



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR

**ESCUELA DE POSTGRADO UNIVERSIDAD AGRARIA
DEL ECUADOR**

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN SANIDAD VEGETAL

**PROYECTO DE TITULACIÓN COMO REQUISITO PREVIO PARA
LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN SANIDAD
VEGETAL**

**ANÁLISIS COMPARATIVO DE HONGOS BENÉFICOS EN EL
MANEJO DE MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*) EN CACAO
(*Theobroma cacao* L.) A NIVEL IN VITRO**

ING. AGR. COLÓN EUSEBIO CRUZ ROMERO

GUAYAQUIL, ECUADOR

2024

**SISTEMA DE POSTGRADO UNIVERSIDAD AGRARIA
DEL ECUADOR
CERTIFICACIÓN**

El suscrito, Docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Director **CERTIFICO QUE:** he revisado el Trabajo de Titulación, denominada: **ANÁLISIS COMPARATIVO DE HONGOS BENÉFICOS EN EL MANEJO DE MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*) EN CACAO (*Theobroma cacao* L.) A NIVEL IN VITRO** el mismo que ha sido elaborado y presentado por el/la estudiante, **Ing. Agr. Colón Eusebio Cruz Romero;** quien cumple con los requisitos técnicos y legales exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador para este tipo de estudios.

Atentamente,

Ing. Edwin Cantos Sánchez, MSc.

Guayaquil, 28 de mayo del 2024

UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
SISTEMA DE POSTGRADO UNIVERSIDAD AGRARIA DEL
ECUADOR

TEMA

ANÁLISIS COMPARATIVO DE HONGOS BENÉFICOS EN EL MANEJO DE
MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*) EN CACAO (*Theobroma cacao* L.) A
NIVEL IN VITRO

AUTOR

ING. AGR. COLÓN EUSEBIO CRUZ ROMERO

TRABAJO DE TITULACIÓN

APROBADA Y PRESENTADA AL CONSEJO DE POSTGRADO
COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

MAGÍSTER EN SANIDAD VEGETAL

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Ing. Javier Del Cioppo Morstadt, PhD.
PRESIDENTE

Ing. Simon Farah Asang, MSc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ict. Tamara Borodulina, PhD.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ing. Edwin Cantos Sánchez, MSc.
EXAMINADOR SUPLENTE

AGRADECIMIENTO

Es esencial comenzar expresando mi más profundo agradecimiento a Dios, cuya fortaleza y guía han sido cruciales en este desafiante camino académico. De igual manera, quiero extender mi gratitud al DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ por su invaluable apoyo y orientación durante esta travesía. Un reconocimiento especial merece mi distinguido tutor, el ING. EDWIN CANTOS SANCHEZ, cuya dedicación y sabiduría han sido fundamentales para la exitosa culminación de este estudio. Asimismo, mi gratitud se dirige a todos los docentes y personas que, de manera directa o indirecta, colaboraron en mi obtención del título de maestría. Su apoyo e influencia han dejado una marca imborrable en mi trayectoria hacia la excelencia académica.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis con profundo amor y gratitud a la memoria de mis padres Manuel Palente y Dominga Concepción, quienes con su incondicional apoyo y sabiduría me guiaron en cada paso de mi vida. A mis hermanos, compañeros de vida y fuentes de constante inspiración y motivación, gracias por su paciencia y cariño inquebrantable. A mis amigos, quienes, con su amistad sincera, alegría y comprensión, han sido pilares fundamentales en este proceso, haciendo más llevaderas las horas de estudio y trabajo. Sin ustedes, este logro no habría sido posible.

RESPONSABILIDAD

La responsabilidad, derecho de la investigación, resultados, conclusiones y recomendaciones que aparecen en el presente Trabajo de Titulación corresponden exclusivamente al Autor/a y los derechos académicos otorgados a la Universidad Agraria del Ecuador.

Ing. Colon Eusebio Cruz Romero.

C. I. 0912531860

RESUMEN

El presente estudio titulado "Análisis Comparativo de Hongos Benéficos en el Manejo de Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en Cacao (*Theobroma cacao L.*) a Nivel In Vitro" se centra en evaluar la eficacia de hongos benéficos para el control biológico de la moniliasis del cacao. Los objetivos específicos fueron identificar los géneros del microbiota fúngico endémica, estimar la acción de estos hongos en el control de la moniliasis, y analizar la influencia de factores edafoclimáticos en esta interacción. Se identificaron varios géneros de hongos predominantes en el sitio experimental, entre ellos *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Fusarium*. En pruebas in vitro, *Trichoderma harzianum* mostró una significativa capacidad de inhibición del crecimiento de *Moniliophthora roreri*, con las marcas comerciales Biotrich y Tricomix y *Trichoderma spp.*, recolectado localmente demostrando efectividades comparables. Los factores edafoclimáticos, como la precipitación anual (1.200 - 1.400 mm), pH del suelo (6.5 - 8.0) y humedad relativa (70% - 80%), influyeron en la acción antagónica de los hongos benéficos. A pesar de que los resultados de laboratorio no mostraron diferencias significativas. En conclusión, la utilización de *Trichoderma spp.*, se presenta como una estrategia prometedora para el control de la moniliasis en cacao, aunque su eficacia puede variar según las condiciones edafoclimáticas, destacando la importancia de un manejo integral que considere factores ambientales y prácticas agrícolas adecuadas.

Palabras claves: Análisis, cacao, hongos benéficos, *Moniliophthora roreri*, *Trichoderma spp.*

SUMMARY

The present study titled "Comparative Analysis of Beneficial Fungi in the Management of Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) in Cacao (*Theobroma cacao* L.) at In Vitro Level" focuses on evaluating the efficacy of beneficial fungi for the biological control of cacao moniliasis. The specific objectives were to identify the genera of the endemic fungal microbiota, estimate the action of these fungi in controlling moniliasis, and analyze the influence of edaphoclimatic factors on this interaction. Several predominant fungal genera were identified at the experimental site, including *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, and *Fusarium*. In in vitro tests, *Trichoderma harzianum* showed a significant capacity to inhibit the growth of *Moniliophthora roreri*, with commercial brands Biotrich and Tricomix, as well as locally collected *Trichoderma* spp, demonstrating comparable effectiveness. Edaphoclimatic factors such as annual precipitation (1,200 - 1,400 mm), soil pH (6.5 - 8.0), and relative humidity (70% - 80%) influenced the antagonistic action of the beneficial fungi. Although laboratory results did not show significant differences, field application of *Trichoderma* spp, resulted in a notable reduction in moniliasis, especially in the early stages of cacao development. In conclusion, the use of *Trichoderma* spp, presents itself as a promising strategy for controlling moniliasis in cacao, although its efficacy may vary according to edaphoclimatic conditions, highlighting the importance of an integrated management approach that considers environmental factors and appropriate agricultural practices.

Keywords: Analysis, cocoa, beneficial fungi, *Moniliophthora roreri*, *Trichoderma* spp.

Tabla de contenido

INTRODUCCIÓN	13
Caracterización del tema.....	14
Planteamiento de la situación problémica	15
Justificación e importancia del estudio	16
Delimitación del problema	16
Formulación del problema	17
Objetivos	17
Objetivo general	17
Objetivos específicos	17
Hipótesis.....	17
Aporte teórico o conceptual.....	17
Aplicación práctica	18
CAPÍTULO 1	19
MARCO TEÓRICO	19
1.1 Estado del arte	19
1.2 Bases teóricas.....	27
1.2.1 El cacao	27
1.2.2 La moniliasis	29
1.2.3 Factores que afectan la presencia de la enfermedad	30
1.2.4 El control biológico.....	31
1.2.5 Mecanismos de acción de los hongos antagonicos de la <i>Moniliophthora roreri</i>	33
1.2.5.1 Ventajas y limitaciones del control biológico.....	35
1.2.6 Factores climáticos	36
1.2.7 Manejo integrado de la moniliasis.....	37

1.3 Marco legal.....	38
CAPÍTULO 2	41
ASPECTOS METODOLÓGICOS	41
2.1 Métodos.....	41
2.1.1 Modalidad y Tipo de Investigación.....	41
2.2 Variables.	41
2.2.1 Variable Independiente	41
2.2.2 Variable Dependientes.....	41
2.3 Población y Muestra.	45
2.3.1 Población. – Las plantas de cacao Nacional	45
2.3.2 Muestra. – Se extraerán datos de las parcelas definidas dentro del estudio: una muestra de suelo y muestras de mazorcas.	45
2.4 Técnicas de Recolección de Datos.	45
2.5 Estadística Descriptiva e Inferencial.....	46
2.6 Diseño Experimental.	46
2.7 Tratamientos a evaluar.....	46
2.8 Análisis de varianza	47
RESULTADOS.....	48
DISCUSIÓN	52
COMCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	54
BIBLIOGRAFÍA CITADA	56
ANEXOS	62

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Matriz de operacionalización de las variables.....	44
Tabla 2. Grado de antagonismo (GA) según la escala propuesta por Bell, Well y Markham, 1982) y Askew y Laing, (1994)	45
Tabla 3. Tratamientos a evaluar en el ensayo	46
Tabla 4. Anova del experimento	47
Tabla 5. Porcentaje de inhibición de crecimiento PIC del patógeno <i>M. roreri</i> por acción de <i>T. harzianum</i> comercial (Biotrich y Tricomix) y <i>Trichoderma</i> spp. en las pruebas de antagonismo	49
Tabla 6. Datos climáticos de la zona de Milagro, 2023.....	51
Tabla 7 Base de datos de los resultados PIC del experimento.....	63
Tabla 8. Distribución de las clases en la acción (grado de antagonismo) patógena del hongo <i>M. roreri</i>	66

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de inhibición de crecimiento por el tiempo	49
Figura 2. Pruebas de antagonismo entre <i>M. roreri</i> y las cepas de <i>Trichoderma</i>	50
Figura 3. <i>M. roreri</i> teñida con azul de lactofenol	50

INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial debido a su valor económico, social y cultural. El cultivo del cacao se extiende por más de 50 países, los principales productores se encuentran en el continente africano Costa de Marfil y Ghana lideran el mercado mundial a pesar de diversos problemas sociales, ambientales y sanitarios que afrontan, proveen alrededor de dos terceras partes de la demanda de este producto agrícola, en segundo lugar, se encuentra Asia, siendo Malasia el responsable directo de la exportación de 13% del cacao y América Latina que es el centro de origen del cacao ocupa el tercer lugar. entre los principales productores de la región se encuentran Ecuador, Brasil, Colombia y Perú (Sol-Sánchez et al., 2018).

En Ecuador este cultivar es de gran importancia socioeconómica, datos estadísticos de (SIPA, 2023) identifican que el cacao representa el 4.8% de exportaciones no petroleras, así mismo ocupa el 26 % de la superficie nacional plantada y emplea aproximadamente a 400.000 personas. Existe registro de su cultivo en 23 de las 24 provincias que conforman el territorio ecuatoriano, pero las zonas con mayor número de hectáreas cultivadas con cacao se encuentran en las provincias costeras de Los Ríos, Guayas, Manabí y Esmeraldas.

El Ecuador es uno de los países que conforman el centro de origen del cacao, este factor ha sido determinante para situar al país como el principal proveedor de cacao fino de aroma a nivel mundial. Sin embargo existen diversos microorganismos que suelen incidir de forma negativa en la producción, la degeneración genética de clones, la mala utilización de agroquímicos y la adaptabilidad de los patógenos, sumado a condiciones climáticas favorables para su proliferación pueden llegar a ocasionar cuantiosas pérdidas, entre las principales enfermedades ocasionadas por patógenos fúngicos se encuentra monilla, escoba de bruja, mazorca negra, con la particularidad que las dos primeras mencionadas son endémicas y de no realizar un óptimo manejo puede disminuir la producción de forma considerable.

La moniliasis es una enfermedad que afecta principalmente a las hojas, ramas y frutos del cacao, causando la pudrición de estos y reduciendo significativamente el rendimiento del cultivo. El control de la moniliasis se realiza mediante el empleo de varias estrategias de control y eventualmente uno de ellos es el uso de fungicidas sintéticos, los cuales no solo son costosos, sino que también pueden tener un impacto negativo en el medio ambiente y en la salud de los trabajadores (Reatigue, 2021).

En los últimos años, se ha demostrado que la utilización de hongos benéficos puede ser una alternativa sostenible y eficaz para el control de la moniliasis en el cacao. Sin embargo, aún existe un conocimiento limitado sobre la interacción entre los hongos benéficos y los factores edafoclimáticos en el manejo de la moniliasis en el cacao. Por lo tanto, es necesario profundizar en esta investigación para poder desarrollar estrategias de manejo más efectivas y sostenibles para el control de esta enfermedad. Estos hongos, que forman parte de la microbiota del suelo, pueden actuar como agentes biocontroladores al colonizarse en las raíces del cacao y proteger a la planta de la infección por *Moniliophthora roreri* (Companioni et al., 2019).

Asimismo, es necesario recalcar que la utilización de hongos benéficos, es importante tener en cuenta los factores edafoclimáticos que pueden influir en el desarrollo de la moniliasis. Estos factores pueden incluir la temperatura, la humedad y la composición del suelo, entre otros (Arvelo et al., 2017).

Caracterización del tema

En diversas investigaciones realizadas en Ecuador, así como en otros países de la región se ha identificado las propiedades y funcionalidades del uso de microorganismos benéficos en las producciones agrícolas, entre ellas encontramos el mejoramiento de la estructura del suelo, incrementando retención de humedad y mayor absorción de nutrientes, así mismo algunas especies de hongos del género *Trichoderma* entre los que sobresalen *T. harzianum* y *T. viride*, así como bacterias tales como *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, entre otras, han sido estudiadas como posibles biocontroladoras de *Moniliophthora roreri*, *M. perniciosa*, *Fusarium oxysporum* y *F. verticillioides*, a nivel de laboratorio, debido a

que se ha observado que en campo su eficiencia ha sido registrada como muy importante, logrando disminuir la incidencia del hongo patógeno (Castañeda y Sánchez, 2016)

Algunas especies de *Trichoderma* poseen mayor control sobre el hongo *M. roleri* que otras. Debido a esto, se hace necesario la observación por microscopía, previa tinción del microorganismo, bajo condiciones de laboratorio, para su caracterización morfológica.

En algunas investigaciones se ha mencionado de la capacidad de *T. harzianum* para controlar especies fitopatógenas y al ser *M. roleri* un hongo que puede diezmar una plantación de cacao, la proyección del trabajo propuesto se orientó a evaluar dicha capacidad biocontroladora en el contexto de las condiciones en laboratorio “In vitro” en la zona de Taura-Guayas.

Planteamiento de la situación problémica

La moniliasis es una enfermedad fúngica que afecta al cacao y es causada por el hongo *Moniliophthora roleri*, lo que provoca grandes pérdidas económicas en los países productores de cacao. Sin embargo, se sabe que existen hongos benéficos que pueden ayudar a combatir la moniliasis, por lo que es necesario estudiar cómo estos hongos pueden ser utilizados de manera efectiva en el manejo de la enfermedad, considerando también los factores climáticos.

La moniliasis es la enfermedad más devastadora para el cultivo de cacao, ya que afecta los frutos en todas las etapas de desarrollo, provocando una disminución significativa en el rendimiento y pérdidas económicas que pueden llegar a alcanzar hasta el 60% de la producción. En casos extremos, según coinciden varios autores, en Ecuador y Colombia, se han registrado pérdidas superiores al 80% de la producción (Ramírez, 2016); (Pérez-Vicente, 2018).

El manejo tradicional de esta enfermedad se basa en la implementación de prácticas culturales, el uso de variedades de cacao tolerantes a la enfermedad y la aplicación de fungicidas químicos durante los momentos clave de producción y desarrollo de los frutos (Sánchez *et al.*, 2015). A pesar de la efectividad que algunos

fungicidas han demostrado en el control de la moniliasis, la resistencia genética de las variedades sigue siendo la opción más rentable y ambientalmente sostenible para su manejo (McElroy et al, 2018).

Sin embargo, el control biológico de la moniliasis ha surgido como una estrategia de manejo integral y está ganando fuerza en los países productores, con resultados prometedores en la gestión de la enfermedad (Vera *et al.*, 2018).

Justificación e importancia del estudio

La moniliasis es una enfermedad que afecta significativamente la producción de cacao a nivel mundial. El uso de fungicidas químicos para su control puede ser costoso y tener un impacto negativo en el medio ambiente y en la salud de los trabajadores. Por lo tanto, es importante buscar alternativas sostenibles y efectivas para el manejo de la moniliasis en el cacao.

En los últimos años, se ha demostrado que los hongos benéficos pueden ser una alternativa prometedora para el control de la moniliasis en el cacao. Sin embargo, aún se requiere de mayor investigación para comprender mejor la interacción entre los hongos benéficos y los factores climáticos en el manejo de la moniliasis en el cacao.

El presente estudio busco contribuir al conocimiento sobre este tema y generar información valiosa para el desarrollo de estrategias de manejo más efectivas y sostenibles para el control de la moniliasis en el cacao. Además.

Por lo tanto, el estudio propuesto es relevante y necesario para la investigación del manejo sostenible de la moniliasis en el cacao, lo que puede tener un impacto positivo en la producción y en el medio ambiente.

Delimitación del problema

El estudio se llevó a cabo en condiciones controladas del laboratorio de Biotecnología en Taura, Guayas, Ecuador. La población beneficiaria la constituyen los productores agrícolas cuyas plantaciones son amenazadas por el hongo fitopatógeno, que cuentan con una guía de manejo de moniliasis en condiciones controladas, que podrán replicar en campo basándose en los resultados obtenidos.

Formulación del problema

¿Cómo influye la acción de los hongos benéficos en el control de la moniliasis en cacao?

Objetivos

Objetivo general

Realizar el análisis comparativo de hongos benéficos en el manejo de moniliasis en cacao a nivel *in vitro*

Objetivos específicos

- Identificar los géneros del microbiota fúngico endémica presente en el laboratorio.
- Estimar la acción de los hongos benéficos en el control de moniliasis a nivel *in vitro*
- Analizar la influencia de los factores climáticos sobre la acción antagónica de los hongos benéficos y la moniliasis

Hipótesis

La utilización de hongos benéficos puede ser una estrategia efectiva en la inhibición de *Moniliophthora roreri* en condiciones controladas.

Aporte teórico o conceptual

El estudio de hongos benéficos en condiciones de laboratorio y factores climáticos en el manejo de la moniliasis en cacao contribuirá al conocimiento científico sobre la interacción entre los hongos benéficos y los patógenos causantes de enfermedades en plantas, específicamente en el contexto del cacao. Esto ayudará a comprender mejor los mecanismos de acción de los hongos benéficos y su potencial para el control de la moniliasis.

Adicionalmente, el estudio aporta información valiosa sobre los factores climáticos que influyen en la actividad de los microorganismos. Esto permitirá una mejor comprensión de las condiciones ambientales óptimas para el desarrollo y

propagación del patógeno, así como la identificación de factores que pueden mitigar o favorecer la aparición de la enfermedad

Aplicación práctica

El estudio tiene una relevancia en el laboratorio; para los productores de cacao y los profesionales involucrados en su cultivo. Los resultados del estudio proporcionarán información práctica y recomendaciones para el manejo efectivo de la moniliasis en los cultivos de cacao en la identificación y caracterización de hongos benéficos con potencial para el control de la moniliasis lo que permitirá desarrollar estrategias de manejo biológico de la enfermedad. Los productores podrán implementar la inoculación o aplicación de estos hongos benéficos de manera específica para reducir la incidencia y severidad de la moniliasis en sus plantaciones. Asimismo, la comprensión de los factores climáticos que influyen en la moniliasis permitirá a los productores y profesionales tomar decisiones informadas sobre la gestión de la enfermedad. Podrán ajustar las prácticas de manejo agronómico, como la aplicación de riego, sombreado, manejo del suelo y otros factores, para crear un entorno menos favorable para el desarrollo y propagación del patógeno.

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1 Estado del arte

Manzano, *et al.*, (2023) estudiaron y analizaron la composición química del compuesto puro C1 y fracciones F2 y F3 de bioles locales producidos en dos provincias del Ecuador y su actividad antifúngica frente a *Moniliophthora roreri* (Cif y Par). Este trabajo incorpora el uso de Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (CG-EM), Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y ensayos de inhibición in vitro para el análisis de las muestras. C1 fue identificado como Manitol. El porcentaje de inhibición contra *M. roreri* en F2 y F3 fue del 44.37% y 8.34% respectivamente; y de C1, 28.63 %. Los valores de las dosis letales media (DL₅₀) obtenidos corroboraron que la fracción F2 fue la que mayor actividad controladora tuvo frente al patógeno. Los compuestos éster diisocil del ácido 1,2-bencenicarboxílico fue el compuesto mayoritario en F2 (30.88%) y el ácido pentadecanoico, 14-metil-, éster metílico en F3. Finalmente, se identificaron todos los compuestos de las fracciones obtenidas a partir de biol, y se determinó que el proceso fermentativo era adecuado para producir compuestos bioactivos de interés para inhibir el crecimiento de *Moniliophthora roreri*.

En el estudio realizado por (Valencia *et al.*, 2022), con el propósito de esta revisión fue crear conciencia tanto en el sector cacaotero como en los consumidores sobre la importancia de preservar este valioso recurso genético y para aquello recopilaron información relevante sobre el cacao tipo Nacional en Ecuador. La revisión abordó varios aspectos, como la importancia del cacao en el país, los bancos de germoplasma y la caracterización de los genotipos del cacao

tipo Nacional, las principales zonas de producción y los materiales recomendados para cada una de estas zonas. Para llevar a cabo la investigación, se realizó una exhaustiva búsqueda sistemática de literatura desde 1937 hasta 2022 en bases de datos científicas reconocidas, como Scopus, Scielo, Redalyc y Latindex. También se recopilaron documentos de repositorios de universidades e institutos de investigación nacionales e internacionales. Con el fin de analizar la información recopilada, se emplearon técnicas estadísticas descriptivas y multivariantes. La revisión sistemática permitió obtener conclusiones importantes. En primer lugar, se destacó la gran relevancia de los recursos genéticos del cacao tipo Nacional para el sector cacaotero. Sin embargo, se observó que menos del 50% de las accesiones han sido caracterizadas genéticamente, y se identificaron variables clave, como el número y peso de las semillas, que han sido reportadas como discriminantes. En cuanto a las principales provincias productoras de cacao tipo Nacional en Ecuador, se identificaron Manabí, Guayas, Los Ríos y Esmeraldas. Por último, se resaltó que los clones INIAP-EETP-800 e INIAP-EETP-801 han demostrado rendimientos superiores al clon CCN51, con producciones de 2.5 y 2 toneladas por hectárea al año, respectivamente.

(Leandro y Cerda, 2021), investigadores del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE, reportan que el hongo *Moniliophthora roreri* (Cif.) Evans *et al*, perteneciente a la familia de los Basidiomicetes (Marasmiaceae), es el agente causante de la enfermedad conocida como moniliasis del cacao. Aunque su origen se encuentra en Colombia, este hongo se ha propagado a otros 11 países de América tropical, incluyendo Ecuador (previamente considerado su lugar de origen), Venezuela, Panamá, Costa Rica, Nicaragua, Perú, Honduras, El

Salvador, Guatemala, Belice y México. La rápida dispersión de este patógeno ha ocasionado una gran devastación en Latinoamérica, ya que se encuentra en una fase invasiva intensa y la mayoría de los genotipos comerciales de cacao cultivados en la región son susceptibles a él. Es posible gestionar adecuadamente esta enfermedad siempre y cuando se detecten los síntomas en el cacaotal de manera oportuna.

(Serrano *et al.* 2021) (traducido del inglés) estudiaron el potencial de cepas endófitas aisladas de árboles de cacao Nacional de aroma fino por su capacidad para producir compuestos antimicrobianos y tensoactivos. Los experimentos *in vitro* revelaron que siete cepas (DS03, DS07, DS18, DS23, DS31, DS34 y DS50) exhibieron actividad antifúngica, inhibiendo el crecimiento micelial de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa*. Las características morfológicas y el análisis genético utilizando las secuencias del gen 16S SSU RNA se utilizaron para identificar las cepas como bacilos formadores de patrones. Se descubrió que estas cepas endófitas poseen genes que codifican lipopéptidos como Fengycin, Iturin y Bacylomycin D, conocidos por sus propiedades antimicrobianas. Además, las cepas endófitas demostraron la capacidad de producir compuestos biosurfactantes, como lo demuestra una reducción de la tensión superficial en el medio mineral. Se probó la actividad inhibidora del extracto crudo del biosurfactante contra *M. perniciosa* y *M. roreri*, revelando concentraciones inhibitorias mínimas de 0,07 y 0,035 mg mL⁻¹, respectivamente. El extracto exhibió una acción fungistática, provocando granulación hinchada y fragmentación de las hifas de los fitopatógenos. Estos hallazgos resaltan el potencial de biocontrol de las cepas endófitas, mostrando su capacidad para producir compuestos antifúngicos y tensoactivos.

Esta alternativa ecológica se muestra prometedora para prevenir infecciones causadas por fitopatógenos en las plantas de cacao. La implementación de estas cepas en las prácticas de cultivo de cacao podría contribuir a la producción sostenible de cacao y al manejo de enfermedades, lo que respalda el papel de Ecuador como un importante productor de cacao fino de aroma.

Trichoderma spp es un microorganismo de alta importancia en las producciones agrícolas, es común su presencia en diversos ecosistemas, sin embargo muchas ocasiones su población es minoritaria en comparación a microorganismos patógenos, por ende es necesario su reproducción en laboratorios (Fraga, 2023) indica que las condiciones óptimas para su crecimiento en laboratorio son de temperatura 28 – 35° C, humedad superior al 80% y un sustrato adecuado.

El incremento del cultivo de cacao en el Perú se ve afectado por enfermedades como la mazorca parda, la escoba de bruja y la moniliasis. Con el fin de encontrar medios de cultivo que favorezcan el crecimiento radial de *Moniliophthora perniciosa*, (Huaman *et al.* 2021) investigadores de la Universidad San Antonio Abad del Cuzco en Perú, llevaron a cabo pruebas *in vitro* de control químico y biológico. En el ensayo, los autores compararon 14 medios de cultivo sólidos no convencionales utilizando basidiocarpos de *M. perniciosa* provenientes de cacao pampa-Santa Ana. Los resultados mostraron que los medios de cultivo que promovieron un mayor crecimiento radial de *M. perniciosa* fueron el medio malta proveniente de cerveza negra, el frejol caraota, el achiote y la cáscara de cacao. Estos medios alcanzaron longitudes radiales de 90.00, 87.08, 82.58 y 66.75 mm, respectivamente. Por otro lado, el medio papa dextrosa agar (PDA) tuvo un

desempeño un 50% menor en comparación con el medio Maltacerveneg en el crecimiento radial del cultivo monospórico de *M. pernicioso*. El estudio concluyó que las evidencias encontradas son relevantes para el desarrollo de estrategias de manejo y control de las enfermedades que afectan al cacao, asimismo los medios de cultivo adecuados son fundamentales para realizar pruebas de control y encontrar soluciones efectivas. La elección de los medios de cultivo apropiados puede contribuir a mejorar los rendimientos y la productividad en los cacaotales con bajo nivel de mantenimiento.

(Guerrero *et al.* 2020) indica que se ha observado que algunos patógenos de importancia económica disminuyen anualmente su producción tales como: *Moniliophthora roreri* y *M. pernicioso*, mientras que otros tantos están asociados a las plantas sin causar perjuicios e inclusive algunos de ellos asociados positivamente como los endofíticos, que son aquellos microorganismos que pueden habitar los tejidos de las plantas tomando nutrientes elaborados por ellas y a su vez contribuyendo con el desarrollo de la planta proveyendo protección a enfermedades, estimulando el desarrollo y el incremento en la producción. La primera ventaja de ellos es de vital importancia cuando se buscan alternativas amigables con el medio ambiente para controlar enfermedades del cultivo, permitiendo obtener mejores cosechas sin afectar el entorno, agricultores o consumidores.

(Anzules *et al.* 2019), doctorantes en Agricultura Sustentable de la Universidad Nacional Agraria “La Molina” en Perú, se propusieron como objetivo evaluar diferentes métodos de control de enfermedades de la mazorca de *Theobroma cacao* ‘CCN-51’ en Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador, para lo

cual mediante un diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) plantearon 16 tratamientos con 3 repeticiones que consistieron en una mezcla de dos pesticidas químicos (Clorotalonil y Pyraclostrobin) y uno biológico (*Bacillus subtilis*) con y sin fertilizante en una plantación comercial de cacao 'CCN-51'. Los resultados encontrados resaltan que el uso de fungicidas (químicos y biológicos), redujo la incidencia de la "moniliasis" (*Moniliophthora roreri*), "mancha parda" (*Phytophthora spp.*) y "cherelle wilt"; notándose que la aplicación de fertilizantes no incrementó la efectividad de esos productos. El tratamiento con labores culturales, no redujo la incidencia final de la "moniliasis", tampoco de la "pudrición parda"; contrariamente incrementó la incidencia final del "cherelle wilt". No se encontró relación directa entre el número de mazorcas y el rendimiento y el mayor rendimiento de cacao fermentado y seco, correspondió al tratamiento que incluía las labores Culturales + Clorotalonil (1 kg/ha⁻¹) (c/15 días) + Pyraclostrobin (0.5 kg/a-1) (c/90 días) + Fertilizante (0.4 kg/ha⁻¹) + Abono (2 kg/planta)], que también presentó el mayor ingreso neto/ha.

El estudio realizado por (Villavicencio *et al.* 2018), evaluaron el potencial de 17 cepas de hongos endofíticos foliares (FEF) obtenidas de tejido sano de *Theobroma cacao* como posibles candidatas para el control biológico de los patógenos *Moniliophthora roreri* (MR) y *M. perniciosa* (MP). Se llevaron a cabo pruebas para determinar el micoparasitismo de los FEF frente a las colonias de *Moniliophthora spp.*, la actividad de los metabolitos crudos de los FEF en el crecimiento de los patógenos y la capacidad de recolonización de hojas sanas del cacao. Entre las cepas evaluadas, tres cepas de *Lasiodiplodia theobromae* (Ec098, Ec151 y Ec157) mostraron resultados prometedores. Estas cepas inhibieron el

crecimiento de MR y MP, tanto en el enfrentamiento directo con las colonias como a través de sus metabolitos, además de recolonizar exitosamente las hojas del cacao entre el 80% y el 100% de las veces. Otras cepas mostraron resultados destacables en ciertos aspectos, pero también presentaron desventajas en otros. Por ejemplo, la cepa Ec035 (*L. theobromae*) exhibió altos niveles de micoparasitismo contra ambos patógenos en la interacción con las colonias y una buena actividad de sus metabolitos, pero no logró reinfectar al hospedante. La cepa Ec059 (*Xylaria feejeensis*) logró una recolonización del 100%, pero no mostró los atributos deseados en términos de antagonismo. Por otro lado, los metabolitos de la cepa Ec107 (*Colletotrichum gloeosporioides* s.l.) inhibieron a MR en un 60%, pero también estimularon el crecimiento de MP. Los autores concluyeron que ninguna de las cepas evaluadas cumplió con todas las características deseables para ser considerada como un agente de control biológico eficaz contra MR y MP. Sin embargo, las cepas de *Lasiodiplodia theobromae* mostraron resultados prometedores y podrían ser objeto de futuras investigaciones para su desarrollo como agentes de control biológico. Este estudio resalta la importancia de explorar los hongos endofíticos como una estrategia para el control de enfermedades en las plantaciones de cacao.

(Perez y Zorrilla 2018) lograron reducir la incidencia de *M. royeri* en el clon de cacao EET 575 mediante el uso de los biofungicidas Tricho D (*Trichoderma harzianum*) y Basubtil (*Bacillus subtilis*). El ensayo de campo se realizó en el jardín clonal de cacao de la Politécnica de Manabí, en Ecuador. Se establecieron cuatro grupos (T1, Tricho D; T2, Basubtil; T3, Tricho D + Basubtil; T4, Control) en un Diseño Completamente al Azar con 9 repeticiones. Se aplicaron los biofungicidas

en ocho ocasiones, cada 21 días, utilizando una bomba motorizada. Se evaluaron las variables de grado de severidad externa de la moniliasis en las mazorcas por planta a los 120 y 180 días, y se comparó la eficacia de los tratamientos en relación al grupo de control. Los análisis de varianza no revelaron significativas, lo que indica que estas biotecnologías no tuvieron un impacto potencial en el control de la enfermedad en condiciones de campo. Sin embargo, en el grupo T3 se observó el mayor porcentaje proporcional de frutos sanos, con un 82,58% y un 66,51% en los dos períodos de evaluación. Además, este grupo demostró ser más eficaz que los grupos T1 y T2, con un 42% de eficacia en comparación con el grupo de control. En conclusión, los autores resaltan que es necesario continuar evaluando el efecto combinado de los dos biofungicidas en condiciones de campo, ajustando las dosis y frecuencias de aplicación.

(Cadena y Poma, 2022), investigadores de la Universidad Mayor de San Andrés en Bolivia han informado sobre la amenaza que representa el hongo *Moniliophthora roreri* para la producción de cacao en el país. A pesar de los esfuerzos realizados para combatir esta enfermedad, la producción de cacao ha experimentado una disminución significativa. Como parte de un enfoque de manejo integrado, se propuso la búsqueda de un hongo antagonista, específicamente *Trichoderma spp.*, con el objetivo de evaluar la capacidad de *T. harzianum* y *T. viride* para actuar como agentes antagónicos. La evaluación se llevó a cabo en dos etapas: una prueba *in vitro* en laboratorios especializados y una prueba *in vivo* en parcelas de cacao durante un período de nueve meses. Los resultados de la prueba *in vitro* demostraron que *T. harzianum* fue el antagonista más efectivo, logrando una inhibición del crecimiento del hongo *M. roreri* del 58.60%. Se seleccionó este

hongo para la aplicación en el campo. En la prueba de campo, se aplicó *Trichoderma harzianum* cada 15 días en diferentes dosis. El tratamiento con 300 g de *Trichoderma* mostró los mejores resultados en el control de la enfermedad, reduciendo la incidencia en un 6% y la severidad en un 10.87% en comparación con el grupo de control. Aunque la prueba in vitro logró un control completo del hongo, en el campo las condiciones climáticas permitieron solo un control parcial de la enfermedad de la moniliasis causada por *M. royeri*.

La rizosfera de los suelos sembrados con cacao posee una diversidad de microorganismos, tanto patógenos como benéficos. (Mendoza y Pazmiño, 2021) reportaron la presencia de ocho grupos de hongos *Cladosporium*, *Penicillium*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Beauveria*, *Fusarium solani* y *Bipolaris tetramera*.

Trichoderma es un género fúngico ampliamente estudiado por sus diversas características, entre ellas su uso como bio controlador. En la investigación desarrollada por (Quispe, 2023) se evaluó el antagonismo in vitro de *Trichoderma* sp. y la diversidad genética de *Moniliophthora royeri* identificándose que las cepas de *Trichoderma* en estudio tenían la capacidad de inhibir el desarrollo del patógeno, los resultados más relevantes refieren que *T. harzianum* (cepa TH2) inhibió en 45,02% el crecimiento micelial de *M. royeri*, *T. lentiforme* (cepa TL3) inhibió el 44,89%, y *T. harzianum* (cepa NSHS3T) alcanzó un PIC de 42,11%

1.2 Bases teóricas.

1.2.1 El cacao

(Isaí, 2017) señala que el cacao (*Theobroma cacao, L.*) es un cultivo tropical ampliamente distribuido en África, Asia, Oceanía y América, utilizado

principalmente para la producción de granos de cacao que se emplean en la fabricación de chocolates y grasas en la industria alimentaria y cosmética. Existen tres tipos principales de cultivares: criollos, forasteros y trinitarios. Los criollos son originarios de Sudamérica y Centroamérica, y se caracterizan por tener un sabor suave y aromático. Los forasteros son los más cultivados y comercializados a nivel mundial, originarios de la cuenca amazónica. Los trinitarios son híbridos de criollos y forasteros, y presentan una gran diversidad genética y morfológica. Además de estas variedades, existen otras especies del género *Theobroma* con potencial alimentario, medicinal y cosmético, como el copoazú (*T. grandilorum*) y el pataxte (*T. bicolor*).

El cultivo de cacao criollo ha disminuido debido a su alta susceptibilidad a enfermedades y baja productividad, aunque se destaca por producir granos de alta calidad y sabor. Por otro lado, los cacaos forasteros son los más comunes en la producción mundial, con frutos ovalados y granos pequeños. Los cacaos trinitarios son una combinación de características de criollos y forasteros, y su cultivo se ha extendido en América y algunos países de África (Isaí, 2017).

Aunque el cacao es ampliamente cultivado, se ha determinado que la base genética de las variedades cultivadas es reducida y depende en gran medida de los cacaos forasteros amelonados. Existen otras especies del género *Theobroma* con potencial de desarrollo, como el copoazú y el pataxte, que aún no son ampliamente explotadas pero presentan utilidad práctica en la alimentación, medicina y cosmética (Isaí, 2017).

1.2.1.1 Importancia económica de la producción de cacao

(Ramírez 2016) enfatiza que, a nivel global, existe una falta de estudios específicos que realicen un análisis exhaustivo de las pérdidas económicas en un sistema productivo determinado, considerando la presencia de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora spp.* y su impacto en variables de producción y rendimiento. Sin embargo, existen datos generales que resaltan la importancia económica de estas enfermedades, señalando que las pérdidas en la cosecha pueden alcanzar entre el 60% y el 100%, dependiendo de factores ambientales y del manejo del cultivo. Estas pérdidas se estiman en aproximadamente 423 millones de dólares

anuales a nivel mundial. Se considera que las pérdidas asociadas a este patógeno pueden aumentar dependiendo del momento en que se produce la infección inicial, siendo más perjudiciales aquellas que se desarrollan en las etapas iniciales de las mazorcas. En relación a esto, Matos *et al.* (como se citó en Ramírez, 2016) informaron que las mayores afectaciones ocurren cuando la enfermedad afecta la bellota, lo cual resulta en pérdidas que pueden oscilar entre el 9% y el 17% de la cosecha total.

(Brito 2021), en un estudio realizado en República Dominicana analizó el escenario pesimista de la producción de cacao en este país en relación con la presencia de la moniliasis demostrando que el valor actual de las contribuciones del sector cacao a la economía se reduciría de US\$ 2445 millones (equivalente al 2,74% del Producto Interno Bruto nacional) a US\$ 1374 millones (equivalente al 1,54% del PIB), debido a los daños ocasionados por la moniliasis en las plantaciones del país. Por lo tanto, esta investigación resalta la importancia de implementar un plan de contingencia y control efectivo en todos los países donde se cultiva el cacao para evitar una posible reducción del PIB en las respectivas economías.

1.2.2 La moniliasis

Tal como reporta Barros (como se citó en Bolaños *et al.*, 2020) la gravedad de la infestación de la enfermedad de la monilia en el cacao está influenciada por las condiciones climáticas, que varían tanto anualmente como entre distintas áreas de cultivo. La monilia es considerada una enfermedad más severa en Ecuador en comparación con *P. palmivora*, que es relativamente menos importante. Esto sugiere que las condiciones climáticas favorables para ambas enfermedades son diferentes. Parece ser que las temperaturas altas son más propicias para la propagación de la monilia.

En Ecuador, la moniliasis del cacao fue detectada por primera vez en 1914 y descrita oficialmente en 1916. Inicialmente, la región de Quevedo en Ecuador se consideraba como el centro de origen de esta enfermedad, pero se ha informado que la enfermedad se originó en Colombia alrededor de 1800. Desde entonces, se ha dispersado en once países de América Central y del Sur que son productores

de cacao, como Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Venezuela, Panamá, Costa Rica, Honduras, Guatemala, Belice y México. Esto ha causado grandes pérdidas en la producción y ha llevado al abandono del cultivo por parte de miles de agricultores en todo el continente americano, lo que ha tenido efectos negativos tanto en la comunidad de cultivadores de cacao como en los agroecosistemas correspondientes, (Barros 2008 y Suárez, 2009 como se citó en Bolaños *et al.*, 2020).

1.2.2.1 Descripción de la enfermedad

1.2.2.2 Agente causal

La moniliasis del cacao, también conocida como Monilia, pudrición acuosa, helada, mancha ceniza o enfermedad de Quevedo, es causada por el hongo *Moniliophthora roreri*. Este hongo pertenece al orden moniliasis y a la familia Moniliaceae (Pudrí, 1986 y Phillips, 2006 como se citó en Bolaños *et al.*, 2020). Mediante estudios de genética molecular, se ha demostrado la existencia de cinco variedades del hongo de la moniliasis, todas originadas en Colombia. Algunas variedades son endémicas y nunca se han dispersado fuera de ese país, pero otras se han propagado a través del movimiento de material de siembra a otros países de América. Esta enfermedad afecta exclusivamente a los frutos del cacao (*Theobroma cacao L.*) y a sus parientes cercanos como el cacao (*T. bicolor*, *T. grandiflorum* y *Herrania spp*). En el cacao, puede manifestarse mediante diferentes síntomas o combinaciones de ellos. Ocasionalmente, se presentan frutos que aparentan estar sanos externamente, pero internamente están dañados, lo cual se puede identificar por su mayor peso (Bolaños *et al.*, 2020).

1.2.3 Factores que afectan la presencia de la enfermedad

Los factores que favorecen la presencia de enfermedades en el cultivo de cacao se relacionan de forma directa con la susceptibilidad del material seleccionado y el manejo agronómico inadecuado a las condiciones agroecológicas de la región.

1.2.3.1 Material genético, precipitación y humedad relativa, temperatura, altitud y suelo

(Jaimes y Aranzazu 2016) presentan un resumen de los factores que afectan la presencia de la moniliasis en el cacao tal como se reseña a continuación: se han introducido materiales clonales eficientes como ICS1, ICS95, ICS39 y TSH565. Sin embargo, estos materiales son susceptibles a enfermedades como monilia y escoba de bruja, excepto TSH565, que es resistente a la escoba de bruja. Para aprovechar la calidad y productividad de los clones susceptibles, se recomienda establecer plantaciones por encima de los 800 metros sobre el nivel del mar (msnm), donde la incidencia y severidad de las enfermedades son menores. También es importante utilizar clones resistentes como patrones, como P7, IMC67, UF613, Pa46 y 150. En términos de precipitación y humedad relativa, se considera óptimo un rango de 1.500 a 2.500 mm de precipitación anual, evitando valores extremos para evitar enfermedades criptogámicas o ataques de insectos. La humedad relativa debe ser superior al 70%, ya que altos niveles de humedad favorecen el desarrollo de enfermedades causadas por hongos y oomicetos. En cuanto a la temperatura, se requiere una media anual alrededor de 24°C, evitando temperaturas superiores a 30°C y cambios bruscos entre el día y la noche. Las temperaturas bajas durante la noche contribuyen a la formación de rocío y la germinación de esporas de patógenos. En términos de altitud, las plantaciones de cacao en Colombia se encuentran principalmente entre 30 y 1.300 msnm, siendo preferibles altitudes superiores a 800 msnm para reducir la incidencia de escoba de bruja y moniliasis. Finalmente, la humedad del suelo es un factor limitante, ya que suelos mal drenados favorecen la presencia de patógenos que pueden causar pudrición y muerte de las raíces.

1.2.4 El control biológico

En el control biológico, se emplea la utilización de organismos vivos como estrategia para eliminar y disminuir la presencia de un patógeno. Esto se logra al interferir en el ciclo biológico del patógeno y promover la formación de diversas barreras. Además, el uso de agentes de control biológico contribuye a disminuir los niveles de infección sin causar efectos negativos o perjudiciales en la planta. Por el

contrario, protege a la planta al atacar directamente al patógeno y reducir su resistencia (Osorio, como se citó en Reatigue, 2021).

(Reatigue, 2021), posiciona a *Trichoderma harzianum* como el microorganismo antagónico más eficiente en el control biológico de *M. roleri*. Anteriormente, (Companioni et al., 2019) ya había mencionado que *Trichoderma spp.*, un hongo de amplia distribución, se encuentra de manera natural en el suelo, especialmente en aquellos que contienen materia orgánica o residuos vegetales en descomposición. Durante más de 80 años, se ha estudiado a las especies de *Trichoderma* como antagonistas de hongos fitopatógenos. Sin embargo, fue a principios del siglo XXI cuando se comenzaron a comercializar como agentes de control biológico en la agricultura, en respuesta a la demanda de obtener alimentos saludables con menor uso de fungicidas. Desde entonces, *Trichoderma* se ha considerado uno de los antagonistas de hongos fitopatógenos más utilizados en la agricultura moderna sostenible.

(Chamorro, 2018), relata que inicialmente se llevaron a cabo investigaciones y ensayos en el control biológico de la moniliasis, centradas en la evaluación de la eficacia *in vitro* de diferentes cepas de hongos, como *Aspergillus*, *Penicillium* y otros hongos y bacterias no identificados. Aunque los resultados obtenidos con las cepas de *Aspergillus* y *Penicillium* no fueron favorables, se observó cierta eficiencia en bacterias, posiblemente pertenecientes al género *Bacillus*.

De acuerdo con Estrella y Cedeño, (tal como se citó en Chamorro, 2018) fue a partir de los hallazgos mencionados anteriormente, que se han intensificado las investigaciones en Centro y Sudamérica especialmente en Costa Rica, Ecuador y Perú, que abarcan desde la evaluación de bacterias como *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Leuconostoc* formuladas en suspensión líquida y sólida para el control de *M. roleri*, hasta la utilización de mezclas de hongos micoparásitos como *Clonostachys rosea* y *Trichoderma spp.* para el control incluso de *P. palmivora* y *C. pernicioso*.

1.2.4.1 Hongos benéficos

(Villamil et al., 2015) destacan que en términos de *M. roleri* y *M. pernicioso*, se ha reconocido ampliamente que especies pertenecientes a los géneros

Trichoderma y *Gliocladium* son agentes altamente efectivos en el control biológico de las enfermedades ocasionadas por estos patógenos. Estas especies han demostrado su eficacia tanto en entornos de laboratorio como en situaciones reales en diversas regiones geográficas.

(López Barrera, 2021) empleando la técnica de RAPDs (ADN polimórfico al azar), clasificó de manera preliminar la población de hongos antagonistas aislados e identificados en el laboratorio a partir de muestras de suelos y material vegetal de plantaciones de cacao, evidenciando la variedad presente en los aislados. Además, se logró amplificar tres genes de las cepas *Beauveria bassiana*, *Trichoderma yunnanense* y *Purpureocillium lilacinus*, los cuales codifican una familia de proteasas encargadas de ejercer una acción antagonista contra una amplia gama de hospederos. Gracias a la amplificación de estos genes, se puede inferir que las cepas estudiadas son prometedoras como candidatos iniciales para la formulación de biopreparados destinados al control biológico de organismos plaga en cultivos de interés agrícola en la región.

1.2.5 Mecanismos de acción de los hongos antagónicos de la *Moniliophthora roreri*

(Chamorro, 2018) menciona que se han identificado varios mecanismos en la acción biocontroladora del *Trichoderma* que regulan el crecimiento de los hongos fitopatógenos. Estos mecanismos incluyen la competencia por recursos y espacio, el micoparasitismo, la producción de sustancias antibióticas y la capacidad de colonizar la rizosfera de las plantas. Además, se ha observado que el *Trichoderma* puede estimular mecanismos de defensa en las plantas, activar la producción de compuestos relacionados con la resistencia, detoxificar toxinas excretadas por los patógenos y facilitar la absorción de nutrientes que de otra manera serían inaccesibles para las plantas.

Osorio (como citó en Chamorro, 2018) señala que la competencia y el micoparasitismo son mecanismos esenciales en el control biológico del *Trichoderma*. La competencia se produce cuando diferentes organismos compiten por recursos limitados, y el micoparasitismo ocurre cuando el *Trichoderma* ataca y degrada las paredes celulares de los hongos a los que parasita.

Infante (como se citó en Chamorro, 2018) acotan que los mecanismos descritos anteriormente están influenciados por factores externos y las características del *Trichoderma*. Aunque se ha investigado ampliamente el micoparasitismo, todavía hay aspectos que no se comprenden completamente. Para su estudio, se ha dividido en varias etapas, que dependen de los hongos involucrados, el tipo de interacción y las condiciones ambientales (Chamorro, 2018).

El crecimiento quimiotrófico de *Trichoderma* se refiere a su capacidad para crecer directamente hacia un estímulo químico. Durante la etapa de localización del hospedante, se ha comprobado que *Trichoderma* puede detectarlo a distancia y sus hifas se dirigen hacia el patógeno en respuesta a una señal química (Infante, como se citó en Chamorro, 2018).

El reconocimiento en *Trichoderma* se lleva a cabo mediante interacciones entre lectinas y carbohidratos. Las lectinas son proteínas que se unen a azúcares o glicoproteínas, promoviendo la aglutinación celular y participando en las interacciones entre los componentes de la superficie celular y su entorno externo (Infante, como se citó en Chamorro, 2018).

Después de un reconocimiento positivo, las hifas de *Trichoderma* se adhieren y enrollan alrededor de las hifas del hospedante utilizando estructuras similares a ganchos y apresorios. Este proceso, mediado por enzimas, se facilita mediante la asociación de un azúcar presente en la pared del antagonista y una lectina presente en la pared del patógeno (Magdama, como se citó en Chamorro, 2018).

Durante la etapa de actividad lítica, se producen enzimas líticas extracelulares, principalmente quitinasas, glucanasas y proteasas. Estas enzimas degradan las paredes celulares del hospedante, permitiendo la penetración de las hifas del antagonista a través de los puntos de contacto donde ocurre la lisis (Magdama, como se citó en Chamorro, 2018).

La antibiosis se refiere a la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro que es sensible a ellos. Algunos expertos consideran que la antibiosis no debería ser el mecanismo de

acción principal de un antagonista, debido al riesgo de que aparezcan cepas del patógeno resistente a los antibióticos (Infante, como se citó en Chamorro, 2018).

Magdama (como se citó en Chamorro, 2018) indica que muchas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios, tanto volátiles como no volátiles, que inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no tienen contacto físico.

Infante (como se citó en Chamorro, 2018) estimó que la actividad inhibidora de los aislamientos de *Trichoderma* sobre otros hongos se debía exclusivamente a compuestos no volátiles. El mismo autor menciona que Dennis y Webster realizaron los estudios más completos sobre la función de los antibióticos producidos por *Trichoderma spp.* contra patógenos de plantas en 1971. Estos investigadores relacionaron la actividad antibiótica de *Trichoderma spp.* con compuestos no volátiles, como la trichodermina y otros metabolitos peptídicos. En investigaciones posteriores, también se descubrió que *Trichoderma spp.* produce algunos antibióticos más, como la gliotoxina y la viridina, la dermadina, suzukacilina, viridina, alameticina y richotoxina.

1.2.5.1 Ventajas y limitaciones del control biológico

(Companiononi *et al.*, 2019) destaca que a pesar de las bondades de *Trichoderma spp.* la capacidad de *Trichoderma* como antagonista es altamente variable. Según citan diversos autores, de 255 aislamientos obtenidos de diferentes ubicaciones, solo el 15% fue efectivo en el control de *Rhizoctonia*, paralelamente se ha sugerido que las cepas nativas de una región son más eficaces que las importadas, Martínez *et al.* (tal como se citó en Companiononi *et al.*, 2019) demostraron que la capacidad antagonista depende de la especificidad de la cepa y sus mecanismos de acción.

Arias y Guerrero (como se citó en Peñaherrera, 2013), señalan que la utilización de *T. koningiopsis* y *T. stromaticum* demostró una tendencia hacia la mejora de la salud general del cultivo de cacao al reducir las infecciones de enfermedades en la plantación y aumentar la producción de mazorcas saludables. Los agentes de control biológico aplicados tienen la capacidad de disminuir las

infecciones causadas por *M. royeri* de manera comparable a los fungicidas evaluados. Los autores observaron que *T. koningiopsis* fue el más efectivo en términos de mazorcas y mostró un mayor potencial para el control biológico del patógeno.

1.2.6 Factores climáticos

1.2.6.1 Interacciones ambientales que afectan la propagación del agente causal

Según Leandro-Muñoz *et ál.* (citado por Leandro y Cerda, 2021), la temperatura es el factor más influyente en la aparición de los síntomas y manifestaciones de la moniliasis. Las temperaturas elevadas (18-28°C) promueven la aparición de los síntomas y acortan significativamente el período de latencia de *M. royeri*, lo cual tiene importantes implicaciones en el manejo de la enfermedad, ya que se producirán más ciclos de la enfermedad en menos tiempo. Por otro lado, la prolongación de los días secos facilita la dispersión del hongo y afecta la sincronización entre el cultivo y el clima. En el caso de un cultivo perenne como el cacao, esta sincronización es de vital importancia, ya que se ha observado que las variedades que producen durante la época seca presentan una menor incidencia de enfermedades fúngicas, ya que "escapan" de la enfermedad al producir en un momento en el que las condiciones climáticas no son favorables para los patógenos (Maddison *et ál.*, citado por Leandro y Cerda, 2021).

(Mendoza y Morán, 2020), consideran que los principales parámetros a considerar para el seguimiento de las enfermedades del cacao, en el contexto agroclimático, son las precipitaciones, la temperatura, la humedad relativa y los vientos. Estos parámetros deben ser monitoreados al menos cada dos semanas, debido a que la Moniliasis puede manifestarse en un período de 30 a 45 días, mientras que la Mazorca negra puede evidenciarse en tan solo 15 días. Por lo tanto, el monitoreo debe estar adaptado al ciclo de cada enfermedad. Sin embargo, en la investigación planteada, los datos utilizados para validar el modelo no mostraban una distinción entre ambas enfermedades, por lo que se optó por utilizar una frecuencia quincenal la cual se integra como recomendación para su aplicación.

1.2.7 Manejo integrado de la moniliasis

(Anzules *et al.*, 2019) y (Pilaloo *et al.*, 2021) encontraron reducciones significativas en el uso de fungicidas (tanto químicos como biológicos) redujo la incidencia de las enfermedades "moniliasis", "mancha parda" y "cherelle wilt". Sin embargo, de manera sorprendente, las labores culturales aumentaron la incidencia de la enfermedad "cherelle wilt".

Los autores arriba mencionados, mencionan que no se encontró una relación directa entre el número de mazorcas y el rendimiento, pero se observó que el tratamiento T2 [Labores Culturales + Clorotalonil (1 kg·ha⁻¹) (cada 15 días) + Pyraclostrobin (0,5 kg·ha⁻¹) (cada 90 días) + Fertilizante (0,4 kg/planta) + Abono (2 kg/planta)] obtuvo el mayor rendimiento de cacao fermentado y seco, así como el mayor ingreso neto. La implementación de buenas prácticas agronómicas y de fertilización, junto con el control químico y biológico, puede aumentar los rendimientos y los ingresos económicos de los agricultores pequeños.

Investigadores como Ortiz-García *et al.* (como se citó en Anzules *et al.*, 2019) informaron sobre una disminución significativa en la incidencia de la enfermedad "moniliasis" mediante la implementación de un programa de manejo integrado.

Por otro lado, Maldonado (como se citó en Anzules *et al.*, 2019) observó una reducción del 40% en la incidencia de esta enfermedad después de realizar podas y raleos fitosanitarios en plantaciones de cacao. Dentro del enfoque del manejo integrado de estas enfermedades, se destaca el uso de algunos agentes antagonistas como *Bacillus subtilis*, empleado para el control de diversos fitopatógenos en cultivos de importancia económica. Además, se ha sugerido el uso de Clorotalonil como fungicida no sistémico de amplio espectro para el control de la moniliasis.

1.3 Marco legal

ACUERDO MINISTERIAL No. 299 EL MINISTRO DE AGRICULTURA, GANADERÍA, ACUACULTURA Y PESCA ACUERDA: “EXPEDIR LA NORMATIVA GENERAL PARA PROMOVER Y REGULAR LA PRODUCCIÓN ORGÁNICA-ECOLÓGICA-BIOLÓGICA EN EL ECUADOR”

CAPÍTULO I OBJETIVOS Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

Artículo 1. OBJETO. - La presente Normativa tiene como objetivo establecer el marco general para promover la investigación, la transferencia de tecnología, la capacitación y regular la producción, procesamiento, comercialización, etiquetado, almacenamiento, promoción y certificación de productos orgánicos de origen agropecuario, incluido la acuicultura, en el Ecuador.

Artículo 2. FINALIDAD. - La finalidad de esta Normativa elevar la competitividad del sector agropecuario, incluido la acuicultura, proteger la salud de los consumidores, preservar el dinamismo vital del ambiente y mejorar la calidad de vida de los actores de la cadena productiva de productos orgánicos a través de la investigación, la transferencia de tecnología y la capacitación para el desarrollo de la agricultura orgánica.

Artículo 3. ÁMBITO. - El presente instrumento será de aplicación obligatoria para las personas naturales y jurídicas, domiciliadas o con establecimiento permanente dentro del territorio en el Ecuador, que se presten a incursionar o intervengan en cualquiera de las fases que comprenda la cadena de producción orgánica de productos de origen agropecuario, incluida la acuicultura. Artículo 4.- Para efectos de esta Normativa, se utilizará los términos “ecológico” o “biológico” como sinónimos de “orgánico”, incluido sus abreviaturas siempre que estas abreviaturas hagan referencia a productos obtenidos bajo métodos de producción orgánica.

CAPÍTULO II DE LA AUTORIDAD NACIONAL COMPETENTE Artículo 5.- Es competencia del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca MAGAP, la aplicación del presente Acuerdo Ministerial a través de la Dirección de Productividad Agrícola Sostenible de la Subsecretaría de Agricultura, la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro-AGROCALIDAD, el Instituto Nacional de Pesca-INP y el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias-INIAP. Para este efecto se elaborarán y revisarán las políticas, normas y procedimientos para su cumplimiento en el marco de esta Normativa. Artículo 6.- Se designa a la Dirección de Productividad Agrícola Sostenible de la Subsecretaría de Agricultura, como Autoridad Nacional de Fomento de la producción orgánica en el Ecuador. Artículo 7.- La Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro AGROCALIDAD, es la Autoridad Nacional Competente responsable del control de los procesos de certificación de productos orgánicos de origen agropecuario incluido la acuicultura y del control de los actores de la cadena de producción orgánica en el Ecuador, como productores, procesadores, comercializadores, importadores, exportadores, inspectores orgánicos y agencias certificadoras de productos orgánicos. Artículo 8.- El Instituto Nacional de Pesca-INP, es la Autoridad Nacional Competente responsable de promover la investigación, la transferencia de

tecnología y capacitación en materia de producción orgánica acuícola en el Ecuador. Artículo 9.- El Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias-INIAP, es la Autoridad Nacional Competente responsable de la investigación, transferencia de tecnología y capacitación en materia de producción orgánica agropecuaria en el Ecuador.

CAPÍTULO III

DEL PLAN NACIONAL DE FOMENTO DE LA PRODUCCIÓN ORGÁNICA

Artículo 10.- La Dirección de Productividad Agrícola Sostenible de la Subsecretaría de Agricultura, formulará y ejecutará la implementación del Plan Nacional de Fomento de la Producción Orgánica, con la participación de los actores públicos y privados de la cadena de producción orgánica, acorde con los Planes de Desarrollo del Gobierno Nacional e iniciativas enfocadas al fomento de la producción orgánica en el país.

CAPÍTULO IV

DEL SISTEMA NACIONAL DE CONTROL DE LA PRODUCCIÓN ORGÁNICA

Artículo 11.- La Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro AGROCALIDAD implementará el Sistema Nacional de Control de la Producción Orgánica, garantizando que los productos orgánicos sean producidos, procesados y comercializados de acuerdo a lo dictaminado en esta Normativa y su Reglamento.

Artículo 12.- La inscripción o registro en el Sistema Nacional de Control será de carácter obligatorio para los actores que participen en la cadena de producción orgánica.

Artículo 13.- La Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro AGROCALIDAD, deberá garantizar la capacidad institucional, técnica y sancionadora a las inobservancias de la presente normativa.

Artículo 14.- La certificación de productos que cumplen con esta normativa y demás reglamentos de producción orgánica, deberá ser efectuada por “organismos evaluadores de la conformidad”, legalmente constituidos en el país y que hayan sido acreditados por el Organismo de Acreditación Ecuatoriano-OAE y registrados ante la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro-AGROCALIDAD.

Artículo 15.- La certificación alternativa de productos que se comercialicen bajo el esquema de “sistemas alternativos de garantía limitada en los mercados locales”, deberán cumplir con las disposiciones establecidas por la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro-AGROCALIDAD, dentro de su competencia.

DISPOSICIÓN TRANSITORIA

En el plazo de noventa (90) días contados a partir de la publicación en el Registro Oficial del presente Acuerdo Ministerial, la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro-AGROCALIDAD, elaborará el Instructivo para la Producción Orgánica en el Ecuador. Los manuales técnicos para el control de la producción orgánica, se emitirán mediante Resoluciones Técnicas elaboradas, suscritas y aprobadas por la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro-AGROCALIDAD, en su calidad de Autoridad Nacional Competente del Control de la producción orgánica. La normativa para el fomento, promoción de la investigación, transferencia tecnología y capacitación en materia de producción orgánica

agropecuaria y acuícola, se emitirán mediante Resoluciones Técnicas elaboradas, suscritas y aprobadas según corresponda por las Instituciones mencionadas en la presente normativa en concordancia con las atribuciones delegadas.

DISPOSICIÓN DEROGATORIA

Derogar expresamente “La Normativa General para Promover y Regular la Producción Orgánica en el Ecuador” prevista en el libro II, Título XV del TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACIÓN SECUNDARIA DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA, expedido mediante Decreto Ejecutivo No. 3609, de 14 de enero del 2003, publicado en el Registro Oficial Edición Especial No. 1, de 20 de marzo del 2003.

DISPOSICIÓN FINAL

De la ejecución del presente Acuerdo Ministerial, que entrará en vigencia a partir de su suscripción, sin perjuicio de su publicación en el Registro Oficial, encárguese a la AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO – AGROCALIDAD (MAG, 2013).

CAPÍTULO 2

ASPECTOS METODOLÓGICOS

2.1 Métodos.

El método de investigación propuesto para el estudio combinó métodos cuantitativos y cualitativos. Esto permitió recopilar datos numéricos y cualitativos para comprender tanto las características biológicas de los hongos benéficos y cual es su comportamiento sobre la incidencia de la moniliasis en el cacao.

2.1.1 Modalidad y Tipo de Investigación.

La modalidad de investigación más adecuada para este estudio fue un enfoque experimental. Se diseñó un experimento bajo condiciones controladas en el que se brindó condiciones climáticas óptimas para el desarrollo tanto de microorganismo benéfico (*Trichoderma spp*), como del patógeno (*Moniliophthora roreri*), estas condiciones fueron temperatura de 28°C y humedad relativa del 80%, las mismas se consiguieron mediante la implementación de cámara húmeda, se realizó el control de estas condiciones controladas mediante un higrómetro, con el objetivo de evaluar su impacto en el desarrollo de la moniliasis y en la efectividad de los hongos benéficos para controlar la enfermedad. Paralelamente, se estudiaron muestras de campo para obtener información sobre la presencia y actividad de los hongos benéficos sobre patógenos fúngicos.

2.2 Variables.

2.2.1 Variable Independiente

- La actividad de hongos benéficos (complejo comercial de *T. harzianum*) a nivel *in vitro* frente al hongo patógeno *Moniliophthora roreri*
- Datos climáticos obtenidos mediante higrómetro

2.2.2 Variable Dependientes.

- Géneros de hongos recolectados e identificados mediante microscopía (laboratorio)

- Porcentaje de inhibición del crecimiento de la monilla a nivel *in vitro*

Identificación de hongos benéficos

El proceso de identificación de hongos benéficos empieza con la recolección de muestras de suelos, el mismo se obtuvo de la parcela experimental de cacao nacional de la Ciudad Universitaria Milagro utilizando arroz cocido simple y frío en contenedores de vidrio con tapa de lienzo, enterrados a una profundidad de 15-20 cm en puntos estratégicos del cultivo durante 4 días. Posteriormente, se realizó la inoculación en medio PDA (Agar dextrosa de papa), se dosificó 39gr de PDA en 1000 ml de agua destilada siguiendo las recomendaciones del fabricante, esta solución se colocó en autoclave a 121° C por 20 minutos, posteriormente mediante el uso de cámara de flujo laminar se dispuso el medio de cultivo en cajas Petri, para realizar la siembra de los materiales fúngicos recolectados, que fueron incubados a una temperatura de 28 ° C. Los hongos se identificaron de acuerdo con las claves dicotómica especificadas en el “Manual de Clave dicotómica para la identificación de hongos” (SEM, 2021)

Grado de antagonismo (GA):

Se midió según la escala propuesta por Bell *et al.* (1982) y Askew y Laing (1994), la cual describe el crecimiento del biocontrolador frente al mico patógeno tal como se reseña a continuación:

Clase 1: *Trichoderma* crece completamente sobre el patógeno y cubre toda la superficie del medio.

Clase 2; *Trichoderma* crece al menos sobre dos tercios de la superficie del medio.

Clase 3; *Trichoderma* coloniza el 50% del medio y ningún organismo aparece dominado por el otro.

Clase 4: El patógeno coloniza al menos dos tercios de la superficie del medio

Clase 5: El patógeno crece completamente sobre la superficie del medio.

Los datos se tomaron a las 24 horas y 48 horas.

Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC): Cada 24 h se midió el radio de la colonia del patógeno en todas las cajas Petri y se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{PIC} = [(\text{Ctest} - \text{Ctrat}) / \text{Ctest}] \times 100.$$

Ctest= crecimiento del testigo

Ctrat= crecimiento del tratamiento

Los datos obtenidos se analizaron mediante el empleo del Anova y la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Tabla 1. Matriz de operacionalización de las variables

TIPO DE VARIABLE		DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	TIPO DE MEDICIÓN	INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN
INDEPENDIENTE	Análisis comparativo de hongos benéficos en el manejo de moniliasis (<i>Moniliophthora roreri</i>) en cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) a nivel <i>in vitro</i>	La enfermedad puede estar afectadas por los parámetros climáticos y el nivel de antagonismo de los hongos benéficos a nivel <i>in vitro</i> e <i>in situ</i> .	Comparación <i>in vitro</i> del comportamiento del hongo patógeno frente a los hongos antagonísticos evaluados	Casos similares de comportamiento de hongos antagonísticos frente a patógenos	Cualitativa	Claves Dicotómica
DEPENDIENTE	Hongos benéficos identificados (laboratorio). Nivel de antagonismo mediante pruebas duales (laboratorio). Porcentaje de inhibición del crecimiento de la monilla a nivel <i>in vitro</i> .		Identificación por clave taxonómica de hongos benéficos. Antagonismo por pruebas duales. Inhibición por medición de crecimiento.	Diámetro de la colonia Nivel de antagonismo Tasa de inhibición del crecimiento del hongo patógeno	Cualitativa Cuantitativa	Claves Dicotómica Diámetro micelial (ml)

Cruz, 2024

2.3 Población y Muestra.

2.3.1 Población. – Las plantas de cacao Nacional de la parcela de Ciudad Universitaria Dr. Jacobo Bucaram Ortiz Milagro

2.3.2 Muestra. – Se tomo muestras de suelo de 10 plantas la misma se realizo mediante el muestreo en zigzag que es una combinación del muestreo sistemático y el aleatorio con la finalidad de garantizar mayor cobertura de la parcela experimental.

2.4 Técnicas de Recolección de Datos.

Los datos fueron recolectados de las cajas petri. Todos los crecimientos y aislamientos respectivos se realizaron en medio PDA (Papa Dextrosa Agar, Acumedia) en placas Petri de 9 cm de diámetro y se incubaron a 28 ° C y 80% de humedad relativa durante 5 días en condiciones de oscuridad. Para la tinción, se empleó una solución de Azul de lactofenol.

Se estableció el grado de antagonismo (GA) midiendo según la escala propuesta por Bell et al. (1982) y Askew y Laing (1994), la cual describe el crecimiento del biocontrolador frente al micopatógeno tal como se describe en la tabla.

Tabla 2. Grado de antagonismo (GA) según la escala propuesta por Bell, Well y Markham, 1982) y Askew y Laing, (1994)

Categoría	Descripción
Clase 1	<i>Trichoderma</i> crece completamente sobre el patógeno y cubre toda la superficie del medio
Clase 2	<i>Trichoderma</i> crece al menos sobre dos tercios de la superficie del medio
Clase 3	<i>Trichoderma</i> coloniza el 50 % del medio y ningún organismo aparece dominado por el otro
Clase 4	El patógeno coloniza al menos dos tercios de la superficie del medio
Clase 5	El patógeno crece completamente sobre la superficie del medio

Para determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC): Cada 24 h se midió el radio de la colonia del patógeno en todas las cajas Petri aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{PIC} = [(\text{Ctest} - \text{Ctrat}) / \text{Ctest}] \times 100.$$

Ctest= crecimiento del testigo

Ctrat= crecimiento del tratamiento

Los datos climáticos se controlaron mediante un higrómetro a fin de brindar las condiciones idóneas para el desarrollo de los microorganismos en estudio.

2.5 Estadística Descriptiva e Inferencial.

La presentación de los datos se planteó de manera descriptiva y fueron expresados en porcentaje y UPM/g según sea el caso

2.6 Diseño Experimental.

Para llevar a cabo la fase experimental de laboratorio de esta investigación se empleó un diseño completamente al azar dentro del cual se valoraron tres tratamientos, los mismos que se indican en la Tabla 4. Cada tratamiento se evaluó mediante 10 repeticiones generándose un total de 30 unidades experimentales. Cada unidad experimental estará representadas por cajas de Petri.

2.7 Tratamientos a evaluar

En la Tabla 4 se puede apreciar la distribución de los tratamientos donde se evaluaron dos fórmulas comerciales de *Trichoderma*: Biotrich con la especie identificada (*T. harzianum*) y Tricomix que es un producto que es formulado con las especies *T. harzianum* y *T. viridis* y un tercer tratamiento que fue con una cepa recolectada en campo y que se identificó a nivel de género que pertenecía a *Trichoderma spp.* Las cantidades empleadas fue de 1×10^9 esporas/mL por caja Petri.

Tabla 3. Tratamientos evaluados en el ensayo

	Fórmula comercial de <i>T. harzianum</i> enfrentado con <i>M. rorei</i>	Fórmula comercial de (<i>T. harzianum</i> y <i>T. viridis</i>) enfrentado con <i>M. rorei</i>	<i>Trichoderma spp.</i> (recolectado) enfrentado con <i>M. rorei</i>
Cajas de Petri	10	10	10

Cruz, 2024.

2.8 Análisis de varianza

Para la valoración estadística de las variables de respuesta se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) y el test de comparación de medias de Tukey, ambas al 5% de error tipo I. El modelo de ANOVA se detalla en la Tabla 5.

Tabla 4. Anova del experimento

	FV	gl
Tratamientos (t-1)		2
Error experimental t(r-1)		27
Total tr-1		29

Cruz, 2024.

Cabe indicar que estos análisis se realizaron previo ajuste de los datos a distribución normal en los casos que se requieran.

RESULTADOS

OE1. Identificar los géneros del microbiota fúngico endémica presente en el sitio experimental

Se identificaron varios géneros de hongos del muestreo realizado en el cultivo de cacao del campus Ciudad Universitaria Dr. Jacobo Bucaram Ortiz Milagro, siendo los predominantes *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Fusarium*, entre otros. Estos géneros son conocidos por ser comúnmente encontrados en suelos agrícolas tropicales.

OE2. Estimar la acción de los hongos benéficos en el control de moniliasis a nivel in vitro

Acción de hongos benéficos en el control de moniliasis a nivel in vitro

- Se evaluó al hongo *Trichoderma harzianum* por su capacidad de inhibir el crecimiento de *Moniliophthora roreri*.
- Se observó una inhibición significativa del crecimiento del hongo patógeno en presencia de la cepa de *T. harzianum*, mostrando una gran capacidad para el control biológico de la moniliasis a nivel *in vitro*.

En la Tabla 6 se presenta el porcentaje de inhibición de crecimiento PIC (ajustado Log10) del patógeno *M. roreri* por acción de *T. harzianum* comercial (Biotrich) y *T. harzianum* y *T. viridis* (Tricomix) y *Trichoderma spp* recolectado en las pruebas de antagonismo donde no se detectó significancia ($p > 0.05$) entre los tratamientos siendo iguales entre sí. No obstante, el mayor valor correspondió a la marca comercial Biotrich (27.80), seguido de *Trichoderma spp.* (26.23) y la otra marca comercial Tricomix con 25.31. El coeficiente de variación calculado y ajustado fue de 25.68%.

Tabla 5. Porcentaje de inhibición de crecimiento PIC del patógeno *M. roleri* por acción de *T. harzianum* comercial (Biotrich y Tricomix) y *Trichoderma spp.* en las pruebas de antagonismo

NO.	TRATAMIENTO	\bar{x}
1	Tricomix	25.31 a
2	Biotrich	27.80 a
3	<i>Trichoderma spp.</i>	26.23 a
	CV (%)	25.68

Cruz, 2024

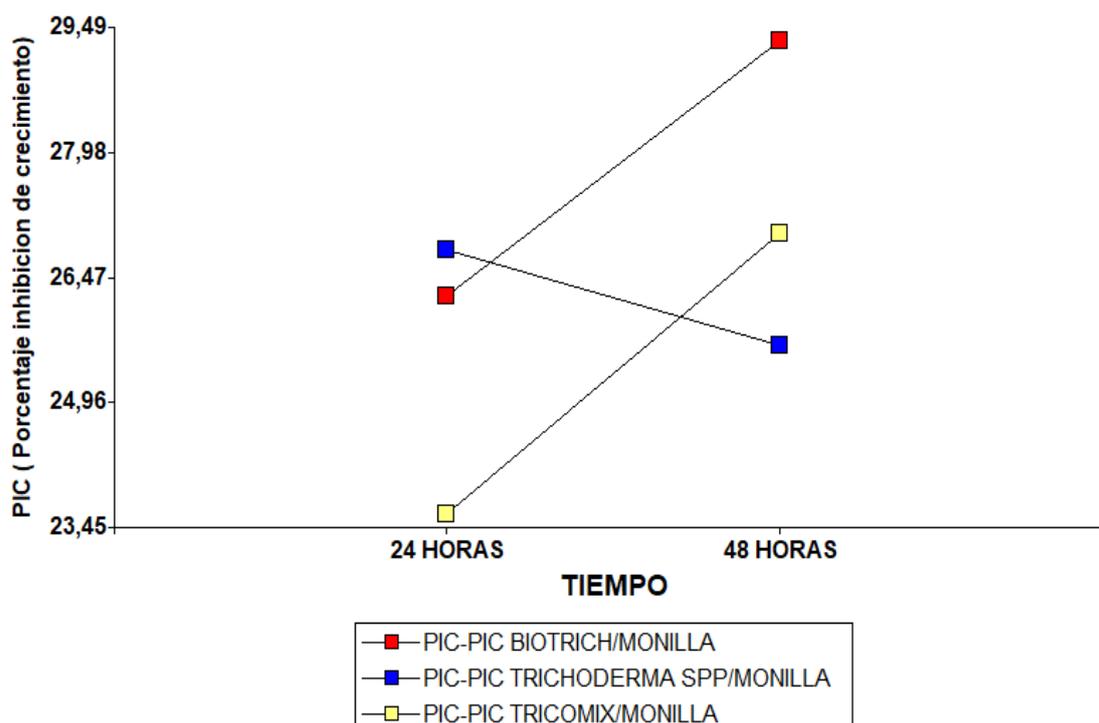


Figura 1. Porcentaje de inhibición de crecimiento por el tiempo

En la figura N.1, se puede distinguir que el tratamiento con BIOTRICH presento una mayor inhibición en el crecimiento de *M. roleri*, a pesar de que esta distinción no fue diferente significativamente respecto a los otros tratamientos. Así mismo, el tratamiento a base de *Trichoderma spp.* no aporoto evidencia de inhibición, más bien ésta tuvo un crecimiento a favor de *M. roleri* a las 48 horas.

Cruz,2024.



Figura 2. Pruebas de antagonismo entre *M. roleri* y las cepas de *Trichoderma*

Cruz,2024.



Figura 3. *M. roleri* teñida con azul de lactofenol

Cruz,2024.

OE3. Analizar la influencia de los factores climáticos sobre la acción antagonista de los hongos benéficos y la moniliasis

En la Tabla 6, se observan los datos climáticos de la zona de Milagro, lugar donde se recolecto los hongos para el trabajo experimental. La precipitación anual fue de 1.200 - 1.400 mm, el pH del suelo fue de 6.5 a 8.0 el cual se considera ligeramente

ácido a neutro. La humedad relativa calculada se ubicó entre el 70% - 80% la cual se aprecia como alta, mientras que, la Heliofanía detectada alcanzó valores entre 2.500 - 3.000 horas/año siendo considerablemente alta.

Tabla 6. Datos climáticos de la zona de Milagro, 2023

Parámetro edafoclimático	Valor
Precipitación anual	1200-1400 mm
pH del suelo	6.8-8.0
Humedad relativa	70-80%
Heliofanía	2500-3000 horas/luz/año

Fuente: Estación Agrometeorológica Ingenio Valdez, 2023

La información antes mencionada es un indicativo de las condiciones ambientales en donde cohabitan el patógeno *Moniliophthora roreri* y *Trichoderma spp* (cepa aislada e identificada a nivel de género), así mismo en laboratorio se evaluó la influencia de los factores climáticos temperatura y humedad relativa sobre el crecimiento micelial. Determinando que a temperatura de 28° C y 80% de humedad relativa el desarrollo de los microorganismos es eficiente, alcanzando un porcentaje de inhibición en el caso de Tricomix (*T. harzianum* y *T. viridis*) de hasta un 67 % en las evaluaciones realizadas y en promedio el análisis de datos indican que la inhibición promedio con este producto comercial fue de 25.31, así mismo Biotrich alcanzo como valor máximo de inhibición en una de las réplicas 67.7% y una media de 27.80, por ultimo la cepa aislada de la parcela experimental registro como máximo valor de inhibición 59.5% y como media 26.2%. Se puede corroborar mediante estos datos que si *Trichoderma spp* es sometido a condiciones climáticas adecuadas tiene la capacidad de inhibir el desarrollo de *Moniliophthora roreri*, sin embargo es importante analizar otros factores climáticos que inciden en su capacidad de bio controlador.

DISCUSIÓN

Los hongos identificados en el laboratorio, fueron principalmente *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Fusarium*, entre otros que no se logró identificar. Los géneros encontrados son comunes en suelos tropicales dedicados a la explotación agrícola. (Mendoza & Pazmiño, 2021) reportaron la presencia de ocho géneros de hongos en suelos cacaoteros del litoral ecuatoriano entre ellos se encuentran *Trichoderma*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Beauveria*, *Cladosporium* y *Bipolaris*, esta información coincide con el reporte de hongos obtenido en esta investigación ya que se identificó los cuatro primeros géneros.

Las especies fúngicas autóctonas inciden en el mantenimiento de la sanidad del suelo y la productividad de las plantas, enfatizando la necesidad de explorar más a fondo las comunidades fúngicas endémicas en entornos agrícolas, al respecto, (Mészárošová et al., 2024), manifiestan que las comunidades microbianas del suelo están mayormente estructuradas por el sitio de muestreo y muestran patrones espaciales significativos que son parcialmente impulsados por la química del suelo. La influencia de la planta focal en el microbioma del suelo es baja, pero tiende a aumentar con la sucesión y la diversidad de plantas. Por el contrario, las comunidades de raíces, especialmente las bacterianas, están fuertemente estructuradas por las especies de plantas autóctonas.

Los resultados presentados muestran una comparación del porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) del patógeno *M. royeri* por cepas de *Trichoderma*, tanto comerciales como recolectadas. A pesar de no encontrar diferencias significativas entre los tratamientos, se observó una ligera tendencia hacia una mayor efectividad en la cepa comercial Biotrich (27.80%). Los resultados obtenidos en esta investigación son consecuente con la investigación realizada por (Quispe, 2023) en la misma se evaluaron tres cepas de *Trichoderma* spp y se reportó la inhibición del crecimiento micelial de *M. royeri* en un 45,02% (cepa TH2), 44,89% (cepa TL3) (cepa y un PIC de 42,11% (cepa NSHS3T).

La interacción de los factores climáticos puede tener un efecto complejo sobre la acción antagónica de los hongos benéficos sobre la moniliasis. En general, un pH óptimo del medio de cultivo (3.5), una humedad relativa alta, y una temperatura entre 28 y 35° C pueden favorecer la acción antagónica de los hongos benéficos. Estas condiciones ambientales concuerdan con las implementadas por (Fraga, 2023) en su investigación titulada Evaluación y multiplicación de *Trichoderma* spp. en tres tipos de sustratos en la misma se determinó que bajo las condiciones controladas antes mencionadas existió un desarrollo óptimo de *Trichoderma* spp.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En la parcela experimental de cacao nacional que posee la Ciudad Universitaria Dr. Jacobo Bucaram Ortiz – Milagro. Se identificaron los géneros *Fusarium spp.*, *Trichoderma spp.*, *Aspergillus* y *Penicillium* como parte del microbiota fúngico acompañante de *M. roreri*, lo cual proporciona una base importante para comprender la dinámica de la comunidad microbiana en el ecosistema del cacao y su posible implicación en el control de enfermedades como la moniliasis.

Se pudo observar el antagonismo de *T. harzianum* en el control de moniliasis a nivel in vitro el cual inhibió significativamente a *Moniliophthora roreri* colonizándola totalmente. La utilización de *Trichoderma spp.* se presenta como una estrategia prometedora para el control de la pudrición de la mazorca del cacao causada por *M. roreri*.

La interacción entre factores climáticos y la acción antagónica de hongos benéficos sobre la moniliasis es compleja y multifactorial en la agricultura. Es esencial considerar no solo las condiciones ambientales para el desarrollo de estos hongos, sino también factores como el tipo de suelo, la competencia microbiana y las prácticas agrícolas.

Recomendaciones

Continuar explorando la diversidad de hongos endémicos en el ecosistema del cacao para identificar cepas con potencial biocontrolador contra *Moniliophthora roreri*.

Realizar ensayos a campo para validar la eficacia de los hongos benéficos identificados en condiciones naturales. Para lo cual se debe considerar aspectos prácticos como la aplicación y la viabilidad económica.

Profundizar en estudios que analicen el papel de los factores climáticos en la interacción entre los hongos benéficos y la moniliasis y promover prácticas de manejo integrado de enfermedades que incorporen el uso de hongos benéficos junto con otras estrategias, como la selección de variedades resistentes y la mejora de las condiciones agronómicas, para maximizar la eficacia y la sostenibilidad del control de la moniliasis en cultivos de cacao.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Ana R. García-Briones , Bryan F. Pico-Pico, R. E. J. *. (2021). La cadena de producción del Cacao en Ecuador: Resiliencia en los diferentes actores de la producción. *NovasinerGía Revista Digital De Ciencia, Ingeniería Y Tecnología*, 4(2), 152–172. <https://doi.org/10.37135/ns.01.08.10>
- Anzules T. V., Borjas, V. R., Alvarado, H. L., & Castro-Cepero, V., Julca-Otiniano, A. (2019). Control cultural, biológico y químico de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* spp en *Theobroma cacao* 'CCN-51.' *Scientia Agropecuaria*, 10(4), 511–520. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.04.08>
- Anzules-Toala, V., Pazmiño-Bonilla, E., Alvarado-Huamán, L., Borjas-Ventura, R., Castro-Cepero, V., & Julca-Otiniano, A. (2022). Control of cacao (*Theobroma cacao*) diseases in Santo Domingo de los Tsachilas, Ecuador. *Agronomia Mesoamericana*, 33(1), 0–12. <https://doi.org/10.15517/am.v33i1.45939>
- Albores Flores, V. J., Gómez Rodríguez, L., López García, J. A., & Grajales Conesa, J. (2022). Mecanismos de infección endógena en frutos de cacao con *Moniliophthora roreri*. *Polibotánica*, 0(0), 197–209.
- Arvelo Sánchez Miguel Ángel, González León Diego, Maroto Arce Steven, Delgado López Tanya, M. R. P. (2017). Manual Técnico del Cultivo de Cacao Prácticas Latinoamericanas. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura IICA. In *Manual Técnico*.
- Askew, D. J., & Laing, M. D. (1994). The in vitro screening of 118 *Trichoderma* isolates for antagonism to *Rhizoctonia solani* and an evaluation of different environmental sites of *Trichoderma* as sources of aggressive strains. *Plant and Soil*, 159(2), 277–281. <https://doi.org/10.1007/BF00009290>
- Bell D.K., Well H.D., M. C. R. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal planta pathogens. *Ecology and Epidcmiology*, 72(4), 379–382.

- Bolaños, M., Vasco, A., Mercado, A., Caicedo, J., Castro, S., & Morales, D. (2020). Comportamiento agroproductivo de 31 clones de Cacao Nacional (*Theobroma cacao* L). Con la aplicación de un biocontrolador para moniliasis (*Moniliophthora roreri*). *Revista Científica Interdisciplinaria Investigación y Saberes*, 10(2), 1–8.
- Brito, S. E. (2021). Impacto socioeconómico de una entrada potencial de la moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri*) a República Dominicana. In *Tesis de postgrado* (Vol. 14, Issue 1). CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA DIVISIÓN.
- Cadena M., F., Poma, L. S. (2022). Manejo de la moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri*) con la aplicación de dos especies de *Trichoderma*. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 9(2), 37–43.
- Chamorro, M. (2018). Evaluación de programas fitosanitarios junto a una práctica cultural para el control de *Moniliophthora roreri* en cacao (*Theobroma cacao*). In *Tesis de pregrado*.
- Companioni, B., Domínguez, G., & García, R. (2019). *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Biotecnología Vegetal*, 19(4), 237–248.
- Chochocca, R. R. S., Avila, E. G., Fernandez Rojas, J. H., Suazo, J. M. A., De La Cruz, A. R. H., & Hadi Mohamed, M. M. (2022). Antifungal effect from *Zingiber officinale*, *Aloe vera* and *Trichoderma* sp. for control of *Moniliophthora roreri* in *Theobroma cacao* in Huánuco, Peru. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 75(1), 9823–9830.
<https://doi.org/10.15446/RFNAM.V75N1.95804>
- Fajardo, M. M. T. (2014). Producción y uso del hongo *Trichoderma harzianum* en el control de moniliasis (*Moniliphthora roreri*) en mazorcas de cacao. *FACULTAD*, 1–9.
- García, C. R. L., & García, F. M. F. (2023). Evaluar la eficiencia de *Trichobon* (*Trichoderma* spp) en tres dosis como agente de control de *Moniliophthora*

roreri en cacao (*Theobroma cacao*L) en el recinto Estero piedras –Naranjal. *Universidad de Cuenca*, 01–60.

Guamán Villa, M. A., Jaramillo Aguilar, E. E., & Bernal Morales, J. F. (2022). Control biológico de la mazorca negra (*Phytophthora Palmivora* L.) En el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 5(3), 149–154. <https://doi.org/10.62452/54qhgb79>

Guerrero, R., Cevallos, O., Eguez, E., Peñaherrera, S. (2020). El potencial del uso de microorganismos endofíticos como agentes de control de enfermedades en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Centrosur*, October 2020, 1–12.

Huaman Pampañaupa, J., Márquez Romero, F., Cabrera Márquez, S., Paricoto Apaza, D. (2021). Evaluación in vitro de 14 medios de cultivo sobre el crecimiento micelial de *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora. *Tayacaja*, 4(1), 168–179. <https://doi.org/10.46908/tayacaja.v4i1.162>

Isaí Quevedo D. (2007). Evaluación de fungicidas sistémicos y de contacto en el control de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*). *Tesis de Postgrado*, 116.

Jaimes, S. Y., Aranzazu, H. F. (2016). Manejo de las enfermedades del cacao (*Theobroma cacao* L) en Colombia, con énfasis en monilia (*Moniliophthora roreri*). In *Fondo Nacional del Cacao. Corpoica. Ministerio de Agricultura y Desarrollo rural*.

Leandro, M., Cerda, R. (2021). Guía para el manejo integrado de enfermedades en el cultivo de cacao. In *CATIE. Serie técnica Manual técnico no. 146*.

López Barrera, G. L. (2021). Análisis molecular de hongos antagonistas aislados de plantaciones de cacao (*Theobroma cacao*) de Norte de Santander. *Ingeniería Y Competitividad*, 23(2), 2–11. <https://doi.org/10.25100/iyc.23i2.11154>

MAG. (2013). ACUERDO MINISTERIAL. In *REGISTRO OFICIAL No. 34* (Issue 299).

- Manzano, P., Magdama, F., Orellana, M. A., Ruiz, B. O., Miranda, M., Orellana, T., Peralta, E. (2023). Compuestos bioactivos contra *Moniliophthora roreri* (Cif & Par) identificados en enmiendas líquidas producidas localmente (bioles). *Rev. Fac. Nac. Agron*, 76(2), 10323–10333. <https://doi.org/https://doi.org/10.15446/rfnam.v76n2.99365>
- McElroy, M. S., Navarro, A. J. R., Mustiga, G., Stack, C., Gezan, S., Peña, G., Sarabia, W., Saquicela, D., Sotomayor, I., Douglas, G. M., Migicovsky, Z., Amores, F., Tarqui, O., Myles, S., & Motamayor, J. C. (2018). Prediction of cacao (*Theobroma cacao*) resistance to *moniliophthora* spp. diseases via genome-wide association analysis and genomic selection. *Frontiers in Plant Science*, 9(March), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00343>
- Mendoza, G., Morán, J. A. (2020). Implementación de un Sistema de Alerta Temprana Agroclimático ante la ocurrencia de enfermedades (Moniliasis y Mazorca Negra) en las plantaciones de cacao en la provincia de Los Ríos - Ecuador. Fases (1) Conocimiento del riesgo, (2) y Monitoreo y servicio. *Tes*, 1.
- Mendoza, E., Cervantes, X., & Zamora, E. (2022). *Recorrido histórico de la importancia del cacao para la economía de Ecuador A historical overview of the importance of cocoa for Ecuador's economy.*
- Mészárosóvá, L., Kuřáková, E., Kohout, P., Münzbergová, Z., & Baldrian, P. (2024). Plant effects on microbiome composition are constrained by environmental conditions in a successional grassland. *Environmental Microbiome*, 19(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s40793-024-00550-z>
- Moreno-Miranda, C., Molina, I., Miranda, Z., Moreno, R., y Moreno, P. (2020). la cadena de valor de cacao en ecuador: una propuesta de estrategias para coadyuvar a la sostenibilidad. In *Bioagro* (Vol. 32, Issue 3).
- Naula Parra, G. A. (2023). *manejo de moniliasis (Moniliophthora roreri) con aceite ionizado en cultivo de cacao (Theobroma cacao L.) Cantón Milagro, Guayas.*
- Peñaherrera, V. S. (2013). Combinación de agentes biológicos para el control de enfermedades del fruto de cacao. In *Tesis de pregrado*. Universidad Técnica

Estatad de Quevedo.

- Peñaherrera, V. S., Cedeño, G. G., Solórzano, A. F., Cedeño, G. G., & Terrero, Y. P. (2020). Efficacy of mixtures of *Trichoderma* spp. and palm oil in the management of *Moniliophthora roreri* Cif & Par in cocoa. *Centro Agrícola*, 47(2), 5–15.
- Pérez-Vicente, L. (2018). *Moniliophthora roreri* H.C. Evans et al. y *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime: impacto, síntomas, diagnóstico, epidemiología y manejo. *Revista de Protección Vegetal*, 33(1), 00–00.
- Perez, C. E. D., & Zorrilla, C. J. C. (2018). Biofungicidas para el control de moniliasis en el cultivo de *Theobroma cacao* L. Clon 575 en la ESPAM MFL. In *Tesis de pregrado*.
- Pilaloo David, W., Alvarado Aguayo, A., Pérez Vaca, D., & Torres Sánchez, S. (2021). Manejo agroecológico de la Moniliasis en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) mediante la utilización de biofungicidas y podas fitosanitarias en el cantón La Troncal. *Revista Alfa*, 5(15), 453–468. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v5i15.129>
- Ramírez, G. J. (2016). Pérdidas económicas asociadas a la pudrición de la mazorca del cacao causada por *Phytophthora* spp., y *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al., en la hacienda Theobroma, Colombia. *Rev. Protección Veg*, 31(1), 42–49.
- Reatigue M. A. (2021). Tratamiento de la moniliasis en plantaciones de cacao (*Theobroma cacao*) utilizando un biocontrolador *Trichoderma harzianum* en el centro poblado de Macuya, Distrito de Tournavista, provincia de Puerto Inca – Huánuco, 2019 – 2020. In *Tesis de pregrado* (Vol. 1).
- Rodríguez, W. (2021). Memorias del II Congreso de Control Biológico Aplicado. In *Archivos Académicos USFQ* (Issue 36). <https://doi.org/10.18272/archivosacademicos.vi36.2313>
- Serrano, L., Moreno, A. S., Sosa, D., Castillo, D., Bonilla, J., Romero, C. A., &

- Galarza, L. L. (2021). Biosurfactants synthesized by endophytic *Bacillus* strains as control of *Moniliophthora perniciosa* and *Moniliophthora roreri*. *Sci. Agric.* <https://doi.org/DOI: http://doi.org/10.1590/1678-992X-2020-0172>
- Sol-Sánchez, Á., López-Juárez, S. A., Córdova-Ávalos, V., & Gallardo-López, F. (2018). Productividad potencial del SAF cacao asociado con árboles forestales. *Rev. Iberoam. Bioecon. Cambio Clim.*, 4(7), 862–877. <https://doi.org/10.5377/ribcc.v4i7.6327>
- Solórzano Guerrero, J. N. (2024). *NIVEL DE DAÑOS OCASIONADOS POR LOS PATÓGENOS EN MAZORCAS DEL CULTIVO DE CACAO (Theobroma cacao), VINCES, LOS RÍOS.*
- Villamil Carvajal, J. E., Viteri Rosero, S. E., & Villegas Orozco, W. L. (2015). Aplicación de Antagonistas Microbianos para el Control Biológico de *Moniliophthora roreri* Cif & Par; Par Villamil Carvajal, Jorge Enrique, Silvio Edgar Viteri Rosero, and William Luciano Villegas Orozco. 2014. “Aplicación de Antagonistas Microbianos Para E. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 68(1), 7441–7450.
- Villafuerte. E (2022). *Efecto de la aplicación de activadores naturales de suelo y humus en la fertilizacion edafica en un cultivo de cacao en el canton milagro.*
- Villafuerte, S. P., García, G. C., & Solórzano, F. (2020). *Eficacia de mezclas de Trichoderma spp . y aceite de palma en el manejo de Moniliophthora roreri Cif & Par en cacao Efficacy of mixtures of Trichoderma spp . and palm oil in the management of Moniliophthora roreri Cif & Par in cocoa.* 47(2), 5–15.
- Villavicencio Vásquez, M., Espinoza Lozano, R., Sosa del Castillo, D., & Pérez Martínez, S. (2018). Foliar endophyte fungi as candidate for biocontrol against *Moniliophthora* spp. of *Theobroma cacao* (Malvaceae) in Ecuador. *Acta Biológica Colombiana*, 23(3), 235–241. <https://doi.org/10.15446/abc.v23n3.69455>

ANEXOS

Análisis de la varianza

PIC

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PIC	120	0,01	0,00	67,34

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	220,13	3	73,38	0,23	0,8744
TIEMPO	93,81	1	93,81	0,30	0,5876
TRATAMIENTO	126,32	2	63,16	0,20	0,8197
Error	36786,04	116	317,12		
Total	37006,18	119			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=9,45388

Error: 317,1211 gl: 116

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
PIC BIOTRICH/MONILLA	27,80	40	2,82 A
PIC TRICHODERMA SPP/MONILL..	26,23	40	2,82 A
PIC TRICOMIX/MONILLA	25,31	40	2,82 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

AJUSTADO LOG10

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
AJUSTADO LOG10	120	0,01	0,00	27,10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,22	3	0,07	0,58	0,6323
TIEMPO	0,06	1	0,06	0,46	0,4989
TRATAMIENTO	0,16	2	0,08	0,63	0,5327
Error	14,53	116	0,13		
Total	14,75	119			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,18791

Error: 0,1253 gl: 116

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
PIC BIOTRICH/MONILLA	1,33	40	0,06 A
PIC TRICHODERMA SPP/MONILL..	1,33	40	0,06 A
PIC TRICOMIX/MONILLA	1,25	40	0,06 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 7 Base de datos de los resultados PIC del experimento

DIA	REPETICIONES	TIEMPO	TRATAMIENTO	PIC	AJUSTADO LOG10
1	1	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	31,3	1,50
1	2	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	10,4	1,02
1	3	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	11,2	1,05
1	4	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	4,4	0,64
1	5	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	11,5	1,06
1	6	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	48	1,68
1	7	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	45	1,65
1	8	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	15	1,18
1	9	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	7	0,85
1	10	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	14	1,15
1	1	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	28	1,45
1	2	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	46	1,66
1	3	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	22	1,34
1	4	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	33,1	1,52
1	5	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	15,8	1,20
1	6	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	52,1	1,72
1	7	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	6,4	0,81
1	8	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	29,9	1,48
1	9	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	1,1	0,04
1	10	24 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	40,2	1,60
1	1	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	54,6	1,74
1	2	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	8	0,90
1	3	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	45	1,65
1	4	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	10,3	1,01
1	5	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	3,5	0,54
1	6	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	18,8	1,27
1	7	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	15	1,18
1	8	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	9	0,95
1	9	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	15	1,18
1	10	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	10	1,00
1	1	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	67	1,83
1	2	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	50,9	1,71
1	3	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	51,6	1,71
1	4	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	32,8	1,52
1	5	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	9,6	0,98
1	6	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	55,7	1,75
1	7	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	21,8	1,34
1	8	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	11,4	1,06
1	9	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	4	0,60
1	10	48 HORAS	PIC TRICOMIX/MONILLA	46	1,66
2	1	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	58,2	1,76
2	2	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	8,3	0,92
2	3	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	3	0,48
2	4	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	27,7	1,44
2	5	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	20,5	1,31
2	6	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	16,4	1,21
2	7	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	8	0,90

2	8	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	16	1,20
2	9	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	2,2	0,34
2	10	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	8,8	0,94
2	1	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	67,7	1,83
2	2	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	50,9	1,71
2	3	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	28,6	1,46
2	4	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	36,1	1,56
2	5	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	23,9	1,38
2	6	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	52,1	1,72
2	7	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	21,3	1,33
2	8	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	11,8	1,07
2	9	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	21	1,32
2	10	24 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	42,5	1,63
2	1	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	19,7	1,29
2	2	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	15,5	1,19
2	3	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	8,9	0,95
2	4	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	30	1,48
2	5	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	20,6	1,31
2	6	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	35,4	1,55
2	7	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	17	1,23
2	8	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	12,9	1,11
2	9	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	30	1,48
2	10	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	7,8	0,89
2	1	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	60	1,78
2	2	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	59,5	1,77
2	3	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	22,7	1,36
2	4	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	32,7	1,51
2	5	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	13,7	1,14
2	6	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	67	1,83
2	7	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	13,9	1,14
2	8	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	36,5	1,56
2	9	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	30,9	1,49
2	10	48 HORAS	PIC BIOTRICH/MONILLA	52,1	1,72
3	1	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	28,6	1,46
3	2	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	36,1	1,56
3	3	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	23,9	1,38
3	4	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	52,1	1,72
3	5	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	21,3	1,33
3	6	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	11,8	1,07
3	7	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	9,4	0,97
3	8	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	42,5	1,63
3	9	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	19,7	1,29

3	10	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	15,5	1,19
3	1	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	8,9	0,95
3	2	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	30	1,48
3	3	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	20,6	1,31
3	4	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	35,4	1,55
3	5	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	7,5	0,88
3	6	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	12,9	1,11
3	7	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	30	1,48
3	8	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	10,5	1,02
3	9	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	60	1,78
3	10	24 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	59,5	1,77
3	1	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	22,7	1,36
3	2	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	32,7	1,51
3	3	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	13,7	1,14
3	4	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	67	1,83
3	5	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	42	1,62
3	6	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	14	1,15
3	7	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	19,4	1,29
3	8	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	21,2	1,33
3	9	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	3,4	0,53
3	10	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	31,3	1,50
3	1	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	6,5	0,81
3	2	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	22	1,34
3	3	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	8,6	0,93
3	4	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	15	1,18
3	5	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	28,3	1,45
3	6	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	47,3	1,67
3	7	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	16,8	1,23
3	8	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	33,1	1,52

3	9	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	15,8	1,20
3	10	48 HORAS	PIC TRICHODERMA SPP/MONILLA	52,1	1,72

Autor, Cruz (2024)

Tabla 8. Distribución de las clases en la acción (grado de antagonismo) patógena del hongo *M. roleri*

Tratamientos	Repetición	Clase
Tricomix	R1	4
Tricomix	R2	4
Tricomix	R3	4
Tricomix	R4	4
Tricomix	R5	4
Tricomix	R6	4
Tricomix	R7	4
Tricomix	R8	2
Tricomix	R9	4
Tricomix	R10	4
Biotrich	R1	1
Biotrich	R2	2
Biotrich	R3	2
Biotrich	R4	2
Biotrich	R5	2
Biotrich	R6	2
Biotrich	R7	2
Biotrich	R8	2
Biotrich	R9	2
Biotrich	R10	1
Trichoderma spp	R1	4
Trichoderma spp	R2	4
Trichoderma spp	R3	2
Trichoderma spp	R4	4
Trichoderma spp	R5	4
Trichoderma spp	R6	1
Trichoderma spp	R7	2
Trichoderma spp	R8	2
Trichoderma spp	R9	2
Trichoderma spp	R10	2

Autor, Cruz (2024)

	
<p>Dispensado de medio de cultivo en la caja Petri</p>	<p>Visita del tutor Ing. Edwin Cantos Sánchez</p>
	
<p>Selección y procesamiento de muestras</p>	<p>Desinfección de caja Petri</p>