UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

CARRERA AGRONOMÍA

TRABAJO DE TITULACIÓN COMO REQUISITO PREVIO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

INGENIERA AGRÓNOMA

APLICACIÓN DE CEPAS ANTAGONISTAS DE *Trichoderma spp. Y Gliocladium* PARA EL MANEJO DE *Phytophthora spp.* EN CACAO EN CONDICIONES SEMICONTROLADAS.

AUTORA

MOREIRA LOZANO ASHLEY ANETTE

TUTOR

ING. VICTOR ILEER SANTOS, MSC

GUAYAQUIL – ECUADOR
2026

UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIA
CARRERA AGRONOMIA

APROBACIÓN DEL TUTOR

El suscrito, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: "**APLICACIÓN DE CEPAS ANTAGONISTAS DE *Trichoderma spp. y Gliocladium* PARA EL MANEJO DE *Phytophthora spp.* EN CACAO EN CONDICIONES SEMICONTROLADAS**", realizado por la estudiante **MOREIRA LOZANO ASHLEY ANETTE**; con cédula de identidad **N° 0956296339** de la carrera, Unidad Académica Guayaquil, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos y legales exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto, se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Ing. Victor Ileer Santos, Msc.

Guayaquil, 28 de septiembre del 2026

UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

CARRERA AGRONOMÍA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: "**APLICACIÓN DE CEPAS ANTAGONISTAS DE *Trichoderma spp. y Gliocladium* PARA EL MANEJO DE *Phytophthora spp.* EN CACAO EN CONDICIONES SEMICONTROLADAS**", realizado por la estudiante **MOREIRA LOZANO ASHLEY ANETTE** el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Ing. Winston Espinoza Morán, Msc.
PRESIDENTE

Ing. Darlyn Amaya Márquez, Msc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ing. Fernando Decker Campuzano, Msc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ing. Victor Ileer Santos, Msc.
EXAMINADOR SUPLENTE

Guayaquil, 28 de septiembre del 2026

DEDICATORIA

A Dios, y a mí.

AGRADECIMIENTO

A Dios por guiarme en todo momento.

Me agradezco a mí, por siempre hacer lo que amo sin importar lo difícil que sea el camino.

A mis padres por enseñarme a ser resiliente y forjar en mí la persona que soy ahora.

A mi familia Albuja Fuentes, por enseñarme lo lindo que es tener un hogar, mi amor y gratitud a ustedes siempre será infinita. A mis Fuentes Zavala que siempre tendrán una parte de mi corazón.

A esos amigos que no dejaron de apoyarme y creer en mí, sepan que estoy agradecida y feliz de tenerlos en mi vida.

A mi tutor y también el Msc. Darlyn Amaya por su paciencia y dedicación para guiarme durante mi proyecto.

Y a la persona más especial de mi universo.

Mi fortaleza y mi debilidad al mismo tiempo, mi impulso, mi motor a seguir y ser mejor día a día, porque, estoy segura que siempre querré estar cerca de ti, desearte lo más lindo y darte lo mejor de mí, gracias por ser la personita que con un abrazo o una sonrisa puede curar mi corazón, las palabras me sobrarán siempre para decirte cuanto te amo! MAAF.

Autorización de Autoria Intelectual

Yo **MOREIRA LOZANO ASHLEY ANETTE**, en calidad de autora del proyecto realizado, sobre "**APLICACIÓN DE CEPAS ANTAGONISTAS DE *Trichoderma spp. y Gliocladium* PARA EL MANEJO DE *Phytophthora spp.* EN CACAO EN CONDICIONES SEMICONTROLADAS**" para optar el título de **Agronomía**, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor(a) me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, 28 de septiembre del 2026

Moreira Lozano Ashley Anette
C.I. 0956296339

RESUMEN

El cultivo de cacao enfrente importantes limitaciones fitosanitarias debido a enfermedades causada por *Phytophthora spp*. lo que genera pérdidas significativas en la producción. Ante esta problemática, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la eficacia de biocontroladores como *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* y *Gliocladium roseum* en la inhibición del desarrollo del patógeno en condiciones in vitro y en frutos de cacao bajo condiciones semicontroladas.

El estudio se sustentó en bases teóricas relacionadas con el control biológico, destacando mecanismos como competencia, antibiosis y microparasitismo. La metodología incluyó ensayos de confrontación en cajas Petri para evaluar el crecimiento micelial del patógeno, así como pruebas en frutos inoculados. Se aplicaron análisis estadísticos como ANOVA y Kruskall-Wallis para determinar diferencias significativas entre tratamientos.

Los resultados evidenciaron diferencias altamente significativas ($p < 0,0001$) en ambas fases. En condiciones in vitro, *Trichoderma asperellum* presentó el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, mientras que, en frutos de cacao, *Trichoderma harzianum* mostró la mayor eficacia al reducir significativamente el diámetro de la lesión. Por su parte *Gliocladium roseum* presentó menor capacidad antagonista en ambas condiciones.

Palabras clave: control biológico, cacao, *Trichoderma*, *Phytophthora*

ABSTRACT

Cocoa cultivation faces major phytosanitary limitations from *Phytophthora* spp., which cause significant production losses. To address this problem, this study evaluated the efficacy of biological control agents—*Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, and *Gliocladium roseum*—in inhibiting pathogen growth under *in vitro* and semi-controlled cocoa-pod conditions.

The study focused on biological control mechanisms, specifically competition, antibiosis, and mycoparasitism. The methodology included dual-culture assays in Petri dishes to evaluate pathogen mycelial growth, as well as inoculation tests on cocoa pods. We used statistical analyses, including ANOVA and the Kruskal-Wallis test, to determine significant differences among treatments.

Results revealed highly significant differences ($p < 0.0001$) in both experimental phases. Under *in vitro* conditions, *Trichoderma asperellum* showed the highest percentage of mycelial growth inhibition, whereas on cocoa pods, Trichoderma harzianum was most effective, significantly reducing lesion diameter. In contrast, *Gliocladium roseum* demonstrated lower antagonistic activity in both conditions.

Keywords: Biological control, cocoa, *Trichoderma*, *Phytophthora*

ÍNDICE GENERAL

PORTADA I

APROBACIÓN DEL TUTOR II

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN III

DEDICATORIA IV

AGRADECIMIENTO V

AUTORIZACIÓN DE AUTORÍA INTELECTUAL VI

RESUMEN VII

CONTROL BIOLÓGICO, CACAO, *TRICHODERMA*, *PHYTOPHTHORA* VII

ABSTRACT VIII

ÍNDICE GENERAL IX

ÍNDICE DE TABLAS XII

ÍNDICE DE FIGURAS XIII

1. INTRODUCCIÓN 1

1.1. Antecedentes del problema 1

1.2. Planteamiento y formulación del problema 2

1.2.1. Planteamiento del problema 2

1.2.2. Formulación del problema 3

1.3. Justificación de la investigación 3

1.4. Delimitación de la investigación 4

1.5. Objetivo general 4

1.6. Objetivos específicos 4

1.7. Hipótesis 4

2. MARCO TEÓRICO 5

2.1. Estado de arte 5

2.2. Bases científicas y teóricas 6

2.2.1. Origen del cacao 6
2.2.2. Taxonomía del cacao 6
2.2.3. Morfología del cacao 7
2.2.4. Requerimientos edafoclimáticos 8
2.2.5. Enfermedades que afectan al cacao 9
2.2.6. Biología y patogénesis de Phytophthora en cacao 10
2.2.7. Agentes de control biológico 10
2.2.8. Mecanismos de acción de los hongos biocontroladores: 11
2.2.9. Eficacia de tratamientos biológicos vs. métodos convencionales en el manejo de enfermedades fúngicas del cacao 12
2.2.10. Factores agronómicos 13
2.2.11 Rol del manejo integrado de enfermedades del cacao con biocontroladores 13
2.3 Marco legal 14
3. MATERIALES Y METODOS 16
3.1. Enfoque de la investigación 16
3.1.1. Tipo y alcance de la investigación 16
3.1.2. Diseño de investigación 18
3.2 Metodología 18
3.2.1. Variables. 18
3.2.2. Tratamientos 20
3.2.3. Diseño experimental 20
3.2.4. Recolección de datos 21
3.2.5. Métodos y técnicas 22
3.2.6. Técnicas de investigación. 24
3.2.7. Análisis estadístico 25
4 RESULTADOS 27
4.2. Caracterización morfológica de los organismos en estudio (Trichoderma harzianum, Trichoderma asperellum, Gliocladium roseum y Phytophthora spp.) en condiciones in vitro. 27

4.2.1. Nivel de antagonismo de los biocontroadores en condiciones in vitro 30

4.2.2. Eficacia de los biocontroladores en la inhibición del desarrollo de *Phytophthora spp*. en frutos de cacao. 33

5. DISCUSIÓN. 36

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 39

6.2. Conclusiones 39

6.2. Recomendación 39

7. BIBLIOGRAFÍA 41

8. ANEXOS 47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos en estudio *in vitro* 200

Tabla 2. Tratamientos en estudio en frutos de cacao. 211

Tabla 3. Análisis de varianza en fase *in vitro* 25

Tabla 4. Crecimiento micelial de *Phytopththora spp.* durante 12 días……30

Tabla 5. Porcentaje de inhibición de crecimiento de los antagonistas……..33

Tabla 6. Efecto de los biocontroladores sobre el desarrollo de *Phytophthora spp.* en frutos de cacao……35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Características morfológicas de Trichoderma harzianum……...**¡Error! Marcador no definido.**

Figura 2. Características morfológicas macroscípicas de Gliocladium roseum……28

Figura 3. Características morfológicas de Trichoderma asperellum……..29

Figura 4. Características morfológicas de *Phytophthora spp*……..*30*

Figura 5. Pruebas de confrontación T4 *Trichoderma asperellum* vs *Phytophthora spp*……..……31

Figura 6. Pruebas de confrontación T2 *Trichoderma harzianum* vs *Phytophthora spp*……..32

Figura 7. Pruebas de confrontación T3 *Gliocladium roseum* vs *Phytophthora* spp……...33

Figura 8. Análisis de varianza del crecimiento micelial en caja petri de *Phytophthora spp*……..47

Figura 9. Prueba no paramétrica de Kruskall-Wallis del nivel de afectación en frutos de cacao……48

Figura 10. Análisis de varianza del porcentaje del crecimiento micelial de *Phytophthora spp*……..48

Figura 11. Pesaje del Agar para el medio de cultivo……49

Figura 12. Preparación del extracto de zanahoria para el medio de cultivo..49

Figura 13. Medición del PH del medio de cultivo……50

Figura 14. Medio de cultivo listo para ir al autoclave……50

Figura 15. Preparación de cajas petri con medio de cultivo…….51

Figura 16. Cajas petri listas con medio de cultivo……..52

Figura 17. Esterilización de herramientas para hacer los discos de los tratamientos y el patógeno……...52

Figura 18. Esterilización de herramientas para hacer los discos y el tratamiento del patógeno……..53

Figura 19. Colocación de discos de *Phytophthora spp.* y tratamientos para la confrontación…….54

Figura 20. Colocación de discos de *Phytophthora spp.* y tratamientos para la confrontación…….54

Figura 21. Preparación de Tratamientos (T1, T2, T3, T4) para el manejo de *Phytophthora spp*. en frutos de cacao……55

Figura 22. Tratamientos listos para aplicar en la inoculación en frutos de cacao……...55

Figura 23. Inoculación de discos de *Phytophthora spp*. en frutos de cacao con tratamientos aplicados……..56

Figura 24. Frutos del T1 (Testigo) luego de 8 días después de la inoculación…….56

Figura 25. Frutos del T2 (*Trichoderma harzianum*) luego de 8 días después de la inoculación……57

Figura 26. Frutos del T3 (*Gliocladium roseum*) luego de 8 días después de la inoculación…….57

Figura 27. Frutos del T4 (*Trichoderma asperellum*) luego de 8 días de la inoculación…….57

Figura 28. Frutos del T5 (Mezcla de los tres tratamientos T2-T3-T4) luego de 8 días después de la inoculación……58

Figura 29. Frutos del T1 (Testigo) luego de 12 días después de la inoculación……58

Figura 30. Frutos del T2 (*Trichoderma harzianum*) luego de 12 días después de la inoculación……58

Figura 31. Frutos del T3 (*Gliocladium roseum*) luego de 12 días después de la inoculación…….59

Figura 32. Frutos del T4 (*Trichoderma asperellum*) luego de 12 días de la inoculación…….59

Figura 33. Frutos del T5 (Mezcla de los tres tratamientos T2-T3-T4) luego de 12 días después de la inoculación……59

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes del problema

El cacao (*Theobroma cacao L.*) constituye uno de los cultivos de mayor relevancia económica a nivel mundial, especialmente en países tropicales como Ecuador, donde representa una fuente significativa de ingresos y generación de divisas. Este país se posiciona entre los principales exportadores de cacao en grano, consolidando su importancia dentro del mercado internacional (Ministerio de Agricultura y Ganadería MAG], 2025)

Este cultivo representa una fuente significativa de ingresos para numerosos productores, quienes dependen de su producción para la generación de divisas. No obstante, uno de los principales factores que limita su rendimiento es la presencia de plagas y enfermedades, las cuales reducen considerablemente la productividad por unidad de superficie. En la actualidad, muchas plantaciones de cacao en el país no reciben un manejo técnico adecuado en lo que respecta al control integrado de plagas, debido a que los productores, con el objetivo de minimizar costos, no implementan prácticas culturales esenciales para el desarrollo óptimo del cultivo (Infante Palacios, 2019).

Entre las enfermedades más relevantes se encuentra la mancha negra o pudrición parda del cacao, también conocida como mazorca negra. Esta patología es de origen fúngico y afecta a *Theobroma cacao*, siendo causada por oomicetos del género *Phytophthora spp.*, los cuales se agrupan dentro del reino Protista. El principal daño se manifiesta en las mazorcas, que constituyen el órgano de interés económico, ya que contienen los granos destinados a la industrialización. Como consecuencia, se ve comprometida tanto la cantidad como la calidad de la producción, afectando de manera directa la cadena productiva del cacao y, por ende, la economía de las regiones dedicadas a la elaboración de chocolate y sus derivados. Además, esta enfermedad no se limita únicamente al fruto, sino que puede afectar diferentes etapas del desarrollo del cultivo, desde plántulas hasta plantas adultas, incluyendo raíces y estructuras aéreas como brotes, hojas, ramas y botones florales, lo que incrementa su impacto negativo sobre la producción (Lezaun, 2023).

En respuesta a esta problemática, los sistemas de producción sostenible han planteado la necesidad de complementar el control químico con estrategias biológicas dentro de un enfoque de manejo integrado del cultivo, con el propósito de reducir el uso de compuestos sintéticos (Mónaco & Larrán, 2024).

Tradicionalmente, los hongos han sido asociados con efectos negativos en los cultivos de cacao, principalmente debido a su papel en la aparición de enfermedades y en la contaminación de la cosecha mediante la producción de metabolitos indeseables, como las micotoxinas, que pueden afectar la salud del consumidor final. Sin embargo, en los últimos años ha surgido un creciente interés por el estudio de interacciones beneficiosas entre microorganismos, tales como el antagonismo, el comensalismo y la producción de enzimas específicas, las cuales pueden ser aprovechadas como herramientas para el control biológico de patógenos (Medicine, 2021).

1.2. Planteamiento y formulación del problema

1.2.1. Planteamiento del problema

El cultivo de cacao en Ecuador representa una actividad de gran importancia económica; sin embargo, se encuentra limitado por diversos problemas fitosanitarios, entre los que destaca la presencia de patógenos del género *Phytophthora spp.*, responsables de la reducción significativa en la productividad y calidad del grano.

El manejo convencional de esta enfermedad se basa principalmente en el uso de productos químicos, los cuales, si bien pueden ser efectivos a corto plazo, generan efectos negativos sobre el agroecosistema. Entre estos efectos se incluyen la eliminación de microorganismos e insectos benéficos, la contaminación ambiental y el desarrollo de resistencia por parte de los patógenos, lo que disminuye la eficacia de los tratamientos con el tiempo.

En este contexto, surge la necesidad de implementar alternativas sostenibles que permitan reducir la dependencia de insumos químicos. Diversos estudios han demostrado que especies como *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma asperellum*

poseen un alto potencial antagonista frente a *Phytophthora spp.* De igual manera, *Gliocladium roseum* ha sido reconocido como un organismo biológico con capacidad para suprimir múltiples patógenos mediante diferentes mecanismos de acción.

No obstante, a pesar de la evidencia existente sobre la eficacia individual de estos microorganismos, en el país aún es limitada la información relacionada con su aplicación conjunta como estrategia de control biológico en el cultivo de cacao.

1.2.2. Formulación del problema

¿Cómo influye la aplicación conjunta de *Trichoderma harzianum, Trichoderma asperellum* y *Gliocladium roseum* en la reducción de la incidencia y severidad de *Phytophthora spp* en comparación con su aplicación individual?

1.3. Justificación de la investigación

El cacao constituye uno de los principales productos de exportación en Ecuador y representa una fuente de sustento para miles de familias agricultoras. Sin embargo, enfermedades como la pudrición de la mazorca, causada por *Phytophthora spp.*, limitan considerablemente la productividad del cultivo y afectan la calidad del grano. El control químico, aunque ampliamente utilizado, presenta diversas desventajas, como el incremento de los costos de producción, el impacto negativo sobre el medio ambiente y la generación de resistencia en los patógenos, lo que obliga a incrementar las dosis o la frecuencia de aplicación. Ante esta problemática, el uso de agentes biocontroladores representa una alternativa viable y sostenible, ya que permite reducir la aplicación de productos sintéticos, contribuye a la conservación de la biodiversidad y favorece prácticas agrícolas compatibles con los estándares del mercado internacional. En este sentido, la presente investigación busca generar evidencia técnica sobre la eficacia de la aplicación conjunta de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* y *Gliocladium roseum* como estrategia de manejo fitosanitario. Asimismo, se espera que los resultados contribuyan al fortalecimiento de la competitividad del cacao ecuatoriano en mercados que priorizan sistemas de producción sostenibles.

.

1.4. Delimitación de la investigación

- **Espacio:** El estudio de esta investigación se realizará en laboratorio de biotecnología vegetal de la Universidad Agraria del Ecuador campus Guayaquil.
- **Tiempo:** Tendrá una duración de seis meses.
- **Población:** Investigación dirigida a productores agrícolas de cacao, y comunidad de la Universidad Agraria del Ecuador.

1.5. Objetivo general

Evaluar la capacidad antagonista de *Trichoderma harzianum, Trichoderma asperellum, y Gliocladium roseum* para el manejo de *Phytophthora spp.* en cacao en condiciones semi controladas.

1.6. Objetivos específicos

- Caracterizar morfológicamente los organismos en estudio (*Trichoderma spp., Gliocladium roseum* y *Phytophthora spp.)* en condiciones in vitro.
- Determinar el nivel de antagonismo de los biocontroladores mediante ensayos de confrontación in vitro frente a *Phytophthora spp.*
- Evaluar la eficacia de los biocontroladores en la inhibición del desarrollo de *Phytophthora spp.* en frutos de cacao bajo condiciones semi controladas.

1.7. Hipótesis

La aplicación en conjunto de los hongos antagonistas *Trichoderma spp.* y *Gliocladium roseum*, reducirá significativamente la incidencia de *Phytophthora spp.* mejorando la sanidad del cultivo, fomentando la agroecología al disminuir el uso de químicos y conservar la biodiversidad.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Estado de arte

El cacao (*Theobroma cacao L.*) es uno de los cultivos industriales más importantes a nivel mundial debido a su utilización en la elaboración de chocolate, productos de confitería, cosméticos y fármacos. Se estima que más del 80% de la producción global proviene de pequeños agricultores que manejan sistemas agroforestales, donde las condiciones de alta humedad favorecen la proliferación de enfermedades causadas por *Phytophthora spp.* Para el control de estos patógenos, se han empleado tradicionalmente fungicidas químicos; sin embargo, su uso continuo puede afectar negativamente la microbiota del suelo, eliminando organismos benéficos como bacterias y hongos endófitos, además de alterar la fauna del suelo. Como alternativa, se han desarrollado estrategias basadas en el control biológico, que consiste en el uso de organismos vivos capaces de reducir la población de patógenos. Dentro de estos, destacan especies del género *Trichoderma* (*T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum*), ampliamente utilizadas en el control de *Phytophthora spp.* en cultivos de cacao, especialmente en sistemas productivos de pequeña escala (Parra et al., 2024).

El estudio de microorganismos como agentes de control biológico involucra diversas disciplinas, como la genética, fisiología, ecología y fitopatología. Entre los organismos más relevantes se encuentran *Trichoderma spp.*, *Bacillus subtilis*, *Beauveria bassiana* y nematodos entomopatógenos, los cuales han sido investigados durante décadas por su capacidad para controlar plagas y enfermedades. Estas especies han sido objeto de estudio durante más de 70 años como gentes de control biológico, aunque solo en las últimas décadas se han desarrollado cepas con aprovechamiento comercial. En el caso de *Trichoderma*, se les reconoce como agentes de control biológico (ACB) por su gran capacidad de reproducción, resistencia a condiciones ambientales adversas, eficiencia en el uso de nutrientes, modificación de la rizosfera, acción agresiva frente a patógenos e insectos fitófagos y su habilidad para favorecer el crecimiento vegetal de su uso en programas de biocontrol de plagas y enfermedades.

Clonostachys rosea es un hongo microparásito utilizado en la producción de controladores biológicos comerciales en diferentes regiones del mundo. Se

comporta como un organismo saprófito y microparásito, capaz de alimentarse de tejido vegetal muerto y de otros hongos descomponedores. Entre sus mecanismos de acción se incluyen la competencia, el microparasitimo y la antibiosis, además de actual de forma indirecta como inductor de defensas en la planta (Carta de acuerdo, 2020)

2.2. Bases científicas y teóricas

2.2.1. Origen del cacao

El cacao (*Theobroma cacao L.*) tiene su origen en regiones tropicales húmedas de América del Sur, particularmente en la cuenca alta del Amazonas, ubicada entre zonas limítrofes de Ecuador y Colombia. En esta región se concentra una elevada diversidad genética, la cual ha sido clasificada en diversos grupos como Amelonado, Criollo, Nacional, entre otros. No obstante, a pesar de su origen sudamericano, los procesos más documentados de domesticación se desarrollaron en Mesoamérica y Centroamérica, donde este cultivo adquirió gran importancia cultural y económica en civilizaciones antiguas (Lanaud, 2024).

2.2.2. Taxonomía del cacao

Según Zequeira y Beauregard (2024) la clasificación del cultivo de cacao es la siguiente:

- Reino: Plantae
- Subreino: Tracheobionta
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Subclase: Dilleniidae
- Familia: Malvaceae
- Subfamilia: Byttnerioideae
- Tribu: Theobromeae
- Género: Theobroma
- Especie: T. cacao L.

2.2.3. Morfología del cacao

Raíz

El sistema radicular del cacao está compuesto por una raíz principal pivotante que puede alcanzar profundidades superiores a los dos metros en condiciones favorables, permitiendo una adecuada absorción de agua y nutrientes. Además, presenta raíces laterales superficiales distribuidas horizontalmente, generalmente ubicadas a unos 15 cm de profundidad (Zequeira & Beauregard, 2024).

Tallo

El tronco del cacao presenta crecimiento dismórfico, caracterizado por la presencia de brotes ortotrópicos (chupones) y ramas plagiotrópicas. Estas últimas se organizan en estructuras denominadas “molinillos”, formadas por varias ramillas.

Hojas

Las hojas del cacao se distribuyen formando una copa baja, densa y extendida. Se caracterizan por su tamaño amplio, disposición alterna y porte colgante. Presentan forma elíptica o alargada, con longitudes que oscilan entre 15–20 cm hasta 35–50 cm y anchos de 4 a 15 cm. Asimismo, presentan un ápice alargado, consistencia ligeramente gruesa y margen liso. El haz posee una coloración verde oscuro, mientras que el envés presenta tonalidades más claras. Cada hoja permanece unida a la planta mediante un pecíolo (Zequeira & Beauregard, 2024).

Flores

Las flores del cacao se desarrollan en racimos a lo largo del tronco y de las ramas, sostenidas por pedicelos de 1 a 3 cm. Son estructuras de pequeño tamaño, con diámetros entre 0,5 y 1 cm y longitudes de 2 a 2,5 cm. Presentan forma estrellada y tonalidades rosadas, púrpuras o blancas. Cada flor posee cinco pétalos de aproximadamente 6 mm, dispuestos alternadamente con los sépalos. Su morfología es particular, ya que nacen estrechos en la base, posteriormente se ensanchan y adquieren una curvatura cóncava que forma una especie de capuchón (Zequeira & Beauregard, 2024).

Mazorca

El fruto del cacao corresponde a una baya de gran tamaño conocida como mazorca, de consistencia carnosa y forma alargada u ovalada. Presenta colores variables entre amarillo y púrpura, con dimensiones que oscilan entre 15 y 30 cm de longitud y entre 7 y 10 cm de grosor. Además, presenta una punta pronunciada y surcos longitudinales. Cada mazorca contiene entre 30 y 40 semillas organizadas en placentación axial e inmersas en una pulpa blanca, mucilaginosa y de sabor agridulce, formada a partir de las capas externas de la testa, conocidas comúnmente como granos de cacao (Zequeira & Beauregard, 2024).

2.2.4. Requerimientos edafoclimáticos

Temperatura

El cultivo de cacao presenta un desarrollo favorable bajo condiciones climáticas cálidas. Su óptimo crecimiento se alcanza cuando las temperaturas máximas anuales se mantienen entre 30 °C y 32 °C, rango térmico que favorece la actividad fotosintética mediante el incremento de la apertura estomática y la transpiración, procesos fisiológicos que contribuyen al crecimiento vegetativo y a la formación de frutos. De igual manera, el cultivo requiere temperaturas comprendidas entre 18 °C y 21 °C, ya que este intervalo permite mantener un equilibrio adecuado en los procesos metabólicos del árbol (Kongor, 2024).

Suelo

El cacao requiere suelos que permitan una adecuada aireación, retención de humedad y drenaje eficiente. El rango de pH más favorable para su desarrollo se encuentra entre 6,5 y 7, condición que facilita la absorción de nutrientes esenciales como nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K). La materia orgánica desempeña un papel fundamental en la conservación de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, contribuyendo a mejorar la filtración, la capacidad de retención hídrica, el intercambio catiónico y la actividad de los microorganismos edáficos. Asimismo, favorece procesos relacionados con el ciclo de nutrientes, la biodiversidad, la regulación del carbono y la productividad del ecosistema (Kongor, 2024).

Humedad relativa

El cacao se desarrolla de manera óptima en ambientes cálidos con elevada humedad relativa. En los países productores, este factor puede alcanzar niveles de hasta el 100 % durante el día y disminuir entre el 70 % y el 80 % durante la noche. La humedad relativa mantiene una relación directa con la apertura estomática y la actividad fotosintética, debido a que facilita el ingreso de CO_2, permitiendo el adecuado desarrollo de los procesos metabólicos de la planta.

Radiación solar

Durante los primeros dos años de establecimiento del cultivo, el cacao requiere una intensidad lumínica fotosintéticamente activa cercana a 300 y 400 µmol m²/s. Una vez que la planta entra en la etapa reproductiva, demanda niveles superiores, comprendidos entre 700 y 800 µmol m²/s, equivalentes a una exposición lumínica aproximada del 30 %, bajo condiciones de sombra entre el 50 % y el 70 % (Kongor, 2024).

2.2.5. Enfermedades que afectan al cacao

Mazorca negra

Entre las enfermedades de mayor importancia que afectan al cultivo de cacao destacan la escoba de bruja, ocasionada por *Moniliophthora palmivora*, y la pudrición parda de la mazorca, producida por especies del género *Phytophthora*, presente en África, Asia y América, siendo considerada uno de los principales factores limitantes de la producción. El desarrollo de esta enfermedad se encuentra estrechamente relacionado con las condiciones ambientales, ya que elevados niveles de humedad relativa, precipitaciones continuas y temperaturas frescas favorecen la propagación del patógeno. Las principales fuentes de inóculo corresponden al suelo, raíces, hojas, cojines florales y frutos infectados (Guamán Villa et al., 2022).

El manejo de *Phytophthora spp*. se basa principalmente en la aplicación de productos químicos a base de compuestos cúpricos; sin embargo, estos generan efectos negativos sobre el medio ambiente y elevan los costos de producción para los agricultores. Como alternativas menos perjudiciales, se plantea el uso de

hongos del género *Trichoderma*, los cuales limitan el desarrollo micelial del patógeno, así como la aplicación de bioinsumos elaborados a base de microorganismos benéficos. Por esta razón, resulta necesaria la implementación de estrategias de manejo integrado que combinen diferentes métodos de control, incluyendo la resistencia genética mediante la selección de clones con menor susceptibilidad a la enfermedad (Parra et al., 2024).

2.2.6. Biología y patogénesis de Phytophthora en cacao

Phytophthora spp. constituye el agente causal de la pudrición negra de la mazorca, considerada una de las enfermedades más destructivas para el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). Este patógeno, perteneciente al grupo de los oomicetos, se caracteriza por la producción de zoosporas móviles capaces de infectar tejidos vegetales bajo condiciones de elevada humedad y suelos con drenaje deficiente. La infección ocasiona la formación de manchas necróticas en frutos, tallos y raíces, lo que reduce significativamente el rendimiento productivo y la calidad de los granos de cacao. Estudios recientes señalan que las pérdidas ocasionadas por *Phytophthora spp.* pueden alcanzar niveles severos, especialmente bajo condiciones climáticas favorables para el desarrollo de la enfermedad, convirtiéndolo en un factor crítico para la sostenibilidad de la producción cacaotera (Ayanwole, y otros, 2025).

Comprender la naturaleza de *Phytophthora spp*. como agente causal de la pudrición negra de la mazorca permite reconocer su impacto sobre la productividad del cacao y entender por qué representa uno de los problemas fitosanitarios prioritarios dentro de este cultivo.

De acuerdo con investigaciones recientes, *Phytophthora spp*. es reconocido como uno de los principales agentes causales de la pudrición negra en cacao, afectando significativamente la productividad y calidad del cultivo a nivel mundial, lo que justifica la necesidad de implementar estrategias eficaces de control biológico (Ayanwole, y otros, 2025).

2.2.7. Agentes de control biológico

El control biológico se define como el uso de organismos o métodos destinados a limitar la presencia de patógenos y enfermedades, manteniendo el

equilibrio dentro del ecosistema. Su aplicación es frecuente en la reducción de microorganismos causantes de enfermedades que afectan negativamente el rendimiento agrícola. Desde una perspectiva ambiental, el control biológico constituye una alternativa de gran relevancia, ya que disminuye los efectos adversos asociados al uso de productos químicos y se fundamenta en sustancias naturales obtenidas mediante extracción o procesos de fermentación provenientes de diversas fuentes (Acosta Rojas, 2016).

Los organismos de origen natural empleados para controlar plagas y enfermedades se denominan agentes de biocontrol. Su acción consiste en eliminar, repeler o alterar al organismo objetivo. Reconocer las distintas categorías de biocontrol permite seleccionar la opción más adecuada entre ellas se encuentran:

Agentes macrobiológicos: Insectos, ácaros, y nematodos benéficos que se alimentan de plagas.

Agentes microbiológicos: incluyen bacterias, hongos, virus, y sus derivados, los productos microbianos pueden eliminar células vivas, metabolitos o fragmentos celulares, capaces de eliminar plagas por infección, competencia o mediante una barrera física. Un ejemplo ampliamente reconocido es *Trichoderma*, género de hongos con capacidad antagonista frente a diversos patógenos vegetales como *Fusarium*, siendo considerado uno de los bioplaguicidas microbianos más utilizados (Deiss, 2022).

2.2.8. Mecanismos de acción de los hongos biocontroladores:

Trichoderma harzianum, *T. asperellum* y *Gliocladium roseum*

Este apartado aborda los mecanismos mediante los cuales estos hongos antagonistas inhiben el desarrollo de agentes patógenos como *Phytophthora spp.*, a través de procesos como micoparasitismo, competencia por recursos y producción de metabolitos con actividad antifúngica. Las especies del género *Trichoderma* poseen la capacidad de actuar mediante diferentes mecanismos, entre los que destacan el micoparasitismo, la antibiosis y la competencia por espacio y nutrientes, características que las convierten en candidatas altamente efectivas para el control biológico de fitopatógenos en cultivos como el cacao (Santillan-Culquimboz, y otros, 2025).

Los hongos del género *Trichoderma*, como *T. harzianum* y *T. asperellum*, así como otros agentes como *Gliocladium roseum*, han sido ampliamente estudiados por su capacidad para inhibir el crecimiento de fitopatógenos mediante diversos mecanismos antagonistas. Estos incluyen:

- Microparasitismo, donde *Trichoderma spp.* invade y parasita directamente al patógeno.
- Antibiosis, mediante la producción de compuestos inhibidores.
- Competencia por espacio y nutrientes, desplazando al patógeno del ambiente y limitando su desarrollo.

Investigaciones recientes han demostrado que tanto *T. asperellum* como *T. harzianum* presentan niveles significativos de inhibición frente a *Phytophthora megakarya* en ensayos in vitro, evidenciando un elevado potencial como agentes de control biológico (Santillan-Culquimboz, y otros, 2025).

2.2.9. Eficacia de tratamientos biológicos vs. métodos convencionales en el manejo de enfermedades fúngicas del cacao

Estudios experimentales realizados en cultivos de cacao han reportado que aplicaciones de cepas de *Trichoderma* pueden disminuir la incidencia y severidad de *Phytophthora* spp. en plantaciones reales, lo que se traduce en mejoras agronómicas significativas. Por ejemplo, evaluaciones de campo en Colombia mostraron que tratamientos con *Trichoderma viride* y mezclas de especies antagonistas lograron reducir la severidad del patógeno, lo que sugiere un efecto biocontrolador eficiente bajo condiciones orgánicas. (Cortes, Torrejano, Endo, & Díaz, 2025).

Los estudios comparativos entre tratamientos biológicos y métodos convencionales han demostrado que formulaciones elaboradas a base de esporas o extractos biológicos de *Trichoderma spp.* reducen de manera significativa la incidencia de la pudrición negra de la mazorca en cacao, posicionándose como alternativas sostenibles frente al uso de productos químicos sintéticos (Elisée, Nakpalo, Alex, Kouabenan, & Daouda, 2025).

Adicionalmente, la aplicación de *Trichoderma harzianum* en combinación con enmiendas orgánicas, como el vermicompost, ha mostrado efectos favorables

sobre el crecimiento y la supervivencia de plántulas de cacao afectadas por *Phytophthora palmivora*, lo que indica que las estrategias integradas pueden potenciar los resultados del manejo biológico (Enchill, y otros, 2025).

2.2.10. Factores agronómicos

Beneficios de colonización y eficacia de biocontroladores en cacao

El análisis de variables agronómicas como las características del suelo, la fenología del cultivo, el tipo de formulación y la dosis de aplicación resulta fundamental para comprender el establecimiento y la eficacia de los inoculantes biológicos. Estos factores influyen directamente en la capacidad de colonización de los microorganismos y, en consecuencia, en su efectividad como agentes de biocontrol. Estudios relacionados con la aplicación de *Trichoderma* en etapas de vivero han demostrado que diferentes dosis y combinaciones de especies pueden influir positivamente tanto en la sanidad como en el vigor de los plantones de cacao, información relevante para optimizar la eficacia del manejo fitosanitario (Flores, Rodríguez, Montañez, Ramos, & Retamoso, 2025).

2.2.11 Rol del manejo integrado de enfermedades del cacao con biocontroladores

Este tema es útil para enmarcar la investigación dentro de enfoques modernos de manejo integrado de enfermedades, combinando biocontrol con otras prácticas sustentables. Dentro de este enfoque, el uso de microorganismos antagonistas como *Trichoderma spp*. representa una estrategia de gran importancia, especialmente cuando se busca compatibilidad con otras prácticas de manejo fitosanitario. La incorporación de biocontroladores dentro de programas de manejo integrado permite fortalecer la sostenibilidad de los sistemas productivos, reducir la dependencia de productos químicos y promover un equilibrio biológico más estable dentro del agroecosistema (Yépez, y otros, 2019).

2.3 Marco legal

2.3.1. Constitución de la República del Ecuador 2008

Art. 395.- La Constitución reconoce los siguientes principios ambientales:

1. El Estado garantizará un modelo sustentable de desarrollo, ambientalmente equilibrado y respetuoso de la diversidad cultural, que conserve la biodiversidad y la capacidad de regeneración natural de los ecosistemas, y asegure la satisfacción de las necesidades de las generaciones presentes y futuras.

2. Las políticas de gestión ambiental se aplicarán de manera transversal y serán de obligatorio cumplimiento por parte del Estado en todos sus niveles y por todas las personas naturales o jurídicas en el territorio nacional.

3. El Estado garantizará la participación activa y permanente de las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades afectadas, en la planificación, ejecución y control de toda actividad que genere impactos ambientales.

4. En caso de duda sobre el alcance de las disposiciones legales en materia ambiental, éstas se aplicarán en el sentido más favorable a la protección de la naturaleza. (p.177)

Art. 400.- El Estado ejercerá la soberanía sobre la biodiversidad, cuya administración y gestión se realizará con responsabilidad intergeneracional. Se declara de interés público la conservación de la biodiversidad y todos sus componentes, en particular la biodiversidad agrícola y silvestre y el patrimonio genético del país. Art. 401.- Se declara al Ecuador libre de cultivos y semillas transgénicas. Excepcionalmente, y solo en caso de interés nacional debidamente fundamentado por la Presidencia de la República y aprobado por la Asamblea Nacional, se podrán introducir 179 semillas y cultivos genéticamente modificados. El Estado regulará bajo estrictas normas de bioseguridad, el uso y el desarrollo de la biotecnología moderna y sus productos, así como su experimentación, uso y comercialización. Se prohíbe la aplicación de biotecnologías riesgosas o experimentales. (p.179)

Art. 402.- Se prohíbe el otorgamiento de derechos, incluidos los de propiedad intelectual, sobre productos derivados o sintetizados, obtenidos a partir del conocimiento colectivo asociado a la biodiversidad nacional. (p.180)

Art. 404.- El patrimonio natural del Ecuador único e invaluable comprende, entre otras, las formaciones físicas, biológicas y geológicas cuyo valor desde el punto de vista ambiental, científico, cultural o paisajístico exige su protección, conservación, recuperación y promoción. Su gestión se sujetará a los principios y garantías consagrados en la Constitución y se llevará a cabo de acuerdo al ordenamiento territorial y una zonificación ecológica, de acuerdo con la ley. (p.180)

Art. 409.- Es de interés público y prioridad nacional la conservación del suelo, en especial su capa fértil. Se establecerá un marco normativo para su

protección y uso sustentable que prevenga su 181 degradación, en particular la provocada por la contaminación, la desertificación y la erosión. En áreas afectadas por procesos de degradación y desertificación, el Estado desarrollará y estimulará proyectos de forestación, reforestación y revegetación que eviten el monocultivo y utilicen, de manera preferente, especies nativas y adaptadas a la zona. (p.181)

Art. 410.- El Estado brindará a los agricultores y a las comunidades rurales apoyo para la conservación y restauración de los suelos, así como para el desarrollo de prácticas agrícolas que los protejan y promuevan la soberanía alimentaria. (Constitución de la República del Ecuador, 2008, Art. 395,400, 402, 404, 409, 410 p.182)

2.3.2 Ley Orgánica del Régimen de la Soberanía Alimentaria

Art. 7.- Protección de la agrobiodiversidad. - El Estado, así como las personas y las colectividades protegerán, conservarán los ecosistemas y promoverán la recuperación, uso, conservación y desarrollo de la agrobiodiversidad y de los saberes ancestrales vinculados a ella. Las leyes que regulen el desarrollo agropecuario y la agrobiodiversidad crearán las medidas legales e institucionales necesarias para asegurar la agrobiodiversidad, mediante la asociatividad de cultivos, la investigación y sostenimiento de especies, la creación de bancos de semillas y plantas y otras medidas similares, así como el apoyo mediante incentivos financieros a quienes promuevan y protejan la agrobiodiversidad. (Asamblea Nacional del Ecuador, 2009, p.4).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Enfoque de la investigación

La presente investigación se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo, debido a que se emplearon técnicas estadísticas, específicamente análisis de varianza (ANDEVA), que permitieron medir y comparar el comportamiento de los microorganismos evaluados mediante variables observables, tales como el crecimiento micelial y el desarrollo de lesiones en frutos de cacao. Asimismo, correspondió a una investigación de carácter experimental, ya que se manipularon tratamientos biológicos basados en hongos antagonistas y se evaluaron sus efectos sobre variables relacionadas con la sanidad vegetal.

3.1.1. Tipo y alcance de la investigación

3.1.1.1 Investigación Aplicada

El presente estudio correspondió a una investigación aplicada, dado que estuvo orientado a abordar una problemática fitosanitaria que afecta al cultivo de cacao, específicamente la enfermedad ocasionada por *Phytophthora spp*. La utilización de biocontroladores como *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* y *Gliocladium roseum* representó una alternativa con potencial de aplicación en sistemas productivos, por lo que el conocimiento generado tuvo un enfoque práctico orientado hacia el manejo sostenible del cultivo.

3.1.1.2 Investigación Experimental

Además, se trató de una investigación experimental desarrollada en laboratorio y bajo condiciones semi controladas, debido a que los ensayos se realizaron tanto en cajas Petri, durante la fase *in vitro*, como en frutos de cacao inoculados, lo que permitió evaluar de manera precisa la interacción entre los biocontroladores y el patógeno bajo condiciones controladas.

La investigación fue desarrollada bajo condiciones semi controladas de laboratorio y sobre frutos de cacao, mediante un enfoque experimental orientado a evaluar el efecto de biocontroladores como *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* y *Gliocladium roseum* sobre *Phytophthora spp*., patógeno responsable de enfermedades en el cultivo de cacao.

Durante la fase in vitro, la unidad experimental estuvo conformada por cajas Petri que contenían medio agar elaborado con extracto de zanahoria. En dichas unidades se establecieron los tratamientos de confrontación directa entre el patógeno y los biocontroladores, además de un tratamiento testigo, permitiendo observar y comparar la respuesta de *Phytophthora spp*. frente a la acción antagonista de los microorganismos evaluados.

En la fase de evaluación en frutos, la unidad experimental estuvo conformada por frutos de cacao inoculados con el patógeno, sobre los cuales se aplicaron los tratamientos correspondientes. Esta etapa permitió evaluar el efecto de los biocontroladores bajo condiciones controladas, simulando el desarrollo natural de la enfermedad sobre el fruto.

Durante el desarrollo del experimento se realizó una observación sistemática con la finalidad de registrar el comportamiento del patógeno en presencia de los biocontroladores. Las variables evaluadas incluyeron crecimiento micelial, porcentaje de inhibición del crecimiento micelial y diámetro de la lesión, parámetros que permitieron describir con precisión la respuesta de *Phytophthora spp*. ante los diferentes tratamientos aplicados.

3.1.1.3 Alcance de la Investigación

3.1.1.4 Alcance Explicativo

El alcance de la presente investigación ha sido explicativo, puesto que tiene como objetivo determinar el efecto que ejercen las cepas antagonistas *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* y *Gliocladium roseum* sobre el desarrollo de *Phytophthora spp*. en cacao. Si bien contempla la caracterización morfológica de los microorganismos y la evaluación de la interacción mediante ensayos de confrontación “in vitro”, su objetivo principal fue explicar la relación causa-efecto entre la aplicación de los biocontroladores y la inhibición del patógeno en condiciones semicontroladas. De este modo, se produjo evidencia científica sobre la eficacia de estos agentes de control biológico como alternativa sostenible para el manejo fitosanitario del cultivo del cacao.

3.1.2. Diseño de investigación

Para la ejecución de la presente investigación se empleó un diseño completamente al azar (DCA), considerando que las unidades experimentales fueron mantenidas bajo condiciones homogéneas tanto en laboratorio como durante la evaluación en frutos de cacao. Esta condición permitió la asignación aleatoria de los tratamientos y la comparación objetiva de sus efectos. En la fase in vitro, los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA) correspondiente a un diseño completamente al azar, con la finalidad de determinar la existencia de diferencias estadísticas entre los tratamientos evaluados. Posteriormente, cuando se identificaron diferencias significativas, se aplicó la prueba de comparación múltiple de medias mediante el método de Tukey al 5 % de probabilidad, permitiendo identificar el tratamiento con mayor capacidad antagonista frente al patógeno. En la fase de evaluación en frutos de cacao, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, debido al número reducido de unidades experimentales por tratamiento y a la naturaleza de los datos obtenidos. Esta prueba permitió identificar diferencias significativas entre los tratamientos en relación con variables como el diámetro de la lesión. En caso de presentarse diferencias significativas, se aplicó una prueba de comparación múltiple de rangos para determinar el tratamiento más efectivo experimental, en el cual se evaluó el efecto de diferentes tratamientos biológicos sobre *Phytophthora spp.* en frutos de cacao y en ensayos de confrontación in vitro.

3.2 Metodología

3.2.1. Variables.

Variable independiente

La variable independiente estuvo representada por la aplicación de agentes biocontroladores fúngicos, definida mediante los tratamientos experimentales que incluyeron cepas de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, *Gliocladium roseum*, su combinación y un tratamiento testigo. Estos tratamientos fueron aplicados con el propósito de evaluar su efecto sobre el desarrollo de *Phytophthora spp.*

Variable dependiente

Diámetro de la lesión en mazorcas

El diámetro de la lesión fue evaluado como un indicador del desarrollo de la enfermedad en frutos de cacao inoculados con *Phytophthora spp*. Esta variable fue determinada mediante la medición del tamaño de la lesión formada sobre la superficie del fruto, expresándose los resultados en centímetros. Las mediciones fueron realizadas posterior a la inoculación del patógeno, luego de varios días de incubación bajo condiciones aisladas dentro de una funda plástica humedecida con agua estéril, con la finalidad de mantener la humedad necesaria para el adecuado desarrollo del hongo.

Crecimiento micelial in vitro

El crecimiento micelial del patógeno fue evaluado mediante la medición del diámetro radial de la colonia de *Phytophthora spp*. desarrollada en cajas Petri, expresado en centímetros. Las mediciones fueron realizadas desde el punto de inoculación hasta el borde de la colonia utilizando una regla milimétrica, permitiendo determinar la capacidad de crecimiento del patógeno tanto en presencia como en ausencia de los biocontroladores, así como comparar el efecto de cada tratamiento sobre su crecimiento.

Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PICM)

El porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fue determinado mediante la comparación del crecimiento radial de *Phytophthora spp*. en el tratamiento testigo y en presencia de los agentes biocontroladores.

Este parámetro fue calculado considerando la relación entre el crecimiento del patógeno en ausencia de antagonistas y su crecimiento durante la interacción con los biocontroladores, permitiendo cuantificar el efecto inhibitorio generado por cada tratamiento.

3.2.2. Tratamientos

Tabla 1. Tratamientos en estudio *in vitro*

Tratamientos	Descripción	Inóculo
T1	*Testigo absoluto*	disco de colonia 0.5cm
T2	*T. harzianum*	
T3	*Gliocladium roseum*	
T4	*T. Asperellum*	

Elaborado por: La autora, 2026.

3.2.3. Diseño experimental

En la fase in vitro se implementó un diseño completamente al azar (DCA), conformado por cuatro tratamientos, con el propósito de evaluar la capacidad antagonista de los biocontroladores frente a *Phytophthora spp*. El tratamiento T1 correspondió al testigo absoluto, en el cual se realizó únicamente la siembra del patógeno. Por su parte, en los tratamientos T2, T3 y T4 se efectuaron confrontaciones directas entre *Phytophthora spp*. y los microorganismos antagonistas. En el tratamiento T2 se utilizó *Trichoderma harzianum*; en el tratamiento T3, *Gliocladium roseum*; y en el tratamiento T4, *Trichoderma asperellum*. Cada tratamiento fue establecido en cajas Petri bajo condiciones controladas de laboratorio. Para la inoculación, se colocaron discos de micelio de 0,5 cm de diámetro, tanto del patógeno como del biocontrolador correspondiente. Dichos discos fueron ubicados en extremos opuestos de la caja Petri, con la finalidad de permitir su crecimiento, interacción y posterior evaluación del efecto antagonista.

En la fase de evaluación en frutos de cacao también se empleó un diseño completamente al azar (DCA). Para el análisis de la variable diámetro de lesión, los datos obtenidos fueron sometidos a una prueba estadística no paramétrica.

Tabla 2.

Tratamientos en estudio en frutos de cacao.

Tratamientos	Descripción	Inóculo
T1	*Testigo absoluto*	disco de colonia 0.5cm
T2	*T. harzianum*	1x10 ^{7}
T3	*Gliocladium roseum*	1x10 ^{7}
T4	T. *asperellum*	1x10 ^{7}
T5	Mezcla de biocontroladores	1x10 ^{7}

Elaborado por: La autora, 2026.

3.2.4. Recolección de datos

Recursos

Recursos bibliográficos.

Para la recopilación de la información del proyecto se acudió al uso de documentos como; artículos científicos, libros, bibliotecas virtuales, tesis.

Recursos financieros.

Para el desarrollo de este proyecto de investigación todo se financió por cuenta de la tesista, recursos como: materiales de laboratorio, papelería, impresiones y movilización.

Recursos humanos

La ejecución de esta investigación estuvo bajo responsabilidad directa de la autora, contando con el acompañamiento y asesoramiento del docente tutor de la Universidad Agraria del Ecuador, quien supervisó el adecuado desarrollo del estudio y la correcta evaluación de cada una de las etapas, con el propósito de cumplir los objetivos planteados.

Materiales y herramientas

- Cepas de *Phytophthora spp*.
- Cepas de *Trichoderma harzianum*

- Cepas de *Trichoderma asperellum*
- Cepas de *Gliocladium roseum*

Materiales de laboratorio

- Cajas Petri estériles
- Probetas de 50 y 100 ml
- Agar
- Agua destilada
- Extracto de zanahoria
- Asa de siembra estéril
- Bisturí estéril
- Regla milimétrica
- Autoclave
- Mechero Bunsen
- Materiales de bioseguridad (guantes, mascarilla)
- Microsoft Excel para registro y organización de datos
- InfoStat para análisis estadístico de resultados

3.2.5. Métodos y técnicas

Métodos de investigación.

Método investigativo

Este método permitió la recopilación de información proveniente de fuentes científicas, la cual sirvió como base para la formulación y desarrollo de los objetivos planteados en la investigación.

Método deductivo

Las teorías consultadas permitieron la comprensión y observación de aspectos particulares relacionados con el objeto de estudio, facilitando la identificación de relaciones relevantes y la formulación de interpretaciones más cercanas a la realidad experimental.

Método inductivo

La investigación se fundamentó en conocimientos generales relacionados con el uso de biocontroladores como *Trichoderma spp*. y *Gliocladium roseum*.

A partir de estos conocimientos, se formularon hipótesis relacionadas con su capacidad de inhibición frente a *Phytophthora spp*., las cuales fueron evaluadas mediante ensayos experimentales. Posteriormente, los resultados obtenidos fueron contrastados con la teoría existente, permitiendo validar el efecto de los biocontroladores bajo condiciones semi controladas.

Método analítico

La investigación se desarrolló mediante el análisis individual de cada una de las variables evaluadas, entre ellas crecimiento micelial, porcentaje de inhibición, diámetro de lesión y severidad. Cada variable fue estudiada de forma independiente de acuerdo con los tratamientos aplicados, permitiendo identificar el efecto específico de cada biocontrolador sobre el desarrollo del patógeno.

Finalmente, los resultados obtenidos fueron integrados para establecer conclusiones generales del estudio.

Método sintético

El método sintético fue aplicado mediante la integración de los resultados obtenidos en cada una de las variables evaluadas. Se relacionaron los efectos generados por *Trichoderma spp*. y *Gliocladium roseum* sobre *Phytophthora* spp., integrando los resultados obtenidos tanto en la fase in vitro como en la evaluación realizada en frutos de cacao.

Se unificaron los resultados obtenidos en la fase in vitro y en frutos de cacao, este procedimiento permitió obtener una visión integral del comportamiento del patógeno y, finalmente, establecer conclusiones relacionadas con la eficacia de los tratamientos aplicados.

3.2.6. Técnicas de investigación.

Cultivo *in vitro* de hongos

Se realizó el cultivo de los hongos en medio de agar bajo condiciones controladas de laboratorio, con la finalidad de favorecer el crecimiento y desarrollo tanto del patógeno como de los biocontroladores.

Medición del crecimiento micelial

El crecimiento micelial de *Phytophthora spp*. fue determinado mediante la medición de su diámetro en milímetros y centímetros, utilizando una regla milimétrica durante un período de incubación previamente establecido.

Confrontación dual (Dual culture)

Se llevó a cabo la inoculación simultánea del patógeno y de los biocontroladores en cajas Petri, ubicándolos en extremos opuestos del medio de cultivo, con el objetivo de evaluar la interacción entre ambos organismos y determinar el efecto antagonista sobre el crecimiento micelial.

Cálculo del porcentaje e inhibición del crecimiento micelial (PICM):

Se aplicó la fórmula correspondiente para determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, considerando el crecimiento del patógeno en presencia de los biocontroladores, lo que permitió cuantificar el efecto inhibitorio generado por cada tratamiento.

Inoculación en frutos de cacao

Los frutos de cacao fueron inoculados mediante la aplicación de discos de 0,5 de diámetro de micelio de *Phytophthora spp*., con la finalidad de inducir el desarrollo de la enfermedad bajo condiciones semicontroladas.

Evaluación de la severidad de la enfermedad

Cada tratamiento fue establecido con sus respectivas repeticiones, con el propósito de garantizar la confiabilidad y validez de los resultados obtenidos durante la evaluación experimental.

3.2.7. Análisis estadístico

Se realizó inicialmente un análisis descriptivo de las variables evaluadas, determinando medidas estadísticas como medias y desviaciones estándar para el crecimiento micelial, porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PICM), diámetro de la lesión y severidad de la enfermedad.

Durante la fase in vitro, los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA), con el propósito de detectar diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y el control. Cuando se identificaron diferencias significativas, se aplicó la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey al 5 % de probabilidad.

En la fase de evaluación en frutos de cacao, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, debido al número reducido de unidades experimentales por tratamiento y a la naturaleza de los datos obtenidos. Este análisis permitió identificar diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Los resultados obtenidos fueron presentados mediante tablas y gráficos, facilitando la interpretación del efecto de los biocontroladores sobre el desarrollo del patógeno.

Análisis de varianza

Tabla 3. Análisis de varianza en fase *in vitro*

Fuente de variación	Fórmula	GL
Tratamientos	t-1	3
Error experimental	(n-1)-(t-1)	15
Total	n-1	18

Elaborado por: La autora, 2026

Hipótesis estadística

Ho: Los tratamientos con biocontroladores no produjeron diferencias significativas en el crecimiento micelial de *Phytophthora spp*. en condicione in vitro ni en el desarrollo de la enfermedad en frutos de caco, las diferencias observadas se debieron al azar.

Ha: Los tratamientos con biocontroladores produjeron diferencias significativas en el crecimiento micelial de *Phytophthora spp*. en condiciones *in vitro* y en el desarrollo de la enfermedad en frutos de cacao.

4 RESULTADOS

4.2. Caracterización morfológica de los organismos en estudio (*Trichoderma harzianum, Trichoderma asperellum, Gliocladium roseum y Phytophthora spp.)* en condiciones *in vitro.*

El aislado de *Trichoderma harzianum* demuestra un crecimiento vigoroso, con colonias de color verde oscuro y textura algodonosa en las etapas iniciales. Posteriormente, se observó una mayor compactación del micelio junto con una notable producción de esporas, características típicas del género *Trichoderma spp.*

Figura 1.

Características morfológicas macroscópicas de *Trichoderma harzianum.*



Elaborado por: La autora, 2026

Por su parte *Gliocladium roseum* presenta un crecimiento más lento y débil en comparación con los aislados de *Trichoderma spp.,* las colonias fueron de color blanco crema con ligeras tonalidades beige en sectores de mayor madurez, con

textura algodonosa y menor densidad de esporulación. Su desarrollo en el medio de cultivo fue más limitado, evidenciando una menor tasa de crecimiento.

Figura 2.

Características morfológicas macroscópicas de Gliocladium roseum.

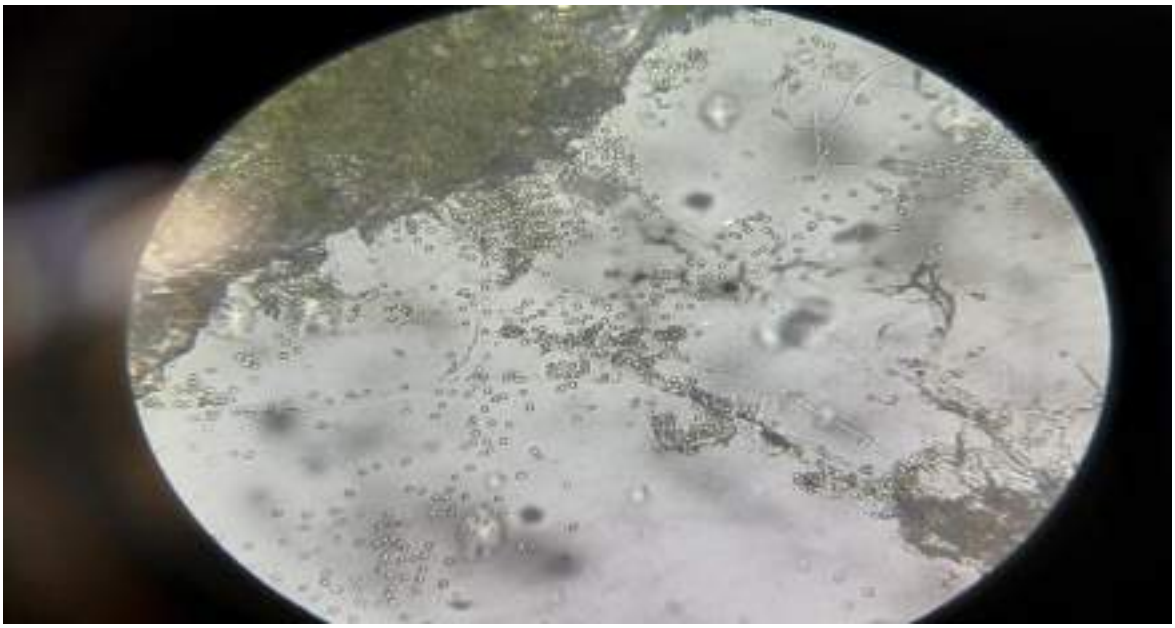


Elaborado por: La autora, 2026

El aislado de *Trichoderma asperellum* presenta un crecimiento rápido y dominante en las cajas Petri, evidenciado por una amplia colonización, estas mostraron una coloración verde intensa asociada a una alta esporulación, con una textura inicialmente algodonosa que posteriormente se tornó más compacta. Las colonias cubrieron rápidamente la superficie del medio, evidenciando una alta tasa de crecimiento.

Figura 3.

Características morfológicas macroscópicas de Trichoderma asperellum.

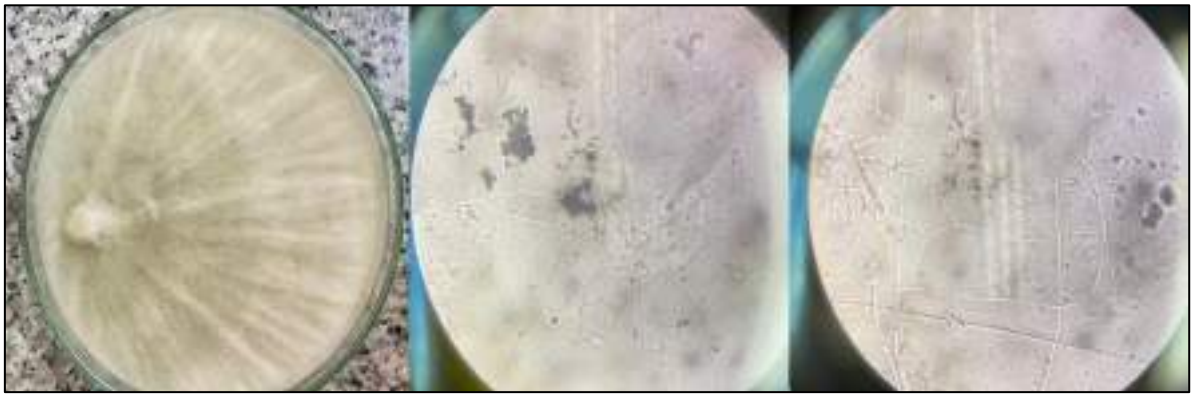


Elaborado por: La autora, 2026

El patógeno *Phytophthora spp.* evidencia un crecimiento radial uniforme, con colonias de color blanco cremoso y su textura tuvo una apariencia afelpada algodonosa. Su desarrollo fue constante durante el periodo de incubación, cubriendo progresivamente la superficie del medio de cultivo. Adicionalmente el comportamiento del patógeno en el medio de cultivo evidenció su capacidad de adaptación a condiciones semi controladas, lo que explica su alta agresividad en sistemas agrícolas y su capacidad para colonizar tejidos vegetales.

Figura 4.

Características morfológicas macroscópicas de Phytophthora spp.



Elaborado por: La autora, 2026

Tabla 4.

Crecimiento micelial de Phytophthora spp. durante 12 días.

Tratamientos	n	Medias
Testigo abs.	30	7,41 a
Gliocladium r.	29	5,12 b
T. harzianum	71	3,62 c
T. asperellum	60	2,75 d
p valor		<0,0001
Coef. Variación (%)		15,12

Elaborado por: La autora, 2026

4.2.1. Nivel de antagonismo de los biocontroladores mediante ensayos de confrontación *in vitro* frente a *Phytophthora spp.*

De acuerdo al análisis de varianza se evidenció que existe unas diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0,0001$), lo que indicó que los biocontroladores ejercieron un efecto diferencial sobre el crecimiento de *Phytopthora spp*. en condiciones semi controladas a nivel *in vitro.*

El tratamiento T4 *Trichoderma asperellum* presentó el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento micelial con 62,87 %, lo que comprueba su alta capacidad antagonista frente al patógeno. Este comportamiento sugiere un efecto más

eficiente en la competencia por espacio y nutrientes, así como posibles mecanismos de antibiosis.

Figura 5.

Pruebas de confrontación T4 Trichoderma asperellum vs Phytophthora spp.



Elaborado por: La autora, 2026

El tratamiento T2 *Trichoderma harzianum* mostró un efecto inhibitorio intermedio, con un 51,09% de inhibición lo que indicó una capacidad antagonista significativa, aunque inferior a el T4

Figura 6.

Pruebas de confrontación T2 Trichoderma harzianum vs Phytophthora spp.



Elaborado por: La autora, 2026

Por otra parte, el tratamiento T3 *Gliocladium roseum* presentó el menor porcentaje de inhibición, lo que evidenció una mejor eficiencia en la supresión del crecimiento del patógeno. Este comportamiento pudo estar asociado a su menor velocidad de crecimiento en comparación con los tratamientos basados en *Trichoderma*, lo que limitó su capacidad competitiva frente a *Phytophthora spp.*

Figura 7.

Pruebas de *confrontación T3 Gliocladium roseum vs Phytophthora spp.*



Elaborado por: La autora, 2026

El coeficiente de variación de 17,07% indicó una variabilidad aceptable en los datos experimentales, lo que respalda la confiabilidad de los resultados obtenidos.

Tabla 5.

Porcentaje de inhibición de crecimiento de los antagonistas.

Antagonista	n	Medias
T asperellum		62,87 a
T. harzianum		51,09 b
Gliocladium r.		30,94 c
p valor		<0,0001
Coef. Variación (%)		17,07

Elaborado por: La autora, 2026

4.2.2. Eficacia de los biocontroladores en la inhibición del desarrollo de Phytophthora spp. en frutos de cacao.

Los resultados obtenidos en la evaluación en fruto de cacao evidenciaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($p < 0,0001$) según la prueba no paramétrica de Kruskall-Wallis, lo que indicó que los biocontroladores influyeron significativamente en la inhibición del desarrollo de *Phytophthora spp*.

cómo se observa en la **TABLA 6** el tratamiento T2 *Trichoderma harzianum* presentó el menor valor de crecimiento de la lesión con 0,10 cm ubicándose en el grupo estadístico A, lo que con prueba su mayor eficiencia en la reducción del desarrollo del patógeno. Los tratamientos T3 *Gliocladium roseum*, T4 *Trichoderma asperellum* y T5 mezcla de biocontroladores, se agruparon en la categoría B sin presentar una reducción del desarrollo del patógeno en comparación con el testigo absoluto.

Por su parte, el tratamiento T1 Testigo absoluto presentó el mayor valor de crecimiento de la lesión 0,71 cm ubicándose en el grupo estadístico C lo que confirmó el desarrollo del patógeno en ausencia de agentes biocontroladores.

Estos resultados evidenciaron que la aplicación de biocontroladores influyó significativamente en la reducción del desarrollo *Phytophthora spp*. en frutos de cacao, destacándose *Trichoderma harzianum* como el tratamiento más eficiente bajo las condiciones evaluadas. Adicionalmente, se observó que la mezcla de biocontroladores no superó el efecto del tratamiento individual más eficiente, lo que sugirió la ausencia de un efecto sinérgico entre los microorganismos evaluados, posiblemente debido a interacciones competitivas o a diferencias en sus mecanismos de acción.

Estos resultados resaltaron la importancia de evaluar los biocontroladores directamente sobre el patógeno, ya que su comportamiento puede diferir significativamente respecto a los ensayos in vitro, donde las condiciones son más controladas y menos complejas. En este sentido, la evaluación en frutos permitió obtener información más representativa sobre la eficacia real de los biocontroladores en condiciones similares a las del cultivo de cacao.

Tabla 6.

Efecto de los biocontroladores sobre el desarrollo de Phytotphthora spp. en frutos de cacao.

Antagonista	Medias
T. harzianum	0,10 a
Gliocladium r.	0,45 b
Mezcla de 3 hongos antagonistas	0,33 b
T asperellum	0,60 b
Testigo abs.	0,71 c
p valor	<0,0001

Elaborado por: La autora, 2026

5. DISCUSIÓN.

La caracterización morfológica en esta investigación permite identificar diferencias relevantes en el crecimiento, la coloración, la textura y la capacidad de esporulación de los microorganismos evaluados, atributos que posteriormente se relacionaron con su desempeño como agentes de control biológico. *Trichoderma asperellum* presenta la mayor velocidad de crecimiento y una amplia capacidad para colonizar el medio de cultivo, mientras que *Trichoderma harzianum* evidenció un desarrollo vigoroso acompañado de una abundante producción de esporas. Estos resultados coinciden con lo descrito por (Santillan-Culquimboz y otros, 2025) y (Deiss, 2022), quienes señalan que las especies del género *Trichoderma spp*. poseen una elevada capacidad de competencia por espacio y nutrientes, además de mecanismos como el microparasitismo y la antibiosis, los cuales favorecen su establecimiento y acción frente diversos fitopatógenos.

En contraste, *Gliocladium roseum* presenta una menor velocidad de crecimiento y una producción de esporas más reducida, condición que pudo limitar su capacidad para competir con *Phytophthora spp*. durante el desarrollo del ensayo. No obstante, este comportamiento guarda relación con lo reportado en ((CRS), 2020) donde se reconoce a este microorganismo como un agente de control biológico que actúa mediante mecanismos de competencia, microparasitismo y antibiosis. Por otra parte, *Phytophthora spp*. desarrolla un crecimiento uniforme y continuo durante el periodo de evaluación, comportamiento que coincide con lo señalado por (Ayanwole y otros, 2025), quienes describen a este oomiceto como un patógeno con alta capacidad de adaptación y agresividad bajo condiciones ambientales favorables.

En conjunto los resultados permiten interpretar que las diferencias morfológicas observadas estuvieron estrechamente relacionadas con el comportamiento biológico de los microorganismos evaluados. La rápida colonización del medio de cultivo por parte de las especies de *Trichoderma spp.* favoreció su establecimiento y les proporciona una ventaja competitiva frente al patógeno, lo cual coincide con lo indicado por (Parra Cortes, 2024) y (Flores y otros, 2025), quienes destacan que la capacidad de los biocontroladores en el manejo de enfermedades del cultivo del cacao.

Los ensayos de confrontación *in vitro* permitie confirmar que los biocontroladores evaluados ejercen diferentes niveles de inhibición sobre el crecimiento de *Phytophthora spp.,* evidenciando variaciones en su capacidad antagonista*. Trichoderma asperellum* alcanzó el mayor efecto inhibitorio, resultado que coincide con lo reportado por (Santillan-Culquimboz y otros, 2025), quienes atribuyen la eficacia de esta especie a mecanismos como el microparasitismo, la competición por espacio y nutrientes y la producción de metabolitos con actividad antifúngica. La elevada inhibición obtenida en el presente estudio podría estar relacionada con la rápida colonización del medio de cultivo observada durante la caracterización morfológica, lo que favorece el establecimiento del antagonista e impidió el desarrollo del patógeno desde las etapas iniciales de crecimiento.

El comportamiento de *Trichoderma harzianum* y *Gliocladium roseum* permite interpretar que la eficacia de un biocontrolador no depende únicamente de su capacidad antagonista, sino también de factores como la velocidad de crecimiento y la capacidad de colonizar el medio antes que el patógeno. Aunque *Trichoderma harzianum* no tuvo el mismo rendimiento en el nivel de inhibición que *Trichoderma arperellum*, su respuesta confirma que posee un potencial importante para restringir el desarrollo de *Phytophthora sp*., mientras que la menor eficiencia de *Gliocladium roseum* sugiere que su acción biológica pudo verse limitada por un establecimiento más lento frente al patógeno. Los resultados obtenidos permiten considerar que las especies del género *Trichoderma sp*. representan una alternativa con potencial para el manejo biológico de *Phytophthora sp.,* en cacao, criterio que coincide con lo señalado por (Elisée y otros, 2025), quienes destacan la eficacia de estos biocontroladores para disminuir enfermedades fúngicas en el cultivo.

Los resultados en frutos de cacao permitieron interpretar que la eficacia de un biocontrolador no siempre es la misma que la observada en condiciones in vitro, ya que su desempeño también depende de la interacción con el tejido vegetal. En esta investigación *Trichoderma harzianum* presentó el mejor comportamiento al reducir el desarrollo de *Phytophthora sp*., lo que sugiere que este microorganismo posee una mayor capacidad biocontroladores bajo condiciones más cercanas a las del cultivo. Esta apreciación coincide con lo descrito por (Enchill y otros, 2025), quienes indican que la aplicación de *Trichoderma harzianum* favorece el desarrollo y la

supervivencia de plantas de cacao afectadas por *Phytophthora palmivora*, respaldando su potencial para el manejo biológico de esta enfermedad.

Así mismo el comportamiento de *Trichoderma asperellum* y de la mezcla de biocontroladores permite considerar que la eficacia observada en laboratorio no garantiza necesariamente una respuesta similar sobre el hospedero, debido a que en este intervienen factores fisiológicos y ambientales que modifican la interacción entre el antagonista y el patógeno. Desde esta perspectiva, los resultados obtenidos refuerzan la importancia de evaluar los biocontroladores en condiciones más próximas a la realidad del cultivo, criterio que coindice con lo planteado por (Yépez y otros, 2019), quienes destacan la incorporación de estos microorganismos dentro del manejo integrado de enfermedades contribuye a un control más sostenible y reduce la dependencia de fungicidas químicos.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

La caracterización morfológica de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, *Gliocladium roseum* y *Phytophthora* spp. permite establecer diferencias claras entre los organismos evaluados, considerando características como coloración, textura y velocidad de crecimiento bajo condiciones *in vitro*. Los biocontroladores pertenecientes al género *Trichoderma* se distinguen por presentar un crecimiento acelerado y una abundante producción de esporas, mientras que *Gliocladium roseum* evidencia un desarrollo más lento. Por su parte, *Phytophthora* spp. presenta un crecimiento uniforme y constante, confirmando su comportamiento agresivo en medio de cultivo.

En la evaluación del antagonismo bajo condiciones *in vitro* se evidenció que los biocontroladores ejercen un efecto notable sobre el crecimiento micelial de *Phytophthora* spp., interpretado mediante diferencias altamente significativas en el análisis estadístico ($p < 0,0001$). Entre los tratamientos evaluados, *Trichoderma asperellum* registró el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, seguido de *Trichoderma harzianum*, mientras que *Gliocladium roseum* presenta la menor capacidad antagonista. Estos resultados reflejaron diferencias en la eficiencia de los microorganismos como agentes de biocontrol bajo condiciones semi controladas de laboratorio.

En la fase de evaluación en frutos de cacao, se comprueba que la aplicación de los biocontroladores influye significativamente en la inhibición del desarrollo de *Phytophthora* spp., siendo *Trichoderma harzianum* el tratamiento que presenta mayor eficacia al registrar el menor diámetro de lesión. Los demás tratamientos también contribuyen a disminuir el avance del patógeno en comparación con el testigo absoluto, evidenciando la importancia de evaluar el comportamiento de los biocontroladores en condiciones más próximas al ambiente real del cultivo, donde su respuesta puede diferir con respecto a los ensayos realizados *in vitro*.

6.2. Recomendaciones

Incorporar variables cuantitativas como la tasa de crecimiento micelial, el diámetro de colonia y la producción de esporas, con el propósito de fortalecer la

descripción morfológica y optimizar la comparación entre *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, *Gliocladium roseum* y *Phytophthora* spp. bajo condiciones *in vitro*.

Utilizar extracto de zanahoria en la preparación de los medios de cultivo, debido a que se evidenció una mejor esporulación y un crecimiento más firme y vigoroso de los hongos en las cajas Petri que contenían este componente. Asi mismo, se sugiere ampliar los ensayos considerando diferentes concentraciones de inóculo y tiempos de incubación, además de evaluar de manera más específica los mecanismos de acción de los biocontroladores, tales como la producción de metabolitos antifúngicos y la competencia por espacio y nutrientes, con la finalidad de fortalecer la comprensión de su comportamiento frente a *Phytophthora* spp.

Desarrollar investigaciones a nivel de campo que permitan validar la eficacia de los biocontroladores bajo condiciones ambientales reales. De igual forma, se sugiere analizar diferentes dosis, frecuencias y métodos de aplicación, así como integrar estos microorganismos dentro de programas de manejo integrado del cultivo, con el propósito de optimizar el control de la enfermedad y contribuir a la sostenibilidad de la producción cacaotera.

7. **BIBLIOGRAFÍA**

Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario de Ecuador [Agrocalidad]. (5 de octubre de 2023). [Sección 2, 3]. resolución-0325-Protocolo-escamas-y-cochinillas.https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2023/10/

Alangar Ishwara, B., & Govind Pratap, R. (2020). Characterization of plant viruses. New York: Humana Press. https://doi.org/doi.org/10.1007/978-1-0716-0334-5

Arteaga Alcivar, F. (2015). Origen y evolución del banano. https://www.academia.edu/download/44494637/ARTICULO_BANANO_PDF_EVOLUCION_DE_PLANTAS_CULTIVADAS.pdf

Asamblea Nacional del Ecuador. (2009, 5 de mayo). Ley Orgánica del Régimen de la Soberanía Alimentaria. Registro Oficial No. 583 , 5 de Mayo 2009. file:///C:/Users/Ashle/Downloads/LEY%20ORG%C3%81NICA%20DEL%20R%C3%89GIMEN%20DE%20LA%20SOBERAN%C3%8DA%20ALIMENTARIA%20-%20LORSA%20(1).pdf

Asamblea Nacional del Ecuador. (2019, 31 de Diciembre). Código Orgánico de la Producción Comercio e Inversiones. Registro Oficial Suplemento 351 de 31-dic-2019. https://www.gob.ec/

Baena, M., & Vézina, A. (Julio del 2020). Pro Musa. https://www.promusa.org/Morfolog%C3%ADa+de+la+planta+del+banano

Carrasco Vera, J., Santana Aragone, D., Gónzales Chica, M., & Villamarin Barreiro, J. (2024). Plan de mejora para el control de cochinillas en el cultivo de banano en la zona Los Ríos, Ecuador. Conocimiento Global , 9(1), 1-17. https://doi.org/doi.org/10.70165/cglobal.v9i1.324

Carta de acuerdo, L. d. (2020). Mejora en la producción y registro de una cepa. “Fortalecimiento de las capacidades para la gestión ambientalmente adecuada de: https://www.gub.uy/ministerio-ambiente/sites/ministerio-ambiente/files/documentos/publicaciones/Informe%20Final%20-

%20Carta%20de%20Acuerdo%20sobre%20Clonostachys%20rosea%20-%20Feb2021.pdf

Clauida, P. C., Valentin, M. T., Alexandra, C. E., & Guillermo, C. D. (05 de septiembre del 2024). Evaluación de cepas de Trichoderma spp. para el control de Phytophthora spp. en Theobroma cacao L. en el sur de Colombia. Revista de Investigación Agraria y Ambiental (RIAA), 16(1), 146-147. https://doi.org/10.22490/21456453.7700

Constitución de la República del Ecuador (2008). [TITULO VII, Art.395 400-402, 404, 409, 410]. Registro Oficial No. 449 del 20 de octubre. https://www.asambleanacional.gob.ec/sites/default/files/documents/old/constitucion_de_bolsillo.pdf

Cortez-Madrigal, H. (2006). Efecto de Coadyuvantes en Lecanicillium lecanii (Zimm.) Zare y Gams y su virulencia hacia Toxoptera aurantii Boyer. Revista Mexicana de Fitopatología, 24(1), 2.

Deiss, F. (s.f.). CABI bioprotection portal. (S. Edgington, Editor) https://doi.org/https://bioprotectionportal.com/es/resources/types-of-biocontrol-agents/

García, R., Saraguro Reyes, C. V., Mazon Olivo, C. M., Eugenia, B., & Morocho Róman, R. F. (2025). Agricultura de precisión en la producción de banano. Scielo, 7(12), 50-76. https://doi.org/doi.org/10.35381/i.p.v7i12.4450

Guamán Villa, M. A., Jaramillo Aguilar, E. E., & Bernal Morales, J. (09 de 2022). Control biológico de la mazorca negra (Phytophthora palmivora L.). Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas, 5(3), 151. https://doi.org/https://www.redalyc.org/pdf/7217/721778120018

Infante Palacios, C. A. (2019). Manejo integrado de los principales insectos-plagas en el cultivo de cacao (Theobroma cacao L.), en la zona de Mata de Cacao [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Babahoyo]. Repositorio institucional. https://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/6867

Kauser, P. (2024). Neem's promise: the way to a sustainable future and eco-friendly biopesticides. Internationall Journal of Science and reserach

archive, 11(02), 1073-1082. https://doi.org/doi.org/10.30574/ijsra.2024.11.2.0532

Kebe, I., Mpika, J., N'guessa, K., Hebbar, P., Samuels, G., y Ake, S. (2009). Potencial antagonista de los aislados indígenas de Trichoderma... AJOL (African Journal Online), 8(20), 14. https://doi.org/http://www.academicjournals.org/AJB

Kongor, J. O.-Y. (2024). La producción de cacao en la década de 2020: desafíos y soluciones. CABI Agricultura y Biociencias. https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s43170-024-00310-6

Lanaud, C. V. (2024). A revisited history of cacao domestication in pre Columbiann times... scientific reports, 2. https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41598-024-53010-6

Lezaun, J. (2023). Crop life latino america. https://www.cafyf.org/croplife/

Lucero, J. M. (01 de 09 de 2024). Producción de Beauveria bassiana... La Granja. Revista de Ciencias de la Vida, 40(2), 113-129. https://doi.org/https://doi.org/10.17163/lgr.n40.2024.08

Lucero, J., Manzano, J., & al., I. L. (2024). Producción de Beauveria bassiana... La Granja: Revista de Ciencias de la Vida, 40(2), 113-129. https://doi.org/https://doi.org/10.17163/lgr.n40.2024.08

Medicine, N. L. (2021). National Library of Medicine. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7999002/

Medina Pinoargote, M. A. (2022). Evaluación de la capacidad antagónica in vitro de dos cepas de Trichoderma [Tesis de maestria. Universidad Técnica de Babahoyo]. Repositorio institucional https://dspace.utb.edu.ec/

Ministerio de Agricultura y Ganadería [MAG]. (s.f.). Ministerio de Agricultura y Ganadería. https://www.agricultura.gob.ec/ecuador-es-el-primer-exportador-de-cacao-en-grano-de-america/

Mónaco, C. I., & Larrán, S. (2024). Introducción a la fitopatología vegetal. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/181262

Olmos, L. ((s.f.)). Tecnología Hortícola. https://www.tecnologiahorticola.com/jabon-potasico-aliado-natural-lucha-contra-plagas/

Palma Jiménez, M., & Blanco Meneses, M. (2018). Variantes ultraestructurales de la cochinilla harinosa... Biotaxa, 44(2), 247-255. https://doi.org/www.biotaxa.org/rce/article/download/39610/33752/134747

Paredes, N., Monteros Altamirano, Á., Lima, L., Caicedo, C., & Bastidas, S. (2022). Manual del cultivo de cacao sostenible... Ministerio de Agricultura y Ganadería: file:///C:/Users/Ashle/Downloads/MANUAL%20DEL%20CULTIVO%20DE%20CACAO%20SOSTENIBLE%20PARA%20LA%20AMAZONIA%20N%C2%B0125%20(2).pdf

Parra Cortés, C. M. (19 de 12 de 2024). RIAA (Revista de investigación Agraria y Ambiental). Evaluación de cepas de Trichoderma spp... https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/7700

Pascoli, M., Jacques, M., Agarrayua, D., Avila, D., Lima, R., & Fraceto, L. (2020). Neem oil based nanopesticide... Science of the total environment, 677, 57-67. https://doi.org/doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.345

Pichis García, R. A. (2013). Influencia de cepas de trichoderma sp endofito en el crecimiento, nutrición y resistencia foliar... [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Martin] Repositorio institucional. https://repositorio.unsm.edu.pe/

Qing-Ying Zhao, F.-H. M.-H.-J.-P. (2023). Phytosanitary irradiation treatment... Journal of Economic Entomology, 116(5), 1567-1574. https://doi.org/doi.org/10.1093/jee/toad170

Razak Ahmed, A., Obeng Apori, S., & Aziz Karim, A. (2023). Mealybug vectors: A review... AIMS Agriculture and food, 8(3), 736-761. https://doi.org/10.3934/agrfood.2023040

Sharon Acosta Rojas, J. A. (2016). Evaluación de Trichoderma spp como Control Biológico... journal of agriculture and animal sciences, 10. https://doi.org/http://hdl.handle.net/10567/1835

Torres , M., & Minuche, V. (2024). Evaluación de la efectividad biológica del aceite organico de neem... [Tesis de pregrado, Escuela Agricola Panamericana, Zamorano]. Repositorio institucional https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/

Torres Fajardo, M. M. (2023). Producción y uso del hongo Trichoderma harzianum... [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Babahoyo]. https://dspace.utb.edu.ec/

Varma, N., Wadatkar, H., Rahul, S., & Varun Kumar, T. (2024). Advancing Sustainable Agriculture... Journal of experimental agriculture international, 46(7), 695-703. https://doi.org/doi.org/10.9734/

Vásquez Catillo, W., Oliva Racines, M., Mocayo, P., Viera, W., & Seraquive, M. (2020). Calidad del fruto y pérdidas de poscosecha... Enfoque UTE, 10(4), 57-66. https://doi.org/doi.org/10.29019/enfoque.v10n4.545

Vélez Ruiz, M., Tapia Gualpa, K., Herrera Eguez, F., y Reyes Pérez, J. (2023). Evaluación de extractos acuosos de neem... Bionatura Latin American Journal of Biotechnology and life sciences,12. https://www.revistabionatura.com/files/2023

Viales Hurtado, R. J., & Montero Mora, A. (2015). La construcción de la calidad del cafe y el banano en Costa Rica. Fundacion Dialnet(66), 147-176. file:///C:/Users/LENOVO/Downloads/Dialnet

Yousef-Yousef, M., & Quesada Moraga, E. (2020). Towards Dactylopius opuntiae... Biocontrol Science and Technology, 30(9), 951-961. https://doi.org/doi.org/10.1080/09583157.2020.1771280

Zanon, S. (24 de julio de 2024). MONGABAY. https://news.mongabay.com/2024/07/

Zequeira, C., & Beauregard, G. (12 de Abril de 2024). El cacao tabasqueño: de los olmecas a nuestro tiempo. Repositorio Universida Juarez Autónoma de Tabasco, 57-59. https://doi.org/https://doi.org/10.19136/ect120424a0

8. ANEXOS

Figura 8.

Análisis de varianza del crecimiento micelial en caja Petri de Phytopthora spp..

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Crec (cm)	190	0,87	0,86	15,12

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	482,17	3	160,72	403,33	<0,0001
Tratamientos	482,17	3	160,72	403,33	<0,0001
Error	74,12	186	0,40		
Total	556,29	189			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,36063

Error: 0,3985 gl: 186

Tratamientos	Medias	n	E.E.			
Testigo abs.	7,41	30	0,12	A		
Gliocladium R	5,12	29	0,12		B	
T. Harzianum	3,62	71	0,07			C
T asperellum	2,75	60	0,08			D

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

Elaborado por: La autora, 2026

Figura 9.

Prueba no paramétrica de Kruskall-Wallis del nivel afectación en frutos de cacao.

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamientos	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Crec (cm)	Gliocladium R	29	5,12	0,52	5,00	141,26	<0,0001
Crec (cm)	T asperellum	60	2,75	0,87	3,20		
Crec (cm)	T. Harzianum	71	3,62	0,46	3,50		
Crec (cm)	Testigo abs.	30	7,41	0,48	7,50		

Trat.	Medias	Ranks			
T asperellum	2,75	44,19	A		
T. Harzianum	3,62	85,05		B	
Gliocladium R	5,12	144,53			C
Testigo abs.	7,41	175,45			D

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

Elaborado por: La autora, 2026

Figura 10.

Análisis de varianza del porcentaje del crecimiento micelial de Phytophtora spp.

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
PIC%	160	0,62	0,61	17,07

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19998,96	2	9999,48	127,67	<0,0001
Antagonista	19998,96	2	9999,48	127,67	<0,0001
Error	12297,00	157	78,32		
Total	32295,96	159			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,33203

Error: 78,3249 gl: 157

Antagonista	Medias	n	E.E.		
T asperellum	62,87	60	1,14	A	
T. Harzianum	51,09	71	1,05		B
Gliocladium R	30,94	29	1,64		C

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

Elaborado por: La autora, 2026

Figura 11.

Pesaje del Agar para el medio de cultivo



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 12.

Preparación del extracto de zanahoria para el medio de cultivo.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 13.

Medición del PH del medio de cultivo.





Elaborado por: La autora, 2026

Figura 14.

Medio de cultivo listo para ir al autoclave.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 15.

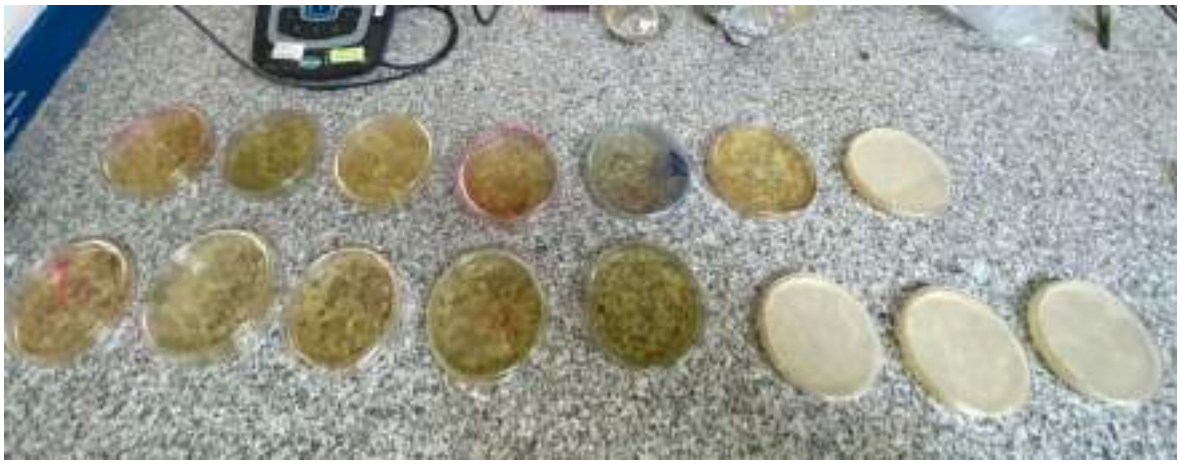
Preparación de cajas Petri con medio de cultivo.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 16.

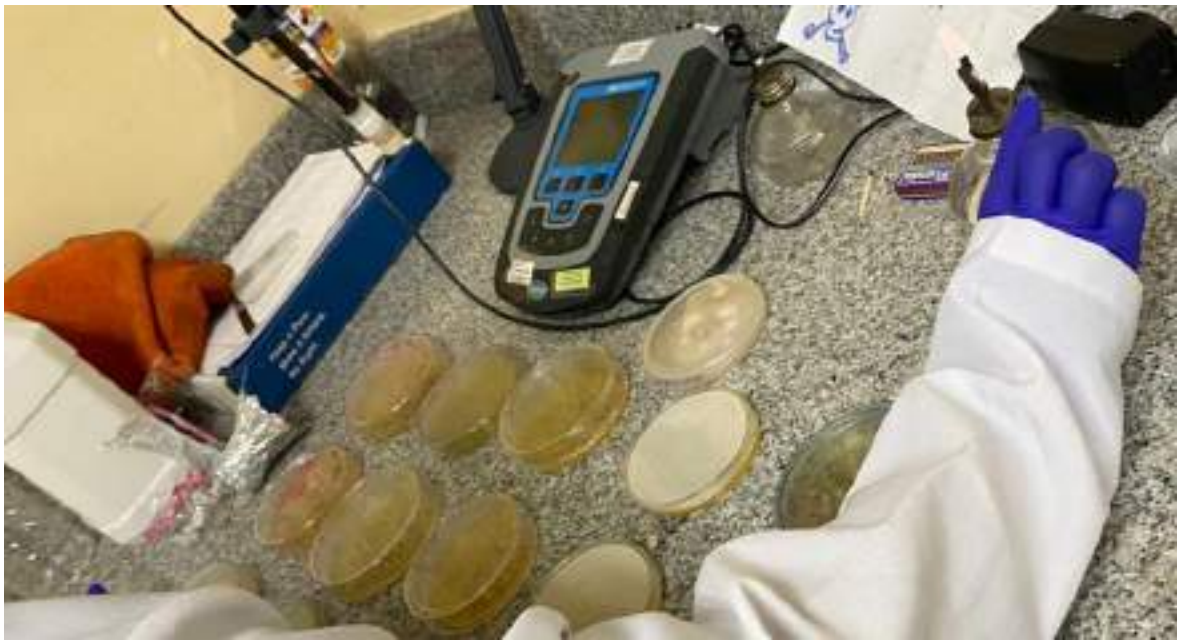
Cajas Petri listas con medio de cultivo.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 17.

Esterilización de herramientas para hacer los discos de los tratamientos y el patógeno



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 18.

Esterilización de herramientas para hacer los discos de los tratamientos y el patógeno.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 19.

Colocación de discos de Phytopthora spp. y Tratamientos para la confrontación.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 20.

Colocación de discos de Phytopthora spp. y Tratamientos para la confrontación.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 21.

Preparación de Tratamientos (T1, T2, T3, T4) para el manejo de Phytophthora spp. en frutos de cacao.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 22.

Tratamientos listos para aplicar en la inoculación en frutos de cacao.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 23.

Inoculación de discos de Phytophthora spp. en frutos de cacao con tratamientos aplicados.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 24.

Frutos del T1 (Testigo) luego de 8 días después de la inoculación.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 25.

Frutos del T2 (Trichoderma harzianum) luego de 8 días después de la inoculación.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 26.

Frutos del T3 (Gliocladium roseum) luego de 8 días después de la inoculación.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 27.

Frutos del T4 (Trichoderma asperellum) luego de 8 días después de la inoculación.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 28.

Frutos del T5 (Mezcla de los tres tratamientos T2-T3-T4) luego de 8 días después de la inoculación.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 29.

Frutos del T1 (Testigo) luego de 12 días después de la inoculación.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 30.

Frutos del T2 (Trichoderma harzianum) luego de 12 días después de la inoculación.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 31.

Frutos del T3 (Gliocladium roseum) luego de 12 días después de la inoculación.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 32.

Frutos del T4 (Trichoderma asperellum) luego de 12 días de la inoculación.



Elaborado por: La autora, 2026

Figura 33.

Frutos del T5 (Mezcla de los tres tratamientos T2-T3-T4) luego de 12 días después de la inoculación.



Elaborado por: La autora, 2026