análisis de varianza y prueba de la diferencia mínima significativa (0.05), se utilizó el software R v.4.2.3 (R Core Team, 2023).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Relación de las propiedades fisicoquímicas en las fincas con cacao

Los parámetros físicos químicos del suelo en las fincas en estudio, varío con relación a las diferentes, la finca La Palmera se encuentro más asociada a los componentes nitrógeno, pH, suelos arenosos y capacidad de intercambio catiónico en comparación a las fincas Duarte y Benavides que presento suelos arcillosos. Las fincas Unión 1, Amador y Quintana están asociadas a materia orgánica, magnesio y calcio, profundidad y conductividad eléctrica, La finca La florida está más asociada a suelos suelo limoso (Figura 2).

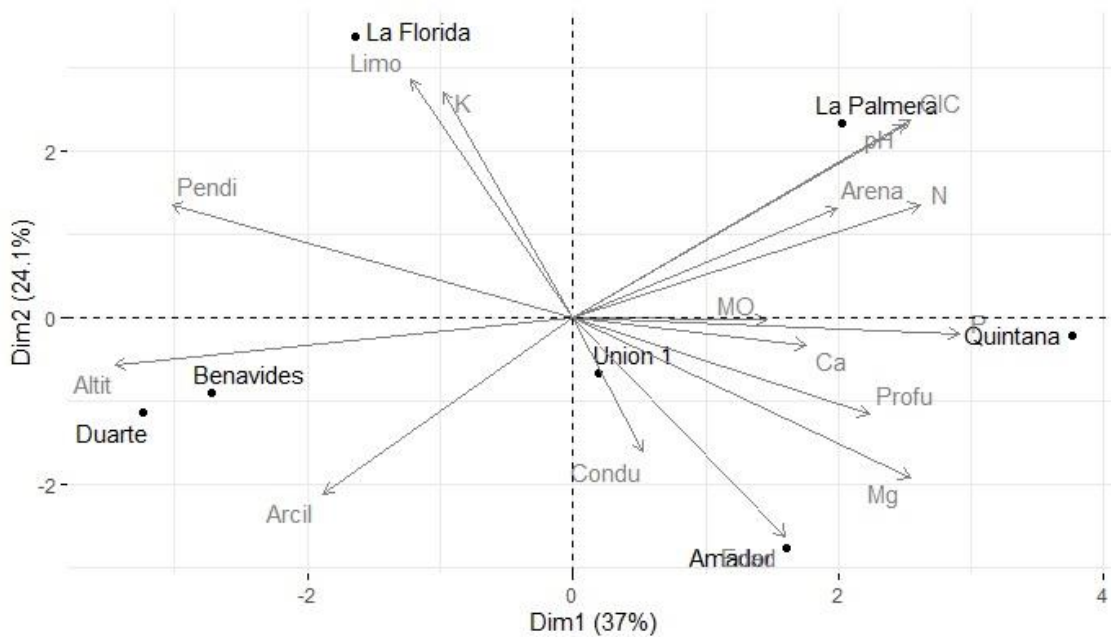


Figura 2. Representación bidimensional de las propiedades físicas y químicas en diversas fincas bajo estudio

La composición del suelo es un factor determinante en la formación de la microbiota en plantaciones agroforestales de cacao.

Gonzales *et al.*, (2021). Menciona que las condiciones físico químicas óptimas son importantes para el desarrollo de los procesos metabólicos de los microorganismos que actúan sobre los suelos, estos parámetros constituyen un indicador de la dinámica y la salud del recurso suelo.

Otros estudios han demostrado que la presencia de minerales, materia orgánica y otros componentes del suelo influye directamente en la diversidad y abundancia de microorganismos Rascovan et al., (2016).

5.2 Géneros de hongos encontrados en fincas productoras de cacao

El análisis de varianza demostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre las fincas y géneros evaluados ($P=0.0001$) con un índice de arkaike de 3.81. (Anexo 1).

Se identificaron seis géneros de hongos en las muestras de suelo de las siete fincas en estudio (Figura 3). La figura indica que la mayor cantidad de unidades formadoras de colonia lo registró las fincas Benavidez y Quintana, Las fincas la Palmera, Duarte, la Unión 1 y la florida.

El mayor promedio de hongos lo registro la finca Quintana y Benavidez con 8.64 y 6.83 unidades formadora de colonias (UFC), la finca que registro las menos poblaciones de hongos fue la finca La florida con 1.80 UFC. El análisis estadístico también muestra que la mayor cantidad de ufc lo presento el género *Aspergillus* sp seguido de *Trichoderma* sp con 4.77 y 2 UFC de hongos. Las menores unidades formadoras de colonias lo registraron los géneros *Fusarium* sp, *Geotrichum* sp, *Paecelomyces* sp y *Penicillum* sp con una UFC (Figura 3, cuadro 2).

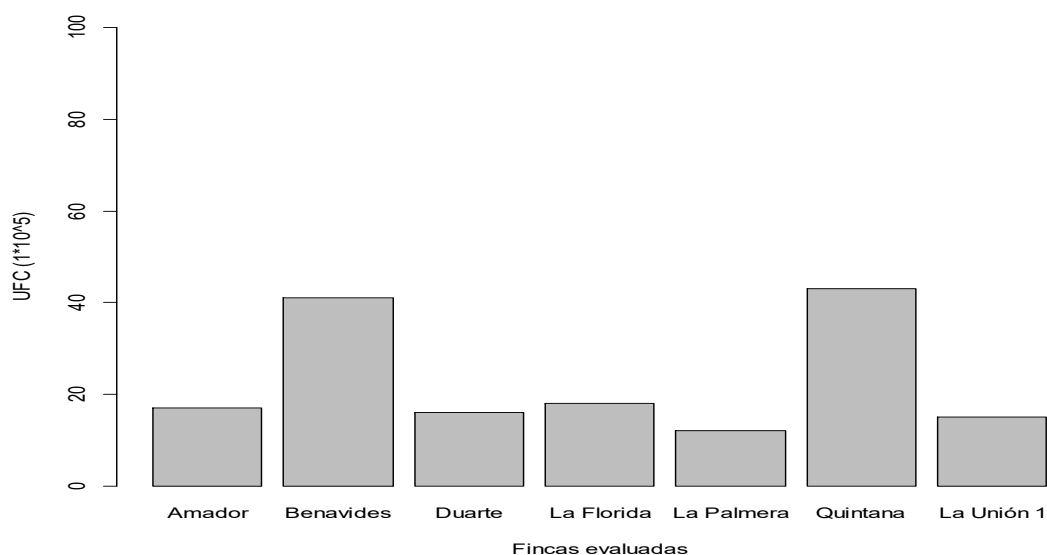


Figura 3. Número de unidades formadoras de colonias de hongos por finca

Arévalo *et al.*, (2020) en el que evaluó sistemas de manejo agroforestal con cacao coinciden en cierta medida con el presente estudio debido a que reporta al género *Trichoderma* como el género más predominante seguido del género *Penicillium*.

Gonzalez *et al.*, (2021), encontró que los géneros *Aspergillus sp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium sp.* Y *Trichoderma sp* se encontraron con mayor frecuencia. No obstante, al considerar cada hongo de manera individual, se identificó mayor número de UFC del género *Aspergillus sp.* Los resultados del presente estudio podrían atribuirse a las características edafoclimáticas particulares de cada zona de muestreo o a la vegetación nativa que existente en cada agroecosistema en estudio.

Mendoza y Pazmiño (2021) Identifico en los tres sistemas de producción de cacao un total de 177 unidades propagadoras de hongos, unificado en ambas épocas del año; distribuidos en ocho grupos: *Aspergillus*, encontrada en los sistemas de producción de cacao con maderables; en las épocas seca y lluviosa. La especie *Beauveria*, se encontró en el sistema de producción cacao con frutales; en las épocas seca. *Fusarium solani*, se encontró en los sistemas de producción; monocultivo y cacao con maderables, en la época lluviosa. *Paecilomyces*, se encontró en los sistemas de producción; cacao con maderables y cacao con frutales, en las épocas seca y lluviosa. *Penicillium*, se encontró en los sistemas de producción; monocultivo y cacao con frutales, en las épocas seca y lluviosa. *Trichoderma harzianum*, se encontró en el sistema de producción de monocultivo, en la época seca.

Arévalo (2014). Identifico 23 géneros en los índices de Shannon-Weaver y Simpson fueron 2.08 y 0.23 respectivamente; los géneros de mayor frecuencia corresponden a *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium* y *Mycogone* con 44.3%, 11%, 8.6% y 8.4 %, respectivamente, es decir una mayor frecuencia de hongos biocontroladores; debido a que ciertos residuos de cosecha, cultivos o suelos pueden favorecer especies de *Trichoderma* antagónicas hacia algunas especies de *Fusarium* y *Macrophomina*. Encontrado en bosque secundario (SF), la abundancia fue de $10^{4.89}$ ufc. g⁻¹ suelo,

Cuadro 2. Separación de media (Tukey=0.05). En hongos por fincas y géneros

Hongos			
Fincas	Promedio de UFC (1*10⁴)	Géneros	Promedio de UFC (1*10⁴)
Quintana	8.60 a	<i>Aspergillus sp</i>	4.77 a
Benavides	6.83 a	<i>Trichoderma sp</i>	2.00 ab
Amador	2.83 b	<i>Fusarium sp</i>	1.00 b
Duarte	2.66 b	<i>Geotrichum sp</i>	1.00 b
La Palmera	2.40 b	<i>Paecilomyces sp</i>	1.00 b
Unión 1	1.87 b	<i>Penicillium sp</i>	1.00 b
La Florida	1.80 b		

5. 3 Género de bacterias encontrada en fincas productoras de Cacao

El análisis de varianza demostró que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las fincas y los géneros evaluados ($P=0.0001$) con un índice de arkaike de 6.74. (Anexo 1).

En la (figura 4) muestran de las siete fincas estudiadas, las fincas con mayor porcentaje fueron: Benavides, Las palmas, Quintana y la Unión 1 con $27*10^{-4}$, $26*10^{-4}$, $22*10^{-4}$ y $21*10^{-4}$ unidades formadoras de colonia y en menor promedio los agroecosistemas La florida, Amador y Duarte con $8 *10^{-4}$ y $17 *10^{-4}$

Con relación a las unidades formadoras de colonias por género los resultados indicaron que los géneros *Bacillus sp* y *Pseudomona sp* registraron las mayores cantidades con porcentajes de $51*10^{-4}$ y $38 *10^{-4}$ y en menor porcentaje las levaduras y sarcinas con $28 *10^{-4}$ y $25 *10^{-4}$ unidades formadoras de colonias (Figura 5).

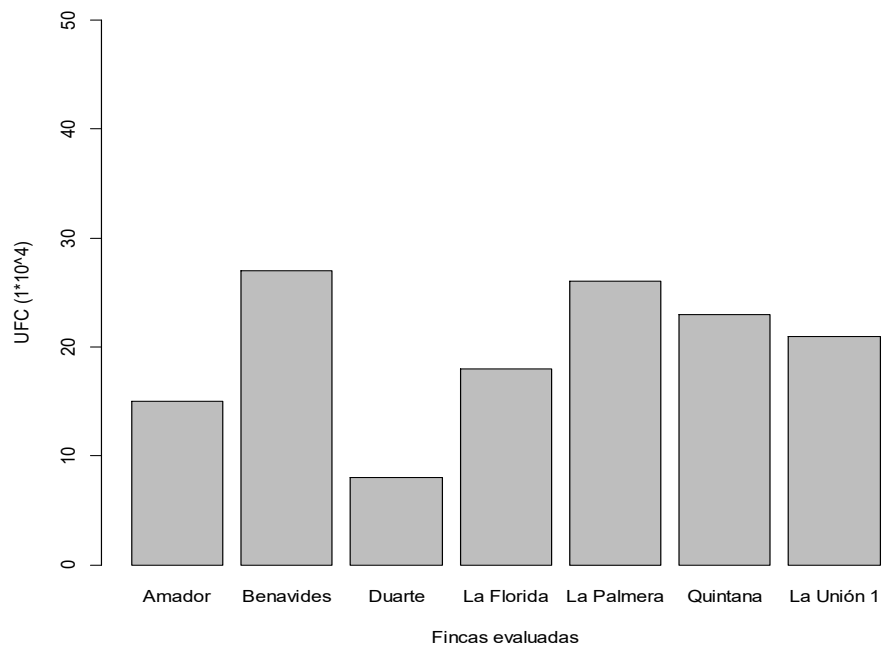


Figura 4. Número de unidades formadoras de colonias de bacterias por fincas

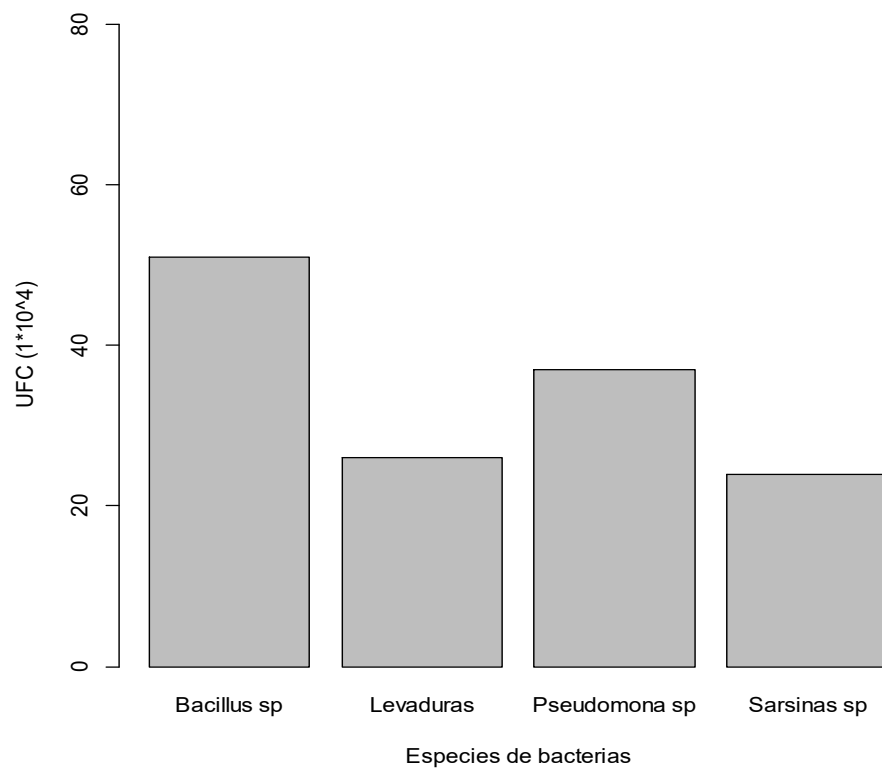


Figura 5. Géneros de bacterias asociado a fincas con cacao

Rocha y Torrez, (2022) en agroecosistemas con café encontró que los géneros de bacterias de mayor importancia fueron. *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. Y *Sarcina* sp. Este mismo autor indica que estos géneros (*Bacillus* sp. Y *Pseudomonas* sp). Son los más utilizados en programas de control biológico por lo que su presencia tiende a favorecer e inhibir frente a otros géneros de bacterias fitopatógenas, el género *Sarcina* sp también tiene influencia positiva en los agroecosistemas.

Otro estudio por Mendoza y Pazmiño (2021) En el caso de bacterias, durante la época seca se identificó únicamente una 35 población del género *Bacillus*, con un total de 5,951 bacterias formadoras de colonias distribuidos en sistema de producción monocultivo 1,492 bacterias formadoras de colonias de género *Bacillus* que corresponde al 25.07 % en el sistema de producción de cacao con maderables se encontró 2,758 bacterias formadoras de colonias los mismos que representa el 46.34 % mientras que el sistema de producción de cacao con frutales se identificación 1,701 bacterias formadoras de colonias de género *Bacillus* que representa el 28.59 %

5.4 Frecuencia de Nematodos fitoparásitos

El análisis de varianza realizado con un $\alpha = 0.05$ y un 95 % de probabilidad, cuyo modelo explico un 59 % de variabilidad de los datos los cuales variaron un 15.78 % con relación a su media. Demostró que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las fincas y géneros evaluados ($P=0.0001$) con un índice de arkaike de 9.90. (Anexo 1).

El mayor número de individuos lo registró la fina Quintana con 240 individuos, seguida de la palmera con 180 individuos. Las fincas Duarte y La Florida presentaron 150 individuos respectivamente. La finca Amador registró la menor cantidad de individuos con 80 individuos. Con relación a las especies de nematodos por finca los resultados indicaron que existen dos géneros presentes (*Helicotylenchus* y *Criconemoides*). Sin embargo, El género con mayor presencia fue *Helicotylenchus* con 800 individuos por gramo de suelo (Figura 6).

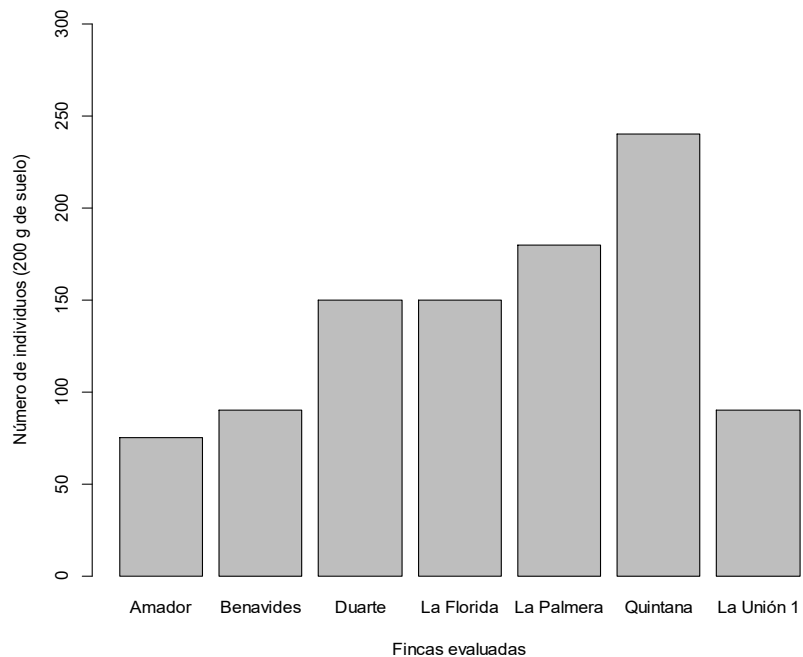


Figura 6. Densidad de géneros de nematodos fitoparasitos por fincas

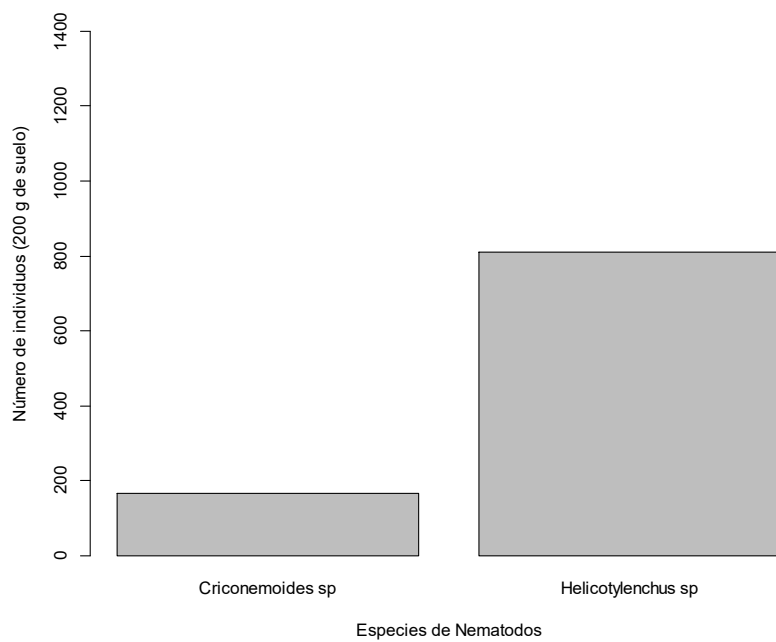


Figura 7. Frecuencia absoluta de géneros de nematodos fitoparasitos asociados en fincas de cacao.

Arévalo (2014). Registro un total de 25 nematodos en diferentes agroecosistemas y a diferentes profundidades, dentro de estos se encontró al género *Helicotylenchus*, como uno de los más dominantes.

En otro estudio realizado por Bustamante y Ordoñez (2019). También confirmo la presencia de los géneros *Helicotylenchus* y *Criconemoides* en poblaciones altas en muestras de raíces y suelo en plantaciones establecidas de cacao en la zona de Balao, Ecuador.

Campos (2021). Reporta al género *Helicotylenchus* con 15 individuos en 100 cm³ de suelo como uno de los más abundantes en muestras de suelos y raíces colectados en los siete sectores de San Gabán, Perú. Las altas poblaciones de estos géneros podrían estar asociadas a la gran diversidad de flora presente en los agroecosistemas en estudio.

5.5 Frecuencia total de géneros micorrizas arbusculares en fincas con cacao

El análisis de varianza demostró que existen diferencias estadísticamente significativa en los géneros evaluados ($P=0.0001$) con un índice de arkaike de 242.00. (Anexo 1).

Se identificaron tres géneros de micorrizas en muestra de suelo (Figura 8). La figura muestra que la mayor cantidad de número de esporas lo registró la finca. La unión 1 con 191.00 esporas, seguidas por Amador, Duarte y La palmera y en menor número de esporas La florida, Benavides y Quintana.

El cuadro tres, muestra diferencias significativas con respecto al promedio de esporas de micorrizas por finca. Los mayores promedios de esporas lo registraron las fincas La unión1 con 191.00 seguida de Amador con 119.00, el agroecosistema con menor promedio de esporas fue Quintana con 83.00. El análisis estadístico también muestra que la mayor cantidad de micorrizas en 100 gramos de suelo lo presento el género *Glomus* sp con 276.00 y *Gigaspora* sp con 33.43 promedio de esporas y en menor cantidad *Scutellospora* sp. Con 31.71 esporas.

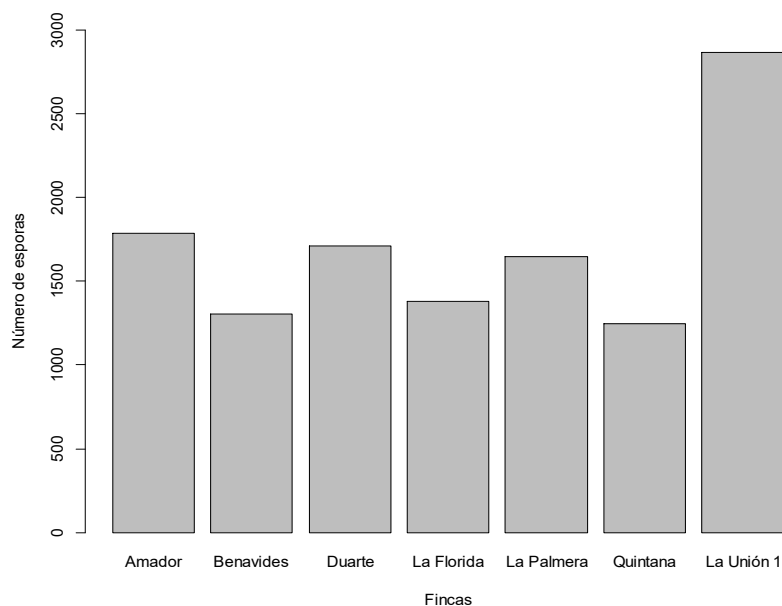


Figura 8. Frecuencia de géneros de micorrizas arbusculares por fincas

Cuadro 3. Frecuencia de esporas de géneros micorrizas arbusculares por fincas

Promedios de esporas por agroecosistemas		Promedio de Esporas por genero	
Quintana	83.00 e	<i>Glomus sp</i>	276.00 a
Benavides	87.00 de	<i>Gigaspora sp</i>	33.43 b
Amador	119.00 b	<i>Scutellospora sp</i>	31.71 b
Duarte	114.00 bc		
La Palmera	110.00 c		
Unión 1	191.00 a		
La Florida	92.0 D		

Prieto *et al.* (2012). Indica que la mayor parte de esporas de hongos formadores de Micorrizas arbusculares (MA) pertenecen a los géneros *Glomus* spp, *Scutellospora* spp, *Acaulospora* spp y *Gigaspora* spp. Sin embargo, el género *Glomus* con un mayor índice de esporas en todas las muestras de suelo. Los resultados de este autor coinciden con los datos registrados en el presente estudio ya que los géneros se presentaron con mayor abundancia

Moina *et al.* (2018). registro alrededor de 15 especies de hongos en el trópico húmedo, entre los géneros reportados con mayor abundancia por este autor están los géneros *Gigaspora*, *Glomus*, *Pacispora*, *Scutellospora*, *Acaulospora*, *Ambispora*, *Claroideoglomus*, *Diversispora*, *Funneliformis*. Las condiciones en donde se realizó el presente estudio son muy similares a las mencionadas por los autores, por lo que es posible que las condiciones ambientales favorecen la presencia de estos géneros.

5.6 Número total de Actinomicetos

Históricamente los actinomicetos han sido descritos como microorganismos que habitan. En el suelo, el tamaño y número de la comunidad de actinomicetos depende de diversos factores, principalmente de las características físicas y químicas como pueden ser la textura, humedad, pH y contenido de materia orgánica Quiñonez *et al.*, (2016).

En la Figura 9, indica que la mayor cantidad de unidades formadoras de colonia lo registró las fincas Quintana, Benavidez y La unión 1. La finca Duarte registro la menor cantidad de unidades formadora de colonia de Antinomicetos.

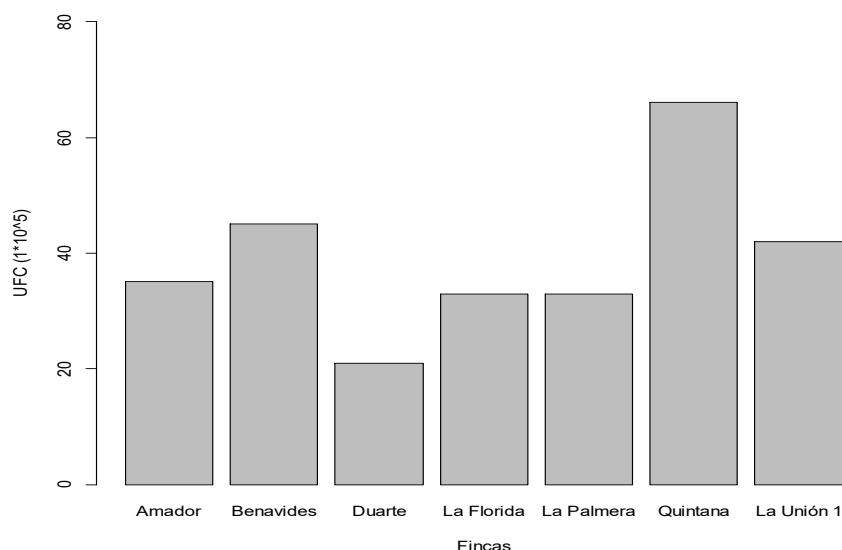


Figura 9. Número de unidades formadoras de colonias de actinomicetos por finca

Un estudio realizado por Medina, *et al* (2011) en el que evaluó poblaciones de microorganismos heterótrofos en suelos de dos agroecosistemas paperos en Bolivia, determino que las altas poblaciones de actinomicetos estaban relacionadas alas altos contenidos de materia orgánica.

En el presente estudio las fincas Quinta, Benavides y la Unión presentaron las mayores unidades formadoras de colonias de actinomicetos por lo que estos resultados pudieron deberse a los altos contenidos de materia orgánica encontrados en estas fincas (Anexo 4).

VI. CONCLUSIONES

Se identificaron seis géneros de hongos *Aspergillus* sp *Trichoderma* sp *Fusarium* sp *Geotrichum* sp *Paecilomyces* sp y *Penicillium* sp. En Bacterias cuatro géneros *Bacillus* sp, levaduras, *pseudomona* sp, y *sarsinas* sp, en Nematodos dos géneros *criconemoides* sp y *helicotylenchus* sp. En Micorrizas se identificaron tres géneros *glomus* sp, *gigaspora* sp y *scutellospora* sp y actinomicetos asociados a fincas con cacao siendo las fincas Quintana, y la palmera la que registraron las mayores comunidades de microbianas

Los géneros que se presentaron con mayor frecuencia en hongos fueron: *Aspergillus* y *trichoderma*, los géneros de bacterias fueron: *Bacillus* sp y *Pseudomona* sp. El género *Helicotylenchus* sp fue el más frecuente y el género *Glomus* se presentó con mayor frecuencia en las micorrizas.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar una secuenciación de masa para tener una mejor identificación de especies asociadas a la microbiota de los sistemas de cacao para comprender la evolución y la sostenibilidad del sistema para un mejor manejo integrado de plagas.

VIII. LITERATURA CITADA

- Arancibia, R., Flores, M. E., Cabrera, T. ., Sánchez Beiza, J., y Obando, J. (2022). Evaluación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en la rehabilitación ecológica de ecosistemas con actividad minera:. *Ecosistemas*, 31(2), 2304. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2304>
- Acosta, M. B. (2021). Micorrizas: qué son y tipos. <https://www.ecologiaverde.com/micorrizas-que-son-y-tipos-2498.html>
- Arévalo, E. G. Cantoc, Manuel. Julius Alegrec, César O. Arévalo-Hernández Óscar Lolic, Julcac, A. (2020). Efectos de los sistemas de manejo agroforestal del cacao en la diversidad de hongos del suelo en el amazonia peruana. Indicadores ecológicos. <http://www.elsevier.com/locate/ecolind>
- Arevalo Gardini, E. (2014). *Dinámica de los indicadores de calidad del suelo en el manejo de sistemas agroforestales con cacao*. [Tesis para optar al título de: Doctor en philosophiae]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/1758>
- Alarcón-Gutiérrez, E. Y Ramírez-Guillén, F. (2023). Los hongos en los ecosistemas. Instituto de ecología. <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/1835-los-hongos-en-los-ecosistemas>
- Barra, B. L., Parra, A. K., Ortiz, C. J., Parra, H. P. (2020). Hongos endófitos: innovadora alternativa de protección vegetal. <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/67190/NR42370.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Baldani, V. L. y Bonilla, R. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria* (2010) 11(2), 155-164. file:///C:/Users/user/Downloads/Microorganismos_que_mejoran_el_crecimiento_de_las_.pdf
- Balzarini, M., González, L., Tabalado, E., Casanoves, A. y Di Rienzo, C. (2015). Infostat manual del usuario. https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/10346/Manual_INFOSTAT_2008.pdf

- Bobadilla Suero, J N. (2022). Estudio preliminar de la microbiota en suelos agrícolas de Zamorano, Honduras. [Tesis para optar al título de Ingeniero Universidad Zamorano]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstreams/b09ef2b5-c1d4-4162-9fe1-cdacd16f6d69/download>
- Bustamante García, V. (2019). Estudio de la ocurrencia de nematodos en el cultivo de cacao (*Teobroma cacao* L) en la zona sur de la provincia del Guayas. *Alternativas*, 20(1), 47–51. <https://doi.org/10.23878/alternativas.v20i1.280>
- Campos Tarqui, R, Y. (2021). Identificación De Géneros De Nematodos Fitoparásitos Asociados Al Cultivo De Platano (*Musa Spp*) En San Gaban-Puno. [Tesis para optar al título de Ingeniero Agrónomo Universidad Nacional Del Altiplano]. <https://core.ac.uk/download/587978755.pdf>
- Cadena-Zamudio, J. D., Martínez-Peña, M. D., Guzmán-Rodríguez, L. F., Arteaga-Garibay, R. I., & De Morelos, T. (2016). Aplicación de secuenciación masiva para el estudio y exploración de diversidad microbiana y su aprovechamiento biotecnológico. *Agroproductividad*, 9(2), 70-83 <https://www.researchgate.net/publication/298352046>
- Caycedo Lozano, Liliana, Ramírez, Lucía Constanza Corrales, & Suárez, Diana Marcela Trujillo. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova*, 19(36), 49-94. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702021000100049
- Carrillo, J. A. (2012). 5. La vida en el suelo. Papel de los microorganismos en la agroecología. *Agricultura en Canarias*, 145. <https://www.researchgate.net/publication/357777580>
- Carrasquilla gallego, M. (2021). El microbioma del agroecosistemas y su importancia en la agricultura sostenible. <https://hdl.handle.net/10803/671606>
- Caro-Quintero, A., González, C., Balbín-Suárez, A., Wisniewski, M., Berg, G., Smalla, K., Cotes, A. M. (2019). Estudios del microbioma y su aplicación en el control biológico de fitopatógenos. <https://editorial.agrosavia.co/index.php/publicaciones/catalog/download/21/13/164-1?inline=1>

- Canchani, V. A. Espaillet P. R. Y López, J. A. (2018). El Efecto Y La Aportación De La Micorriza En El Desarrollo De Cultivos Agrícola. https://documento.uagm.edu/cupey/perspectivas/p_perspectivas_6_elefecto_ac.pdf
- Cadenacacaoca. (2010). Diagnóstico del sector cacao de Nicaragua. https://cadenacacaoca.info/CDOC-Deployment/documentos/DIAGNOSTICO_DEL_SECTOR_CACAO_DE_NICARAGUA_2010.pdf
- Cortez Pazmiño, M. E. (2023). Diluciones Seriadas y Siembra a Profundidad. Microbioma. <https://payhip.com/microbiololab/blog/tecnicas-microbiologicas/diluciones-seriadas-y-siembra-a-profundidad>
- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. (2013). Hongos Nativos del suelo: efectivos biocontroladores de enfermedades por nematodos. https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/135474/CONICET_Digital_Nro.7663ccb3-3291-4e92-9c57-3bbc79acb964_B.pdf?sequence=5&isAllowed=y
- Corrales, L., Sánchez, L., Cuervo, J., Joya, J., y Márquez, K. (2012). Efecto biocontrolador de *Bacillus* spp., frente a *Fusarium* sp., bajo condiciones de invernadero en plantas de tomillo (*Thymus vulgaris* L.). NOVA, 10(17). <https://doi.org/10.22490/24629448.518>
- Cordoba, H. A. Bermeo, P. Y Torres E. (2017). *Caracterización de la comunidad microbiana cultivable presente en suelos cacaoteros en una zona productora de Colombia, como contribución al manejo de la fertilidad del suelo*. [Tesis de Ingeniería Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia]. <https://www.icco.org/wp-content/uploads/T2.116.CARACTERIZACION-DE-LA-COMUNIDAD-MICROBIANA-CULTIVABLE-PRESENTE-EN-SUELOS-CACAOTEROS-EN-UNA-ZONA-PRODUCTORA-DE-COLOMBIA-COMO-CONTR.pdf>
- El National Human Genome Research Institute. (2023). Bacterias <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Bacteria>

- Feria Cáceres, P. F. (2021). *Estudio de la diversidad microbiana asociadas a suelos cacaoteros con presencia de cadmio (Cd) y evaluación de su potencial biorremediador*. [Tesis para optar al título de: Doctor en Biotecnología]. Universidad Nacional de Colombia. <file:///C:/Users/Bryan%20Mora/Downloads/74184396.2021VF.pdf>
- García Latorre Nieto, C. (2017). *Determinación de la actividad fungicida, bacteria y antioxidante de metabolismo secundario extraídos de hongos endófitos*. [Tesis de Maestría, Universidad Extremadura]. Repositorio Institucional https://dehesa.unex.es:8443/bitstream/10662/6877/1/TFMUEX_2017_Garcia_Latorre_Nieto.pdf
- Granobles, Ó. A., y Torres, C. (2013). Efecto de biocontroladores sobre la dinámica poblacional de hongos de suelo en un cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis* Sims var. *flavicarpa*). *Revista de ciencias*, Volumen 17 N° 2, <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/handle/10893/8818/EFFECTO%20DE%20BIOCONTROLADORES%20SOBRE%20LA%20DINAMICA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Gómez, J. A. y Luna, J. A. (2018). Grupos funcionales microbianos en suelos contaminados con toxafeno en el departamento del Cesar, Colombia. *Revista Luna Azul*, 47, 98-113 <http://lunazul.ucaldas.edu.co/index.php/component/content/article?id=298>
- González García1, H., González Pedraza, A.F., Pineda Zambrano, M., Escalante García, H., Rodríguez Izquierdo, G., y Soto Bracho, A. (2021). Microbiota Edáfica En Lotes De Plátano Con Vigor Contrastante Y Su Relación Con Propiedades Del Suelo. *Bioagro*, 33(2), 143-148. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7904323>
- González García, H., González Pedraza, A. F., Atencio, J., & Soto, A. (2021). Evaluation of quality of banana soils through microbial activity in the south the lake of Maracaibo, Zulia state, Venezuela. *Revista De La Facultad De Agronomía De La Universidad Del Zulia*, 38(2), 216-240. Retrieved from <https://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/35497/37615>

- Jenkins, W. R. B. (1964). A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19650801105>
- Jofré, D. (29 de septiembre del 2020). La diversidad microbiana y por qué es esencial estudiar más allá de los organismos visibles. CENTROIDEAL. <https://centroideal.cl/2020/09/29/diversidad-microbiana-por-que-esencial-estudiar-organismos-visibles/>
- Leyva Salas, M. A. (2013). *Extracción, Identificación y Cuantificación de Swainsonina a partir de Astragalus arequipensis (garbancillo) y de sus hongos endófitos por fermentación en cultivo sumergido discontinuo*. [Tesis de Ingeniería Universidad Católica De Santa María]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.ucsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12920/3794/42.0083.IB.pdf?sequence=1>
- Leiva E. Osorio, M. y Ramírez, R. (2013). Microorganismos Asociados A La Rizosfera Del Cacao (Theobroma Cacao L) En Condiciones De Bosque Húmedo Premontano (Bh-Pm). Suelos Ecuatoriales 43(1): 35-45. <file:///C:/Users/Bryan%20Mora/Downloads/Dialnet-MicroorganismosAsociadosALaRizosferaDelCacaoTheobr-7831487.pdf>
- Meléndez-González, C. (2012). *Policétidos diméricos bioactivos del hongo endófito Acremonium sp. Aislado de Bursera simaruba (Burseraceae)*. [Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma De México]. Repositorio Institucional. http://rdu.iquimica.unam.mx/bitstream/20.500.12214/573/1/Melendez_Gonzalez_tesisM_2012.pdf
- Méndez Úbeda, J. M. (2018). Desarrollo A Nivel De Laboratorio De Un Bioplaguicida A Base De Bacillus Subtilis, Para El Control De Hongos Fitopatógenos En Cultivos De Interés Agrícola. [Tesis de maestria interinstitucional en biotecnología, Universidad Nacional De Ingeniería]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.unan.edu.ni/9098/1/98683.pdf>
- Medina, M; Velazco, A; Franco, J; Ley-Rivas, J,F; Herrera-Peraza, R. 2011. Microbial functional groups of potato (Solanum tuberosum L.) agroecosystems in Bolivia https://www.researchgate.net/publication/276274238_Microbial_functional_groups_of_potato_Solanum_tuberosum_L_agroecosystems_in_Bolivia

- Mendoza Rodríguez, M, D. Y Pazmiño Mera, A, J. (2021). Microorganismos (Hongos Y Bacterias “Género Bacillus”) Asociados A La Rizosfera Del Cacao En Diferentes Sistemas De Producción En El Cantón. <file:///D:/Informes%20de%20cacao/TTMA30D.pdf>
- Moína Quimí, E., Oviedo-Anchundia, R., Nieto-Barcelona, S., Herrera-Samaniego, P., & Barcos-Arias, M. (2018). Evaluación de los Hongos Micorrízicos Arbusculares de zonas del trópico húmedo del Ecuador. *Revista en línea* <http://www.revista.biometria.com>, 3(1), 532-537. <https://revistabionatura.org/files/2018.03.01.9.pdf>
- MLR FORESTAL. (2021). El cacao, semilla “de oro” a nivel nutritivo y económico. <https://mlr.com.ni/el-cacao-semilla-de-oro-a-nivel-nutritivo-y-economico/>
- Nataren Velázquez, J. (2016). *Diversidad edáfica de macrofauna, bacteriana y fúngica en dos agroecosistemas ganaderos con manejo de bajo impacto ambiental*. [Tesis de postgrado, Colegio de postgraduados Instituto de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas.] http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/4150/Nataren_Velazquez_J_MC_Agroecosistemas_Tropicales_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Osorio-Vega, N. W. (2009). Microorganismos del suelo y su efecto sobre la disponibilidad y absorción de nutrientes por las plantas. En Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelos & Centro Nacional de Investigaciones de Café (Eds.), *Materia orgánica biología del suelo y productividad agrícola: Segundo seminario regional comité regional eje cafetero* (pp. 43–71). Cenicafé. https://doi.org/10.38141/10791/0003_3
- Ochoa, M. S., Pedraza, R. M., Martínez, M., y Abud, Y. (2010). Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. *Biológicas*, 12(1), 65-71. <https://www.biologicas.umich.mx/index.php?journal=biologicas&page=article&op=view&path%5B%5D=78&path%5B%5D=78>
- Orduz Tovar, S. A. ., Machado Cuéllar, L. ., & Rodríguez Suárez, L. . (2020). Importancia De La Biota Edáfica Para La Productividad En Agroecosistemas. *Revista Nova*, 6, 27–38. <https://revistas.sena.edu.co/index.php/rnova/article/view/3681/4102>

- Pedraza Herrera, L, A. (2015). *Evaluación de Bacterias Aerobias Formadoras de Endospora (BAFEs) de suelos rizosféricos, como agentes de control biológico de Burkholderia glumae*. [Tesis Magister en Ciencias - Microbiología, Universidad Nacional De Colombia]. Repositorio Institucional.
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/56696/luzadrianapedrazaherrera.2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Pedraza Raúl. O. Teixeira K, R. Scavino A F. Salamone, I. G. Baca, B. E. Azcón, R. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. Revisión. Ciencia Y Tecnología Agropecuaria, 11(2), 155–164.
https://doi.org/10.21930/rcta.vol11_num2_art:206
- Perez. I. (05 de diciembre de 2018). Hoy es el Día Mundial del Suelo: un hábitat de bacterias productoras de hormonas y antibióticos. UNAM. <https://ciencia.unam.mx/leer/817/hoy-es-el-dia-mundial-del-suelo-un-habitat-de-bacterias-productoras-de-hormonas-y-antibioticos>
- Pérez Brandán, Carolina. (2014). *Impacto De Diferentes Prácticas Agrícolas Sobre La Diversidad Microbiana Del Suelo Y La Sustentabilidad De Un Agroecosistema Sojero Del Norte Argentino*. [Tesis Para optar al Grado Académico de Doctor en Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba]. Repositorio Institucional.
<https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/1689/P%C3%A9rez%20Brand%C3%A1n%20-%20Impacto%20de%20diferentes%20pr%C3%A1cticas%20agr%C3%ADcolas....pdf;sequence=1>
- Prieto-Benavides, O. O., Belezaca-Pinargote, C. E., Mora-Silva, W. F., Garcés-Fiallos, F. R., Sabando-Ávila, F. A., y Cedeño-Loja, P. E. (2012). Identificación de hongos micorrízicos arbusculares en Sistemas Agroforestales con cacao en el Trópico Húmedo Ecuatoriano. *Agronomía mesoamericana*, 23(2), 233-239.
<file:///D:/Informes%20de%20cacao/a02v23n2%20micorizas.pdf>
- Quiñones Aguilar, E. E.; Qui Zapata, J. A.; Rincón Enríquez, G.; Evangelista Martínez, Z.; López Pérez, L.; Palacios Arriaga, A. H. (2013). Actinomicetos Del Suelo Para El Control Biologico Del Hongo Fitopatogeno Fusarium Solani. Tierra Latinoamericana.

<https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/309/1/13.%20Qui%C3%B1ones-Aguilar%20et%20al.%2C%202013%20%28Fs%20vs%20actinos%29.pdf>

- Quiñones-Aguilar, E. E., Evangelista-Martínez, Z., y Rincón-Enríquez, G. (2016). Los actinomicetos y su aplicación biotecnológica. *Elementos*, 101, 59-64. https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/51802100/Actinomicetos_1libre.pdf?1487148931=&responsecontentdisposition=inline%3B+filename%3DQuinones_Aguilar_E.pdf&Expires=1726086378&Signature=g0TSZygG3b8uozQPzgZygo2PzF8bjo7KQh6KrVNXGh~kxOFLpSntDqVaNb3BOLxDx87Aig3Yzfjbwg1FmiYnEXisenbAYVG4dPyax5AUa5xMw72768ZdDelcLhSjvUln015HXMh7DZt4MFfEgYzZ2550iStZ8LFOyEiacxumcJQgR3vF92OWsmwFrje8vR7qFNridb0C10k7276vr1vfjOTlcSpG2O~ZPg3mx5T8BtLkYCQQPDwwWVvUX7wSobRpNcs7uwsgU9qzk~1qEevPQ0a3dz1RmBNTTRs5cUjAc0TA3RGVQjqpmQmOHsIG9No~tlKO6BcpOrePbUJA_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA
- Rascovan, N., Carbonetto, B., Perrig, D., Díaz, M., Canciani, W., Abalo, M., Alloati, J., González-Anta, G., & Vazquez, M. P. (2016). Integrated analysis of root microbiomes of soybean and wheat from agricultural fields. *Scientific reports*, 6, 28084. <https://doi.org/10.1038/srep28084>
- Reyes, I., y Valery, A. (2007). Efecto de la fertilidad del suelo sobre la microbiota y la promoción del crecimiento del maíz (*Zea mays* L.) con *Azotobacter* spp. *Bioagro*, 19(3), 117-126. https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1316-33612007000300001&script=sci_arttext
- Rizo Obregón, R, N. (2022). *Evaluación del uso de los hongos nematófagos Pochonia chlamydosporia y Purpureocillium lilacium como agentes de biocontrol en nematodos fitopatógenos de cultivos de café en invernaderos, Managua, Nicaragua, juniordiciembre 2021*. [Tesis de Licenciada en Microbiología, Universidad Nacional Autónoma De Nicaragua, Managua]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.unan.edu.ni/16561/1/16561.pdf>
- Romero-Marcano, G. S, Silva-Acuña, R. y Sánchez-Cuevas, M. C. (2022). Fitopatógenos fúngicos asociados a semillas de moringa en el estado Monagas, Venezuela. *Revista Científica* Vol. 22 N° 39, p 118-126 / diciembre 2022. <https://lcalera.una.edu.ni/index.php/CALERA/article/view/503/878>

- Rocha Matus, A. B, Torrez Martínez, A. A. (2022). *Microbiología funcional en diez agroecosistemas con diferentes órdenes de suelo y manejados con enfoques de producción agroecológico y convencional, Nicaragua, 2021*. [Ingeniería thesis, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.una.edu.ni/id/eprint/4485>
- Rubio Fernández, D. (2021). *Modelamiento de la productividad agrícola: correlación con la diversidad microbiana rizosférica, sus procesos metabólicos y las propiedades fisicoquímicas del suelo*. Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/81149>
- Sánchez-Fernández, Rosa Elvira, Sánchez-Ortiz, Brenda Lorena, Sandoval-Espinosa, Yunueth Karina Monserrat, Ulloa-Benítez, Álvaro, Armendáriz-Guillén, Beatriz, García-Méndez, Marbella Claudia, y Macías-Rubalcava, Martha Lydia. (2013). Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas, 16(2), 132-146. <https://www.elsevier.es/es-revista-tip-revista-especializada-ciencias-quimico-biologicas-93-articulo-hongos-endofitos-fuente-potencial-metabolitos-S1405888X13720849>
- Sarandón, S. J. (2020). Biodiversidad, Agroecología Y Agricultura Sustentable. (pp. 20). UNLP. <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/109141>
- Silva-Parra, A. Mogollón-Ortiz, Á. M y Delgado-Huertas, H. (2017). Microbiota del suelo: Influencia de diferentes patrones de uso de la tierra y factores de manejo del suelo en un Oxisol de Villavicencio, Oriente de Colombia. Biota Colombiana, 18(2), 1–10. <https://www.redalyc.org/journal/491/49162495001/>
- Schaad N. W., J.B. Jones y W. Chun (2001). Laboratory Guide for identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS Press. Minnessota. 373p. https://www.researchgate.net/publication/264350521_Laboratory_Guide_for_Identification_of_Plant_Pathogenic_Bacteria/citation/download
- Soler, J. Posada, L. F. y Pérez, J. C. (2012). Distribución Diferencial de Bacterias con Potencial Biocontrolador de Spongospora subterranea en Plantas de Papa (Solanum tuberosum cv. Diacol Capiro). Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, 65(1), 6337-6348. Retrieved July

28, 2023, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472012000100005&lng=en&tlng=es.

Soler, P. E. José L. Berroterán, J. L. Y Acosta, R. A. (2012). Índice valor de importancia, diversidad y similitud florística de especies leñosas en tres ecosistemas de los llanos centrales de Venezuela. *Agronomía Tropical*, 62(1-4), 025-038. Recuperado en 19 de agosto de 2023, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2012000100003&lng=es&tlng=es.

Tarazona, A. (17 de junio 2021). La Importancia De Los Microorganismos En La Agricultura. Antoniotarazona. <https://www.antoniotarazona.com/blog/agricultura/la-importancia-de-los-microorganismos-en-la-agricultura/#:~:text=Se%20trata%20de%20microorganismos%20del,absorci%C3%B3n%20de%20nutrientes%20y%20agua>.

Universidad Complutense de Madrid. (2010). Conservación de los recursos naturales para una Agricultura sostenible Materia orgánica y actividad biológica. <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-104576/1.%20Materia%20org%C3%A1nica%20y%20actividad%20biol%C3%B3gica.pdf>

Urbieto, M. (2013). *Diversidad microbiana en ambientes volcánicos* [Tesis de doctorado, Universidad Nacional de La Plata.] Repositorio Institucional. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/30890>

Wall, L. (2019). La ecología microbiana y la agricultura. Horizonte A. <https://horizonteadigital.com/la-ecologia-microbiana-y-la-agricultura/#:~:text=El%20suelo%20es%20uno%20de,de%20biodiversidad%20en%20nuestro%20planeta.&text=La%20agricultura%20es%20un%20ejemplo,escalas%20y%20con%20diferentes%20consecuencias>

IX. ANEXOS

Anexo 1. Cuadro de análisis de varianza para los diferentes organismos bajo estudio

Microorganismos	Fincas	Muestras	Géneros	R ²	CV (%)	AIC
Hongos	0.0003 **	0.9997 ^{NS}	0.0186 *	0.61	36.28	3.81
Bacterias	0.942 ^{NS}	0.270 ^{NS}	0.241 ^{NS}	0.72	42.42	6.74
Nematodos	0.569 ^{NS}	0.532 ^{NS}	0.288 ^{NS}	0.59	15.78	9.90
Micorrizas	0.490 ^{NS}	0.9600 ^{NS}	0.0004 **	0.46	7.90	242.00

R²= Coeficiente de determinación, CV= Coeficiente de variación, AIC= Índice de Akaike. NS= No Significativo, *Significativo (0.05), **Altamente Significativo (0.01)

Anexo 2. Cuadro de resultado de ANDEVA para actinomicetos

Factores	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadros medios	F value	Pr(>F)
Finca	1.363	6	0.22722	2.434	0.031 *
Muestra	0.016	1	0.01646	0.176	0.675 ^{NS}
Erros	9.057	97	0.09337		
R ² = 0.56		CV (%) = 68.15	AIC= 58.67		

R²= Coeficiente de determinación, CV= Coeficiente de variación, AIC= Índice de Akaike. NS= No Significativo, *Significativo (0.05), **Altamente Significativo (0.01)

Anexo 3. Cuadro de resultados de análisis de suelo por finca

Fincas	Textura del suelo	% arena	% limo	% arcilla	Conductividad eléctrica (μS cm-1)	Contenido de materia orgánica (%)	N total (%)	P (ppm)	K (meq)	Ca (meq)	Mg (meq)	CIC (meq)
Quintana	Franco arcilloso	38.2	28.9	33.0	76.2	4.4	0.5	4.3	0.1	12.7	3.6	35.1
La Palmera	Arcilla	20.4	34.0	45.6	44.6	5.0	0.52	7.8	0.3	6.5	2.0	42.0
La Florida	Franco arcilloso	26.4	34.0	39.6	47.9	2.8	0.37	0.1	0.5	11.8	2.0	34.6
Union 1	Arcilla Franco arcillosa	14.2	30.9	55.0	76.0	4.3	0.38	3.0	0.2	8.2	2.3	33.0
Benavides	limosa	21	34.3	45.6	44.6	2.98	0.16	0.82	0.39	8.01	2.29	22.41
Duarte	Arcilla	8.2	32.9	59.0	54.9	4.6	0.37	1.1	0.0	6.2	1.8	16.7
Amador	Arcilla	16.2	28.4	55.0	53.3	3.4	0.35	5.6	0.04	12.9	3.7	26.7