



**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN CON
LA COLECTIVIDAD**

**MAESTRIA EN SISTEMAS DE GESTION AMBIENTAL
VII PROMOCION**

TESIS DE GRADO MAESTRIA DE GESTIÓN AMBIENTAL

**TEMA: “EVALUACIÓN DE POBLACIONES DE *Trichodermaspp.*
Paecylomices l., Y *Monillioptheraroreri* EN SUELOS TRATADOS CON
HERBICIDAS EN EL CULTIVO DEL CACAO”**

AUTOR: VACA, EDUARDO PATRICIO

DIRECTOR: ING. YEPEZ, ALVARO

SANGOLQUÍ, SEPTIEMBRE DEL 2013

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE

MAESTRIA EN SISTEMAS DE GESTIÓN AMBIENTAL

CERTIFICADO

M. Sc. ALVARO BERNARDO YEPEZ REGALADO

CERTIFICA

Que el trabajo titulado “Evaluación de poblaciones de *Trichodermaspp. Paecylomices l.*, y *Monillioptheraroreri* en suelos tratados con herbicidas en el cultivo del cacao” realizado por el Ing. EDUARDO PATRICIO VACA PAZMIÑO, ha sido guiado y revisado periódicamente y cumple con las normas estatutarias establecidas por la Universidad De Las Fuerzas Armadas – ESPE en el reglamento de estudiantes.

Sangolqui, 19 de Septiembre de 2013

M. Sc. Álvaro Bernardo Yopez Regalado

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE

MAESTRIA EN SISTEMAS DE GESTION AMBIENTAL

DECLARACIONES DE RESPONSABILIDAD

EDUARDO PATRICIO VACA PAZMIÑO

DECLARO QUE

El proyecto de grado titulado “Evaluación de poblaciones de *Trichodermaspp.*, *Paecylomices l.*, y *Monilliotheraroreri* en suelos tratados con herbicidas en el cultivo del cacao”, ha sido desarrollado con base a una investigación exhaustiva, respetando los derechos intelectuales de terceros, conforme las citas que constan en la bibliografía.

Consecuentemente este trabajo es de mi autoría.

En virtud de esta declaración me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico de la tesis de grado en mención.

Sangolqui, 19 de Septiembre de 2013

EDUARDO PATRICIO VACA PAZMIÑO

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE

MAESTRIA EN SISTEMAS DE GESTION AMBIENTAL

AUTORIZACION

Yo, EDUARDO PATRICIO VACA PAZMIÑO

Autorizo a la Universidad De Las Fuerzas Armadas – ESPE, la publicación, en la biblioteca virtual de la institución el trabajo de “Evaluación de poblaciones de *Trichodermaspp. Paecylomices l.*, y *Monillioptheraroreri* en suelos tratados con herbicidas en el cultivo del cacao”, cuyo contenido, ideas y criterio son de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Sangolqui, 19 de Septiembre de 2013

Dedicatoria

Este trabajo lo dedico a DIOS mi Señor, a mi bella esposa Mary que es mi vida y a mis hermosos hijos Daniel y Josue que alegran mi existencia.

EDUARDO PATRICIO VACA PAZMIÑO

Agradecimiento

Agradezco a DIOS por darme la vida.

A mis padres que me dieron la oportunidad de estudiar y siempre me inculcaron ideas y actitudes positivas ante la vida.

A mi esposa y a mis hijos por su valioso amor.

A la Universidad De Las Fuerzas Armadas - ESPE por darme una beca y las facilidades para cursar esta maestría.

A Santiago Ulloa Phd. y al Mágister Vinicio Uday por sus conocimientos y tiempo brindado.

Eduardo Patricio Vaca P.

Contenido

CAPÍTULO I	1
ANTECEDENTES	1
1.1 Definición del problema	2
1.2 Objetivos	3
1.3 Descripción de la zona de estudio	4
1.4 Justificación e importancia	4
CAPÍTULO II.....	7
LOS TIPOS DE CONTROL DE MALEZAS.....	7
2.1 EL CONTROL MECÁNICO DE MALEZAS.....	7
2.2 EL CONTROL MANUAL DE MALEZAS.....	7
2.3 APLICACIÓN DE MULCH ORGÁNICO	8
2.4 APLICACIÓN DE HERBICIDAS.....	8
2.5 CLASIFICACIÓN DE LOS HERBICIDAS.....	10
2.6 LOS HERBICIDAS TRANSLOCABLES NO HORMONALES	11
2.7 MODO DE ACCIÓN DE LOS HERBICIDAS.	12
2.7.1 Efecto del pH sobre la actividad del herbicida y sus persistencias	12
2.8 Efecto sobre la salud y el ambiente del glifosato.....	13
2.8.1 La contaminación del suelo	13
2.8.2 Interacción entre los herbicidas y el suelo.....	15
2.8.3 Tipos de contaminación de los suelos.....	16
2.8.4 Efectos en la salud.....	18
CAPÍTULO III	21
ANTECEDENTES EN LA PRODUCCIÓN DEL CACAO.....	21
CAPÍTULO IV.....	23
INFLUENCIA DE LOS HERBICIDAS.....	23
4.1 Los herbicidas y la fijación de nitrógeno.....	23
4.2 La persistencia de los herbicidas en el medio ambiente.....	25
4.3 La disipación de los herbicidas en el medio ambiente	26

4.4 Degradación química de los herbicidas	26
4.5 La degradación biológica de los herbicidas.....	27
4.6 Foto descomposición de los herbicidas.....	27
4.7 La volatilización de los herbicidas.....	27
4.8 La lixiviación de los herbicidas.....	28
4.9 La escorrentía de los herbicidas en el suelo.....	28
CAPÍTULO V.....	30
LOS MICROORGANISMOS DLE SUELO	30
5.1 Trichodermaspp	30
5.1.1 Tipos de antagonismo del hongo	31
5.1.2 Antibiosis	31
5.1.3 Microparasitismo.....	31
5.2 Fusarium	32
5.2.1 Etiología	33
5.2.1 Epidemiología	33
CAPÍTULO VI	34
DESARROLLO EXPERIMENTAL	34
6.1 MANEJO DEL ENSAYO	34
6.1.1 Preparación del suelo	34
6.1.2 Manejo de plantación	34
6.1.3 Metodología usada en el laboratorio	34
6.1.4 Evaluación en campo.	34
6.1.5Medición de la población de microorganismos benéficos	36
6.1.6 Medición de la población de microorganismos patógenos.....	37
6.1.7 Factor en el estudio.	38
6.1.8 Tratamiento a comparar	38
6.1.9 Tipo de diseño	40
6.1.10 Análisis estadístico	41
CAPÍTULO VII	42

ANÁLISIS DE RESULTADO Y DISCUSIÓN	42
7.1 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL SUELO	42
CAPÍTULO VIII	64
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	64
8.1 CONCLUSIONES	64
8.2 RECOMENDACIONES	66
BIBLIOGRAFÍA	68
ANEXOS	73

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Datos agrometeorológicos de la zona de estudio	4
Tabla 2.	Tratamientos y dosis utilizados en el estudio Evaluación de poblaciones de <i>Trichoderma</i> spp., <i>Paecilomyces l.</i> , y <i>Monilliotherraria</i> en suelos tratados con herbicidas en el cultivo del cacao.....	39
Tabla 3.	Características de la Unidad Experimental	41
Tabla 4.	Esquema del Análisis de varianza	41
Tabla 5.	Variable <i>Trichoderma</i> spp.....	42
Tabla 6.	Efecto de los tratamientos	43
Tabla 7.	Coefficientes de la regresión lineal de la figura 4	46
Tabla 8.	Análisis de varianza de la influencia de los tratamientos y el Tiempo para la variable <i>Fusarium</i> spp.....	51
Tabla 9.	Separación de medias según Duncan para <i>Fusarium</i> spp.....	52
Tabla 10.	Análisis de varianza de la influencia de los tratamientos y el tiempo para la variable <i>Penicillium</i> spp.....	59
Tabla 11.	Grupos Duncan, Tratamientos y medias	61
Tabla 12.	Medias de la Cosechas	62
Tabla 13.	Grupos Duncan, por cosechas	63

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Toma de muestras de suelo para análisis microbiológico en laboratorio	35
Figura 2.	Etiquetado de las muestras de suelo.....	37
Figura 3.	Adecuación de las muestras de suelo para envío al laboratorio.....	38
Figura 4.	Control químico de malezas en el cultivo del cacao	39
Figura 5.	Control mecánico de malezas en el cultivo del cacao	40
Figura 6.	Efecto de los tratamientos en poblaciones de <i>Trichodermaspp</i>	44
Figura 7.	Cambio de la población de <i>Trichodermaspp</i> . En el tiempo	45
Figura 8.	Primera evaluación, prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio	47
Figura 9.	Segunda evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio	48
Figura 10.	Tercera evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio	49
Figura 11.	Cuarta evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio	49
Figura 12.	Quinta evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio.....	50
Figura 13.	Efecto de los tratamientos en la población de <i>Fusarium spp</i>	53
Figura 14.	Primera evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio, UFC <i>Fusarium spp</i>	54
Figura 15.	Segunda evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio, UFC <i>Fusarium spp</i>	55
Figura 16.	Tercera evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio, UFC <i>Fusarium spp</i>	56
Figura 17.	Cuarta evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio, UFC <i>Fusarium spp</i>	57
Figura 18.	Cuarta evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio, UFC <i>Fusarium spp</i>	58
Figura 19.	Cosecha de almendras por semana	60
Figura 20.	Producción de almendras de cacao por tratamiento.	61

Figura 21.	Ubicación del lugar de la investigación	73
Figura 22.	Mapa de Santo Domingo	73
Figura 23.	Mapa de la parroquia Luz de América – Santo Domingo	74
Figura 24.	Porcentaje y áreas de ocupación del suelo parroquia Luz de América.	75
Figura 25.	Socialización de los resultados de campo a productores del GADMA 26.07.2012	76
Figura 26.	Socialización de los resultados de campo a productores de cacao de Santo Domingo, dirigidos por el MAGAP 07.06.2013	76
Figura 27.	Socialización de los resultados de campo	77
Figura 28.	Socialización de los resultados de campo a estudiantes de la Escuela de Ingeniería Agropecuaria de la Universidad Estatal Amazónica 21.06.2013	77

RESUMEN

La evaluación de poblaciones de microorganismos en suelos tratados con herbicidas en el cultivo del cacao puede ser alternativa para determinar el impacto ambiental y evaluar sus efectos en la producción. Esta investigación se realizó en la Hda. Zoila Luz ESPE, ubicada en el km. 24 vía Santo Domingo Quevedo, 00°24'36''S y 79°18'43''W a 296 msnm. Con temperatura promedio de 25 °C, HR 84%, y velocidad del viento de 1 m/s. El objetivo fue evaluar poblaciones de *Trichoderma spp.*, *Paecylomyces l.* y *Monillioptera roreri* en suelos de una plantación comercial de cacao sometida a tres métodos de control de malezas. Los objetivos específicos fueron identificar las poblaciones de *Trichoderma*, *Paecylomyces*, y *Monillioptera* antes y después de la aplicación de tres métodos de control de malezas. Cuantificar estas poblaciones y determinar el método de menor impacto sobre los microorganismos del suelo. Investigaciones realizadas demuestran que usar herbicidas produce efectos sobre la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas del suelo, la interferencia de herbicidas sobre los microbios y las actividades enzimáticas se relacionaría directamente con la fertilidad del suelo. Los métodos fueron glifosato 1.5 L/ha, paraquat 1.5 L/ ha y control mecánico. La fase de laboratorio la hizo el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, el área de ensayo fue 2.304 m². Los resultados de laboratorio identificaron poblaciones de *Trichoderma*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, no presentaron datos de *Monillioptera* y *Paecilomyces*. Las mayores poblaciones de *Trichoderma* tuvo el tratamiento con paraquat, control mecánico y glifosato. La mayor población de *Fusarium spp.* Tuvo el

tratamiento con glifosato, paraquat, y control mecánico. La mayor producción de almendras en libras tuvo el tratamiento control mecánico y paraquat.

Palabras clave:

- Microorganismos
- Herbicidas
- Control de malezas
- Glifosato
- Paraquat

ABSTRACT

The assessment of microbial populations in soil treated with herbicides in the cultivation of cocoa can be an alternative to determine the environmental impact and to assess their effects on production. This research was made in the Hacienda. Zoila ESPE Light, located at km. 24 Santo Domingo road Quevedo, (00 ° 24 '36 '' S and 79 ° 18' 43 '' W) at 296 m. With an average temperature of 25 ° C, a relative humidity of 84% and a wind speed of 1 m / s. The aim of this research was to evaluate the populations of *Trichoderma spp.*, *Paecylomices l.* and *Monillioptera roreri* in commercial flooring cocoa plantation under three methods of weed control. The specific objectives were to identify the populations of *Trichoderma spp.*, *Paecylomices l.* and *Monillioptera roreri* before and after the implementation of three methods of weed control. Quantify the populations of these microorganisms and to determine the method of weed control less impact on soil microorganisms. Investigations have shown that the use of herbicides produces effects on the microbial biomass and soil enzyme activities, interference of herbicides on the microbial biomass and enzyme activities would relate directly to soil fertility. We studied three methods of weed control, glyphosate 1.5 L / ha, paraquat 1.5 L / ha and mechanical controls. The laboratory phase was done in the National Agricultural Research Institute INIAP, the test area was 2.304 m². The laboratory results identified populations of *Trichoderma spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, showed no *Monillioptera roreri* data, and *Paecilomyces l.* The largest populations of *Trichoderma spp.* The paraquat treatment was followed by mechanical control, being the least populated glyphosate. Regarding *Fusarium spp.* population had increased

glyphosate followed by paraquat, and mechanical control with the smallest population. They also measured the production of cocoa beans in pounds, with the highest production in the mechanical control and paraquat treatment without presenting differences between these, and lower production in glyphosate treatment, presenting differences from other treatments.

Key words

- Microorganisms
- Herbicides
- weeds control
- Glyphosate
- paraquat

EVALUACIÓN DE POBLACIONES DE *Trichoderma spp.*, *Paecilomyces l.*, Y
Monillioptera roreri EN SUELOS TRATADOS CON HERBICIDAS EN EL
CULTIVO DEL CACAO

El impacto ambiental que sobre el suelo está ejerciendo el hombre ha hecho de la contaminación uno de los problemas que está recibiendo mucha atención en los últimos años. Esto debido a los riesgos directos que los suelos contaminados pueden ejercer sobre la salud y a razones económicas derivadas de las limitaciones al uso del suelo y a la devaluación de los terrenos contaminados (Doménech, 1995).

En el Ecuador al igual que en otros países, las malezas son una de las principales plagas que causan pérdidas agrícolas, su control representa del 10 al 30% del costo de producción; y se pierde más del 10% del rendimiento debido a la competencia de las malezas (Ordeñana, 1992).

Controlar las malezas que afectan los cultivos es una práctica necesaria para mejorar la productividad en los sistemas de producción agropecuarios y forestales.

Esto genera una permanente demanda de herbicidas, si bien el uso de los herbicidas contribuye a mejorar los rendimientos. Paralelo a este efecto tenemos una alerta al ambiente, debido a los impactos negativos que se generan hacia el suelo, el agua, y al hombre.

La tendencia actual es disminuir el uso de agroquímicos en los ecosistemas agrícolas y forestales, por esto las empresas deben orientarse a la búsqueda de alternativas para el control de malezas, considerando los costos, los beneficios y los efectos indirectos, como la protección de los ecosistemas agroforestales y acuáticos.

Algunos herbicidas y sus componentes son tóxicos ya que tienen una persistencia alta en el suelo, pudiendo aparecer en corrientes de aguas superficiales o subterráneas por escorrentía o lixiviación, afectando los cultivos subsiguientes o que se volatilicen y sean precipitados por las lluvias en lugares distintos a los que se utilizaron.

Numerosos herbicidas han sido encontrados en Canadá, Europa y Estados Unidos en concentraciones mayores a los límites legales establecidos (EPA Economic Commission for Europe, 1992).

El glifosato inhibe la acción de una enzima intermedia en la síntesis de los compuestos aromáticos, mediante la alteración de la ruta del ácido shikimico, ácido que se encuentra en la planta y en los microorganismos. Los pasos para la producción del ácido shikimico es muy específica y no todos los microorganismos la poseen.

Por lo tanto, aquellos organismos, que han desarrollado esta ruta, se verían muy afectados por la aplicación de éste herbicida. (Franz, Mao, & Sikorski, 1997).

Los herbicidas actúan fundamentalmente, inhibiendo procesos como la fotosíntesis, la actividad meristemática o destruyendo la permeabilidad de las membranas, (Kogan, Figueroa, & Olate, 1995).

Algunos herbicidas permanecen activos en los primeros centímetros de suelo, por lo que controlan malezas provenientes de semillas que germinen en los primeros 5 a 10 cm (Kogan *et al.*, 1995).

El glifosato fue clasificado por la OMS en el nivel IV de toxicidad aguda, y clasificado en nivel III “ligeramente peligrosos” a los productos formulados con un surfactante.

El deterioro del suelo, afecta la vida microbiana, los microbios del suelo son importantes para la agricultura puesto que se encargan de mejorar los procesos de absorción de nutrientes, el control de plagas y enfermedades, y de realizar la fijación biológica del nitrógeno atmosférico, entre otras funciones.

Araujo *et al.* (2003) citado por (Conde, 2011) señalan que la presencia del glifosato en suelos puede causar cambios en su población y en la actividad microbiana del mismo. Diversos estudios señalan su efecto tanto sobre los microorganismos que intervienen en los ciclos de nutrientes como sobre aquellos que determinan el estado sanitario de los cultivos.

De igual manera Wardle y Parkinson (1992); y Busse *et al.*, (2001) citado por (Conde, 2011) mencionan que los agroquímicos utilizados en la agricultura tienen la potencialidad

de afectar las poblaciones microbianas del suelo, en el caso del glifosato señalan que es tóxico para muchos microorganismos edáficos, bacterias y hongos.

De 1880 a 1890, el Ecuador fue el mayor exportador mundial de cacao. Con estos recursos se crearon los primeros bancos del país y fue el principal motor para dinamizar la economía y el comercio nacional, significaba del 40 al 60% de las exportaciones totales del país y pagaba hasta el 68% de los impuestos al estado razón por lo que se la llamó “pepa de oro” (Pérez, 2009).

Dentro de la producción agrícola del país, el cultivo del cacao, conforma el tercer rubro agrícola de importancia. En el Ecuador existen alrededor de 500.000 ha de este cultivo, la mayoría están asociadas, en el año 2008 se obtuvo una producción de 118.000 TM (Pérez, 2009).

La mayor parte de la producción se exporta a los Estados Unidos y la Unión Europea, Estados Unidos es el principal importador de cacao a nivel mundial.

CAPITULO I

ANTECEDENTES

Según (Corpei, 2008). Ecuador ocupa el séptimo lugar en la exportación mundial de cacao con alrededor de 5% del total comercializado, el 35% de la producción se queda en el país para la elaboración de manteca de cacao, polvo y pasta de chocolate.

El 5% se destina a las industrias artesanales lo que genera empleo aproximadamente para 800.000 personas.

Las estadísticas de comercio exterior confirman que la producción exportada, en volumen de cacao se redujo en 4.0%, aunque se favorecieron con el incremento de los precios de cacao elaborado en 2%, contrastando con la reducción de los precios de cacao en grano del -6.3%(Banco Central del Ecuador, 2013)

Según la (Corpei, 2009), gracias a la mejora en los métodos de producción/hectáreas, cosecha y poscosecha y la separación de diferentes tipos de cacaos, se consiguió un incremento en las exportaciones a un 30% desde el periodo 2006 al 2009.

La cadena de valor del cacao es actualmente la tercera más relevante después del banano y las flores. La producción en el 2008 fue de alrededor de 118.000 TM.

Genera empleo para cerca de 120.000 familias, su influencia directa es sobre las 600.000 personas.

Ecuador es el primer productor mundial de cacao fino y de aroma produciendo más del 60% de la producción mundial que es utilizado en la fabricación de chocolates de alta calidad y de tipo gourmet.

El cacao contribuye al producto interno bruto agropecuario con el 7% y representa el 0.40 % del PIB total.

Son más de 500.000 ha de cacao existentes, el 90% corresponde al cacao fino y de aroma; gran parte de esta superficie sirve como un elemento protector de áreas naturales protegidas del Ecuador y de cuencas hidrográficas importantes como la cuenca del río Guayas (Gonzales, 2009)

1.1. Definición del problema

La utilización permanente de herbicidas químicos afectan la vida microbiana del suelo, comprometen su fertilidad en el tiempo y alteran el ambiente, se altera el equilibrio de las poblaciones de microorganismos que habitan en el suelo.

Esto se traduce en el incremento de microorganismos que afectan la sanidad del cultivo y esto obliga al uso de otro tipo de pesticidas, con el consecuente deterioro ambiental.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Evaluar las poblaciones de *Trichoderma spp.*, *Paecylomices l.* y *Monillioptera roreri* presentes en los suelos de una plantación comercial de cacao sometida a tres métodos de control de malezas en Santo Domingo de los Tsáchilas.

1.2.2 Objetivos Específicos

Identificar las poblaciones de *Trichoderma spp.*, *Paecylomices l.* y *Monillioptera roreri* antes y después de la aplicación de los métodos de control de malezas.

Cuantificar las poblaciones de estos microorganismos presentes en la evaluación.

Seleccionar el método de control de malezas que tenga un menor impacto sobre los microorganismos del suelo

Hipótesis.

H0. Los tratamientos utilizados no afectan la vida microbiológica del suelo en el cultivo del cacao.

H1. Los tratamientos utilizados afectan la vida microbiológica del suelo en el cultivo del cacao.

1.2 Descripción de la zona de estudio

El área de la investigación está ubicada en el km 24 de la vía Santo Domingo-Quevedo.

Tabla1. Datos agrometeorológicos de la zona de estudio

Latitud	00°24'36``S y 79°18'43``W
Altitud	296 msnm.
Temperatura	25 °C
Humedad relativa	84 %
Velocidad del viento	1 m/s

El área de influencia corresponde a las parroquias Luz de América, Puerto Limón, Patricia Pilar, El Esfuerzo, El Congoma que son importantes sectores productores de cacao así como del establecimiento de nuevas áreas de este cultivo.

1.3 Justificación e importancia

Uno de los impactos ambientales que ocasionan los herbicidas en los cultivos es la afección a la actividad microbiana del suelo, observándose un aumento del número de

La bacteria fijadora de nitrógeno (*Bradyrhizobium japonicum* Kirchner tiene sensibilidad al glifosato.

Por la influencia que estos microorganismos tienen en la producción agrícola es importante realizar la evaluación de las poblaciones de microorganismos presentes en el suelo.

Esto proporcionara información de lo que está ocurriendo en el suelo y con esto se podría mejorar el manejo del cultivo y los rendimientos para el productor.

El impacto de los herbicidas llega también a ciertos tipos de algas, musgos y líquenes que son parte importante en la vida del suelo, afectando de esta manera la biodiversidad (Anzules,&Vaca, 2008).

El uso de herbicidas provoca erosión del suelo, ya que las malezas actúan como una capa protectora del suelo que evita el arrastre que ocasionan las lluvias que caen en la época lluviosa, en los meses de Enero a Junio.

Al eliminar estas coberturas vegetales no se puede mantener la humedad del suelo así como su temperatura que es importante para la vida microbiana del suelo (Díaz, 2004).

La presente investigación se evaluó la población de los microorganismos presentes en el suelo antes y después de la aplicación de diferentes métodos de control de malezas; esta evaluación generará información del impacto ambiental que los diferentes métodos de

control de malezas ejercen sobre el suelo; lo que permitirá definir estrategias para mejorar el manejo del cultivo.

Investigaciones realizadas han demostrado que el uso de herbicidas produce efectos sobre la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas del suelo

Los microorganismos del suelo por medio de sus enzimas catalizan los procesos esenciales en el ciclado de nutrientes y el crecimiento de las plantas, por lo tanto, el efecto de los herbicidas sobre la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas se relacionaría directamente con la fertilidad del suelo (Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal, 2006).

CAPÍTULO II

MARCO TEORICO

LOS TIPOS DE CONTROL DE MALEZAS

2.1 EL CONTROL MECÁNICO DE MALEZAS

Este método de control utiliza maquinaria y reduce gran parte del volumen aéreo de las malezas, pero deja en el suelo una abundante masa radicular muy activa, que permite a las malezas recuperarse rápidamente. En un corto tiempo las malezas exhiben una gran biomasa aérea, siendo necesario repetir el proceso.

La ventaja de este método radica en que el suelo puede mantener un capital importante de materia orgánica, como resultado del secuestro de carbono, algo positivo para mejorar o mantener las propiedades que controlan la productividad como, el contenido de materia orgánica, la vida microbiana, la estructura y la aireación del suelo y un aumento de nutrientes disponibles que se acumula en las plantas acompañantes, las cuales una vez que el dosel comienza a cerrarse y liberan nutrientes para el uso de los cultivos (Fisher&Binkley, 2000).

2.2 EL CONTROL MANUAL DE MALEZAS

Durante el primer año la labor más costosa y delicada es la eliminación de malezas. En forma general se dice que el suelo de un cacaotal debe estar limpio todo el tiempo al menos

un metro alrededor de cada planta, esto se consigue con aproximadamente cinco chapias por año (Enríquez, 2004).

Estos métodos son los más antiguos y tradicionales en la lucha contra las malezas, esta actividad se realiza con la finalidad de evitar que la maleza compita por los nutrientes, agua, espacio y luz con el cultivo. Estos métodos no son siempre confiables, debido a limitaciones climáticas en el trópico (Doll, Argel, & Gomez, 1989)

Según el manual de (Corpei, 2009) es una práctica que inhibe el crecimiento de malas hierbas y fomenta la cobertura con hierbas nobles realizando desyerbes selectivos y las coronas a los árboles de cacao a un diámetro de 80 cm. Estas hierbas cortadas permanecen como un colchón favoreciendo el incremento del mulch (materia orgánica).

2.3 APLICACIÓN DE MULCH ORGÁNICO

Es una alternativa, no solo para impedir la germinación de las malezas, el desarrollo de propágulos, rizomas etc, sino que además, al descomponerse y mineralizarse, aporta paulatinamente minerales. El mulch artificial (plástico) controla la aparición de malezas en el sector de su radio de acción, pero no aporta nutrientes al suelo (Childs, 1989).

2.4 APLICACIÓN DE HERBICIDAS.

Este método ha demostrado su enorme capacidad para eliminar la competencia entre las malezas con los cultivos agrícolas y las plantaciones forestales, por agua, nutrientes, luz y espacio. Esto ha permitido aumentar el rendimiento de los cultivos.

Algunos herbicidas han sido cuestionados por razones ambientales, por contaminar el suelo o dañar la salud de las personas (Fisher *et al.* 2001).

El control de malezas usando químicos es una herramienta muy importante en la agricultura moderna. Los herbicidas, son parte del manejo de cultivo, especialmente en la etapa inicial y este uso se mantiene hasta la edad adulta de la plantación (Dollet *et al.* 1989).

(Iniap, 2010) Para el método químico, se puede usar glifosato en dosis de un litro por hectárea, después de una desyerba baja; esta aplicación ayuda al control de las malezas que están germinando. Posteriormente se puede utilizar glifosato en dosis de 1,5 litros por hectárea.

(Iniap, 1993) En algunos casos las condiciones predominantes en un huerto son favorables para la incidencia y el crecimiento de malezas, lo que refleja en continuas desyerbas encarecen los costos del cultivo, disminuyen su vigor, dificultan las labores agrícolas y pueden ser hospederas de plagas y enfermedades.

El control de malezas integrando los dos métodos es una buena alternativa de control, conforme crece la planta de cacao disminuye la incidencia de malezas por efecto de la sombra. En la Estación Experimental Tropical “Pichilingue” se ha determinado que en el cacao en los tres primeros años de establecimiento, necesita de seis a diez desyerbas por año, las cuales son difíciles de realizar por la escasez de mano de obra.

2.5 CLASIFICACIÓN DE LOS HERBICIDAS

La clasificación de los herbicidas tiene diferentes criterios, como su naturaleza química, el mecanismo de acción o su toxicidad; se clasifican en:

2.5.1 Herbicidas residuales

Estos se aplican sobre la tierra desnuda y húmeda. Forman una película que evita que las malezas que germinan puedan crecer.

Dos aplicaciones al año de este tipo de herbicidas mantienen el suelo limpio de malezas anuales que nacen por semillas. No son activos sobre especies perennes como ejemplos de estos herbicidas tenemos al Afalón, Diurón

2.5.2 Herbicidas sistémicos

Se aplican sobre la planta, absorbe el producto controla hasta la raíz, se trasloca¹ por los haces vasculares mediante el floema; como ejemplo tenemos al glifosato.

2.5.3 Herbicidas selectivos

Son los herbicidas que respetan el cultivo deseado, por ejemplo: el 2-4 D Amina, Amina 6, Propanil, Piperofos, Metribuzina.

¹Translocación; movimiento de los herbicidas en el interior de la planta

2.6 LOS HERBICIDAS TRANSLOCABLES NO HORMONALES

Estos herbicidas son de acción total, actúan a través de la parte aérea de la planta y se translocan por ella, se dividen en herbicidas de acción total, o bien selectivos con acción anti gramínea.

Se transportan por el xilema y floema, y se distribuyen con rapidez por toda la planta, interrumpen el crecimiento, ocasionan clorosis y necrosis inhiben la síntesis de aminoácidos aromáticos, e interfieren en otros procesos metabólicos vegetales; No muestran actividad en el suelo a dosis comerciales.

Entre los efectos ambientales está la baja peligrosidad para aves, peces y abejas, se degrada en contacto con el suelo, sin afectar la vida silvestre, ni los cultivos posteriores. Se degrada en ambientes terrestres.

La mayoría de estos herbicidas permanecen activos en los primeros centímetros de suelo, por lo que controlarán malezas provenientes de semillas que germinen en la capa superficial de suelo, (5 a 10 cm), se caracterizan porque se mantienen en el suelo por periodos relativamente largos, su persistencia variará entre algunas semanas a varios meses. (Kogan *et al.* 1995).

El glifosato produce ácido amino metil fosfónico- AMPA. (Tóxico), puede combinarse con nitratos y formar N-nitroso glifosato; su degradación puede generar formaldehído (Kogan *et al.* 1995).

2.7 MODO DE ACCIÓN DE LOS HERBICIDAS

2.7.1 Residualidad y degradación de los herbicidas.

La mayoría de los herbicidas se degradan en el suelo, por medio de una descomposición microbiana. A más de la degradación microbiana, los herbicidas de la familia de los Sulfonilureas (SU) y triazinas (TPS), también son degradados por reacciones químicas como la hidrólisis ácida.

Para que sean degradadas por los microorganismos, las moléculas de los herbicidas deben estar libres, no unidos a las partículas del suelo o de la materia orgánica.

La mayoría de las moléculas que componen los herbicidas, son adsorbidas eficientemente a las partículas de los suelos, cuando estos se encuentran con bajo contenido de humedad. La degradación química de los herbicidas, es afectada por el pH del suelo. La hidrólisis ácida no sucede cuando el pH del suelo tiene valores superiores a 6,8.

2.7.2 Efecto del pH sobre la actividad del herbicida y su persistencia.

Las cargas negativas de las partículas de suelo y materia orgánica, adsorben cualquier componente o sustancia que esté cargada positivamente, el pH del suelo influye en la adsorción y disponibilidad de los herbicidas, puesto que al estar cargadas eléctricamente las moléculas de los herbicidas son atraídas a la superficie de los coloides del suelo (Bohn, Mc Neal,&O'Connor, 1993).

Las moléculas se cargan negativamente cuando pierden un protón y positivamente cuando se les agrega un protón. La mayoría de los herbicidas, se cargan positivamente cuando el pH del suelo es ácido (H^+). Las moléculas de los herbicidas cargadas positivamente, son adsorbidas a las partículas del suelo debido a la atracción entre las cargas negativas del suelo y las cargas positivas de las moléculas herbicidas.

2.8 EFECTOS SOBRE LA SALUD Y EL AMBIENTE DEL GLIFOSATO

2.8.1 La contaminación del suelo

La información sobre el movimiento y la persistencia del glifosato en suelos es variada. De acuerdo con la EPA y otras fuentes, el glifosato que llega al suelo es fuertemente adsorbido, aún en suelos con bajos contenidos de arcillas y materia orgánica. Por esto, aunque es altamente soluble en agua, se considera inmóvil o casi inmóvil, permanece en las capas superiores del suelo, es poco propenso a la percolación y tiene bajo potencial de escorrentía, excepto cuando se adsorbe a material coloidal o partículas suspendidas en el agua de escorrentía.

Varios investigadores afirman que el glifosato puede soltarse de las partículas pudiendo ser muy móvil en el suelo. En un suelo, 80% del glifosato adicionado se soltó en un período de dos horas (Cox, 1995).

Las pérdidas por volatilización o foto-descomposición son insignificantes, pero es descompuesto por microorganismos, reportándose vidas medias en el suelo de alrededor

de 2 meses según la EPA y de 1 hasta 174 días para otros. Sin embargo, la EPA añade que en estudios de campo los residuos persisten al año siguiente.

Estudios realizados por la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de la Frontera en Chile y por la Universidad de Vicoso - Brasil determinaron la persistencia en suelos de los herbicidas.

La alteración que estos causan es en los contenidos de carbono y nitrógeno de la biomasa bacteriana presente en el suelo, alterando las poblaciones de microbios del suelo y el desequilibrio en sus actividades biológicas; además reduce la importancia de las funciones de estos en la producción vegetal (RCSNV, 2006).

El suelo, junto con el aire y el agua, son los soportes sobre los que se asienta la vida en el planeta, la formación del suelo es el resultado de una serie de procesos químicos, físicos y biológicos sobre el medio rocoso original, y está constituido por una mezcla de partículas minerales, materia orgánica, aire y una disolución acuosa que rodea las partículas (Bezdisseck, & Papendick, 1996).

La disolución acuosa del suelo actúa como intermediaria entre la litosfera y los organismos vivos, por lo que tiene una gran importancia para el equilibrio químico y biológico, debido a que contiene los solutos necesarios para el desarrollo de la vegetación existente en los diferentes ecosistemas, a mayor profundidad del suelo, la composición puede variar mucho debido a la disminución de oxígeno que se consume principalmente en los procesos de oxidación de la materia orgánica (Bezdisseck *et al.*, 1996).

Se denomina suelo contaminado a una porción de terreno, ya sea superficial o subterránea, cuya calidad ha sido alterada como consecuencia del vertido directo o indirecto de residuos o productos peligrosos. El origen de las alteraciones que se producen en el suelo, no pueden atribuirse a una sola causa (Bohn *et al.*, 1993).

2.8.2 Interacción entre los herbicidas y el suelo.

Los herbicidas sistémicos se caracterizan porque se actúan en el suelo por periodos largos, variará entre algunas semanas a varios meses; la persistencia dependerá de la solubilidad del herbicida, de la absorción en el suelo y de la degradación microbiológica. Los herbicidas son adsorbidos por los coloides del suelo, y son difíciles de lixiviar, excepto en suelos muy erosionados con bajo contenido de materia orgánica y arcillas.

Los herbicidas son moléculas que tienen cargas eléctricas, al depositarse en el suelo, son atraídas por los coloides del suelo, representadas por la materia orgánica y arcillas, el mayor o menor contenido de materia orgánica y el porcentaje de arcillas influirá sobre la actividad de los herbicidas, afectando su eficiencia y persistencia, (Fisher *et al.*2001).

Las arcillas tiene distintas características y junto a la materia orgánica, se traslocana los horizontes del suelo, los suelos forestales reciben menos del 1% de los pesticidas usados en USA y hay preocupación acerca de la persistencia y toxicidad de los herbicidas.

Debido al ligero efecto causado en las especies forestales, ha sido herbicidas preferidos en el sector forestal. En California, alrededor de 40.000 ha de tierras forestales son tratadas anualmente con glifosato (California, Dpt. Pesticide Regulation, 2000).

La contaminación de los suelos se puede dividir en dos tipos:

2.8.3 Tipos de contaminación de los suelos

2.8.3.1 Contaminación endógena

Si se producen desequilibrios en los constituyentes del suelo, provocando variación en las especies a concentraciones nocivas para los seres vivos: movilización de minerales a causa de procesos de acidificación.

Disminución de Manganeseo debido a la presencia de especies metálicas que catalizan su oxidación, aumento del porcentaje de Sodio en el suelo, produciendo una salinización que influye en los cultivos.

2.8.3.2 Contaminación exógena

Si es provocada por distintos tipos de vertidos o productos agrícolas en exceso (metales, hidrocarburos, pesticidas, fertilizantes, etc.).

2.8.3.3 Contaminación por pesticidas

Los plaguicidas orgánicos sintéticos son peligrosos para los suelos, en relación de su persistencia y toxicidad, así como de su posible bio acumulación (Baird, 2001).

Son compuestos que pueden sufrir transformaciones químicas, degradaciones biológicas, retención en las partículas del suelo o lixiviación hacia los acuíferos, en función de su naturaleza química, la constitución del suelo y su concentración de microorganismos.

Los procesos de absorción y en menor medida, de intercambio iónico, se producen esencialmente sobre la materia orgánica del suelo en la fracción húmica.

La adsorción de un pesticida tiene diversos efectos sobre su acción plaguicida, degradación, toxicidad (Doménech, 1999).

El glifosato es altamente soluble en agua, su solubilidad es de 12 g/l a 25°C. De acuerdo con la EPA, puede entrar a ecosistemas acuáticos por aspersión accidental, por derivas o por escorrentía superficial. Debido a su estado iónico en el agua no se espera que se volatilice.

El glifosato se ha encontrado en aguas superficiales y subterráneas, ha contaminado por escorrentía estanques en granjas de Canadá, aguas superficiales en Holanda; y pozos en Estados Unidos. Su persistencia en agua es más corta que en los suelos. En Canadá su

persistencia es de 12 a 60 días en aguas de estanques pero persiste más tiempo en los sedimentos.

2.8.3.4 Efectos en la salud.

La absorción dada por la piel, que posee gran capacidad metabólica, puede introducir importantes bio-transformaciones a los xenobióticos², lo que se conoce como metabolismo preciso, efecto de pre-primer paso, que es realizado por las enzimas presentes en la dermis.

La piel gracias a que está constituido por células muertas y queratinizadas, el 20 % de su peso son lípidos, la absorción percutánea de las diferentes zonas del cuerpo puede ordenarse de la siguiente manera: plantas de los pies/ escroto/; palmas de la mano/dorso de las manos/ axilas/cuero cabelludo/; brazos/piernas/tronco.

(Repetto,&Repetto,2010)

Los análisis de residuos de glifosato son complejos y costosos, no son realizados rutinariamente por los gobiernos, existen investigaciones que demuestran que el glifosato puede ser tomado por las plantas y movido a las partes que se usan como alimento.

Se ha encontrado residuos de glifosato en fresas, moras azules, frambuesas, lechugas, zanahoria, y cebada.

²Xenobióticos: Son compuestos de naturaleza química muy variada, algunos son de origen natural, se destacan las micotoxinas

También se han encontrado residuos en cultivos sembrados un año después de que el glifosato fue aplicado.

El glifosato deja residuos significativos en el grano según la OMS, en el salvado grueso del trigo los residuos del compuesto originario aumentaban de 1,2 a 2,3 el factor de concentración del grano (Fao - Oms, 1996).

Al glifosato se le atribuye una cantidad de síntomas de toxicidad aguda, estos corresponden, en algunos casos, a síntomas constatados en el laboratorio mediante pruebas toxicológicas a altas dosis; entre estas tenemos: Irritación ocular, náusea, diarrea, reacciones alérgicas respiratorias daño ocular irreversible en exposición prolongada, eczema, irritación dérmica, fotorreacción alérgica en individuos sensibles, mayor frecuencia de aborto, alergia cutánea, depresión del sistema nervioso, disnea, irritación del tracto respiratorio, ulceraciones oculares, irritación severa del tracto respiratorio.

La OMS, describe efectos más serios; en varios estudios con conejos, calificándoles como "fuertemente" o "extremadamente" irritantes.

(Pais, 2002) Indica que el ingrediente activo glifosato se clasifica como extremadamente tóxico y está en la categoría I.

En los seres humanos, los síntomas de envenenamiento incluyen edema pulmonar, descenso de la presión sanguínea, dolor abdominal, pérdida masiva de líquido gastrointestinal, pérdida de la conciencia, destrucción de los glóbulos rojos, electro

cardiogramas con resultados anormales y daño en el sistema renal.

Hasta el advenimiento de los cultivos transgénicos tolerantes al glifosato, el límite máximo de glifosato residual en soya establecido en E.U. y Europa era de 0,1 miligramos por kg. desde 1996, lo elevaron a 20 mg/Kg, 200 veces el límite anterior.

2.8.3.5 Efectos en los animales.

El glifosato es tóxico para algunos animales, provoca alteración de funciones vitales tales como calidad de esperma, y afección a órganos vitales. Estudios en Nueva Zelanda mostraron que el glifosato afecta significativamente el desarrollo y la sobrevivencia de lombrices. Aplicaciones cada 15 días en dosis bajas (1/20 de la dosis normal), redujeron el crecimiento e incrementaron el tiempo de madurez y la mortalidad (Igooh, 2009).

CAPITULO III

ANTECEDENTES EN LA PRODUCCIÓN DEL CACAO.

El cacao (*Theobroma cacao L.*) es originario de América y de la Amazonia, su domesticación, cultivo y consumo se inició en tiempos precolombinos con los Toltecas – Aztecas – Mayas.

Estas civilizaciones la consumían como una bebida llamada xocoatl. Su uso por los españoles comenzó en 1.550 cuando unas religiosas añadieran dulce y vainilla al chocolate. La bebida que inicialmente era consumida solo por la corte y realeza se extendió al resto de la población, lo que originó gran demanda de la fruta. El cultivo y exportación fue concebido mediante Cédula Real exclusivo de México, Centroamérica, Venezuela y Trinidad y Tobago; Ecuador tenía la exclusividad de obrajes y lanas, hasta que en 1798 el rey Carlos IV permitió en cultivo y la exportación desde la costa ecuatoriana.

El cacao, es un cultivo tropical, de gran importancia económica para el Ecuador; es fuente de trabajo para miles de ecuatorianos, es producto de exportación y materia prima para la industria nacional de chocolates y otros derivados. Se lo cultiva en todas las provincias del litoral, así como en las partes tropicales de las provincias de Pichincha y Azuay y las amazónicas de Napo y Zamora. Los materiales de siembra mayormente sembrados son el cacao nacional o de aroma y el CCN 51 (Anzulez, & Vaca, 2008)

El cacao de Ecuador es reconocido como uno de los mejores del mundo porque tiene un fino aroma frutal y floral. El cacao nacional es una planta, endémica de Ecuador y que por muchos años ha sido cultivado por los pueblos indígenas y más recientemente por los

colonos en un sistema de sombra con árboles nativos. La variedad CCN 51 es un híbrido que no tiene exigencia de sombra para el cultivo. En Ecuador la producción de cacao está creciendo y las cooperativas están empezando a sembrarlo en mayor cantidad (Revista Lideres, 2007)

Según la historia, desde el siglo XVI ya había pequeñas plantaciones de cacao en las provincias de Guayas, Los Ríos y El Oro; desde las orillas del río Guayas el cultivo se expandió río arriba, al Daule y Babahoyo, lo que originó el nombre de “cacao arriba” en el mercado internacional. La variedad que da origen se denomina Nacional y botánicamente pertenece a los llamados Forasteros Amazónicos, la variedad Nacional es reconocida mundialmente por su aroma floral y es producido exclusivamente por Ecuador (Pérez, 2009).

Países como China o la India empiezan a consumir este producto, Europa, E.U. Japón, y Latinoamérica incrementan el consumo. La Fundación mundial del cacao WCF indica que en los últimos 100 años la demanda de cacao se incrementa en un promedio del 3% anual. En el 2007 el déficit en la oferta mundial alcanzó las 219.000 toneladas métricas; a nivel mundial el cacao representa un negocio de \$ 5.000'000.000 por año.(Gonzales,2009).

CAPÍTULO IV

INFLUENCIA DE LOS HERBICIDAS

4.1 Los herbicidas y la fijación de nitrógeno

Varios estudios demuestran la interferencia del glifosato en los procesos de fijación de Nitrógeno, tanto en bacterias de vida libre como de bacterias que establecen relaciones simbióticas con plantas.

Se ha descrito acerca de una inhibición de nodulación en raíces de fabáceas en suelos con niveles de glifosato de entre 2 y 2000 mg/Kg .persistiendo el efecto 120 días después del tratamiento (Gomes, Lopez, Lluch,& González, 2004).

Santos A. y Flores M. (1995) estudiaron los efectos del glifosato en la fijación de Nitrógeno en bacterias heterotróficas de vida libre³. Se encontraron que dosis de glifosato superiores a 4 Kg/Ha inhibía la fijación de Nitrógeno. El herbicida afectaba también la respiración y reducía el tamaño celular de las bacterias (Torquilla, sf.).

En este estudio se manifiesta gran variabilidad de resultados dependientes de la planta, así como del tipo de herbicida, tratamiento y condiciones ambientales; los herbicidas pueden alterar el metabolismo de la leguminosa y originar una acción sobre el nódulo que alteraría la actividad de la enzima

³Microorganismos que necesitan fuentes de carbono orgánico y nitrógeno asimilables

nitrogenasa afectando en forma negativa la capacidad de fijar nitrógeno.

Los experimentos con diferentes herbicidas en esta simbiosis *lupinus – bradirhizobium* redujo la actividad nitrogenasa ,yel efecto difería según el herbicida utilizado.

La afección se hizo patente sobre el desarrollo y formación nodular ocasionando alteraciones en las estructuras del cloroplasto y nódulo y con una producción final menor del grano de la leguminosa.

Otros herbicidas en estudios paralelos con diversas leguminosas provocaron resultados similares en los que la disminución de la nodulación y la actividad nitrogenasa fueron consecuencia de la inhibición el crecimiento de la planta simbiótica por un efecto directo sobre la propia planta(Heras, Fernández, &Pascual, 2006).

La influencia sobre los hongos micorrícicos, los nutrientes y las plantas que ejerce el glifosato fue publicado por WanM. Rahe, J. Watts, R., en (1998). La relación micorrizal es la asociación simbiótica entre un hongo y las raíces de algunas plantas y árboles donde el micelio del hongo forma una cobertura tejida envolviendo las raicillas o hasta penetrando las células de las raíces.

Esta relación provee un intercambio de nutrientes y agua que benefician a la planta y al hongo.

Una investigación hecha por un equipo canadiense dirigido por el científico M.T. Wan (1991) se identificó el efecto nocivo del glifosato en una concentración de 1 ppm. en el hongo micorrízico arbuscular vesicular *Glomus intraradices*, reduciendo el crecimiento o la colonización de los hongos en raíces de zanahoria.(Torquilla, s.f.)

4.2 La persistencia de los herbicidas en el medio ambiente

Algunos de los herbicidas y sus componentes son tóxicos ya que tienen una persistencia alta en el suelo, lo que puede ocasionar que aparezcan en corrientes de aguas superficiales o subterráneas por escorrentía o lixiviación ,afectando los cultivos en rotación o que se volatilicen y sean precipitados por las lluvias en lugares distintos que donde se utilizaron.

Numerosos herbicidas han sido encontrados en Canadá, Europa y Estados Unidos en concentraciones mayores a los límites legales establecidos, (Epa Economic Commission for Europe, 1992).

Diversos trabajos han permitido encontrar niveles fitotóxicos de determinados herbicidas en muestras de cultivos al finalizar el ciclo de cultivo que afectarían las rotaciones de cultivo. Otros estudios han permitido encontrar cantidades altas de herbicidas en aguas de lluvia y en la niebla.

La persistencia en el suelo depende principalmente de las características fisicoquímicas del compuesto, de las condiciones ambientales, de las características del suelo, y de las prácticas culturales realizadas sobre el terreno.

(Cox, 1995) presenta datos sobre la persistencia del glifosato en distintos ambientes:

- 249 días en suelos agrícolas de Finlandia
- Entre 259 y 296 días en 8 sitios forestal en Finlandia
- Entre 1 y 3 años en 11 sitios forestal en Suecia
- 335 días en un sitio forestal en Canadá
- 360 días en 3 sitios forestales de Canadá

4.3 La disipación de los herbicidas en el medio ambiente

Los procesos mediante los que un herbicida se disipa en un suelo son: la degradación, la lixiviación, la volatilización y la escorrentía.

Degradación.- Es el proceso mediante el cual una determinada materia activa es transformada a través de una serie de cambios en su molécula en otros compuestos o metabolitos, existiendo tres formas de degradación de un herbicida en el suelo que son la degradación química, la biológica y la foto descomposición

4.4 Degradación química de los herbicidas

En la degradación de los herbicidas compuestos como trifluralin son susceptibles a la degradación mediante la radiación UV por lo que requieren de incorporación mecánica. Algunos herbicidas, como el metsulfuron, sufren fácilmente hidrólisis, especialmente a pH bajo.

La degradación depende fundamentalmente del tipo de suelo, de la temperatura, de la humedad y de las características del compuesto. La degradación de la atrazina tiene lugar por vía química, degradándose en hidroxiatrazina, y otros metabolitos más.

4.5 La degradación biológica de los herbicidas

Es la degradación causada por los microorganismos del suelo, esta degradación depende directamente de la cantidad de materia orgánica que tiene el suelo, de la humedad, pH, temperatura y tipo de compuesto; con el ej. anterior la atrazina biológicamente se degrada en desetilatrazina, de igual manera la degradación de la pendimetalina es biológica.

4.6 Foto descomposición de los herbicidas

Este tipo de degradación se la da por efectos de los rayos ultravioleta, esta ha sido la menos estudiada aunque puede ser importante en la isomerización o en la degradación de determinados compuestos principalmente al estar expuestos a la luz, en la superficie de las plantas o en el suelo

4.7 La volatilización de los herbicidas

La volatilización de los herbicidas en el suelo disminuye la eficiencia del tratamiento y es una importante vía de estos elementos al ambiente, así la velocidad de volatilización después de la aplicación es un criterio para la evaluación del comportamiento medio ambiental de los plaguicidas por las autoridades.

La volatilización depende de numerosos factores como las propiedades del compuesto tales como la presión de vapor, la solubilidad en agua, el tipo de estructura química, número, tipo y posición de los grupos funcionales.

La volatilización también depende del contenido de agua en el suelo, de su densidad, su contenido de arcilla y materia orgánica, la adsorción del compuesto y la estructura del suelo, otros factores como la temperatura, la velocidad superficial del viento, la evaporación, la humedad, precipitación, cantidad de herbicida aplicado, la profundidad de incorporación, el riego y las prácticas culturales también afectan la volatilización.

4.8 La lixiviación de los herbicidas

El movimiento de los herbicidas en el suelo depende de las características del suelo y de las de los compuestos, influye las características del suelo como la textura y la materia orgánica.

La facilidad del movimiento del herbicida en el suelo depende de la textura, la materia orgánica retiene el herbicida, esto también depende de las características del compuesto tales como su vida media, la adsorción en el suelo y la solubilidad en el agua.

4.9 La escorrentía de los herbicidas en el suelo

Los herbicidas pueden ser transportados por aguas de escorrentía ya sea en disolución o absorbidos por las partículas de suelo. El contenido del herbicida en las aguas de escorrentía depende de las condiciones climáticas y de las características del suelo, de la

dosis y formulación del herbicida, de su solubilidad en agua, y de la adsorción del compuesto al suelo. La intensidad y duración de las precipitaciones y el tiempo desde la aplicación del herbicida, junto con la topografía del terreno son importantes, este proceso puede tener relevancia en los suelos con pendientes o en suelos erosionados (Martínez,&Lluch, 2005).

CAPITULO V

LOS MICROORGANISMOS DEL SUELO

5.1. *Trichoderma spp.*

Trichoderma spp., es un hongo anaerobio facultativo, que pertenece a la subdivisión Deuteromicete que se caracterizan por no poseer, un estado sexual determinado, de este microorganismo existen más de 30 especies, todas ellas con efectos benéficos para la agricultura (Páez, 2006).

Trichoderma spp. , para muchos autores es un biocontrolador “modelo” para el estudio de biocontrol, en primer lugar por tratarse de un microorganismo ubicuo, fácilmente cultivable en diferentes medios de crecimiento rápido en varios sustratos y huéspedes, es raramente patogénico en plantas superiores, actúa como micoparásito⁴ y es buen competidor por fuentes nutritivas, produce antibióticos y es capaz de atacar a una amplia gama de fitopatógenos.

Trichoderma spp. , es injustamente considerado sólo como antagonista de hongos, ha sido reportado como antagonista de patógenos bacterianos, ha sido estudiado por sus propiedades antibióticas y su sistema enzimático en el proceso de alimento y en la biodegradación, como bioindicador (Falconí, 1997).

⁴Hongos benéficos que parasitan a hongos que son causantes de enfermedades para las plantas

Los hongos del genero *Trichoderma spp* .son habitantes naturales de los suelos - han mostrado tener una gran capacidad antagónica frente a muchos patógenos Wells, (1988) citado por (Conde, 2011). En general *Trichoderma spp.* ejerce el control de fitopatogenos a través de los siguientes mecanismos: competición, liberación de antibióticos, y micoparasitismo; Tronsmo y Hjeljord, 1998 citado por (Conde, 2011).

5.1.1. Tipos de antagonismo del hongo

Los mecanismos antagónicos que utiliza *Trichoderma spp.* se describe como antibiosis, micoparasitismo y competencia, sin ser estos mutuamente excluyentes Dubos, 1987, citado por (Ronquillo, 2008).

5.1.2. Antibiosis

Sin establecer contacto físico alguno *Trichoderma spp.* puede inhibir el crecimiento de otros hongos mediante la producción de metabolitos secundarios volátiles y no volátiles como gliotoxina, viridina y gliovirina (Howell, 1993).

5.1.3 Micoparasitismo.

Existen cuatro estados de parasitismo en la relación antagónica de *Trichoderma spp.* con otros hongos (Erazo, 2007).

5.1.3.1. Crecimiento quimiotrófico

El estímulo químico proviene del hongo objeto de control.

5.1.3.2. Reconocimiento específico

Probablemente mediado por lecitinas sobre la superficie celular, tanto del hongo antagonico como del patógeno. Otras formas de parasitismo de este hongo constituyen la unión y crecimiento de las hifas alrededor del patógeno; y la secreción de enzimas líticas que degradan las paredes celulares del hongo fitopatógeno.

5.1.4. Competencia.

Si el crecimiento del antagonista provoca la reducción de la población del patógeno, la competencia entre estos puede resultar en el control de la enfermedad (Erazo, 2007).

5.1.5. Hongos Controlados por *Trichoderma spp.*

Posee buenas cualidades para el control de enfermedades en plantas causadas por patógenos fúngicos como: *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium*.

5.2. *Fusarium spp.*

Fusarium sp. es uno de los hongos más variados, produce infinidad de enfermedades distribuidas por todo el mundo ocasiona pérdidas considerables a la producción.

Fusarium spp. es el responsable de enfermedades como: marchitez vascular, pudrición de semillas y plántulas (ahogamiento), pudrición de raíces, tallos, coronas, cormos, bulbos, tubérculos, (Agrios, 1998).

5.2.1. Etiología

Este hongo es perteneciente al orden Hyphales, ya que produce tres tipos de esporas: Las macroconidias, las microconidias y las clamidiosporas. Las macroconidias Las microconidias son de forma diversa. Las clamidiosporas, son esporas de paredes gruesas, pueden formarse en hifas o en conidias, se desarrollan en los estados finales de la patogénesis (Llácer, Lopea, Trapero, & Bello, 2002).

Fusarium moniliforme ataca las venas de los folíolos de la hoja terminal que la hace corchosa y dura, por lo que la hoja no abre bien y se queda pequeña. (Agrios, 1998), citado por (Ronquillo, 2008). Menciona que el uso de materiales como abonos orgánicos en estado inmaduro alteran las condiciones del suelo, elevando la temperatura y permitiendo la incubación de microorganismos patógenos como *Fusarium spp.*

5.2.2. Epidemiología

Fusarium spp. vive en los tejidos vegetales muertos o infectados. Las esporas se diseminan por el viento, equipo agrícola, agua, el hongo se encuentra como micelio o esporas en muchos suelos. Las pudriciones de raíz y tallo ocasionadas por *Fusarium spp.* aumentan su severidad, si las plantas están expuestas a bajas temperaturas, sequía, exceso de agua, herbicidas, y compactación del suelo (Agrios, 1998).

CAPÍTULO VI

DESARROLLO EXPERIMENTAL

6.1. MANEJO DEL ENSAYO

6.1.1. Preparación del suelo.

Previo a la siembra el suelo fue preparado con dos pases de rastra.

6.1.2. Manejo de la plantación.

Las plantas llevan un manejo de fertilización, controles fitosanitarios, podas, según los requerimientos del cultivo. La siembra, se realizó en Febrero del 2007.

6.1.3 Metodología usada en laboratorio

El medio utilizado fue el de papa-dextrosa agar (PDA), los análisis microbiológicos de suelo fueron realizados por técnicos de la Estación Experimental Tropical Pichilingue del Iniap.

6.1.4. Evaluación en campo

La evaluación en campo se enfocó a medir el impacto que los herbicidas ejercen sobre los microorganismos del suelo, se lo realizó mediante una serie de cinco

análisis de laboratorio, los mismos que fueron realizados cada 28 días, que es el ciclo de vida de la mayoría de los microorganismos en estudio.



Figura 1. Toma de muestras de suelo para análisis microbiológico en laboratorio

Las muestras de suelo se tomaron el mismo día de su envío al laboratorio; tomándose tres submuestras por cada parcela y extraídas al azar a una profundidad de 0 a 10 cm. Luego se homogenizó la muestra para extraer 200 gramos, las muestras se transportaron en una hielera para mantener la estabilidad de las poblaciones de microorganismos en las muestras.

El área total del ensayo fue de 2.300 m² lo que correspondió a 162 plantas que conformaron 18 parcelas de 100 m² cada una con un total de 9 plantas por tratamiento;

todo el ensayo fue mapeado con los sistemas de información geográfica SIG, se tomaron los puntos de interés con un GPS y esta información se pasó al sistema Arc View.

Al iniciarlos trabajos de campo se realizó una aleatorización para ubicar los tratamientos al azar en las unidades experimentales designadas, para eliminar al máximo el error experimental y asegurar las estimaciones de los efectos de los tratamientos.(Sanchez,2006).

En las parcelas se establecieron los tipos de control de malezas que son los más utilizados por los productores de la zona en estudio, es decir el uso de herbicida sistémico (glifosato), herbicida de contacto (paraquat) y el control mecánico (chapeadora), tomándose en cuenta las siguientes variables:

6.1.5 Medición de la población de microorganismos benéficos

Se evaluó los microorganismos: *Trichoderma spp.* Y *Paecylomices l.* Se establecieron en campo seis repeticiones, las mismas que contienen los tres tratamientos evaluados, se tomaron cuatro sub muestras de suelo por cada tratamiento; del total de las sub muestras se tomó la muestra que fue analizada en el laboratorio. Las sub muestras se tomaron a 100 centímetros de distancia del tallo y en los primeros 10 cm. donde se encuentran las raíces más frescas y por lo tanto los microorganismos que nos interesan; se tomó la primera muestra un día antes de la primera aplicación de los tratamientos.

Las segundas muestras fueron tomadas 28 días después de la primera aplicación de los tratamientos, la tercera muestra a los 56 días, la cuarta a los 84 días, y la quinta a los 112 días; siempre un día después de la aplicación de los tratamientos.

Las sub muestras de suelo fueron tomadas retirando la cobertura orgánica superficial (hojarasca).

6.1.6. Medición de la población de microorganismos patógenos

De las muestras de suelo llevadas al laboratorio para la identificación de microorganismos, se buscó la presencia del microorganismo patógeno *Monillioptera roreri*.



Figura 2. Etiquetado de las muestras de suelo



Figura 3. Adecuación de las muestras de suelo para envío al laboratorio

6.1.7. Factor en estudio

En este trabajo se usó como factor en estudio los métodos de control de malezas en el cultivo, es decir los métodos químicos y el método mecánico.

6.1.8. Tratamientos a comparar

Los tratamientos se conformaron por tres métodos de control de malezas, que se distribuyeron en el campo previa aleatorización.

Este sorteo permitió que todos los métodos tengan la probabilidad de ser elegidos, el primer tratamiento corresponde a la utilización del herbicida glifosato (Round up), el segundo al herbicida paraquat (gramoxone), y el tercer método es el control mecánico de malezas.



Figura 4. Control químico de malezas en el cultivo del cacao

En la tabla 2 se detallan los tratamientos utilizados.

Tabla2. Tratamientos y dosis utilizados en el estudio Evaluación de poblaciones de *Trichoderma spp.*, *Paecylomyces l.*, y *Monillioptera roreri* en suelos tratados con herbicidas en el cultivo del cacao.

TRATAMIENTOS	DOSIS/ha.
T1 Aplicación del herbicida glifosato	1.5 l/ha
T2 Aplicación del herbicida gramoxone	1.5 l/ha
T3 Control mecánico de malezas	



Figura 5. Control mecánico de malezas en el cultivo del cacao

6.1.9 Tipo de diseño

Debido a que se el ensayo se lo llevo en una sola área experimental, en donde se instalaron los bloques al azar, previo sorteo, todos los tratamientos fueron independientes pero se efectuaron en la misma época, con el mismo material y manejo, por lo que se aplico un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA).

Se utilizó el DBCA puesto que las unidades experimentales no fueron homogéneas, por lo que esta variación pudo enmascarar los verdaderos efectos de los tratamientos.

Tabla3. Características de la Unidad Experimental

N° de unidades experimentales	18
N° de plantas por unidad Experimental	9
N° de plantas por unidad neta	1
Área de la unidad experimental Total	100 m ²
Largo de la unidad experimental	72 m
Ancho de la unidad experimental	32 m
Área de la unidad experimental neta	4 m ²
Forma de la unidad experimental	Rectangular

6.1.10. Análisis Estadístico

Se utilizó el Anova ya que en este estudio se requirió describir aspectos o características de la realidad de la acción que los herbicidas ejercen sobre el suelo en forma local puesto que la descripción de estas características no son típicas de un solo elemento de la población de una plantación de cacao sino de toda la población (Sánchez,2006).

Tabla4. Esquema del Análisis de varianza

FUENTE DE VARIACION	GL
Total	$(t \times r) - 1$
Repeticiones	$(r-1)$
Tratamientos	$(t - 1)$
Error experimental	$(t - 1)(r - 1)$

CAPÍTULO VII

ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSION

7.1. ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES
EN EL SUELOTabla5. Variable *Trichoderma spp.*

Fuente	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Repeticiones	1	1.5240e+09	1.5240e+09	0.0004	0.98460	NS
Tratamiento	2	2.1589e+13	1.0795e+13	2.6560	0.07692	
Tiempo	4	5.1862e+13	1.2966e+13	3.1901	0.01789	*
Trat*Tiem	8	1.4943e+13	1.8678e+12	0.4596	0.88051	NS
Error	74	3.0076e+14	4.0643e+12			

Significancia códigos: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 'NS' 1

En la evaluación de la población de *Trichodermaspp.* se observa que no existe diferencia significativa para tratamientos, ($p=0,07692$), así como también para Tratamiento*Tiempo; para el tiempo si existe significancia, con ello se acepta la hipótesis nula de que los tratamientos utilizados no afectan la población de *Trichoderma* del suelo en el cultivo del cacao.

Este cuadro se apoya en la información que proporciona (Reyes, 2007). Que manifiesta que sobre el efecto residual de los herbicidas en el crecimiento micelial de *Trichoderma*

spp. Y *Aspergillus* en la literatura consultada no encontró artículos que abordaran este aspecto.

En la presente tabla se presentan los promedios de los tratamientos evaluados:

Tabla6. Efecto de los tratamientos

Tratamiento	Media(UFC/ml)	Error estándar	Grupos (Duncan)
Glifosato	800167.7	341410.6	b
Paraquat	1894001.0	499880.4	a
Manual	920334.3	236748.3	ab

Esta tabla nos indica la diferencia significativa que existe entre los tratamientos glifosato y paraquat, mas no existen diferencias entre el tratamiento manual con los demás tratamientos.

Efecto de los tratamientos en la población de *Trichoderma*

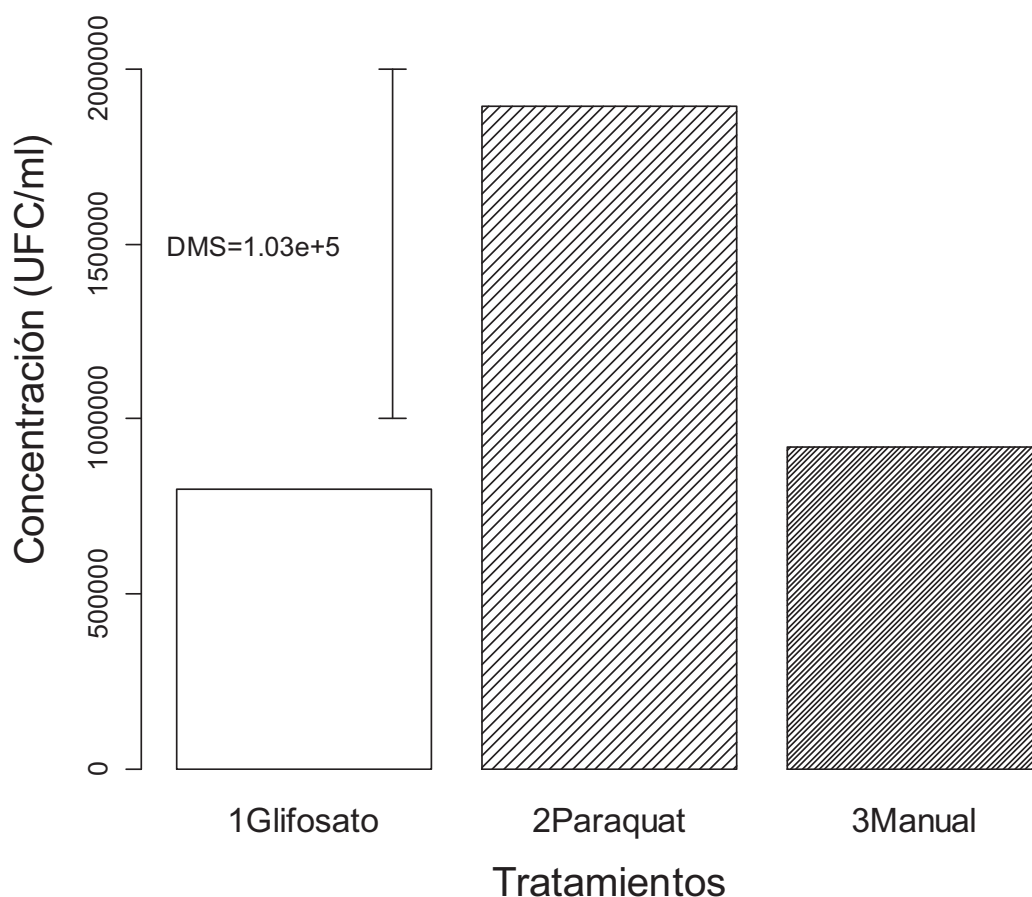


Figura 6. Efecto de los tratamientos en las poblaciones de *Trichoderma spp.*

En la figura 6. Vemos que el tratamiento paraquat es el menos toxico para las poblaciones de *Trichoderma spp.*, mientras que el tratamiento manual es ligeramente menos nocivo que el tratamiento glifosato que es en el que menor población de este hongo tiene. Esto se apoya en los estudios realizados por la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de la Frontera en Chile y por la Universidad de Vicosa– Brasil citado por (RCSNV, 2006) que determinaron la persistencia en suelos de los herbicidas, la alteración que estos causan en los contenidos de carbono y nitrógeno de la biomasa bacteriana

presente en el suelo, la alteración de las poblaciones, de los microbios del suelo y el desequilibrio en las actividades biológicas del suelo; reduciendo la importancia de las funciones de estos en la producción vegetal.

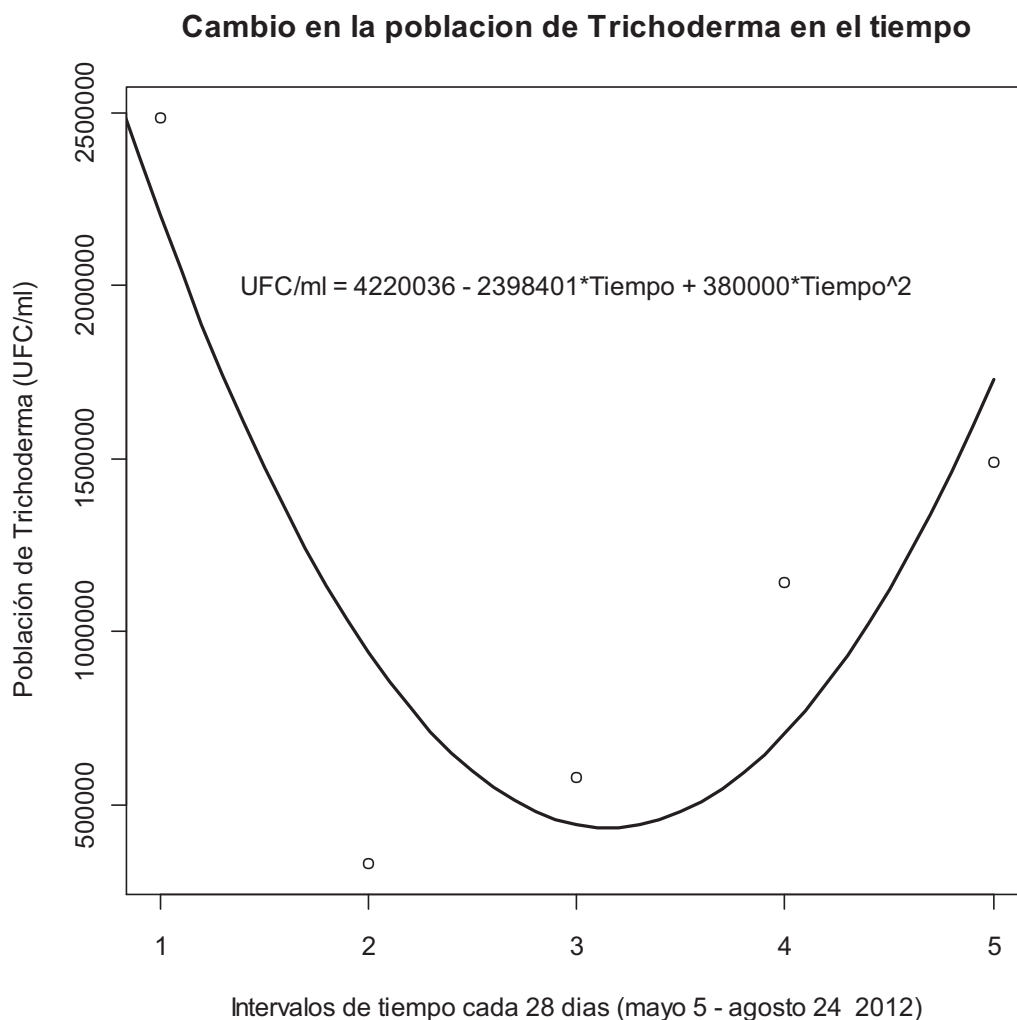


Figura 7. Cambio de la población de *Trichoderma* spp. En el tiempo

Es importante observar la evolución de la población de este hongo en el tiempo, partiendo desde la línea base en la primera evaluación, que tiene el valor más alto en UFC, para luego ir disminuyendo hasta alcanzar su valor más bajo en la tercera evaluación; y

luego vemos una recuperación para las dos últimas evaluaciones, observándose el valor más alto en el quinto mes.

Tabla7. Coeficientes de la regresión lineal de la figura 7

Coeficientes	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercepto)	4220034	1014306	4.161	7.43e-05 ***
Tiempo	-2398400	772968	-3.103	0.00259 **
(Tiempo^2)	380000	126394	3.006	0.00345 **

Significancia códigos: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 'NS' 1

Según lo manifiesta (Bortoli, Azevedo, & Silva,2009).Los herbicidas pueden alterar el funcionamiento del suelo, mediante efectos directos sobre varios componentes, de su microbiota.

Con el uso de glifosato, a la dosis recomendada en campo, no se diferenció del tratamiento control, el cambio en la biomasa microbiana total, no fue consistente.

Es importante mencionar sin embargo que la dosis aplicada del glifosato utilizado produjo un incremento significativo de las poblaciones de bacterias cultivables.

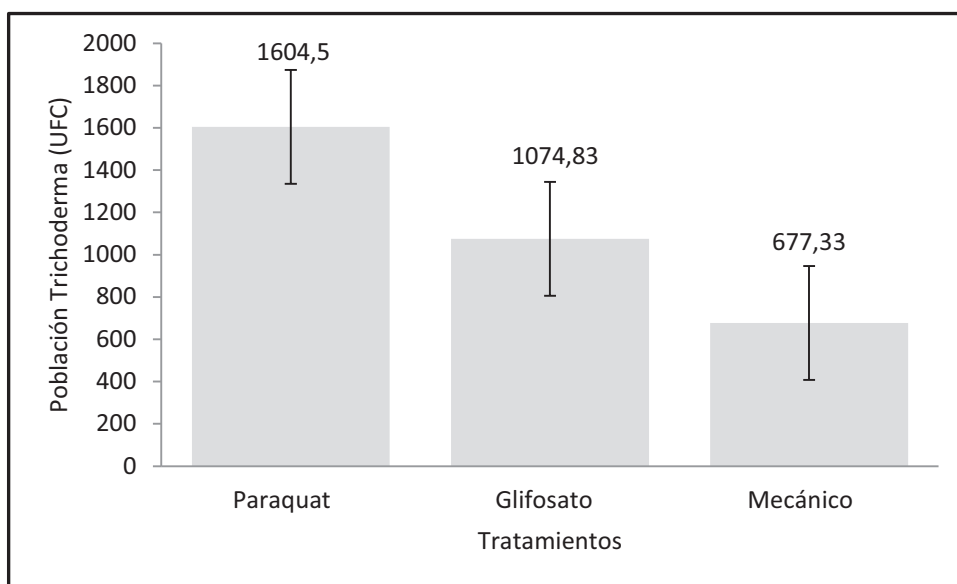


Figura 8. Primera evaluación, prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio

En la figura número ocho se observan las poblaciones de microorganismos del hongo *Trichoderma spp.* según cada tratamiento, claramente se aprecia que el tratamiento con paraquat mantiene la población más alta de estos microorganismos 1604,32 UFC, seguida por el tratamiento con glifosato que presenta una población de 1074,74 UFC y al final se encuentra el tratamiento manual con 677,3 UFC.

Esto se explica por lo reportado por Johal y Hubber(2009), citados por (Conde,2011) que argumentan acerca del efecto directo del glifosato sobre las comunidades de microorganismos benéficos y patógenos, así como sobre las interacciones microbianas.

Sus estudios demostraron un efecto negativo sobre los microorganismos benéficos y una estimulación sobre el desarrollo de los patógenos. Asimismo indicaron que el glifosato modifica la disponibilidad de nutrientes y altera la virulencia de los patógenos hacia las plantas.

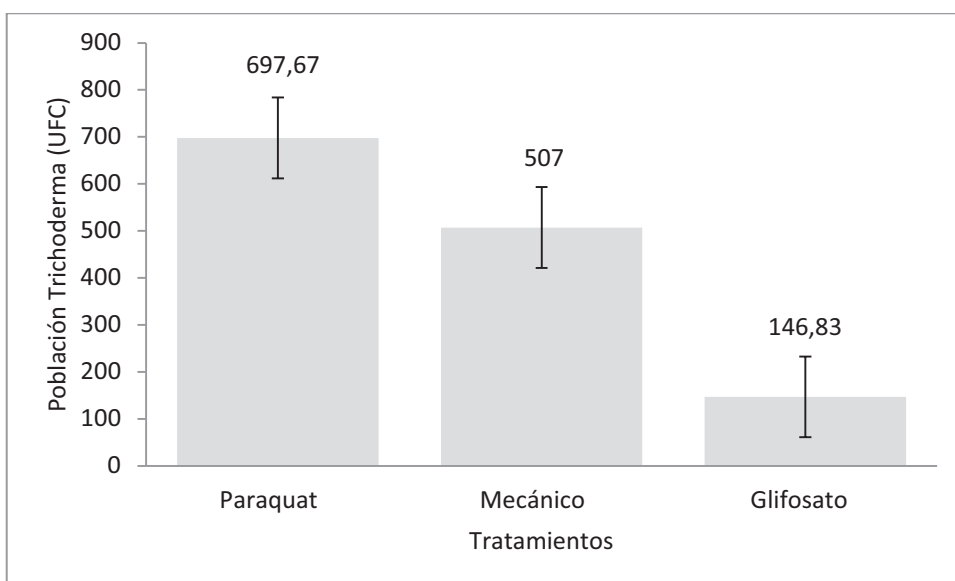


Figura 9. Segunda evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio.

En esta segunda evaluación se observa la tendencia del tratamiento paraquat que sigue manteniendo los valores más altos de población de *Trichoderma spp.* Mientras que el caso contrario se da con el tratamiento glifosato que continua con la tendencia de disminuir la población de este hongo benéfico; y así mismo el tratamiento de control de malezas manual que para esta segunda evaluación presenta un incremento en la población de estos microorganismos benéficos.

Esta figura corrobora lo reportado por(Conde, 2011). De que el glifosato disminuye la población de ciertas cepas de *Trichoderma spp.* mientras que aumenta las poblaciones del hongo *Fusarium spp.*

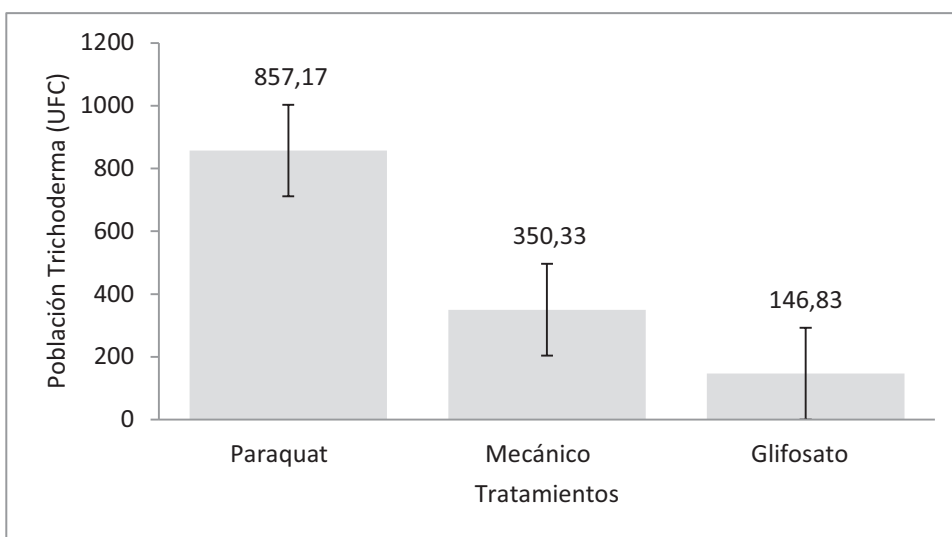


Figura 10. Tercera evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio

Podemos observar que la tendencia de las poblaciones se mantiene, con la diferencia de que el tratamiento mecánico y el tratamiento glifosato han disminuido sus poblaciones con respecto a la evaluación anterior.

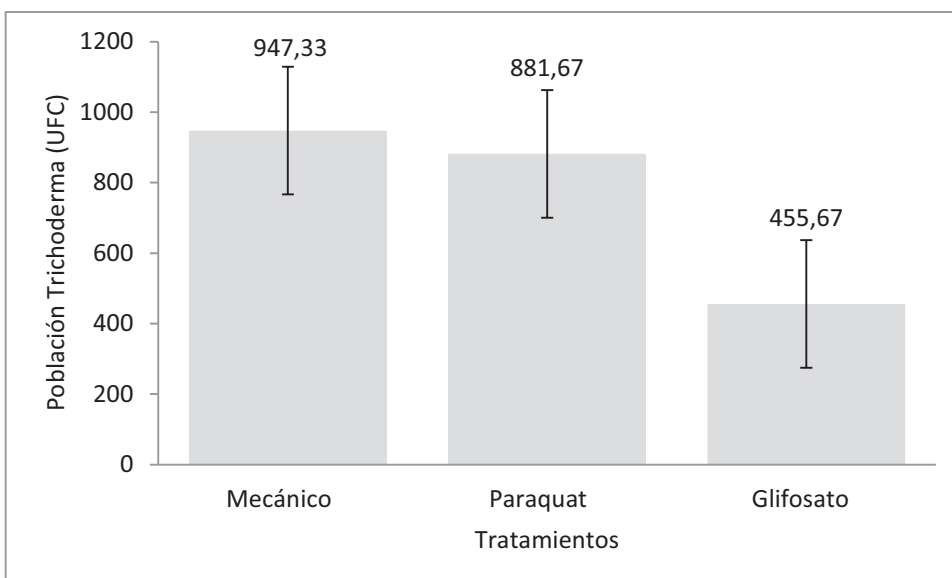


Figura 11. Cuarta evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio

La figura 11. Nos indica como en el tratamiento mecánico la población del hongo *Trichoderma spp.* Supera levemente a los demás tratamientos de control de malezas, el tratamiento paraquat tiende a mantener su población con relación a la evaluación anterior, y el tratamiento glifosato presenta un ligero incremento con respecto a la evaluación del mes anterior.

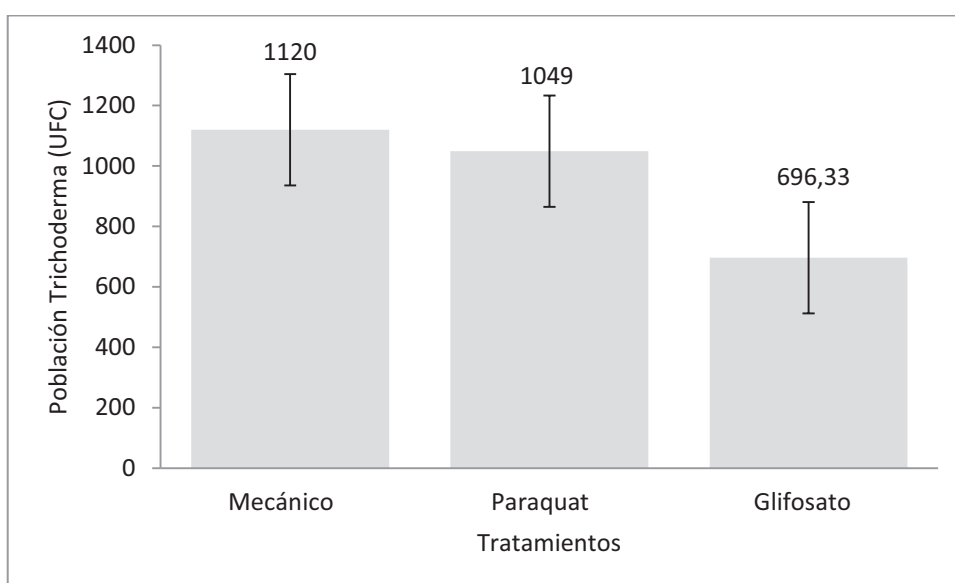


Figura 12. Quinta evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio.

En esta quinta evaluación sobresale el ligero incremento de la población de *Trichoderma spp.* en el tratamiento glifosato con respecto a la evaluación del mes anterior, las poblaciones en los demás tratamientos se mantienen en valores similares a la evaluación anterior.

Este resultado lo podemos relacionar con lo señalado por(Lisboa, 2003) en la que indica que el hongo *Trichoderma spp.* posee una resistencia innata a la mayoría de los agroquímicos, incluyendo a los fungicidas.

La germinación se inhibe en más de un 50% con 2,4D amina; los herbicidas evaluados no presentan efecto residual para las dosis de campo a los 7 días.

Tabla 8. Análisis de varianza de la influencia de los tratamientos y el tiempo para la variable *Fusarium spp.*

Fuente	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Repeticiones	1	1.1076e+10	0.1967	0.658516	NS
Tratamientos	1	5.2965e+11	9.4056	0.002892	**
Tiempo	1	8.7367e+10	1.5515	0.216302	NS
Error	86	4.8428e+12	5.6312e+10		

Significancia códigos: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 'NS' 1

En esta tabla vemos como resultado la no significancia en los bloques y en el tiempo, mientras que en los tratamientos se presenta una mayor significancia.

Tabla 9. Separación de medias según Duncan para la variable *Fusarium spp.*

Tratamiento	Media(UFC/ml)	Error estándar	Grupos (Duncan)
Glifosato	231287.67	70082.38	a
Paraquat	54134.33	19133.93	b
Manual	43377.67	15584.26	b

En la tabla9 nos indica que entre los tratamientos de control de malezas paraquat y manual no se presentan diferencias significativas, no así con el tratamiento glifosato que si presenta diferencia con los demas tratamientos.

Se corrobora con lo que manifiesta Lévesque *et al.*,(1987)citado por (Vargas, Fuentes, & Torres, 2002). quienes estudiaron el efecto del glifosato sobre varias malezas colonizadas por *Fusarium spp.*y observaron que el uso de este herbicida para el control de malezas incrementaba la densidad de propágulos de *Fusarium spp.*en el suelo.

Así mismo Johal y Hubber (2009) citados por (Conde, 2011) argumentan sobre el efecto directo del glifosato sobre las comunidades de microorganismos benéficos y patógenos, así como las interacciones microbianas. Sus estudios demostraron un efecto negativo sobre los microorganismos benéficos y una estimulación del desarrollo de patógenos. Asimismo indicaron que el glifosato modifica la disponibilidad de nutrientes y altera la virulencia de patógenos a las plantas.

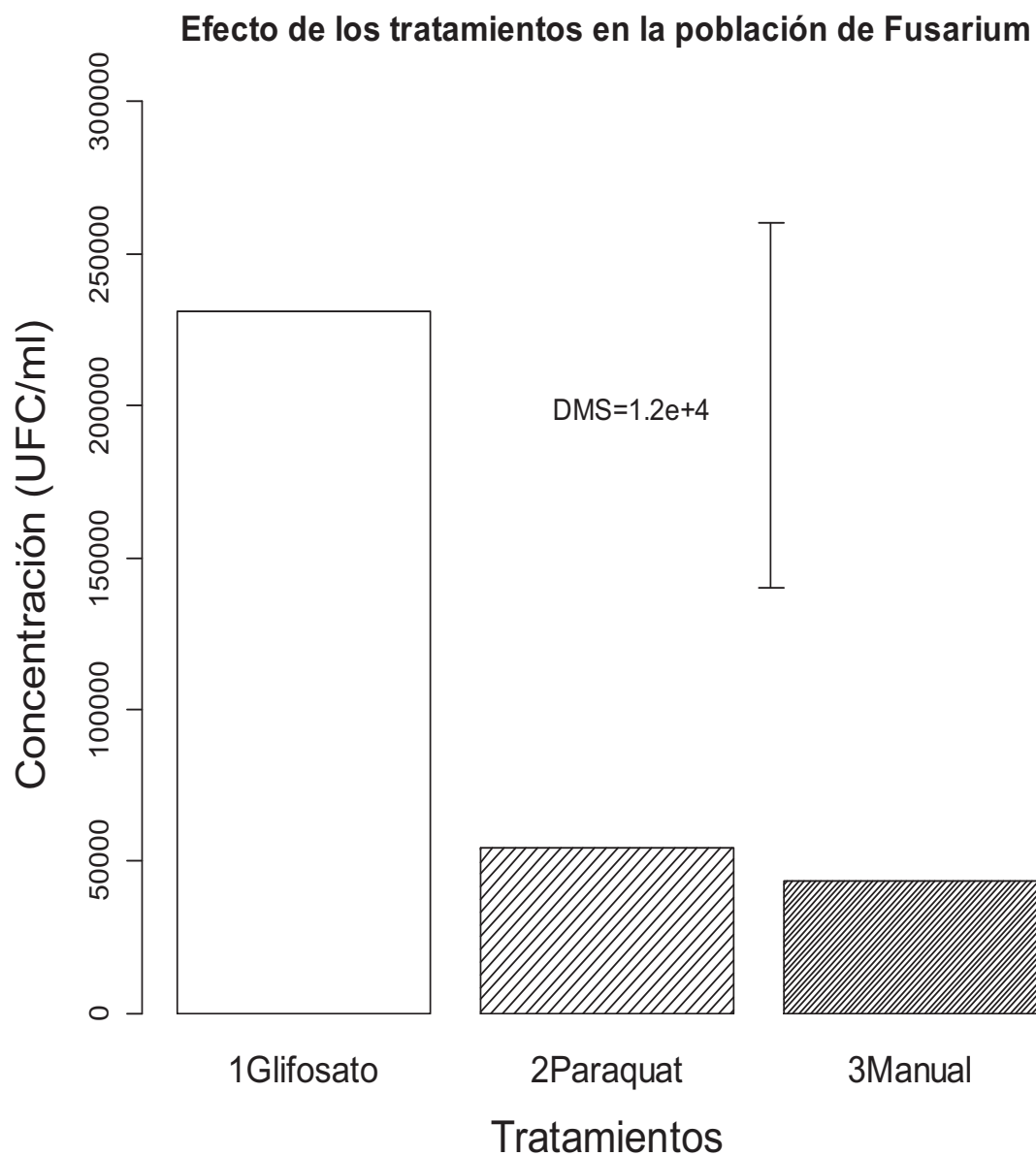


Figura 13. Efecto de los tratamientos en la población de *Fusarium spp.*

En la presente figura vemos que el tratamiento glifosato tiene la más alta población del hongo patógeno *Fusarium spp.* .seguido por el tratamiento paraquat, y con poca diferencia, se observa menor población en el tratamiento de control de malezas manual.

Como lo explica (Bigwood, 2003) el glifosato aumenta el tamaño de las colonias del hongo *Fusarium spp.* Que puede producir una serie de toxinas que no son destruidas en el proceso de cocción, tales como **vomitoxina** que, causa vómitos la **fumonisina**, que es cancerígena y causa defectos al nacer, y el agente de guerra química **fusariotoxina** o toxina T2.

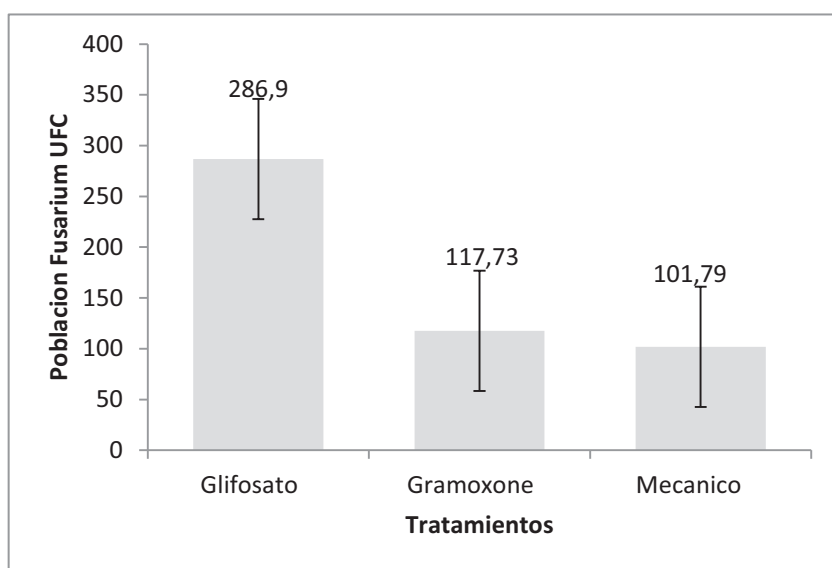


Figura 14. Primera evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio, UFC *Fusarium spp.*

En el primer reporte de laboratorio se observa claramente que con el tratamiento glifosato se presentan las mayores poblaciones de *Fusarium spp.* Mientras que los tratamientos paraquat y manual presentan una población menor de este hongo patógeno.

Esto es respaldado por el estudio que presenta Lévesque *et al.*,(1987). Citado por (Vargas *et al.*, 2002).Referente al efecto del glifosato sobre varias malezas colonizadas por

Fusarium spp. Y la observación del uso de este herbicida para el control de malezas que incrementaba la densidad de propágulos de *Fusarium* spp. en el suelo.

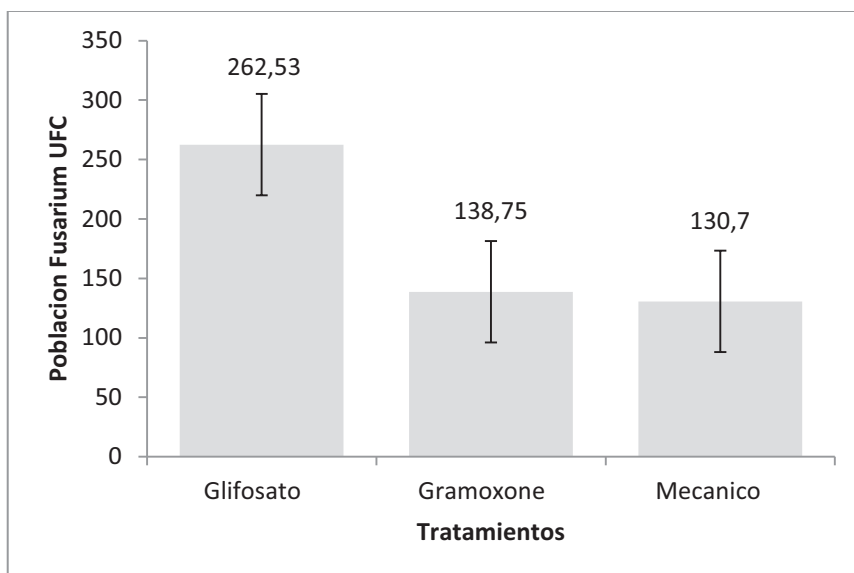


Figura 15. Segunda evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio, UFC *Fusarium* spp.

En la segunda evaluación el tratamiento glifosato mantiene la más alta población de todos los tratamientos, pero también se observa que los tratamientos paraquat y manual presentan un incremento en sus poblaciones con respecto a los valores de la primera evaluación.

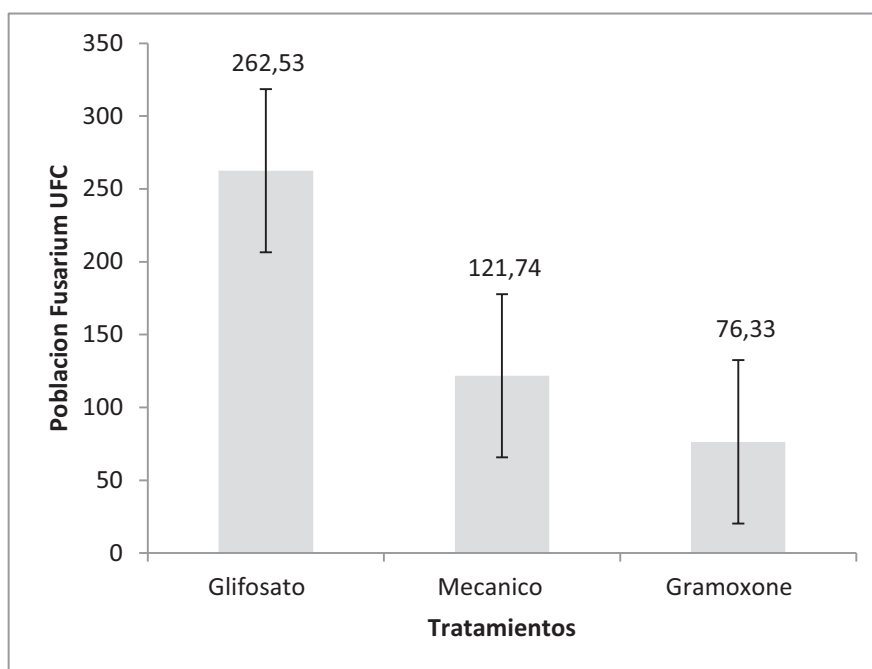


Figura 16. Tercera evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio, UFC *Fusarium spp.*

En esta tercera evaluación vemos que el tratamiento glifosato mantiene la población más alta de todos los tratamientos, mientras que el tratamiento manual mantiene el mismo nivel de población y el tratamiento paraquat disminuye la población de este hongo patógeno.

Según (Conde, 2011) cita la posibilidad de que el glifosato estimule la proliferación de patógenos indirectamente porque las malezas que mueren a raíz de las aplicaciones pueden servir de fuente de energía para *Fusarium spp* y *Phytium*, potencialmente e incrementando el inóculo de ambos patógenos.

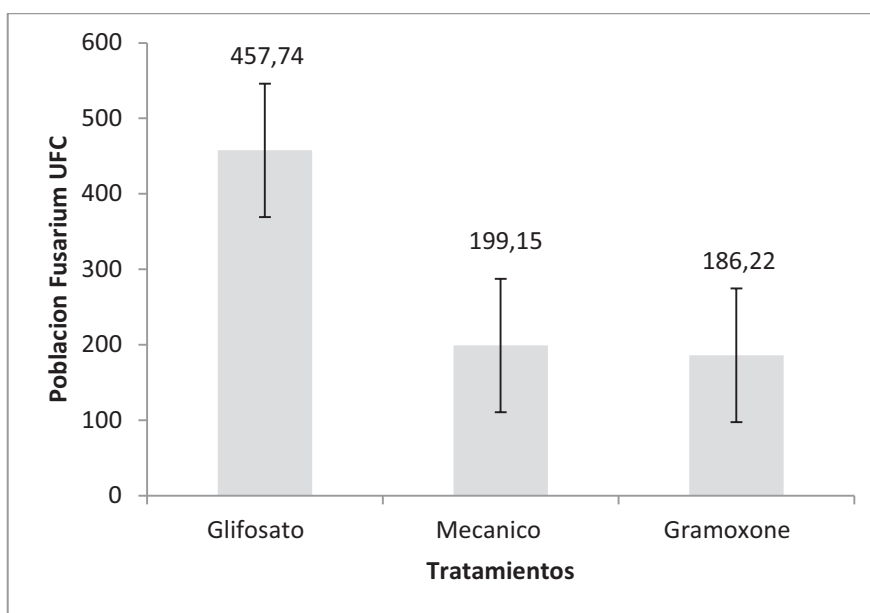


Figura 17. Cuarta evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio, UFC *Fusarium spp.*

En la presente figura se observa que la mayor población del hongo patógeno *Fusarium spp.* esta en el tratamiento glifosato, mientras que los demás tratamientos mantienen niveles bajos de poblaciones.

Diversos autores mencionan el aumento de *Fusarium spp.* En la rizosfera y en el suelo en respuesta al agregado de glifosato Levesque *et al.*, 1987; Powell y Swanton, 2008 citados por (Conde, 2011)

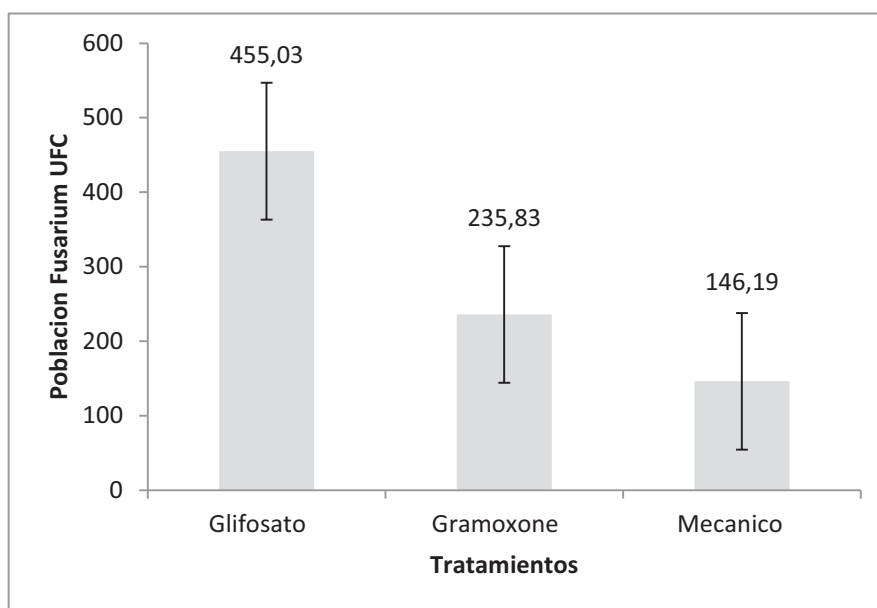


Figura 18. Quinta evaluación, Prueba de Duncan al 0,05 para los tratamientos en estudio, UFC *Fusarium spp.*

De igual manera que en la cuarta evaluación, en la presente figura se observa que la mayor población del hongo patógeno *Fusarium spp.* la sigue manteniendo el tratamiento glifosato, mientras que los otros tratamientos mantienen sus niveles de población de este patógeno observándose una tendencia a bajar sus niveles de población.

Esto se relaciona con la investigación que hicieron Lévesque *et al.*, (1987) citado por (Conde, 2011) quienes estudiaron el efecto del glifosato sobre varias malezas colonizadas por *Fusarium spp.* observaron que el uso de este herbicida para el control de malezas incrementaba la densidad de propágulos de *Fusarium spp.* en el suelo.

Tabla 10. Análisis de varianza de la influencia de los tratamientos y el tiempo para la variable *Penicillium spp*

Fuente	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Repeticiones	5	3.7783e+12	7.5566e+11	1.5343	0.18889 NS
Tratamiento	4	3.1410e+12	7.8525e+11	1.5443	0.18417 NS
Tiempo	2	2.8267e+12	1.4133e+12	2.8696	0.06273 NS
Error	78	3.8417e+13	4.9252e+11		

Significancia códigos: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 'NS' 1

En la presente tabla vemos que para las poblaciones de *Penicillium spp.* que se reportaron en los análisis de laboratorio tanto las repeticiones como los tratamientos y el tiempo no presentan significancia alguna.

EVALUACION DE LA PRODUCCION DE CACAO POR TRATAMIENTOS

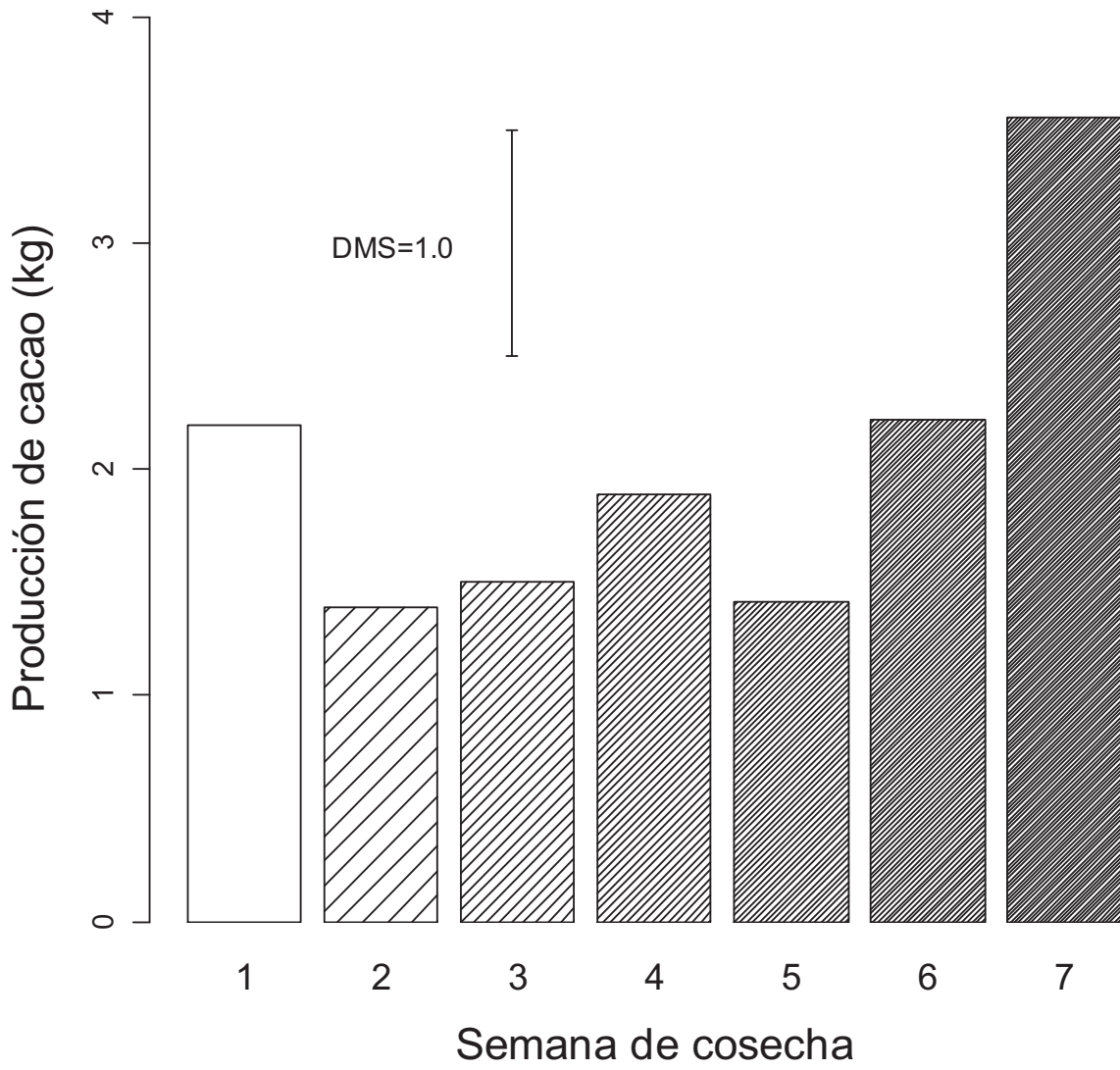


Fig. 19 Cosecha de almendras por semana

Tabla 11. Grupos Duncan, Tratamientos y medias

a	3	2.619048
a	2	2.488095
b	1	0.9642857

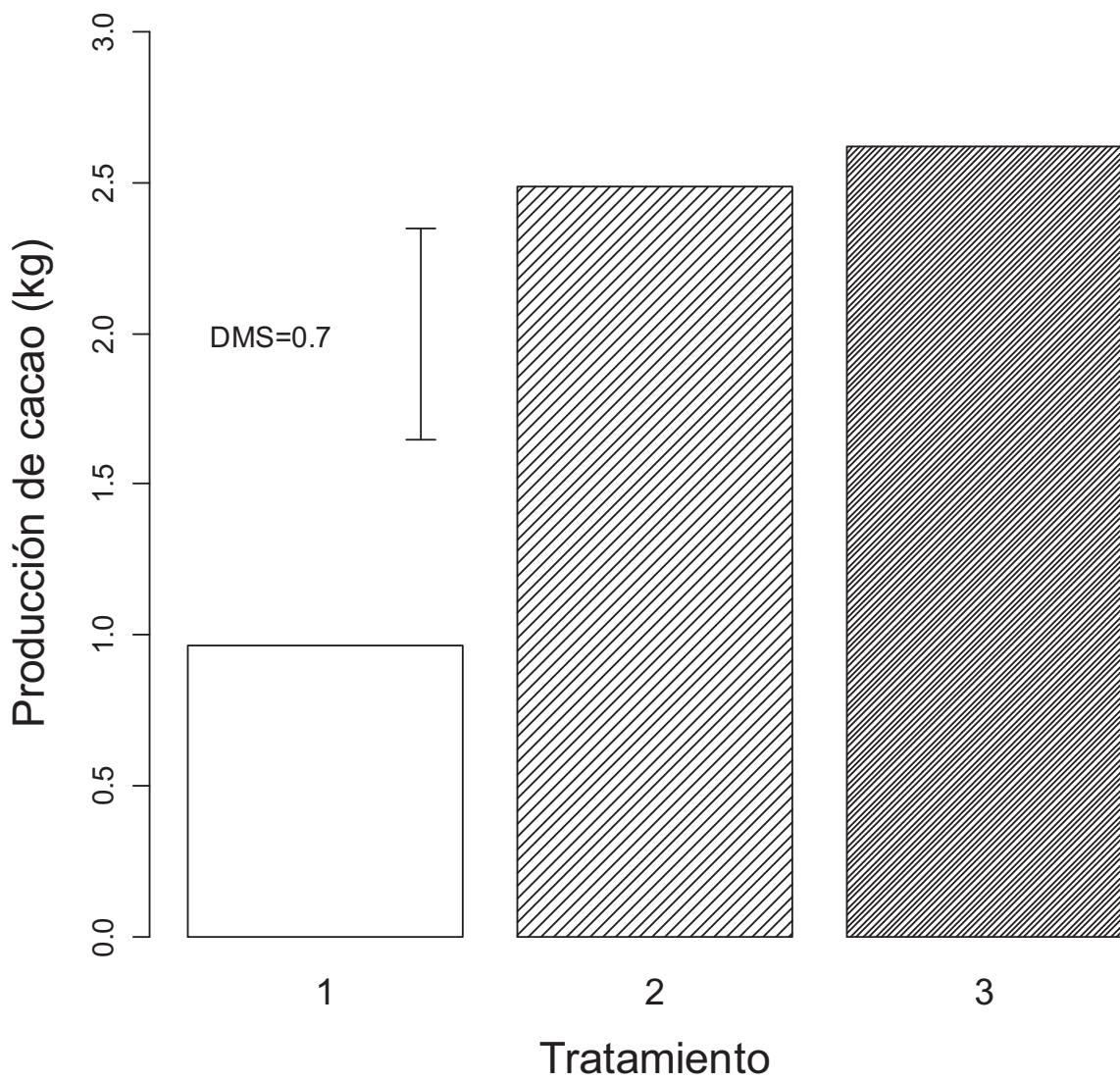


Figura 20. Producción de almendras de cacao por tratamiento.

Existen muchos reportes acerca del aumento en la incidencia de enfermedades luego de la aplicaciones de glifosato Bolliger *et a.*(2006) citado por(Conde, 2011) encontraron que luego de algunos años de aplicaciones frecuentes de glifosato se incrementaba la ocurrencia de problemas tanto en la productividad como en el estado sanitario de los cultivos.

Tabla 12. Medias de las Cosechas

	PROD	std.err	replication
1	2.19	0.46	18
2	1.38	0.42	18
3	1.50	0.36	18
4	1.88	0.38	18
5	1.41	0.36	18
6	2.22	0.37	18
7	3.55	0.57	18

En esta tabla podemos observar que existe diferencia entre el tratamiento 1 y 2 mientras que los tratamientos 2, 3, 4, 5 no son diferentes estadísticamente entre sí.

Critical Range

2	3	4	5	6	7
1.09	1.15	1.19	1.21	1.24	1.25

Tabla 13. Grupos Duncan, por cosechas

Groups	Treatments	means
a	7	3.55
b	6	2.22
b	1	2.19
b	4	1.88
b	3	1.50
b	5	1.41
b	2	1.38

En esta tabla vemos donde se produjo la mayor cosecha de almendras de cacao.

CAPÍTULO VIII

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

8.1. CONCLUSIONES

El tipo de control de malezas que seleccionemos para el cultivo del cacao debe considerar el impacto ambiental que va a ocasionar, tanto al ambiente como a la persona que va a realizar esta actividad.

Los métodos químicos de control de malezas deben orientarse no solo a la búsqueda de los mejores resultados en campo, sino también a la protección de los usuarios y directos de estos insumos, así como de los consumidores.

Al evaluar las poblaciones presentes en el suelo de una plantación comercial de cacao sometida a tres métodos de control de malezas en Sto.Dgo. No se presentaron registros de *Paecylomices l.* y *Monillioptera roreri*.

Se identificaron poblaciones de *Trichoderma spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus spp.* antes y después de la aplicación de los métodos de control de malezas.

Al cuantificar las poblaciones de estos microorganismos presentes en las evaluaciones de los tratamientos se observa la variabilidad que se da en su cantidad debido a la influencia de los tratamientos aplicados.

La aplicación constante de herbicidas al suelo, ocasiona una degradación biológica en el mismo.

En las condiciones de clima de la zona en estudio el herbicida glifosato afecta negativamente a ciertas poblaciones de microorganismos, a excepción del hongo *Fusarium spp.*

El herbicida glifosato resulto ser el que más afecta negativamente a las poblaciones de microorganismos benéficos y a la producción de la planta de cacao.

El uso del herbicida glifosato permite un mayor desarrollo de hongos patógenos en el suelo.

El control de malezas mecánico y con paraquat causa un menor impacto en las poblaciones benéficas de microbios del suelo.

El control de malezas mecánico y con paraquat no afecta la producción de almendras en la planta de cacao.

8.2. RECOMENDACIONES

Se recomienda a los usuarios de los herbicidas que se respeten las dosis por hectárea recomendadas por el fabricante, puesto que la sobredosificación de estos agroquímicos ocasiona mayores impactos al ambiente y al ser humano.

Es importante que la persona que aplica estos pesticidas para el control de malezas en el cultivo use un equipo de seguridad industrial, que garantice la protección de su salud.

Es indispensable que al tener al herbicida glifosato como parte de un programa de producción agrícola para el control de malezas en la producción de cacao, se lo rote con otros métodos de control para disminuir de esta manera los impactos ambientales que genera sobre la vida microbiana del suelo.

Para controlar malezas en el cultivo del cacao se recomienda el control mecánico ya que este método es el que causa un menor efecto hacia las poblaciones de microorganismos benéficos del suelo.

Para no afectar la producción comercial de almendras de cacao se debe utilizar el método mecánico para el control de malezas.

Cuando se trata de grandes extensiones de cultivo; para realizar el control de malezas se recomienda combinar el control mecánico con el producto paraquat, ya que en esta investigación estos dos métodos tienen la menor afección a los microorganismos benéficos del suelo y hacia la producción de almendras.

Es recomendable realizar aportaciones anuales de abonos orgánicos con la finalidad de incrementar las poblaciones de microorganismos benéficos del suelo.

Los distribuidores y vendedores de pesticidas deben comprometerse con la gestión ambiental y establecer el mecanismo para recolectar los envases de los productos utilizados por pequeños y grandes productores.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios. (1998). *Manual de fitopatología*. Madrid: Limusa.
- Anzules, V., & Vaca, P. (2008). *Control de malezas en el cultivo de la piña Ananas comosum (L) Merr. Utilizando residuos de cosechas en Santo Domingo*. Santo Domingo: Ceinci.
- Anzules, V., & Vaca, P. (2009). *Rehabilitacion de huertas y mejoramiento de la poscosecha en cacao*. Santo Domingo.
- Baird, C. (2001). *Quimica ambiental*. Barcelona: Revertè.
- Bezdisceck, D., & Papendick, R. (1996). *Importance of soil quality to health and sustainable land management. Methods for assessing soil quality, SSSA special publication*.
- Bigwood, J. (2003). *Herbicida GM asociado con poderoso hongo, counter punch*.
- Bohn, H., Mc Neal, B., & O'Connor. (1993). *Quimica del suelo*. Distrito Federal: Limusa.
- Bortoli, G., Azevedo, M., & Silva, L. (2009). *Cytogenetic biomonitoring of brazilian workers exposed to pesticides: micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. mutan res*.
- California Dpt. pesticide regulation. (2000). *Summary of pesticides use report data for 1998. State of California, environmental protection agency*. California.
- Conde, A. (2011). *Efecto del glifosato sobre comunidades microbianas benèficas y patògenas en suelos de Uruguay*. Montevideo.

- Childs, S. (1989). *Soil Physical properties: Importance to long term forest productivity*.
- Corpei. (2009). *Seminario nacional sobre el cacao fino y aroma*. Quito.
- Corpei. (2008). Seminario nacional sobre avances tecnológicos, agroindustriales y comerciales del cacao fino y aroma. Manta.
- Cox, C. (1995). *Glyphosate, part 2. Human exposure and ecological effects. Journal of pesticides reform*. Oregon.
- Diaz, G., & Estupiñan, K. (2004). *La mucuna como cultivo de cobertura alternado con el maiz*. Quevedo.
- Doll, J., Argel, P., & Gomez, C. (1989). *Principios basicos para el manejo y control de malezas en praderas*. Colombia.
- Domenech, X. (1995). *Quimica del suelo*. Madrid.
- Domenech, X. (1999). *Química de la contaminación*. Madrid.
- Enriquez, G. (2004). *Cacao orgánico, guía para productores ecuatorianos*. Quito: Iniap.
- Falconi, C. (1997). *El control biológico de plagas y enfermedades*. Quito.
- Fao. (s.f.). *Fao*. Obtenido de Residualidad de los herbicidas:
<http://www.fao.org/docrep/T1147S/t1147sOe.htm>
- Fao-Oms. (1996). *Regulaciones del glifosato*. Obtenido de
http://www.rallt.org/boletin/boletin%20240-300/Bol.%20245B_regulaciones%glifosato.pdf
- Fisher, R., & Binkley, D. (2000). *Ecology and manager of forest soils*. Jhon Wiley&sons.

- Gomez, E., Lopes, J., Lluch, C., & Gonzales, M. (2004). *Nuevos confines de la fijación biológica del nitrógeno*. Madrid: Sefin.
- Gonzales, J. (2009). *La comercialización del cacao*. Quito: Graphus.
- Heras, N., Fernandez, & Pascual, M. (2006). *Efecto del glifosato sobre la simbiosis "Lupinus albus-bradyrhizobium" SP. (Lupinus)*. Madrid.
- Howell, C. (1993). *Antibiotic production by strains of Gliocadium virens and its relation to the biocontrol of cotton seeding disease*.
- Igooh. (2009). *Efectos del glifosato*. Obtenido de <http://www.igooh.com/notas/efectos-sobre-la-salud-y-elambiente-de-herbicidas-que-contienen-glifosato-parte-ii/>
- Iniap. (2010). *Manejo técnico del cultivo del cacao*. Manabí: Iniap.
- Iniap. (1993). *Manual del cultivo del cacao*. Quevedo: Iniap.
- Kogan, M., Figueroa, R., & Olate, E. (1995). *Selectividad de herbicidas aplicados a la post plantación de Eucalyptus sp.* Montevideo.
- Lideres, R. (2007). Estrategias. El cacao fino y de aroma es la niña bonita. *Revista Lideres*, 35.
- Lisboa, M. (2003). *Efectividad del Bacillus subtilis y de una cepa nativa de Trichoderma harzianum sobre la incidencia y severidad de pudrición gris Botritis cineréa en vid vinífera*. Obtenido de <http://www.factorhumus.com/wpcontent/uploads/estudios/Control%20de%20plagas/niv.%20talca.%20subtilis%20pudric.%20gris.pdf>

Llacer, G., Lòpez, M., Trapero, A., & Bello, A. (2002). *Patologia vegetal*. Barcelona: Mundi Prensa.

Martinez, L., & Lluch, J. (2005). *Estudio del comportamiento en el medio ambiente de los herbicidas empleados en el maíz*. Madrid.

Ordeñana, O. (1992). *Malezas, rol - ecología - fisiología - morfología y taxonomía. Especies importantes en Ecuador*. Guayaquil.

Paez, O. (2006). *Uso agrícola del Trichoderma*. Obtenido de <http://www.soil-fertility.com/trichoderma/espagnol/index.shtml>

Pais, M. (2002). *Producción orgánica en la Argentina: historia, evolución y perspectivas*. Obtenido de http://acholar.google.com.ec/scholar?q=pais+m+2002+glifosato&btnG=&hl=es&as_sdt=0%2C5&as_vis=1

Perez, R. (2006). *La calidad del cacao*. Quito: Graphus.

Repetto, J., & Repetto, K. (2010). *Toxicología fundamental*. Madrid: Días de Santos.

Reyes, J. (1997). *Compatibilidad de Trichoderma asperellum con herbicidas de mayor uso en el arroz*.

RCSNV. (2006). Efecto de la aplicación de herbicidas en condiciones de campo sobre algunas actividades biológicas. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 42.

Ronquillo, M. (2008). *Uso de control químico y biológico en el campo para el combate de la pudrición de flecha en el cultivo del palmito en la zona de Santo Domingo*. Santo Domingo.

Sanchez, J. (2006). *Introducción al diseño experimental*. Quito.

Santos, A., & Flores, M. (1995). *Effects of glyphosate on nitrogen fixation of free-living heterotrophic bacteria*.

Torquilla. (s.f.). *Efectos del glifosato*. Obtenido de <http://www.telecable.es/personales/torquilla/ROUNDUP.pdf>

Vargas, A., Fuentes, C., & Torres, E. (2002). Respuesta al glifosato de un aislamiento de *Rhizoctonia solani* agente causal del anublo de la vaina de arroz, y de cuatro aislamientos de *Trichoderma*, bajo condiciones in vitro.

Wan, M., Rahe, J., & Watts, R. (1998). *A new technique for determining the sublethal toxicity of pesticides to the vascular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices**. Pensacola: Setac.