# UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA CARRERA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



# PROYECTO DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PROYECTO DE TESIS:

"Efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma asperellum* como bioestimulante de la germinación y crecimiento inicial de plantones de cacao (*Theobroma cacao* L.), en Pucallpa".

Autor: Bach. Jairo Pizango Chumbe

ASESOR: Ing. Roger Brayan Braga Sandoval

Pucallpa - Perú

2022

#### A. DATOS GENERALES.

#### 1. Titulo.

Efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma asperellum* como bioestimulante de la germinación y crecimiento inicial de plantones de cacao (*Theobroma cacao* L.), en Pucallpa.

# 2. Área de investigación.

Ciencias agrícolas: Propagación de plantas

# 3. Autor del proyecto.

Jairo Pizango Chumbe.

#### 4. Asesor.

Ing. Roger Brayan Braga Sandoval

#### 5. Colaboradores.

Eric Graña Sandoval

#### 6. Fecha de presentación del proyecto.

5 de noviembre del 2022

#### 7. Dirección del autor del proyecto.

Jr. Santa Lucia Mz V LT. 3

#### B. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

- 1. Planteamiento del problema.
  - a. Descripción del problema.

En el año 2020 en el Perú el cacao cerró con una producción de 152 mil toneladas, con un crecimiento de 6.94% en comparación al año 2019, influenciado por lluvias moderadas en fase de floración y fructificación. Los departamentos que destacaron fueron San Martín que creció 10.87%, Junín 7.73%, Huánuco 7.40% y Cajamarca 24.05% y Ucayali con 27.44%. En la actualidad el Perú es el segundo productor de cacao orgánico en el mundo y ha sido calificado por la Organización Internacional del Cacao (ICCO), como un país en donde se produce y se exporta cacao fino y de aroma (INEI 2021).

Este incremento del volumen de cacao va acompañado de un aumento significativo de las áreas de cultivo y uno de los factores que influyen en la futura producción es la preparación de buenos plantones en vivero y por ende el uso de semilla de buena calidad, que permita la instalación de nuevas plantaciones con semillas que presente un buen porcentaje de germinación y plantones de alta calidad. López & Gil (2017), menciona que el método más común de propagación, es el uso de la semilla botánica. Es importante considerar que las semillas de *T. cacao* no toleran la desecación por ser recalcitrantes, reduciéndose su energía germinativa si son almacenadas. Las semillas son la unidad de reproducción sexual de las plantas y tienen la función de multiplicar y perpetuar la especie a la que pertenecen (López & Gil 2017). Al emplearlas es necesario conocer el biotipo y las principales características de las plantas productoras de dichas semillas para que reciban un adecuado tratamiento, con la finalidad de que estas puedan crecer uniformes y con alta producción (Rangel *et al.* 2011; Doria, 2010; Ganoza *et al.*, 2012).

En los últimos años se han producido importantes avances en el mundo de las semillas, lo que ha conllevado a una agricultura más tecnificada, asegurándonos que la germinación y nascencia de la plántula sean correctas. Los ensayos de germinación ofrecen una primera información respecto a la calidad de las semillas, al evaluar el poder germinativo de las semillas y estimar su valor potencial para la siembra en campo. Estimar un porcentaje de

germinación y emergencia (Rodríguez *et al.* 2008; Poulsen 2000). También es necesario estudiar su efecto en el crecimiento de *Theobroma cacao* L. "cacao" (López & Gil 2017).

Teniendo en cuenta los problemas anteriormente mencionados se ha considerado importante evaluar el efecto de diferentes concentraciones de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma asperellum* como bioestimulante de la germinación, el poder germinativo y crecimiento inicial en plantones de cacao (*Theobroma cacao* L.), ya que las diferentes cepas de *Trichoderma* presentan efecto positivo en plantas de cacao y un efecto negativo hacia los diferentes especies de patógenos que causan pudriciones al nivel del y raíces en plántulas y plantas de cacao en los diferentes zonas geográficas donde se realiza la siembra de este cultivo.

#### b. Antecedentes teóricos.

#### 1. Antecedentes internacionales

Miguel et al. (2021), en su investigación "Actividad antifúngica de *Trichoderma harzianum* y *T. koningiopsis* contra *Fusarium solani* asociado en la germinación y vigor de plántulas de chile Miahuateco". El objetivo de la investigación fue evaluar la germinación y establecimiento de plántula de chile. Las cepas T. harzianum (TH-4) y *T. koningiopsis* (T-K11), mostraron antagonismo clase II y III respectivamente, ejercido en *F. solani* en la escala de Bell, además, T. *harzianum* TH-4 mostró mayor tasa de desarrollo, velocidad de crecimiento y porcentaje de inhibición de crecimiento radial PICR sobre F. solani MX-MIC 798 (53%) en condiciones in vitro. En condiciones de vivero, T. harzianum TH-4 (82%) y T. koningiopsis T-K11 (74%) presentaron mejor respuesta en la germinación de plantas de chile variedad Miahuateco; presentando el porcentaje de germinación del (72%).

Giler & Trigrero (2020), en su trabajo titulado "Germinabilidad y desarrollo inicial de nuevos híbridos intraespecíficos de *Theobroma cacao* L.". Tuvo como objetivo evaluarla germinabilidad y el desarrollo inicial de híbridos interclonales de *T. cacao*. La germinabilidad en T. cacao es alta al someter a las semillas a un proceso de desmucilado y extracción del epispermo, pues esto facilita la apertura de los cotiledones y emergencia radicular. Un 90.1% de las semillas germinaron, siendo la familia derivada del cruce L11-H19 x EET-103 la de mayor germinación, 97.8%. Se evidenció variabilidad en diámetro, altura, número de hojas y contenido de clorofila entre las progenies evaluadas. La mejor habilidad combinatoria general la presentó el clon EET-103 como madre y el EET-558 como padre.

Velalcazar (2019), en su tesis "Factor sustrato y cobertura en la germinación y desarrollo inicial de patrones de cacao (Theobroma cacao L.) en vivero, finca experimental La Represa". Tuvo como objetivo Evaluar el crecimiento vegetativo de los patrones de cacao hasta el momento de la propagación. El mejor tratamiento fue tierra de montaña + Aserrín de balsa con un promedio de porcentaje de germinación de 81.87%. Las mejores coberturas fueron el sarán, hoja de bijao y plátano con promedios de 66.25,65.31 y 64.37%.

El crecimiento vegetativo de los patrones de cacao se encuentra expresado por la altura de planta y el número de hojas, los mayores promedios lo presentaron el tratamiento tierra de montaña + aserrín de balsa y empleando como cobertura el sarán.

Mejías (2017), en su artículo titulado "Capacidad de *Trichoderma spp.* como estimulante de la germinación en maíz (*Zea mays* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista de Gestión del Conocimiento y el Desarrollo Local". Tuvo como objetivo seleccionar cepas de Trichoderma (Persoonex S. F Gray) con capacidad estimuladora de la germinación vegetal en maíz y frijol. Las concentraciones 1:200 como 1:400, las cepas de T. harzianum A29 y A20 estimularon la germinación de las semillas de frijol y de maíz respecto del testigo. En iguales concentraciones, las cepas de T. viride T4 y T5, tuvieron un efecto estimulante de la germinación inferior al logrado con T. harzianum A29 y A20 pero que, en el caso de las semillas aludidas, resultó superior al obtenido en el testigo.

Santana et al. (2016), en su tesis "Evaluó el Efecto de Trichoderma harzianum Rifai y FitoMas-E® como bioestimulantes de la germinación y crecimiento de plántulas de tomate". tuvo como objetivo evaluar el efecto conjunto de T. harzianum y FitoMas-E® sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de tomate. se hizo en condiciones de laboratorio sobre un diseño completamente al azar, con tratamientos a base de T. harzianum (cepa A-34) y FitoMas-E®. Se seleccionaron 300 semillas por tratamiento. La utilización de FitoMas-E® y T. harzianum favorece la germinación y crecimiento de plántulas de tomate, con incremento en los valores de diámetro del tallo, masa total y radical, lo que puede ser aprovechado para el trasplante de las plantas de tomate, generándose una posible disminución en los gastos de producción.

#### 2. Antecedentes nacionales

Ruelas & Pinazo (2020), estudio el "Efecto del ácido Piroleñoso en la germinación de Sandía, Cocona y Cacao en el Distrito de San Gabán, Carabaya". se planteó como objetivo principal evaluar el efecto del ácido piroleñoso y la dosis óptima para la germinación de semillas de *Citrullus lanatus* 

"sandia", Solanum sessiliflorum "cocona" y Theobroma cacao "cacao". La dosis de 10 ml de ácido piroleñoso de bambú mejoró la germinación en 94.46 % para semillas de cocona y 98.52 % en cacao para un tiempo de 20 y 25 días, del mismo modo a dosis alta de 100 ml inhibe la germinación de semillas.

Acosta (2018), En su investigación titulada "Efecto del sulfato de cadmio en la germinación y el crecimiento de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.).". tuvo como objetivo determinar el efecto de las concentraciones de sulfato de cadmio en el porcentaje de germinación de *T. cacao* L. Las concentraciones de sulfato de cadmio no afectaron a las variedades CMP-99, CMP-15 y CCN-51, en cuanto al porcentaje de germinación, el porcentaje de germinación fue mayor en la variedad CCN-51 teniendo un efecto resistente y acumulador al cadmio. Las concentraciones de sulfato de cadmio no afectaron a las variedades CMP-99, CMP-15 y CCN-51, en cuanto a la energía germinativa; el mayor porcentaje de energía germinativa lo presento la variedad CMP-99, teniendo una respuesta resistente a las condiciones ambientales presentes en el estudio, como la humedad, temperatura y luz.

López & Gil (2017), En su artículo "Características germinativas de semillas de Theobroma cacao L. (Malvaceae) cacao.". el objetivo fue determinar las características germinativas de semillas de *T. cacao* L. "cacao", Respecto a las características germinativas de Theobroma cacao L. (Malvaceae) "cacao", se concluye que presentan un elevado porcentaje de germinación (88.9%) y un buen porcentaje de emergencia (71.1%). Su vigor germinativo fue de 80.3%, mientras que el ensayo de viabilidad, a través del test de tetrazolio, discriminó la existencia de un 40% de semillas viables de alto vigor, un 35% de semillas viables de bajo vigor y un 25% de semillas no viables.

#### 3. Antecedentes locales

Ruiz & Flores (2017), en su artículo "Evaluación del proceso de germinación de tres clones de cacao (Theobroma cacao I.) para ser usado como patrón bajo las condiciones edafoclimáticas del distrito de Manantay-Ucayali-2015". Tuvo como objetivo fue evaluar las características de tres clones de cacao para ser usados como patrón bajo las condiciones edafoclimáticas, en

etapa de vivero, del distrito de Manantay. El porcentaje de germinación mejor favorable es el Clon POUND-12 con un 100% de germinación seguido del POUND-7 con 98.6%.

#### 4. Marco Teórico

#### 4.1. El cacao.

Noroña (2018), El cacao es una fruta tropical, que se encuentra mayormente en el Litoral y en la Amazonía Ecuatoriana, estudios recientes realizados en Palanda, cantón de la provincia de Zamora Chinchipe, demuestran que por lo menos una variedad de Theobroma Cacao tiene su origen en la Alta Amazonia, de acuerdo con la evidencia arqueológica hallada en la cultura denominada Mayo –Chinchipe donde se confirmó el uso del cacao desde el 3.300 a.C. en el yacimiento Santa Ana –La Florida, ubicado a 1.040 metros sobre el nivel del mar (Lema, 2013).

Noroña (2018), En el Ecuador se cultivan dos tipos de cacao: el cacao CCN-51 y el denominado Cacao Nacional. Ecuador es el país con la mayor participación en este segmento del mercado mundial (un 63 % de acuerdo con las estadísticas de Pro Ecuador) (Guerrero, 2013). Noroña (2018), El CCN-51 es un cacao clonado de origen ecuatoriano que el 22 de junio del 2005 fue declarado, mediante acuerdo ministerial, un bien de alta productividad. Con esta declaratoria, el Ministerio de Agricultura brindar apoyo para fomentar la producción de este cacao, así como su comercialización y exportación (Anecacao, 2015).

#### 4.1.1. Descripción taxonómica.

La clasificación taxonómica del cacao es la siguiente según (Catalogo de la vida, 2022).

Reino: Plantae

Filum: Tracheophyta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dilleniida

Orden: Malvales

Familia: Sterculiaceae

Subfamilia: Byttnerioideae Burnett

Género: Theobroma

Especie cacao L., 1753 (Noroña, 2018).

Subsp; cacao.

#### 4.1.2. Descripción botánica.

Noroña (2018), El clon CCN– 51 (Colección Castro Naranjal) al ser una planta propagada vegetativamente, presenta un tipo de crecimiento lateral y de tamaño mediano (5 a 8 metros de altura), aunque puede llegar a medir hasta 20 metros si se lo deja crecer libremente bajo sombra intensa, no posee una raíz principal pivotante, sino varias raíces principales y la mayor cantidad de raicillas absorbentes, se encuentran en los primeros 30 cm de suelo (Dostert and Roque 2011).

Noroña (2018), Las hojas son simples, enteras y de color verde bastante variable (color café claro, morado o rojizo, verde pálido) y de peciolo corto. Las flores son pequeñas y se producen al igual que el fruto en racimos pequeños sobre el tronco y las ramas, alrededor de donde antes hubo hojas. Además, las flores son pequeñas y delicadas, que nace en inflorescencia donde una vez hubo hojas, es hermafrodita y posee cinco sépalos (blancos o ligeramente rosados), cinco pétalos y cinco estambres, que se abren en la tarde y pueden ser fecundadas durante todo el día siguiente (Carrión 2012).

Noroña (2018), El fruto es una baya grande (mazorca), polimórfica (esférica o fusiforme) de color rojo que puede alcanzar hasta 30 cm de largo, con un peso aproximado de 1000 g; en el centro posee un cordón fibroso blanco que le sirve de asiento a los granos. Las semillas son pequeñas, aplastadas y deformes, el número de semillas por baya oscila entre los 20 y 40. La pulpa es blanca, rosada o café; es de sabor ácido, dulce y aromático (Carrión 2012).

Noroña (2018), La flor del cacao es hermafrodita, pentámera, de ovario súpero, cuya fórmula floral es: S5, P5, E5+5, + G (5), El cáliz (S5) está formado por 5 sépalos carnosos de color rosado a blanco, soldado en su base, la corola (P5) tiene 5 pétalos de 6 a 9 mm, alternan con los sépalos presentando una estructura característica; estrechos en la base, se ensanchan adoptando una forma cóncava de color blanco amarillento, cada cavidad es recorrida por dos nervaduras de color violeta llamadas líneas guías interiores; la abertura está orientada hacia el eje de la flor y su parte superior se prolonga en una lígula que se enlaza con el limbo del pétalo (Mosquera 2016).

Noroña (2018), El androceo (E5+5), se encuentra constituido por 5 estambres fértiles y 5 infértiles de color morado conocido como estaminoides, que rodean y protegen el pistilo. Los estambres se encuentran protegidos por la cogulla de cada pétalo. El gineceo u órgano femenino de la flor, G (5), está formado por el pistilo con sus correspondientes estigma, estilo y ovario, este último provisto de 5 lóculos con placentación central conteniendo 30 a 50 óvulos adheridos (Mosquera 2016).

#### 4.1.3. Producción mundial del cacao.

Noroña (2018), El cacao ocupa el tercer lugar después del azúcar y el café en el mercado mundial de materias primas. Existe una diferencia entre el cacao ordinario, que representa el 90 % de la producción mundial y que proviene de las variedades forastero y el cacao fino o aromático, que proviene de las variedades criollo o trinitario con el 5% del total mundial. La producción de cacao en grano se concentra principalmente en el oeste de África, Asia, Centro y Suramérica y se caracteriza por estar dividida en minifundios o bajo sistemas de agricultura de subsistencia. En varios países del mundo como Costa de Marfil, Indonesia, Ghana, Nigeria, Brasil, entre otros que producen el cacao, ya se pueden encontrarse fincas y plantaciones (Durán 2013). Para fin de la temporada de cacao 2012/2013, existió un déficit de 160 000 t, casi 110 000 más de lo que se había estimado a los inicios de la temporada (52 000 t). La producción mundial total de cacao tuvo un decrecimiento de 150 000 toneladas, dando un total de 3 931 000 toneladas (INEC 2015). En el año 2015, los

principales productores de cacao fueron: Costa de Marfil con el 39.2% de la producción mundial, seguido por Ghana con 19.3%, Indonesia el 8.68%, Camerún con 6.20 %, Ecuador con el 5.71% y Nigeria con 4.96%. El 15.9% restante de la producción corresponde a 53 países del resto del mundo (MAGAP 2015).

# 4.1.4. El mercado y la cadena de valor del cacao peruano.

Felipa (2015), En el mercado internacional la producción peruana de cacao recién está apareciendo en las estadísticas (ICCO 2012), lo que por el momento no permite avizorar ni en el corto, ni en el largo plazo- lo que se denomina la enfermedad holandesa. En esta última idea se toma en cuenta lo expresado por (Ocampo 2005). 40 a 50 millones de personas en el mundo en zonas de producción ubicadas en África, Asia, Centro y Sudamérica. África se destaca en la producción, siendo Costa de Marfil el país con casi el 50 % del total mundial. En Asia, países como Indonesia presentan crecimientos acelerados, siendo las políticas gubernamentales las que promueven la expansión de las áreas dedicadas a este cultivo. La producción de cacao está altamente concentrada en unos pocos países no desarrollados. Según la ICCO (2012), los principales productores en el ámbito mundial en el período 2012 son: Costa de Marfil con 1410 m t m, Ghana con 890 m t m e Indonesia con 500 m t m, los tres países produjeron el 86.2 % del total mundial. En América Latina, los principales productores son Brasil con 190 m t m y Ecuador con 175 m t m; Perú logró 57.9 m t m. Es sencillo, identificar que los principales productores son países en desarrollo, que se caracterizan por un desarrollo básico de su agricultura. La transformación industrial se da en los países desarrollados. En el ámbito internacional, la producción de cacao peruano recién está asumiendo un rol importante en la economía agraria. De acuerdo con la ICCO (2012), la producción de Perú representaba menos del 1.0 % del total mundial. Esta cifra, en el mediano plazo, puede mejorar, considerando que se observa la relativa facilidad para establecer relaciones comerciales con importadores por parte de productores locales. En ocasiones, la demanda para el cacao supera la

capacidad de los productores. En la actualidad existe un esfuerzo mancomunado de compradores, productores y otras organizaciones públicas y privadas que incentivan el cultivo del cacao. Esto ha originado una cadena de valor que permite a los productores obtener buenos precios, mejorando la calidad de la producción con una orientación al consumidor internacional. Esto forma parte de su ventaja competitiva; así lo plantea (Cravens y Piercy 2007).

#### 4.2. El hongo Trichoderma spp.

Trichoderma spp. es un hongo cosmopolita, habita de forma natural en el suelo, en especial en aquellos que contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición (Harman y Lumsden, 1990). Las especies de *Trichoderma* han sido estudiadas durante más de 70 años como antagonistas de hongos fitopatógenos. No obstante, hasta inicios del siglo XXI fue que se empezó a comercializar como biocontroladores agrícolas, a causa del cambio en el modelo de agricultura que exige cada vez obtener alimentos sanos con menores trazas de fungicidas. Desde entonces Trichoderma se considera como uno de los antagonistas de hongos fitopatógenos más utilizado en la agricultura moderna sustentable (Ezziyyani et al., 2004; López et al., 2011; Martínez et al., 2013; Martínez y Pérez, 2015; Pineda et al., 2017). Sin embargo, esta capacidad como antagonista es altamente variable. Según Mihuta y Rowe (1986) de 255 aislamientos obtenidos de diferentes lugares, sólo el 15% fue efectivo en el control de Rhizoctonia. En este mismo sentido, Arcia (1995) planteó que las cepas nativas de un lugar son más efectivas que las importadas y Martínez et al. (2008), mostraron que la capacidad antagonista depende de la especificidad de la cepa y de sus modos de acción. Por lo tanto, el éxito en la formulación y comercialización de biopreparados fúngicos mediante la industria biotecnológica para su aplicación en la agricultura requiere de estudios previos en la selección de aislamientos promisorios para el control. Además, se necesita del conocimiento de los mecanismos de acción relacionados con dicho control, la concentración suficiente de inóculo, la viabilidad de las esporas y el mantenimiento de la densidad de inóculo una vez que sea aplicado en el suelo o sustrato (Pineda et al., 2017). Basado en los planteamientos anteriores en esta reseña se resumen algunos aspectos teóricos

y prácticos de los múltiples beneficios que aportan las diferentes especies de *Trichoderma* lo cual ha hecho posible la elaboración de formulados mediante técnicas biotecnológicas y su aplicación en el desarrollo de la agricultura sostenible (Companioni & García 2019).

#### 4.3. Germinación y crecimiento de cacao.

El proceso de germinación está constituido por varias fases: i) Absorción de agua por la semilla o imbibición; ii) Activación del metabolismo y proceso de respiración, síntesis de proteínas y movilización de sustancias de reserva; iii) Elongación del embrión y ruptura de la testa a través de la cual se observa salida de la radícula. El proceso de germinación está influenciado tanto por factores internos como externos. Dentro de los factores internos están la viabilidad del embrión, la cantidad y calidad del tejido de reserva y los diferentes tipos de dormancia. Algunos de los factores externos que regulan el proceso son el grosor de la testa, disponibilidad de agua, temperatura y tipos de luz. El estudio de la biología y fisiología de las semillas es de vital importancia para el hombre, ya que la mayoría de las especies cultivadas como los cereales son propagadas a partir de semillas sexuales (Russo et ál. 2010). Imbibición: es el proceso de absorción de agua por la semilla. Se da por las diferencias de potencial hídrico (mátrico) entre la semilla y la solución de imbibición. Este proceso consta de tres fases: i) incremento rápido en la absorción de agua; ii) fase de estabilización y movilización de nutrientes; iii) absorción de agua que generalmente coincide con el proceso de germinación (Suárez & Melgarejo 2010).

#### 4.3.1. Movilización de nutrientes.

Durante el proceso de germinación, en cereales, por ejemplo, las reservas de nutrientes principalmente almidón y cuerpos proteicos son convertidos en compuestos básicos como azúcares simples y aminoácidos que son transportados y oxidados para suplir el crecimiento y la elongación del embrión (Taiz y Zeiger 2006) en semillas de plantas (Suárez & Melgarejo 2010).

#### 4.3.2. Viabilidad del embrión

Una de las primeras pruebas en el trabajo con semillas es evaluar la viabilidad del embrión, una vez corroborada la capacidad de la semilla para germinar es importante estudiar y evaluar algunos factores internos y externos que afectan el proceso de germinación. Para los tecnólogos de semillas la viabilidad se refiere a la capacidad de la semilla para germinar y generar plántulas normales; mientras que desde la perspectiva fisiológica se refiere a si la semilla contiene o no cualquier tejido con actividad metabólica, y si posee reservas energéticas y enzimas para el funcionamiento de las células de la planta (Moreira et ál. 1992). Existen diversos métodos que brindan idea sobre la viabilidad de la semilla, como la reacción con las sales de tetrazolium (Moreira et ál. 1992), esta prueba provee un método alterno indirecto para medir la actividad respiratoria asociada a la cadena de transporte de electrones en las mitocondrias. La reducción de la sal de tetrazolium causa la formación de un precipitado insoluble, conocido con el nombre de formazán, que colorea al embrión viable de un color rojo intenso (Suárez & Melgarejo, 2010). Suárez & Melgarejo (2010), La capacidad de las semillas para retrasar el proceso de germinación hasta que las condiciones ambientales sean ideales, que permitan los mecanismos de sobrevivencia de las plántulas, es conocida como dormancia (Coopeland y McDonald 1995). La dormancia puede ser clasificada en primaria y en secundaria (Fenner 2000).

#### 4.3.3. Dormancia en semillas

**Dormancia Primaria**. Es el tipo de dormancia más común en el que se puede encontrar las semillas, está dado por factores exógenos y endogénos (Suárez & Melgarejo 2010).

Dormancia exógena. Hace referencia a las condiciones ambientales básicas que determinan el proceso de germinación como disponibilidad de agua, luz y temperatura (Fenner 2000). La absorción de agua por parte de la semilla está directamente influenciada por la presencia de la testa y la permeabilidad que ésta tenga al intercambio gaseoso (Bewley y Black, 1994; Finch-Savage y Leubner-Metzger 2006); algunas familias como

Fabaceae, Malvaceae, Chenopodiaceae y Liliaceae presentan problemas de permeabilidad del agua y son conocidas como semillas duras (Coopeland y McDonald 1995). El efecto de la testa puede ser mecánico, o químico debido a la presencia de inhibidores fenólicos, impidiendo el flujo necesario de agua y oxígeno para la germinación. La temperatura está frecuentemente asociada con el proceso de germinación por afectar el porcentaje de germinación, la tasa diaria de germinación, la tasa de absorción de agua, la velocidad de las reacciones enzimáticas y el transporte de las sustancias de reserva (Probert 2010) En referencia a los requerimientos de luz necesarios para el proceso de germinación, las semillas se clasifican en tres grupos. El primer grupo corresponde o involucra a las semillas fotoblásticas positivas, ellas germinan como respuesta a la luz. En el segundo grupo están las fotoblásticas negativas, en él las semillas sólo germinan en oscuridad (Suárez & Melgarejo 2010). En el tercer grupo están las semillas insensibles a la luz, germinan indistintamente bajo condiciones de luz u oscuridad (Takaki 2001).

**Dormancia endógena.** Es el tipo de dormancia que es inherente a las características internas de la semilla, entre estos se encuentran: dormancia por embriones rudimentarios, dormancia por inhibición metabólica y dormancia por inhibición osmótica. i) Dormancia por embriones rudimentarios. En algunas especies el proceso de maduración morfológica del embrión ocurre después del proceso de dispersión, lo cual se convierte en un tipo de dormancia porque el embrión inmaduro es incapaz de germinar, algunas especies como Ranunculus, Plantago, Fraxinus, Viburnum, Ilex y Pinus presentan este tipo de dormancia que se caracteriza por la maduración del embrión días o semanas después del proceso de dispersión (Coopeland y McDonald 1995). ii) Inhibición metabólica. Algunos compuestos presentes en las semillas inhiben vías metabólicas específicas; por ejemplo, la presencia de cianuro en algunas semillas actúa inhibiendo la germinación debido a que bloquea la cadena de transporte de electrones en el proceso respiratorio; sin embargo, en muy bajas concentraciones el cianuro promueve el proceso de germinación (Coopeland y McDonald 1995) en plantas (Suárez & Melgarejo 2010).

Algunos compuestos fenólicos también están involucrados en la inhibición del proceso de germinación. Una de las sustancias inductoras de la dormancia es la cumarina, la cual es metabolizada en semillas y es considerada un inhibidor natural de la germinación; el mecanismo exacto de acción aun no es claro, pero la evidencia experimental indica que este inhibidor interfiere con el proceso de fosforilación oxidativa e indirectamente con la disponibilidad de energía del embrión (Coopeland y McDonald 1995). iii) Inhibición osmótica: Algunas sustancias poseen alta presión osmótica que inhiben el proceso de germinación en semillas. Compuestos como azúcares o sales en concentraciones altas pueden ser buenos competidores por la disponibilidad de agua con las semillas lo cual lleva a que el proceso de imbibicón en las semillas no se complete y esta no pueda germinar. Ejemplos de este tipo de dormancia son encontrados en los frutos de remolacha azucarera en donde la alta concentración de azúcares y sustancias inorgánicas inhiben la germinación de las semillas (Coopeland y McDonald 1995) en cacao (Suárez & Melgarejo 2010).

Dormancia secundaria Algunas semillas no dormantes encuentran condiciones que generan posteriormente la inducción de la dormancia. Este tipo de situaciones puede ser causado por la exposición de las semillas a condiciones que favorecen la germinación junto con la exposición a un factor que bloquea y restringe el proceso de germinación. Ejemplos de este tipo de dormancia es reportado en semillas de variedades de trigo de primavera y cebada de invierno en la que la dormancia secundaria puede ser inducida luego de una exposición de las semillas deshidratadas a temperaturas entre 50°C a 90°C, o el almacenamiento durante siete días de semillas de trigo de primavera en condiciones de alta humedad (Coopeland y McDonald 1995). Otro ejemplo, es el reportado en semillas de Ulmus al someter las semillas a tratamientos de oscuridad contínua en el que se generó un descenso en el porcentaje de germinación que no pudo ser corregido con tratamientos de alternancia de temperatura (Nomiya 2010). Aunque los mecanismos de dormancia secundaria pueden estar dados por el efecto de factores térmicos (temperatura), por presencia o ausencia de luz; este tipo de dormancia puede también ser inducida por exceso o ausencia de agua, compuestos químicos y gases. Algunos investigadores sugieren dos hipótesis para explicar el modo de acción de la dormancia secundaria: la primera es la imposición o bloqueo de puntos control en los procesos metabólicos que hacen parte del proceso de germinación, y la segunda hace referencia a la inducción por algún factor (exceso o déficit de agua, luz, temperatura y gases) de sustancias que inhiben la germinación contra sustancias que promueven el proceso (Coopeland y McDonald 1995) de germinación (Suárez & Melgarejo 2010).

#### c. Definición del problema

#### 1. Problema general.

¿Cuál es el efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma asperellum* como bioestimulante de la germinación y crecimiento inicial de plantones de cacao (*Theobroma cacao* L.), en Pucallpa?

#### 2. Problemas específicos.

¿Cuál es el efecto de diferentes concentraciones de Trichoderma harzianum y Trichoderma asperellum como bioestimulante de la germinación y el poder germinativo de semillas de cacao (Theobroma cacao L.), en Pucallpa?

¿Cuál es el efecto de diferentes concentraciones de Trichoderma harzianum y Trichoderma asperellum en el crecimiento inicial de plantones de cacao (Theobroma cacao L.), en Pucallpa?

#### 2. Finalidad y objetivos de la investigación.

#### a. Finalidad e importancia de la investigación.

Theobroma cacao L. (Malvaceae), es una planta arbórea que alcanza los 10 metros de altura; presenta hojas lanceoladas a casi ovaladas y de nervadura pinada (López et al. 2018). La inflorescencia es una cima decasiforme, la cual crece en el tronco y ramas del árbol. La flor es hermafrodita, mientras que el fruto es una drupa grande comúnmente llamada mazorca, de forma elipsoidal u oval. Pudiendo contener entre 30 a 40 semillas, las cuales presentan una testa gruesa y coriácea (MINAGRI 2016; Mostacero et al. 2009; Batista 2009).

El "cacao" es uno de los productos agrícolas de mayor importancia en el mundo, debido a que se obtienen subproductos de gran valor nutritivo. Es considerado como un superalimento debido a su capacidad antioxidante y el contenido de compuestos tales como polifenoles, los cuales están vinculados con potenciales beneficios para la salud. Además, posee otros compuestos orgánicos de utilidad farmacológica, por ejemplo, la cafeína, la teofilina y la teobromina. Siendo este último un potente estimulante cardiovascular y del sistema nervioso central. De igual manera, el ácido genístico se comporta como un potente antirreumático y analgésico (Crozier *et al.*, 2011; Waizel *et al.*, 2012).

La necesidad de mantener como cultivo extensivo al "cacao", aplicando el método más común de propagación mediante el empleo de semilla botánica, para la siembra de almácigos, hace imprescindible ahondar estudios respecto al comportamiento de sus semillas, consideradas como unidades de reproducción sexual por permitir perpetuar y mantener las características de las plantas madres (Rangel et al., 2011; Doria, 2010; Ganoza et al., 2012). En la actualidad se busca una agricultura de precisión que garantice una buena viabilidad y vigor germinativo, el cual se ve reflejado en la germinación y nascencia de la plántula, siendo de vital importancia conocer el lapso de viabilidad de las semillas, entendiéndose como tal, al tiempo en el cual las semillas conservan su capacidad técnica para germinar utilizando como indicadores el porcentaje de germinación y la viabilidad de las mismas. El porcentaje de germinación no basta para expresar la calidad de una semilla, sino

más bien es necesario complementar con otras pruebas que determinen la vitalidad y del vigor germinativo. Siendo importante considerar que estos indicadores de calidad tienden a disminuir en el tiempo, debido ya que el "cacao" presenta semillas recalcitrantes (Rodríguez et al. 2008; Poulsen 2000), que reducen significativamente su germinación (López et al. 2018). *Trichoderma harzianum* como promotor de la germinación y antagonista, puede tener diferentes mecanismos de acción entre los que se encuentran el micoparasitismo, competencia, antibiosis e inducción de resistencia y promotor de crecimiento de las plantas, también como biocontrolador de diferentes enfermedades (Sivila y Alvarez, 2013), promotor del crecimiento y germinación en plantas de cacao (Calle 2022).

#### b. Objetivo general

Determinar el efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma asperellum* como bioestimulante de la germinación y crecimiento inicial de plantones de cacao (*Theobroma cacao* L.), en Pucallpa.

#### c. Objetivos específicos.

Determinar el efecto de diferentes concentraciones de *Trichoderma* harzianum y *Trichoderma* asperellum como bioestimulante de la germinación y el poder germinativo de semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.), en Pucallpa.

Determinar el efecto de diferentes concentraciones de *Trichoderma* harzianum y *Trichoderma* asperellum en el crecimiento inicial de plantones de cacao (Theobroma cacao L.), en Pucallpa.

# 3. Formulación de la hipótesis.

#### a. Hipótesis general.

Se puede determinar el efecto de efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma asperellum* como bioestimulante de la germinación y crecimiento inicial de plantones de cacao (*Theobroma cacao* L.), en Pucallpa.

#### b. Hipótesis específicas.

La aplicación de diferentes concentraciones de *Trichoderma* harzianum y *Trichoderma asperellum* tiene un efecto significativo en la germinación y el poder germinativo de semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.), en Pucallpa.

La aplicación de diferentes concentraciones de *Trichoderma* harzianum y *Trichoderma asperellum* tiene un efecto significativo en el crecimiento inicial de plantones de cacao (*Theobroma cacao* L.), en Pucallpa.

#### 4. Variables en estudio.

#### a. Identificación de las variables.

#### 1. Variable independiente.

La variable independiente es la siguiente.

 $X_1$ : Las cepas de Trichoderma harzianum y Trichoderma asperellum.

Los tratamientos serán los siguientes:

T<sub>1</sub>: Testigo (Semillas de cacao remojadas por 1 hora en agua).

T<sub>2</sub>: Remojo de semillas de cacao en un litro de agua con 1 gramo de *Trichoderma harzianum* durante una hora.

**T<sub>3</sub>:** Remojo de semillas de cacao en un litro de agua con 1.5 gramo de *Trichoderma harzianum* durante una hora.

T₄: Remojo de semillas de cacao en un litro de agua con 2 gramo de *Trichoderma harzianum* durante una hora.

T₅: Remojo de semillas de cacao en un litro de agua con 2.5 gramo de *Trichoderma harzianum* durante una hora.

**T<sub>6</sub>:** Remojo de semillas de cacao en un litro de agua con 1 gramo de *Trichoderma asperellum* durante una hora.

T<sub>7</sub>: Remojo de semillas de cacao en un litro de agua con 1.5 gramo de *Trichoderma asperellum* durante una hora.

T<sub>8</sub>: Remojo de semillas de cacao en un litro de agua con 2 gramo de *Trichoderma asperellum* durante una hora.

T<sub>9</sub>: Remojo de semillas de cacao en un litro de agua con 2.5
 gramo de *Trichoderma asperellum* durante una hora.

X<sub>2</sub>: Las semillas de cacao.

#### 2. Variable dependiente.

La variable dependiente es la siguiente.

Y<sub>1</sub>: Germinación.

Y<sub>2</sub>: Crecimiento.

# b. Operacionalización de las variables.

Cuadro 1. de operacionalización de las variables.

Variables	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores
Variable independiente  Las cepas de Trichoderma harzianum y Trichoderma asperellum.	Trichoderma spp. es un hongo que puede incrementar la germinación y el crecimiento, aun cuando el suelo esté libre de patógenos, actuando como bioestimulador (Monfil & Casas).	El hongo bioestimulante	Remojo de semillas de cacao en agua con Cepas de efecto de Trichoderma harzianum y Trichoderma asperellum diluidos en una concentración de 1, 1.5, 2, 2.5 g/L
Variable dependiente  Germinación	Es un proceso constituido por: i) La absorción de agua por la semilla o imbibición; ii) Activación del metabolismo y proceso de respiración, síntesis de proteínas y movilización de sustancias de reserva; iii) Elongación del embrión y ruptura de la testa (Russo et ál., 2010).	- Porcentaje de germinación - Energía germinativa	- En % - EG%
Crecimiento	El crecimiento implica el aumento del número y volumen celular (Turco, 2018)	Crecimiento inicial	<ul> <li>Altura total en (cm).</li> <li>Longitud de la raíz en (cm).</li> <li>Diámetro en (mm).</li> <li>Biomasa fresca aérea y radicular (g).</li> <li>Biomasa seca aérea y radicular (g).</li> </ul>

#### - Germinación:

#### Porcentaje de germinación

Para determinar el porcentaje de germinación o capacidad germinativa, se ha contará a diario, todas las semillas germinadas por tratamiento durante el tiempo que durará el experimento. Se calculará de acuerdo a la fórmula propuesta por MAGUIRE (1962).

 $PG(\%) = (GA/TS) \times 100$ 

Donde:

PG = Porcentaje de germinación (%)

GA = Germinación acumulada hasta el último día de evaluación.

TS = Total de semillas sembradas.

#### Poder germinativo.

Corresponderá al porcentaje de germinación diaria acumulada, obtenido al momento en que la tasa de germinación alcanza su valor máximo (González *et* al., 2008).

#### Para semillas viables

 $PG(\%) = (PE/Ts) \times 100$ 

Donde:

PG =Energía germinativa (%)

PE = Total acumulado del máximo porcentaje de germinación diaria media.

TS = Total de semillas germinada.

Para el total de semillas sembradas.

 $PG (\%) = (PE/TS) \times 100$ 

PG =Energía germinativa (%)

PE= Total acumulado del máximo porcentaje de germinación diaria media

TS =Total de semillas sembradas

#### - Crecimiento

**Altura total:** Este indicador se medirá en (cm), y se realizará con la ayuda de una regla.

Longitud de la raíz: Este indicador se medirá en (cm), y consistirá en medirá la raíz más larga presente encada plántula de cacao según tratamiento.

**Diámetro**: Esto se realizará con la ayuda de un vernier y se determinará en (mm), la medición se realiza a la altura de cuello de la plántula.

**Biomasa fresca aérea y radicular:** Este indicador se determinará en (g), con la ayuda de una balanza semianalítica de la parte aérea y radicular según tratamientos.

**Biomasa seca aérea y radicular**: Este indicador se determinará en (g), con la ayuda de una balanza semianalítica de la parte aérea y radicular según tratamientos.

#### 5. Metodología.

- a. Materiales y métodos.
  - 1. Materiales

## Materiales para la investigación:

- Botas.
- Gigantografía
- Tablero.
- Probetas.
- Vasos precipitados.
- Agitador.
- Colador
- Bolsas herméticas.
- Cuchillos.
- Tablas.
- Bolsas.
- Clavos.

#### Insumos

- Hipoclorito de sodio.
- Trichoderma dos cepas.

#### **Equipos**

- Balanza.
- Balanza gramera.
- Balanza analítica.
- Cámara fotográfica.
- Laptop.

#### 2. Métodos

# 2.1. Ubicación del área experimental

EL presente trabajo de investigación se realizar en el módulo de propagación de plantas de la Universidad Nacional de Ucayali,

específicamente en el área de hidroponía, donde se realiza la instalación y las evaluaciones de las diferentes variables de germinación y crecimiento en plantones de cacao.

Las coordenadas serán las siguientes:

S 8° 33' 24"

W 74° 19' 57"

Altitud: 154.11 msnm.

# 2.2. Identificación y descripción del material experimental

Las semillas de cacao se obtendrán de una plantación de cacao de 8 años de edad, y que cuenta con 3 hectáreas en producción perteneciente al clon de cacao CCN 51, las mazorcas serán trasladadas al laboratorio de fisiología vegetal, donde se realizara la biometría del fruto y las semillas y por ende la selección de las semillas para el experimento. Esta parcela se encuentra en el distrito de Neshuya, en las siguientes coordenadas:

S 8° 29.35' 35.25

W 74° 47.53' 44.12

Altitud: 201 msnm

# 2.3. Caracterización biométrica y tratamientos preliminares de las semillas de cacao antes de la siembra

Una vez obtenida las semillas de cacao, se procederá a realizar las mediciones biométricas en estado fresco, utilizándose una balanza analítica con aproximación centesimal y un vernier digital para la medición del pesaje y longitud, respectivamente. La limpieza de las semillas requerirá de agua potable a temperatura fisiológica; posteriormente, para la desinfección se utilizará hipoclorito de sodio al 2% por 5 minutos; finalmente, se secará a temperatura ambiente y bajo sombra, antes de aplicar los respectivos tratamientos. A continuación, se describen las mediciones a realizar:

#### Peso promedio de fruto fresco

El peso promedio se determinará en base a 10 frutos que serán pesados y promediados el peso se medirá en kilogramos.

#### • Peso promedio de semilla

El peso promedio se determinará en base a 100 g, donde se determinará el número de semillas en 100 g de peso.

#### Diámetro polar

Se determinará en mm y consistirá en medir el diámetro menor de las semillas de cacao tomado en cuenta la ubicación de la zona de germinación.

#### Diámetro ecuatorial

Se determinará en mm y consistirá en medir el diámetro mayor de la semilla tomado en cuenta el lado más circula de las semillas de cacao.

#### Siembra de la semilla

Con las semillas ya tratadas, se procederá a sembrar en la cama germinadora acondicionada, el distanciamiento entre semillas será de 1 cm x 5 cm. Las semillas se sembrarán a una profundidad de 2 cm, dispuesta de forma horizontal ("echadas"), para mantener la humedad del sustrato. El riego al sustrato se realizará cada 2 días.

#### Preparación del sustrato

Como sustrato, se utilizará arena tamizada, libre de conglomerados e impurezas, tierra agrícola y materia orgánica, luego se procederá a la desinfección del sustrato con agua hervida, y finalmente se aplicará hipoclorito de sodio al suelo al 3%, esta labor se realizará 4 días antes de siembra de las semillas.

#### b. Técnicas de muestreo.

#### 1. Población.

La población estará formada por todos los frutos de cacao de la parcela de 3 hectáreas de cacao, que presenten madurez fisiológica y por ende puedan germinar y ser usados durante el trabajo de investigación.

#### 2. Muestra.

La muestra estará conformada por 3600 semillas de cacao, seleccionadas a quienes se le aplicará los tratamientos en estudio y de donde se obtendrán las muestras paralas diferentes variables en estudio

#### 3. Unidad de muestreo

La unidad de análisis estará conformada por los plantones de cacao germinados.

#### c. Diseño estadístico a emplear.

La variable independiente se caracteriza por generar los grupos de intervención que se organizan en el estudio. Clásicamente, una variable independiente es la variable causal que genera un impacto sobre una variable dependiente, en tal sentido, los niveles de experimentación de la variable independiente generarán un impacto en la variable que se pretende influir (Galarza, 2021).

El presente trabajo de investigación se utilizará el diseño completamente al azar DCA, con 9 tratamientos y 4 repeticiones (cada repetición estará formada por 100 semillas de cacao nativo), teniendo un total de 36 unidades experimentales, de encontrarse diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos se aplicará la prueba de Tukey al 0.05 de significación para cada variable en estudio.

#### Modelo estadístico:

$$Yij = U + Ti + Eij$$

Donde:

Yij = Cualquier observación en estudio.

U = Media general

Ti = Efecto del i – esimo tratamiento en estudio

Eij = Error o residual.

Cuadro 2. Grados de libertad y fuentes de variabilidad del análisis ANVA.

FV	GL
Tratamientos	8
Error	27
Total	35

## Parcela experimental:

La característica de la parcela experimental es el siguiente:

Número de tratamiento: 9

Número de repeticiones / tratamientos: 4

Número de semillas / unidad experimental: 100

Número total de semillas a germinar: 3600

Número de unidades experimentales: 36

Los resultados obtenidos serán el promedio de las unidades

# C. PROGRAMACIÓN Y PRESUPUESTO

1. Cronograma de actividades.

Cuadro 3. Cronograma de actividades del trabajo de investigación.

ACTIVIDAD	MES 01			MES 02			MES 03			MES 04			MES 05							
DURACION	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Redacción																				
del perfil																				
Sustentación																				
y aprobación																				
de perfil																				
Ubicación de																				
área																				
experimental																				
Instalación y																				
ubicación de																				
tratamientos.																				
Ensayo y																				
evaluación																				
inicial																				
Primera y																				
segunda de la																				
germinación																				
en cacao																				
Tercera y																				
cuarta																				
evaluación de																				
la germinación																				
en cacao.																				
Recolección																				
de datos																				
Análisis de																				
datos																				
Redacción de																				
tesis																				

# 2. Presupuesto.

Cuadro 4. Presupuesto del perfil de tesis en cacao.

	Rubros	Unidad de medida	Cantidad	Precio unitario S/.	Total, S/.
	INSUMOS	11100100		<u> </u>	
Semillas	de cacao	kg	10	20	S/. 200.00
Agua trat	tada	m3	1	S/. 10.00	S/. 10.00
	тот	AL			S/. 210.00
	MATERIALES				
Jarra me	didora 500 ml	Und.	3	S/. 5.00	S/. 15.00
Ternos		Und.	8	S/. 50.00	S/. 400.0
Rompe n	nueces	Und.	2	S/. 6.00	S/. 12.00
Guardap	olvo	Und.	1	S/. 25.00	S/. 25.00
Guantes	desechables	Caja	1	S/. 12.00	S/. 12.00
Mascarill	a	Caja	1	S/. 14.00	S/. 14.00
Plástico o	de polietileno	Metro	20 10.		S/. 200.0
Letreros		Und.	24	S/. 10.00	S/. 240.0
	тот	AL			S/. 918.00
	MATERIALES E INSUMOS				010.00
Libreta de	e apuntes	Und.	2	S/. 4.00	S/. 8.00
Cinta adh		Und.	2	S/. 2.50	S/. 5.00
Marcado	res	Caja	1	S/. 2.00	S/. 2.00
Trichode	rma	Und.	1	S/. 200.00	S/. 200.00
	тот	AL	S/. 215.00		
	ANALISIS E INERPRETACIÓN DE DA	TOS		S/.	
Análisis d	de porcentaje de germinación en cacao	Prueba	Prueba 1		S/. 297.00
Energía y	y poder germinativo en cacao.	Prueba	eba 1 1		S/. 108.00
Base de	datos	Prueba	1	S/. 200.00	S/. 200.00
Análisis o	de base de datos	Prueba	1	S/. 200.00	S/. 200.00
	тот	AL			S/. 805.00
	OTROS GASTOS				
Pasajes i	interno	Pasaje 120 S/. 1.0			S/. 120.00

Impresiór	1	Xhoja	200	S/. 0.20	S/. 40.00					
Empastad	do	Und.	4	S/. 8.00	S/. 32.00					
	TOTAL 3140									
	Otros gastos									
IMPREVISTOS 5%										
TOTAL, A INVERTIR										

#### D. RECURSOS NECESARIOS

#### 1. Recursos humanos.

Para realizar el presente trabajo de investigación se cuenta con el apoyo de un profesor principal de la facultad de ciencias agropecuarias, quien cuenta con la experiencia del necesario para asesorar el presente trabajo. También se contará con la ayuda de un co-asesor externo para el análisis de los datos.

#### 2. Recursos materiales.

Para evaluar todo el proceso de germinación y crecimiento se cuenta con los ambientes del laboratorio de fisiología vegetal e hidroponía donde se cuenta con los ambientes necesarios para las pruebas y análisis necesarios para cumplir con los objetivos planteados.

#### 3. Recursos financieros.

En relación a los gastos para la obtención de la información para el presente trabajo de investigación será 100% realizado por el tesista.

#### E. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- Acosta, A. (2018). Efecto del sulfato de cadmio en la germinación y el crecimiento de plántulas de cacao (Theobroma cacao L.).
- Batista, L. (2009). Guía técnica: el cultivo de cacao (No. F01-41).
- Bewley JD, Black M (1994) Seeds: Physiology of development and germination.
- Calle Laime, E. E. 2022. Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum en plantines de cacao en la fase inicial de vivero, Estación Experimental de Sapecho (Doctoral dissertation).
- Carrión, J. 2012. Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de cacao (Theobroma cacao L.) variedad CCN-51, Jama-Manabí. Grado, Universidad San Francisco de Quito.
- Catálogo de la vida (2022). Theobroma cacao subsp. Cacao. World Plants: Synonymic Checklists of the Vascular Plants of the World.
- Companioni González, B., Domínguez Arizmendi, G., & García Velasco, R. (2019). Trichoderma: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. Biotecnología Vegetal, 19(4), 237-248.
- COPELAND, L. O.; MC DONALD, M. B. 1995. Seed science and tech-nology. Chapman and Hall. New York, NY. 409 p.
- Cravens, D. y Piercy, N. (2007). Marketing Estratégico. Madrid: McGraw-Hill, 590p.
- Crozier, S. J., Preston, A. G., Hurst, J. W., Payne, M. J., Mann, J., Hainly, L., & Miller, D. L. (2011). Cacao seeds are a" Super Fruit": A comparative analysis of various fruit powders and products. Chemistry central journal, 5(1), 1-6.
- Doria, J. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. Cultivos tropicales, 31(1), 00-00.
- Dostert, N. and J. Roque. 2011. Hoja Botánica: Cacao. Perú Biodiverso: 19.
- Durán, F. 2013. Cultivo y explotación del cacao. In: G. L. E. S.A., editor Colombia.

- Ezziyyani M, Pérez C, Sid A, Requena ME, Candela ME (2004) Trichoderma harzianum como biofungicida para el biocontrol de Phytophtora capsici en plantas de pimiento (Capsicum annum L.). Anales de biología 26: 35-45.}
- Felipa, P. B. (2015). La cadena de valor del cacao en Perú y su oportunidad en el mercado mundial.
- Fenner M (2000) Seeds the ecology of regeneration in plant communities. Second edition. New York, CABI publishing. 410 pp.
- Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G (2006) Seed dormancy and the control of germination. New Phytologist 171, 501-523 Probert RJ (2010) The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. Chapter 11. En: Fenner M. Seeds the ecology of regeneration in plant communities. Second edition. CABI Publishinbg. Wallinford U.K. 261-292 pp.
- Galarza, C. A. R. (2021). Diseños de investigación experimental. CienciAmérica:
   Revista de divulgación científica de la Universidad Tecnológica
   Indoamérica, 10(1), 1-7.
- Ganoza, R.; E. Normando; J. Rojas; U. Olguín; M. Zegarra, M. Moscol & R. Ganoza. 2012. Manual del cultivo de cacao blanco en Piura. Edit. Athenea, comunicación y cultura: Perú.
- Giler, J. C., Cruzatty, L. G., & Trigrero, S. S. (2020). Germinabilidad y desarrollo inicial de nuevos híbridos intraespecíficos de Theobroma cacao L. Revista Ciencia y Tecnología, 13(2), 31-38.
- Harman GE, Lumsden RD (1990) Biological disease control. En: Lynch JM (ed). The Rhizosphere, pp. 259-280. John Wiley and Sons Ltd, England.
- ICCO. (2012). The world cocoa economy: past and present international cocoa organization. EX/146/7. London UK.
- INEC. 2015. In: E. d. s. y. p. a. c. 2016, editor Ecuador.
- INEI 2021. Informe técnico de producción nacional. Encontrado el 12 de setiembre del 2022.

- https://www.inei.gob.pe/media/principales\_indicadores/02-informetecnico-produccion-nacional-dic-2020.pdf.
- Lema, A. (2013). Historia del cacao en el Ecuador. El cacaotero.
- López Medina, S. E., & Gil Rivero, A. E. (2017). Características germinativas de semillas de Theobroma cacao L. (Malvaceae)" cacao". Arnaldoa, 24(2), 609-618.
- López Medina, S. E., & Gil Rivero, A. E. (2017). Características germinativas de semillas de Theobroma cacao L.(Malvaceae)" cacao". Arnaldoa, 24(2), 609-618.
- López Medina, S. E., Mostacero León, J., Gil Rivero, A. E., López Zavaleta, A., & De la Cruz Castillo, A. (2018). Lapso de viabilidad de semillas de Theobroma cacao L. (Malvaceae)" cacao" en condiciones de laboratorio, La Libertad, Perú. Arnaldoa, 25(2), 481-488.
- López R, Ros M, Pascual JA (2011) Mycoparasitism-related genes expression of Trichoderma harzianum isolates to evaluate their efficacy as biological control agent. Biological Control 56(1): 59-66.
- MAGAP. 2015. Boletín situacional cacao. Coordinación general del sistema de información nacional, Ecuador.
- Martínez B, Infante D, Reyes Y (2013) Trichoderma spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Revista Protección Vegetal 28(1): 1-11.
- Martínez B, Reyes Y, Infante D, González E, Baños H, Cruz A (2008) Selección de aislamientos de Trichoderma spp. candidatos a biofungicidas para el control de Rhizoctonia sp. en arroz. Revista Protección Vegetal 23(2): 118-125.
- Martínez E, Pérez L (2015) Incidencia de enfermedades fúngicas en plantaciones de cacao de las provincias orientales de Cuba. Revista de Protección Vegetal 30(2): 87-96.
- Mejías, S. H. (2017). Capacidad de Trichoderma spp. como estimulante de la germinación en maíz (Zea mays L.) y frijol (Phaseolus vulgaris L.). Revista de Gestión del Conocimiento y el Desarrollo Local, 4(1), 19-23.

- Miguel-Ferrer, L., Romero-Arenas, O., Andrade-Hoyos, P., Sánchez-Morales, P., Rivera-Tapia, J. A., & Fernández-Pavía, S. P. (2021). Actividad antifúngica de Trichoderma harzianum y T. koningiopsis contra Fusarium solani asociado en la germinación y vigor de plántulas de chile Miahuateco. Revista mexicana de fitopatología, 39(2), 228-247.
- Mihuta L, Rowe C (1986) Trichoderma spp. as biocontrol agents of Rhizoctonia damping-off of radish in organic soil and comparison of four delivery systems. Phytopathology 76(3): 306-312.
- MINAGRI. 2016. Estudio del cacao en el Perú y en el mundo. Dirección de Estudios Económicos elnformación Agraria.Primera Edición. Disponible en:

  http://webcacho.goglousercentent.com/soarch2g-cacho:GC30WFou
  - http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:GC30WFeu\_JMJ:repositorio.minagri.gob.pe/bitstream/handle/MINAGRI/478/cacao.
- Monfil, V. O., & Casas-Flores, S. (2014). Molecular mechanisms of biocontrol in Trichoderma spp. and their applications in agriculture. In Biotechnology and biology of Trichoderma (pp. 429-453). Elsevier.
- Moreira et ál. 1992. Regras para analise de semese. Ministerio de agricultura e reforma agraria. Brasil -brasilia.
- Mosquera, M. 2016. Efectos del fosforo y azufre sobre el rendimiento de mazorcas, en una plantación de cacao (Theobroma cacao L.) ccn-51, en la zona de Babahoyo". Grade, Universidad tecnica de Babahoyo, Babahoyo, Ecuador.
- Mostacero, L.; Mejia, F. & T. Gamarra. 2009. Fanerogamas del Perú. GRAFICART (Eds.). Trujillo, Perú.1331p.
- Nomiya H (2010) Differentiation of seed germination traits in relation to the natural habitats of three Ulmus species in Japan. Journal of Forest Research 15,123-130.
- Noroña Bastidas, C. A. (2018). Determinación de la fitotoxicidad del mucilago de la semilla de cacao ccn-51 sobre las malezas en el cultivo de cacao (Bachelor's thesis, Quito: UCE).

- Ocampo, Leonardo (2005). El manejo óptimo de la "Enfermedad Holandesa" para Ecuador. En Revista Cuestiones Económicas, Banco Central de Ecuador, Vol. 21, No 3, tercer cuatrimestre, p. 5-46.
- Pineda JA, Benavides EN, Duarte AS, Burgos CA, Soto CP, Pineda CA, Fierro FJ, Mora ES, Álvarez SE (2017) Producción de biopreparados de Trichoderma spp. una revisión. Revista ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar 51(1): 47-52.
- Poulsen, K. M., Stubsgaard, F., Lauridsen, E. B., & Robbins, A. M. J. (2000). Técnicas para la escarificación de semillas forestales. CATIE, Turrialba (Costa Rica).
- Poulsen, K. M., Stubsgaard, F., Lauridsen, E. B., & Robbins, A. M. J. (2000). Técnicas para la escarificación de semillas forestales. CATIE, Turrialba (Costa Rica).
- Rangel Fajardo, M., Córdova Téllez, L., López Andrade, A. P., Delgado Alvarado, A., Zavaleta Mancera, H. A., & Villegas Monter, Á. (2011). Tolerancia a la desecación en semillas de tres orígenes genéticos de cacao (Theobroma cacao L.). Revista fitotecnia mexicana, 34(3), 175-182.
- Rangel Fajardo, M., Córdova Téllez, L., López Andrade, A. P., Delgado Alvarado, A., Zavaleta Mancera, H. A., & Villegas Monter, Á. (2011). Tolerancia a la desecación en semillas de tres orígenes genéticos de cacao (Theobroma cacao L.). Revista fitotecnia mexicana, 34(3), 175-182.
- Rodríguez Quilón, I., Adam, G., & Durán, J. M. (2008). Ensayos de germinación y análisis de viabilidad y vigor en semillas. Agricultura: Revista Agropecuaria, 78(912).
- Rodríguez Quilón, I., Adam, G., & Durán, J. M. (2008). Ensayos de germinación y análisis de viabilidad y vigor en semillas. Agricultura: Revista Agropecuaria, 78(912).
- Ruelas, E. P., Salazar, N. Q., & Pinazo, M. C. (2020). Efecto del ácido Piroleñoso en la germinación de Sandía, Cocona y Cacao en el Distrito de San Gabán, Carabaya. Puriq, 2(3).

- Ruiz, E. M., Bardales, E. R. S., & Flores, J. F. (2017). Evaluación del proceso de germinación de tres clones de cacao (Theobroma cacao I.) para ser usado como patrón bajo las condiciones edafoclimáticas del distrito de Manantay-Ucayali-2015. TZHOECOEN, 9(2).
- Russo, M., Fernández, M., Kyanko, V., & Pose, G. (2010). Estudio de la efectividad del ácido peracético sobre la reducción de la carga de esporos fúngicos como una estrategia alternativa al control postcosecha de la pudrición causada por mohos en frutas y hortalizas. Universidad Nacional de Quilmes.
- Russo, M., Fernández, M., Kyanko, V., & Pose, G. (2010). Estudio de la efectividad del ácido peracético sobre la reducción de la carga de esporos fúngicos como una estrategia alternativa al control postcosecha de la pudrición causada por mohos en frutas y hortalizas. Universidad Nacional de Quilmes.
- Santana Baños, Y., del Busto Concepción, A., González Fuentes, Y., Aguiar González, I., Carrodeguas Díaz, S., Páez Fernández, P. L., & Díaz Lugo, G. (2016). Efecto de Trichoderma harzianum Rifai y FitoMas-E® como bioestimulantes de la germinación y crecimiento de plántulas de tomate. Centro agrícola, 43(3), 5-12.
- Silvila, N., & Álvarez, S. (2013). Producción Artesanal de Trichoderma. Tecnologías agroecológicas para la agricultura familiar.
- Suárez, D., & Melgarejo, L. M. (2010). Biología y germinación de semillas. Experimentos en fisiología vegetal, 13-25.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). Desarrollo de la raíz. En Fisiología Vegetal (pp. 664-669). Castelló de la Plana, España: Universitat Jaume.
- Turco, G. (2018). Biología: crecimiento y desarrollo. ISBN 978-987-688-288-0
- Velalcazar Ramos, K. A. (2019). Factor sustrato y cobertura en la germinacion y desarrollo inicial de patrones de cacao (Theobroma cacao L.) en vivero, finca experimental La Represa (Bachelor's thesis, Quevedo-UTEQ).

Waizel. S.; B. Waizel; J. Magaña; P. Campos & J. San Esteban. 2012. "Cacao" y chocolate: seducción y terapéutica. Revista Anales Médicos 57(3): 236-245.

# F. ANEXO.

# Cuadro 5. Ficha de evaluación en campo.

Tratamiento Re	Repetición	Unidad Experimental	Germinación			•				
			Porcentaje de germinación	Energía y poder germinativo		Crecimiento				
	·			Semillas viables	Total, de semillas sembradas	Altura total	Longitud de la raíz	Diámetro:	Biomasa fresca aérea y radicular	Biomasa seca aérea y radicular
	1	1								
		2								
		100								
1		1								
	2	2								
	2									
		100								