



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE AGRICULTURA, SILVICULTURA, PESCA Y
VETERINARIA
CARRERA DE AGRONOMÍA

TRABAJO DE TITULACIÓN

Componente práctico del examen de carácter Complexivo,
presentado al H. Consejo Directivo, como requisito previo para
obtener el título de:

INGENIERA AGRÓNOMA

TEMA:

Producción y uso del hongo *Trichoderma harzianum* en el control de
moniliasis (*Moniliphthora roleri*) en mazorcas de cacao

AUTORA:

Marjorie Mariana Torres Fajardo

TUTOR:

Ing. Agr. Juan Mariano Ortiz Dicado, M. Sc.

Babahoyo – Los Ríos – Ecuador

2023

RESUMEN

La moniliasis es una de las enfermedades fungosas más importantes en el cultivo de cacao pues afecta a las mazorcas con alta severidad, y es uno de los factores limitantes de la productividad. El hongo *Moniliophthora roreri* es el agente patógeno causal de esta enfermedad. Para el control de *moniliasis* existen varias estrategias de manejo tales como: control cultural, control biológico y control químico, siendo este último el más utilizado en el país a pesar del alto riesgo para el medio ambiente. En el presente trabajo de investigación, los objetivos planteados fueron: Describir la producción y uso del hongo *Trichoderma harzianum* en el control de moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en mazorcas de cacao; explicar la producción de esta clase de hongo, y especificar su utilización como controlador natural del hongo precursor de la enfermedad moniliasis (*M. roreri*) en mazorcas de cacao. Respecto de la metodología y técnicas utilizadas, estas fueron de tipo exploratorio y explicativo; exploratoria porque se centró en información y documentos técnicos ya existentes, de donde se recopiló toda la información que luego fue clasificada, tabulada, parafraseada y explicada en relación con los objetivos propuestos; la metodología también es explicativa, porque detalla la relación que existe entre el agente causal de la enfermedad Moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri*) y su agente antagónico orgánico *Trichoderma harzianum*. Las conclusiones nos indican que la utilización de *T. harzianum*, organismo antagónico de *Moniliophthora roreri* contribuye a favorecer la sanidad, el rendimiento y la inocuidad del cultivo de cacao, así como también disminuir el impacto ambiental desfavorable causado por el uso frecuente de productos químicos para el control de plagas. La utilización del hongo *T. harzianum* para el manejo de la enfermedad moniliasis es una alternativa para lograr aumentos en los rendimientos, calidad y resiliencia del cultivo; en consecuencia, se recomienda la producción y utilización de *T. harzianum* en las plantaciones de cacao del país.

Palabras claves: Producción, antagonismo, biocontrolador, sustrato.

SUMMARY

Moniliasis is one of the most important fungal diseases in cocoa cultivation because it affects the pods with high severity, and is one of the limiting factors of productivity. The fungus *Moniliophthora roreri* is the causal pathogen of this disease. For the control of moniliasis there are several management strategies such as: cultural control, biological control and chemical control, the latter being the most widely used in the country despite the high risk to the environment. In the present research work, the objectives were: To describe the production and use of the fungus *Trichoderma harzianum* in the control of moniliasis (*Moniliophthora roreri*) in cocoa pods; to explain the production of this kind of fungus, and to specify its use as a natural controller of the precursor fungus of the moniliasis disease (*M. roreri*) in cocoa pods. Regarding the methodology and techniques used, these were of exploratory and explanatory type; exploratory because it was centered on already existing information and technical documents, from where all the information was compiled and then classified, tabulated, paraphrased and explained in relation to the proposed objectives; the methodology is also explanatory, because it details the relationship that exists between the causal agent of the Moniliasis disease of cocoa (*Moniliophthora roreri*) and its organic antagonistic agent *Trichoderma harzianum*. The conclusions indicate that the use of *T. harzianum*, an antagonistic organism of *Moniliophthora roreri*, contributes to the health, yield and safety of the cocoa crop, as well as reducing the unfavorable environmental impact caused by the frequent use of chemical products for pest control. The use of the fungus *T. harzianum* for the management of the moniliasis disease is an alternative to achieve increases in yields, quality and resilience of the crop; consequently, the production and use of *T. harzianum* in cocoa plantations in the country is recommended.

Key words: Production, antagonism, biocontrol, substrate.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	II
SUMMARY.....	III
1. CONTEXTUALIZACIÓN	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.3. JUSTIFICACIÓN	3
1.4. OBJETIVOS	4
1.4.1. Objetivo general	4
1.4.2. Objetivos específicos	4
1.5. TIPO DE INVESTIGACIÓN – LINEAS DE INVESTIGACIÓN	4
2. DESARROLLO.....	5
2.1. MARCO CONCEPTUAL	5
2.1.1. Importancia del cultivo de cacao.....	5
2.1.2. <i>Moniliophthora roreri</i>	5
2.1.2.1. Historia de esta enfermedad en América Latina.....	5
2.1.2.2. Distribución actual.....	6
2.1.2.3. Clasificación taxonómica.....	6
2.1.2.4. Morfología de <i>Moniliophthora roreri</i>	6
2.1.2.5. Conidiogénesis y estructura de la septa.....	7
2.1.2.6. Daños y estimación de pérdidas.....	8
2.1.2.7. Síntomas y ciclo de la enfermedad.....	8
2.1.3. Trichoderma como alternativa de control de hongos fitopatógenos.....	9
2.1.3.1. <i>Trichoderma harzianum</i>	9
2.1.3.2. Clasificación taxonómica.....	10
2.1.3.3. Mecanismos de acción.....	10
2.1.4. Producción artesanal del hongo antagónico <i>T. harzianum</i> en sustrato sólido	11

2.1.4.1. Primera etapa: asilamiento de <i>T. harzianum</i> y pruebas de efectividad.	11
2.1.4.1.1. Aislamiento.....	11
2.1.4.1.2. Procedimiento	12
2.1.4.1.3. Pruebas de antagonismo	13
2.1.4.1.3.1. <i>In Vitro</i>	13
2.1.4.1.3.2. <i>In vivo</i> , en invernadero y/o campo	13
2.1.4.1.4. Segunda etapa: Preparación y acondicionamiento del sustrato	14
2.1.4.1.5. Control de calidad	16
2.1.5. Uso del hongo <i>T. harzianum</i> en el control de moniliasis (<i>M. roreni</i>) en mazorcas de cacao.....	17
2.1.6. Referencias para el uso de <i>T. harzianum</i>	19
2.2. MARCO METODOLÓGICO	20
2.2.1. METODO:.....	20
2.2.2. METODOLOGÍA:	20
2.3. RESULTADOS	21
2.4. DISCUSION DE RESULTADOS.....	22
2.5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	23
2.5.1. CONCLUSIONES	23
2.5.2. RECOMENDACIONES	24
2.6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS Y ANEXOS	25
2.6.1. REFERENCIAS.....	25
2.6.2. ANEXOS	33

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pag
Figura 1. Síntomas y signos de moniliasis en los frutos: A. gibas o jorobas; B. puntos aceitosos sub-epidermales; C. manchas café y D. esporulación.....	33
Figura 2. Colonias de distintos aislamientos de <i>Trichoderma</i> spp. sobre medio de cultivo APG.....	33
Figura 3. Estructuras de <i>Trichoderma</i> (40x), conidióforos: cd; fialidees: fd; conidios: ci; clamidosporas: cl.....	34
Figura 4. A) Primer día de siembra Cultivo dual de <i>T. spp</i> frente a <i>M. roleri</i> izquierda (B) 360 horas después de la siembra <i>M. roleri</i> derecha <i>T. spp</i>	34
Figura 5. Producción de <i>T. harzianum</i>	34

1. CONTEXTUALIZACIÓN

1.1. INTRODUCCIÓN

La moniliasis es una de las enfermedades más importantes en el cultivo de cacao, afectando a las mazorcas con alta severidad, siendo uno de los factores limitantes de la producción, su presencia se favorece por varios factores climáticos como altas temperaturas y precipitaciones; se han registrado pérdidas desde 16 % hasta 80 % en condiciones de mal manejo del cultivo de cacao (Osorio 2020).

El hongo *Moniliophthora roreri* es el agente patógeno causal de esta enfermedad que afecta principalmente en las primeras etapas de crecimiento de las mazorcas, en donde estas se vuelven progresivamente más resistentes, a medida que avanza su desarrollo (Lascano 2022).

Moniliophthora roreri reproduce muchísimas hifas efectivas y se torna intracelular, denotando entonces la presencia de los síntomas característicos de la enfermedad como: marchitamiento, necrosis y deformación de frutos tiernos; en las mazorcas el hongo esporula por un tiempo aproximado de ocho meses, por esta razón es importante retirar de los árboles las mazorcas enfermas (Tirado *et al.* 2019).

Para el control de la *moniliasis* existen varias estrategias de manejo tales como: control cultural, control biológico y control químico, siendo este último el más utilizado, pero en este último caso se corre el riesgo de crear resistencia, contaminar el medio ambiente y afectar la salud humana (Tirado *et al.* 2019).

En los últimos tiempos se han realizado investigaciones con microorganismos antagónicos para hacer control de varias enfermedades de la mazorca del cacao, como es el caso de *Trichoderma harzianum* para neutralizar el hongo *Moniliophthora roreri*; los resultados informan de un control eficiente tanto a nivel de laboratorio como de campo (Sandoval y Belesanshy 2020).

El *Trichoderma harzianum* se caracteriza por poseer conidióforos erectos o arrastrados, altamente ramificados y más o menos cónicos; el extremo final del conidióforo presenta terminaciones filinas, con esporas lisas, ovoides y sus colonias son de crecimiento rápido. Este antagonista utiliza varios mecanismos de control biológico como parasitismo, antibiosis y compite por espacio y nutrientes (Otero *et al.* 2020).

La producción, activación, conservación y formulación de *Trichoderma harzianum* es factible a nivel de laboratorio, favoreciendo la virulencia del hongo y su capacidad controladora de *Moniliophthora roreri* en la plantación de cacao (Troya y Vaca 2019).

Por lo expuesto es necesario recopilar y sintetizar información referente a la producción y uso del hongo *T. harzianum* en el control de moniliasis (*M. roreri*) en mazorcas de cacao.

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cultivo de cacao presenta enfermedades, como la moniliasis que se caracteriza por causar daños solamente a las mazorcas de cacao en cualquier estado de desarrollo, provocando grandes pérdidas en la producción con porcentajes que varían del 20 a 80 % de acuerdo a las condiciones climáticas, el manejo del cultivo y los genotipos sembrados; esto principalmente en plantaciones establecidas en zonas húmedas con altas temperaturas, altas precipitaciones y sin manejo técnico adecuado (Lascano 2022).

Es necesario indicar que, actualmente las estrategias de manejo implementadas para controlar la *moniliasis* en cacao casi no son eficientes debido a que los productores, por el uso frecuente y excesivo de químicos, como es el caso del Clorotalonil, pierdan su efectividad, además de afectar el medio ambiente y la salud humana.

Por esta razón las investigaciones con agentes biológicos han despertado un gran interés en el control de patógenos de plantas convirtiéndose en una respuesta efectiva contra la utilización masiva de productos químicos, siendo

Trichoderma harzianum un hongo antagonista ampliamente utilizado para el control de moniliasis en el cultivo de cacao.

1.3. JUSTIFICACIÓN

En la práctica agrícola de cualquier cultivo, de sus plagas y enfermedades, existen alternativas de control amigables con el ambiente y la salud humana; por esta razón, para controlar moniliasis en cacao, se considera el control biológico como alternativa de manejo sostenible, por su alta eficiencia para controlar enfermedades de la mazorca del cacao usando hongos antagónicos; uno de estos géneros de los que se ha reportado estudios de los efectos en moniliasis es *T. harzianum*, por la capacidad que tiene de suprimir el crecimiento de *Moniliophthora roreri* mostrando una eficacia superior al 90 % (Osorio 2020).

La producción de *Trichoderma harzianum* representa una alternativa viable cuando la demanda es alta; solo basta acelerar el proceso de producción masiva para obtener un producto biológico en menor tiempo, mayor cantidad y alta variedad de propágulos, aumentando así su eficiencia (García *et al.* 2019).

Es importante destacar que se puede obtener *Trichoderma harzianum* en forma natural a nivel del suelo, en las mazorcas de cacao, o en algún sustrato por su alta versatilidad, adaptabilidad y fácil manipulación, lo que favorece su disponibilidad y uso efectivo en el control biológico de la moniliasis del cacao.

Por estos antecedentes, se justifica la presente investigación sobre producción y uso del hongo *Trichoderma harzianum* para el control de moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en mazorcas de cacao.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

Describir la producción y uso del hongo *T. harzianum* en el control de moniliasis (*M. roleri*) en mazorcas de cacao.

1.4.2. Objetivos específicos

- Detallar la captura y forma de producción del hongo *T. harzianum*.
- Especificar el uso del hongo *T. harzianum* en el control de moniliasis (*M. roleri*) en mazorcas de cacao.

1.5. TIPO DE INVESTIGACIÓN – LINEAS DE INVESTIGACIÓN

Tipo de investigación

- Consultiva, a través de investigación bibliográfica

Línea de investigación: UTB

- Dominio: Recursos agropecuarios, ambiente, biodiversidad y biotecnología

Línea de investigación: FACIAG

- Línea: Desarrollo agropecuario, agroindustrial sostenible y sustentable.
- Sublínea: Sanidad agropecuaria

2. DESARROLLO

2.1. MARCO CONCEPTUAL

2.1.1. Importancia del cultivo de cacao

El cacao es una planta originaria de la cuenca del Amazonas donde se cultiva en una geografía tropical húmeda; en Ecuador el cacao es producido por aproximadamente 100 000 familias productoras (80 % son pequeños productores); se estima que más de 500 000 hectáreas de cacao (más del 80 % del cacao aromático) se cultivan en sistemas forestales (Reatique 2022).

En América, el mayor productor es Brasil con un 18 %, seguido de Ecuador (6 %), Colombia y México (1 % de la producción mundial). Se estima que más de 20 millones de personas dependen directamente de este cultivo, y el 90 % de la producción proviene de pequeñas explotaciones (menos de 5 hectáreas) (Reatique 2022).

2.1.2. *Moniliophthora roreri*

2.1.2.1. Historia de esta enfermedad en América Latina

Los primeros informes confirmados de la enfermedad *Moniliophthora roreri* en cacao datan de finales del siglo XIX; en Ecuador se reportó la enfermedad en 1917, en la región de Quevedo, y desde allí se extendió a Perú y Colombia, lo que provocó el abandono de plantaciones enteras; otra versión informa que la enfermedad apareció por primera vez en la provincia de Santander, Colombia, donde se observaron síntomas característicos de la enfermedad en varias plantaciones (Avilez 2020).

El hongo se ha extendido por toda la región latinoamericana provocando grandes pérdidas de producción; en Centroamérica y México, la enfermedad se ha extendido durante los últimos 50 años (Costa Rica, 1978; Nicaragua, 1979; Honduras, 1997; Guatemala, 2002; Belice, 2004; México, 2005; El Salvador, 2009 años); la enfermedad fue confirmada en Bolivia en 2012, lo que representa una grave amenaza para las plantaciones de cacao en Brasil por ser país vecino, uno

de los mayores productores de cacao del mundo; Perú ratificó la Convención Amazónica en 1988 (Cadena y Poma 2022).

2.1.2.2. Distribución actual

La enfermedad ha sido registrada en Ecuador, Colombia, Venezuela, Perú, Bolivia y el Istmo de Panamá (Panamá, Costa Rica, Nicaragua, Honduras, Guatemala y Belice). Fue registrado en México en 2004 y confirmado en Jamaica, Antillas (Cadena y Poma 2022).

2.1.2.3. Clasificación taxonómica

Ramírez (2023) expresa que la clasificación taxonómica de *M. roreri* es la siguiente:

- **Reino:** Fungi
- **Filo:** Basidiomycota
- **Clase:** Agaricomycetes
- **Subclase:** Agaricomycetidae
- **Orden:** Agaricales
- **Familia:** Marasmiaceae
- **Género:** *Moniliophthora*
- **Espécie:** *M. roreri* (Cif.) H.C. Evans, Stalpers, Samson & Benny, (1978).

2.1.2.4. Morfología de *Moniliophthora roreri*

El hongo se puede aislar de frutos infectados, se desinfecta la superficie con hipoclorito de sodio al 2,5 % durante 1 min y se lava con agua esterilizada; se retira la cubierta exterior del feto, los fragmentos de tejidos subyacentes y luego directamente sobre el medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) se aísla con excelentes resultados (Evans, 1981).

Generalmente el aspecto de la colonia es lanudo o afieltrado, con color salmón, ocre claro o rosa que con el tiempo se torna canela o arcillosa. A veces, las colonias son inicialmente de color algodonoso a polvoriento, de color blanco a crema u ocre. Inodoro (Evans, 1981).

En la zona de avance, las hifas son transparentes, de paredes delgadas, septadas, a veces ligeramente irregulares, con protuberancias de 1,5 a 5 μm de ancho. Las hifas aéreas son de dos tipos: a) de paredes ligeramente más gruesas en la zona principal b) de transparentes a marrón claro, de paredes gruesas, sin septos, de 1,5 a 2 μm de ancho, espinosas y raramente ramificadas. Los conidióforos producen cadenas de conidios maduros con válvulas basales. Los conidios se separan fácilmente, tienen paredes gruesas, de color amarillo pálido a marrón, generalmente esféricos a subesféricos, de 8 a 15 micrones de diámetro, a veces elípticos de 8 a 20 x 5 a 14 micrones, y un espesor de pared de hasta 2 micrones. También se encontraron conidios cilíndricos de paredes delgadas, probablemente derivados de filamentos inmaduros. Una variante forma clamidosporas o crecimientos similares a clamidosporas (Evans, 1981).

2.1.2.5. Conidiogenesis y estructura de la septa

Un conidio es una spora asexual inmóvil formada directamente a partir de una hifa o célula conidiógena o esporógena (García et al 2018).

Las células conidiales se diferencian de las hifas vegetativas por la hinchazón apical y el desarrollo de los primeros conidios; la parte debajo del tabique basal luego se hincha y los conidios posteriores se diferencian; todos los conidios se desarrollan por igual y forman una cadena de lóbulos basales (punta a base) de conidios maduros; con el tiempo, los conidios tienden a perder su forma redonda y adquieren paredes gruesas y de color marrón pálido (García et al 2018).

Los racimos constan de 4 a 10 conidios rodeados o cubiertos por una pared celular primitiva. Los conidios se liberan al romper la pared (Sánchez et al 2021).

Los micelios vegetativos contienen septos de tipo lipófilo, correspondientes a los de los basidiomicetos. Por lo tanto, se especula que este hongo es un estadio asexual de un basidiomiceto posiblemente relacionado con *Moniliophthora perniciosa* (Villegas 2018).

2.1.2.6. Daños y estimación de pérdidas

La moniliasis es una enfermedad específica del fruto que provoca su pudrición total o parcial, dependiendo de la edad de la infección (Guilcapi 2020).

Los daños causados por la enfermedad varían y están influenciados por las condiciones climáticas, especialmente la temperatura y las precipitaciones. La incidencia de la enfermedad es mayor en climas cálidos y húmedos que en climas cálidos o moderadamente secos (Guilcapi 2020).

Evans (1986) menciona que, en las localidades de Milagro, Quevedo, Machala, Chone, Vinces y Montalvo en Ecuador, la prevalencia de moniliasis fluctuó entre 20,3% y 43,6%.

La gravedad de los frutos enfermos puede oscilar entre 0 (frutos sanos) y 3 (frutos con más del 75 % de daño interno); si la incidencia es alta, los daños en las cosechas también lo son (Cuenca et al 2022).

Los frutos infectados antes de los tres meses pierden el 100% de sus granos, mientras que los frutos infectados cuatro meses después pierden sólo el 10% (Antomarchi et al 2023).

La moniliasis afecta no sólo al rendimiento, sino también a la calidad de las materias primas, porque los productores no quieren utilizar partes de frutos enfermos, o quitar y extraer estos granos (que se separan fácilmente) y mezclarlos con granos de frutos sanos (Acebes et al 2018).

2.1.2.7. Síntomas y ciclo de la enfermedad

En condiciones naturales no se conocen órganos enfermos aparte de los frutos; los frutos menores de tres meses son más susceptibles a la infección; los síntomas varían según la edad del fruto; en frutos de menos de tres meses, el primer signo de infección es la aparición de jorobas, o abultamientos brillantes (Figura 1-A) (Flores et al 2018).

En mazorcas mayores de 3 meses, el primer síntoma es la aparición de manchas oleosas subcutáneas (Figura 1-B); en general, pasa un mes desde la infección hasta los primeros síntomas, al mes y medio aparecen manchas de chocolate (Figura 1-C) y finalmente, a los 8-9 días, se forma una estructura similar a una lana o fieltro de color crema, lo que indica que había una gran cantidad de esporas maduras (Figura 1-D) (Sandovals y Balesanskis 2020).

Finalmente, el período de incubación del hongo (aparición de síntomas claros de la enfermedad) en frutos suele ser de un mes, y el período de crecimiento es de poco menos de tres meses (Hernández et al 2019).

2.1.3. Trichoderma como alternativa de control de hongos fitopatógenos

Muchos hongos del suelo pueden dañar gravemente diversos órganos de las plantas e incluso provocar su muerte. Mediante el uso de hongos y bacterias antagonistas, es posible descubrir más estrategias potenciales para controlar enfermedades causadas por patógenos; entre estos microorganismos destaca *Trichoderma* como agente de biocontrol; las especies más destacadas son: *T. harzianum*, *T. viride.*, *T. koningii*, y *T. hamatum* (Albrechts et al 2023).

Los hongos del género *Trichoderma* se pueden encontrar en diversos ecosistemas, incluso en suelos agrícolas, y tienen la capacidad de inhibir fitopatógenos debido a su alto potencial antagónico para reducir la incidencia y severidad de enfermedades de las plantas (Romero et al 2019).

2.1.3.1. *Trichoderma harzianum*

Es un hongo anaeróbico que vive naturalmente en el suelo con comportamiento saprofito o parásito; el éxito de las cepas de *T. harzianum* como agentes de biocontrol está relacionado con su alta capacidad reproductiva, capacidad de supervivencia en condiciones ambientales adversas, uso eficiente de nutrientes, capacidad de modificar la rizosfera, fuerte agresividad contra hongos fitopatógenos y eficiencia promotora del crecimiento; la neutralización estimula la protección; mecanismos en las plantas; las diferentes cepas se caracterizan por un

rápido crecimiento micelial y abundante formación de esporas, lo que favorece la colonización en diversos sustratos y suelos (Ruiz 2019).

2.1.3.2. Clasificación taxonómica

Según Solís y Suarez (2020), la clasificación taxonómica de *T. harzianum* es la siguiente:

- **Reino:** Fungi
- **División:** Ascomycota
- **Subdivisión:** Pezizomycotina
- **Clase:** Sordariomycetes
- **Orden:** Hypocreales
- **Familia:** Hypocreaceae
- **Género:** Trichoderma
- **Especie:** *T. harzianum* Rifai (1969)

2.1.3.3. Mecanismos de acción

Chiriboga et al (2018) expresan que el hongo *T. harzianum* desencadena mecanismos de control a través de la competencia directa (por espacio y nutrientes), la producción de metabolitos de antibióticos, la inactivación de enzimas patógenas, el cambio en las condiciones ambientales, la producción de sustancias promotoras del crecimiento de las plantas y el parasitismo fúngico.

Bautista (2017) expresa que los tres mecanismos de acción más importantes del hongo *T. harzianum* son:

- **Competencia:** La competencia por espacio y/o nutrientes se considera uno de los mecanismos clásicos de control biológico en este género. Su rápido ritmo de desarrollo lo convierte en un fuerte competidor espacial para la colonización de la rizosfera; por otro lado, tiene una excelente capacidad para movilizar y absorber nutrientes del suelo y puede utilizar el sustrato como fuente de carbono y nitrógeno de manera muy flexible, lo que le

permite colonizar rápidamente el medio y evitar la presencia de otros microorganismos en el medio.

- **Producción de metabolitos:** *Trichoderma* es capaz de producir compuestos orgánicos volátiles y no volátiles, que juegan un papel importante en la inhibición del crecimiento y desarrollo de microorganismos patógenos. En estas interacciones participan enzimas líticas extracelulares, antibióticos y compuestos de bajo peso molecular. Son las esporas que ayudan a colonizar diversos sustratos y suelos.
- **Micoparasitismo:** este es un proceso complejo de interacción antagonista-patógeno que ocurre en cuatro etapas: crecimiento quimiotáctico, reconocimiento, adhesión y enrollamiento, y actividad lítica. En la última fase se producen enzimas líticas extracelulares, principalmente quitinasas, dextranasas y proteasas, que rompen la pared celular del patógeno y permiten la entrada de las hifas de *Trichoderma*. Se ha demostrado que algunas especies de este hongo, especialmente *Trichoderma harzianum*, tienen potencial para mejorar el crecimiento y desarrollo de las plantas. Esto puede explicarse por la supresión de pequeños patógenos y la producción de factores que estimulan el crecimiento de las plantas y promueven la absorción de nutrientes.

2.1.4. Producción artesanal del hongo antagónico *T. harzianum* en sustrato sólido

2.1.4.1. Primera etapa: asilamiento de *T. harzianum* y pruebas de efectividad.

2.1.4.1.1. Aislamiento

El aislamiento facilita el hallazgo y recuperación de colonias, que también se llaman aislados locales o aislados residentes, ya que se espera que estos aislados se comporten adaptados a las condiciones agroecológicas regionales. Con el muestreo dirigido, se toman muestras en presencia de una o más enfermedades de interés a baja intensidad. Además, se recomienda realizar muestreos masivos utilizando enmiendas biológicas y orgánicas en lugar de agroquímicos (Saserio 2018).

2.1.4.1.2. Procedimiento

Andrade (2019) detalla que es importante tomar una muestra combinada (10 submuestras) de cada lote de suelo con una pala a una profundidad de 10-20 cm. Las muestras se deben colocar en bolsas de polietileno etiquetadas. En el laboratorio, el suelo previamente aireado debe tamizarse a través de un tamiz de 2 mm, envasarse, etiquetarse y refrigerarse. En este punto se pueden utilizar dos técnicas: i) suspensión y dilución del suelo, donde se coloca 1 gramo de suelo en 9 ml de solución salina estéril. Prepare diluciones en serie a partir de esta dilución 10^{-1} y use una pipeta estéril para inocular 1 ml (generalmente una dilución 10^{-3} o más) de medio que contenga agar papa dextrosa (PDA) o medio selectivo de *Trichoderma* en una placa de Petri. Modificado de Smith et al. (1999). Inocular las placas durante 7 días a 25°C; ii) Cámara de humedad, utilice submuestras de 25 g, divídalas en placas de Petri en la cámara de humedad durante 7-8 días.

Este mismo autor señala que en ambos casos, las observaciones se realizaron diariamente hasta que aparecieron colonias de hongos con características de crecimiento similares a *Trichoderma*. Es decir, colonias de rápido crecimiento y color - blanco, verde, amarillo, verde - con conidios aparecen como anillos concéntricos (Figura 2), y el lado opuesto de la colonia suele estar sin pigmento, amarillo o amarillo verdoso. A partir de colonias que tengan estas características, prepare portaobjetos, solución de montaje y cubreobjetos para observarlos con un microscopio óptico para buscar estructuras características de los hongos: meristemas erectos, hialinos, ramificados y sin surcos. Las esporas son sólidas, agrupadas o solitarias; también son piriformes o en forma de botella, simple o agrupada, centro agrandado y ápice delgado; los conidios son unicelulares alargados o subelargados, lisos o en forma de herradura. Es de color verde o transparente y abundante en los ápices de las fiálides (Figura 3).

Al séptimo día del cultivo, se debe eliminar una porción de la superficie de las esporas de una colonia identificada positivamente como *Trichoderma* y se inocula en un tubo que contenga PDA para su conservación. Alternativamente, para garantizar la pureza de la cepa: preparar una suspensión de la fracción de esporas en solución salina. Esta suspensión se inocula en placas que contengan un medio de agar-agua y las esporas germinadas se seleccionan por su crecimiento en este

medio usando un microscopio óptico para obtener aislados de esporas individuales; finalmente, se transfieren las colonias en desarrollo para su almacenamiento en tubos que contengan APG (Verde 2017).

2.1.4.1.3. Pruebas de antagonismo

2.1.4.1.3.1. *In Vitro*

Para realizar estas pruebas se utiliza una técnica de cultivo dual. Se deben depositar discos miceliales (5 mm) de cada aislado de *Trichoderma* y fitopatógeno en cajas de Petri con medio PDA, colocados opuestos y equidistantes (Figura 4). Como control se utiliza la inoculación individual de cada aislado de *Trichoderma* y patógeno. Los ensayos se deben realizar por triplicado. Después de 7 días de incubación a 25 °C, se evalúa el grado de antagonismo utilizando el método de Bell et al. (1982) (Tabla 1) (Martínez et al 2019).

Tabla 1. Escala de clases de antagonismo.

Clases	Descripción
1	<i>Trichoderma</i> crece completamente sobre la colonia del patógeno y cubre la superficie del medio de cultivo
2	<i>Trichoderma</i> crece al menos sobre dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo
3	<i>Trichoderma</i> y el patógeno cubren aproximadamente la mitad de la superficie del medio de cultivo
4	El patógeno crece al menos en las dos terceras partes del medio de cultivo limitando el crecimiento de <i>Trichoderma</i>
5	El patógeno crece sobre la colonia de <i>Trichoderma</i> ocupando toda la superficie del medio de cultivo

2.1.4.1.3.2. *In vivo*, en invernadero y/o campo

Para estas pruebas se deben utilizar aislados de *Trichoderma*, los cuales presentaron antagonismo grados 1 y 2 en la prueba de doble cultivo. Se deben preparar suspensiones de conidias en solución salina a partir de cultivos puros de PDA de aislados seleccionados y sus concentraciones se deben determinar utilizando una cámara de Neubauer. Luego se ajusta la concentración a 2×10^8 conidias (Hermosa et al 2019).

Es importante destacar que para patógenos foliares se utilice una pulverización foliar. Los tratamientos deben ser los mismos que para los patógenos del suelo (Perdomo 2018).

En ambos casos la prueba se debe realizar por triplicado y la variable de respuesta es el grado de incidencia de la enfermedad. El criterio para la selección de aislados de *Trichoderma* para producción manual es a nivel de antagonismo obtenido en las pruebas de eficacia, medido por la reducción de la intensidad de la enfermedad respecto a la observada en controles inoculados con suspensiones de fitopatógenos (Stocco et al 2019).

2.1.4.1.4. Segunda etapa: Preparación y acondicionamiento del sustrato

Se puede utilizar una variedad de granos de cereales, pseudocereales y salvados, entre ellos: amaranto, avena, cebada, maíz y trigo; aunque el arroz es el grano más utilizado, los productores nacionales pueden elegir variedades que no incurran en costos adicionales; en este sentido, se puede evaluar el aprovechamiento de frutos desechados y otros residuos de cultivos (Marina et al 2019).

Una vez seleccionado el sustrato, se debe ajustar; para los granos, el acondicionamiento implica el acto de pre-hervir en agua. El tiempo varía según el grano utilizado, 5-7 minutos para arroz y pseudogranos, 35-40 minutos para cereales. Después de la precocción, las alubias se colocan en bandejas y se airean a temperatura ambiente hasta que se suelten. Cuando los granos estén secos se colocan en bolsas de vidrio o polietileno. Los frascos deben limpiarse previamente con agua y detergente, luego sumergirse en agua que contenga hipoclorito de sodio y enjuagarse con agua. Posteriormente se coloca en el frasco o bolsa una cantidad de grano precocido, no mayor a un tercio de su volumen. Los frascos deben cubrirse con tapones de algodón y tapas de papel aseguradas con alambre, y las bolsas de polietileno deben cerrarse con alambre o cinta de papel. La etapa final del acondicionamiento son los frascos o bolsas colocados en autoclave a 121°C durante 10 minutos, o en un recipiente durante 35-40 minutos en baño-maría (Falconi 2010).

Una vez que los frascos o bolsas estén esterilizados y enfriados se puede comenzar el proceso de siembra. En los matraces o bolsas se siembra (inocula) con un cultivo puro del hongo en una cantidad de 1 cm² de medio colonizado por *Trichoderma* (Ortiz et al 2019).

Se debe colocar el matraz o bolsa inoculada en una estufa a 26°C con fotoperiodo de 12 horas durante 8-9 días, agitando suavemente cada dos días para evitar la formación de grumos y promover la colonización del sustrato. Si no se tiene una incubadora, colocar los frascos o las bolsas en un estante limpio, fuera de la luz solar, durante 11 a 12 días (Campos 2019).

Pasados los 9 días, elegir frascos o bolsas cuyos sustratos estén totalmente colonizados con *Trichoderma*. Dependiendo de la cepa utilizada, aparecerá un color verde o amarillo en el grano para visualizar la colonización. A partir de este punto, los productos biológicos están listos para usar y se pueden almacenar en un lugar fresco fuera de la luz solar directa o en el fondo del refrigerador si se van a usar dentro de una o dos semanas. Si los productos orgánicos se van a almacenar por un período más largo, es necesario el secado y envasado al vacío (Sivila et al 2017).

El proceso de secado se realiza para mantener vivas las conidias y clamidosporas durante el almacenamiento. Extender el contenido de los frascos o bolsas sobre una bandeja, desinfectar con hipoclorito de sodio al 3%, enjuagar y secar. Las bandejas se colocarán en un ambiente con extractor de aire y se pesarán diariamente hasta un peso constante. Finalmente, los productos biológicos colonizados y secos se colocan en bolsas de polietileno selladas al vacío (Acosta 2018).

Este producto orgánico se puede almacenar hasta 10-11 meses en la oscuridad y a una temperatura inferior a 10°C. Durante este tiempo se deben realizar pruebas microbiológicas para determinar la calidad del producto (Mas et al 2019).

También se puede triturar el sustrato colonizado con una trituradora (tamiz de 0,8 mm). Después de la molienda, los sustratos colonizados se secan en una

estufa de aire caliente a 60 °C durante 24 horas para obtener un contenido con humedad del 5-7%. El polvo resultante se envasa. Se puede utilizar dextrosa anhidra o tierra de diatomeas como vehículo (Mas et al 2019).

2.1.4.1.5. Control de calidad

Gómez (2017) señala que la producción de microorganismos antagonistas (MA) requieren un control adecuado de las propiedades biológicas, físicas y químicas para garantizar que los productos de los agricultores sean máximamente efectivos en condiciones de campo; las pruebas recomendadas a este respecto incluyen: la determinación del grado de antagonismo mediante métodos de doble cultivo;

Para la determinación de la concentración de conidias, se requiere que la concentración de conidias por gramo de producto en la formulación sólida sea igual o superior a 10^9 colonia , misma que se determina mediante conteo directo en una cámara de Neubauer; para ello, primero diluya 1 g de sustrato de colonización con 9 ml de agua destilada estéril en un tubo de ensayo. La dilución debe agitarse adecuadamente para permitir que se acumule en la cámara de recolección. Se crea una cámara de Neubauer colocando un cubreobjetos limpio en el centro y luego llenando la cámara con disolvente en un ángulo de 35° con respecto al borde del cubreobjetos con una pipeta. La suspensión debe drenarse suavemente hasta que la zona de llenado esté llena con el capilar. Es importante que el relleno quede uniforme y sin burbujas de aire. Una vez llena la cámara, se deja reposar durante 2 min para permitir que los conidios se asienten, haciéndolos más fáciles de observar y contar (Bagnon et al 2019).

López et al (2022) expresan que las conidias se deben contar colocando la cámara en el microscopio; se debe utilizar el ocular de 10X cuando mire la cámara y utilice el ocular de 40X para contar los 25 cuadrados de la cámara. Una vez que se suman ambas áreas de la cámara, la concentración (C) se puede calcular usando la siguiente fórmula:

C (conidios/mm³): (Conidios contados en los 2 campos)/Superficie recontada (mm²)
x profundidad (m) x dilución

La viabilidad se determina mediante prueba de germinación de conidias utilizando portaobjetos cubiertos con una fina capa de medio APG. A estos portaobjetos se les aplican 4 tiempos de titulación de la suspensión de fitosustrato a una concentración de 10^7 - 10^8 conidios/ml. Los portaobjetos inoculados se colocan en una cámara húmeda y se incuban durante 18 a 24 horas a 26 °C en la oscuridad. Luego se observan los portaobjetos al microscopio (40X). Se cuentan un total de 300 conidios (100 por portaobjetos) y los tubos germinales se consideraron viables cuando los conidios tengan el doble de longitud. Si el producto se utiliza para tratar semillas o plántulas, el efecto puede estar entre el 80 y el 90 %, mientras que para el follaje debe ser superior al 90 % (Varaschin et al 2020).

La pureza, se determina mediante la relación entre *Trichoderma* y posibles microorganismos contaminantes. La cuantificación se realiza preparando diluciones seriadas en un producto 10 en 10; Se sembraron 0,2 ml de cada dilución por duplicado en placas de agar de malta o APG. Las placas se incuban a 26°C durante 4 días antes de contar el número de colonias de *Trichoderma* y contaminantes. La proporción de *Trichoderma* a los contaminantes se expresa como porcentaje y el nivel de contaminación no debe exceder el 0,002% (Aveces et al 2018).

2.1.5. Uso del hongo *T. harzianum* en el control de moniliasis (*M. royeri*) en mazorcas de cacao.

Mediante varios ensayos se ha comprobado que se puede realizar aplicaciones de *T. harzianum* a los 62 días del crecimiento de las mazorcas, mediante aspersión dirigida en dosis de concentración de 1×10^9 esporas/g, donde se ha evidenciado una menor incidencia de la enfermedad moniliasis con un promedio del 6.4 % (Benites y Marroqui 2015).

También se ha comprobado que al realizar aplicaciones de *T. harzianum* a los 77 días del crecimiento de las mazorcas, mediante aspersión dirigida en dosis de concentración de 1×10^9 esporas/g, donde se ha evidenciado una menor incidencia de la enfermedad moniliasis con un promedio del 6 % y con una excelente producción de mazorcas sanas (Villamil et al 2018).

En un estudio de biocontrol realizado por Vásconez y Imbaquingo (2019) se pudo comprobar la eficiencia de *T. harzianum* como biocontrolador de *M. roreri* en cada una de las dosis empeladas cada 15 días (concentración 1×10^7 esporas/g, concentración 1×10^8 esporas/g y concentración 1×10^9 esporas/g) al reducir la incidencia de la enfermedad moniliasis con un promedio del 17 %, 14 % y 13 % respectivamente.

Mediante un estudio de biocontrol realizado por Peñon et al (2020) se pudo evidenciar la eficiencia de *T. harzianum* como biocontrolador de *M. roreri*, donde la dosis optima de aplicación fue la concentración 1×10^7 esporas/g, al disminuir la incidencia de la enfermedad en un 13 %.

La aplicación de *T. harzianum* en una concentración de 1×10^8 esporas/g consiguió el mayor porcentaje de mazorcas sanas (66.51 %) con respecto al testigo (46.80 %); a su vez mostro ser el más eficaz sobre la enfermedad con el 42 % en relación al testigo (Gato 2018).

Danielson (2018) manifiesta que *T. harzianum* demuestra tener una mayor capacidad antagónica contra *M. roreri* al inducir en condiciones de campo los menores porcentajes de severidad externa e interna, disminuye el progreso de la enfermedad y en consecuencia la mayor disminución de daño en los frutos de cacao, destacándose como un agente con el mayor potencial para el control de *M. roreri*.

La evaluación antagónica de *T. harzianum* contra *M. roreri* en campo ha mostrado que *Trichoderma* disminuye la severidad interna en un 28 % y la severidad externa en un 19.5 % del patógeno respecto al control químico (Allori et al 2017).

Ensayos de campo con *T. harzianum* muestran que la incidencia de *M. roreri* disminuye en un 6 % con respecto al testigo; la severidad en campo fue medida en base a sintomatología externa siendo el tratamiento con dosis de 300 g el más eficiente reduciendo la severidad en 10.87 % con relación al testigo (Vallejo 2020).

Mediante la aplicación de *T. harzianum* 100 g/20L agua permite el mejor control de la moniliasis con el menor porcentaje de incidencia (12.8 %), la menor escala de abundancia (3.87 Mz) y el mayor número de mazorcas sanas (Sandoval et al 2019).

Mediante un ensayo de biocontrol se evidencio que la aplicación de *T. harzianum* con mayor efecto de biocontrol sobre la severidad externa de moniliasis son: *T. harzianum* en dosis 2.9×10^7 UFC.g y *T. harzianum* en dosis 2.9×10^8 UFC.g, con periodicidad quincenal respecto al testigo con frecuencia semanal (Rodríguez et al 2020).

2.1.6. Referencias para el uso de *T. harzianum*

Sandoval y Noelting (2019) expresan que para la utilización de *T. harzianum* se deben considerar las siguientes recomendaciones:

- Debe aplicarse inmediatamente después de su obtención; si esto no es posible, se debe refrigerar entre 1°C y 10°C; se puede conservar durante cuatro meses.
- Los fungicidas convencionales pueden afectar a Trichoderma, por lo que lo mejor es evitarlos o aplicarlos un mes antes pero no al mismo tiempo, para no afectar la eficacia del agente biológico.
- La eficacia de *T. harzianum* sobre *M. royeri* está entre 60 % y 93,2 %.
- La dosis inicial es de 6 kg/ha (dosis inundativa). En las siguientes aplicaciones (dosis inoculativo) se utiliza en cantidades de 1 a 3 kg/ha. Para enfermedades foliares, aplicar cada dos a cuatro semanas; aplicar semanal o quincenalmente para enfermedades de la raíz.
- En lugares donde existe una infestación, se puede aplicar un producto granular y luego regar.

2.2. MARCO METODOLÓGICO

2.2.1. METODO:

El presente trabajo de investigación es el componente práctico de la prueba complejiva de grado, y se ejecutó a través de la recopilación de todo tipo de información válida, indagando en portales web especializados, en publicaciones de artículos científicos, tesis de grado, y demás fuentes y documentaciones bibliográficas disponibles en distintas plataformas digitales.

La información obtenida fue analizada y adecuada al objetivo de inducir una información específica que esté en correspondencia a este proyecto cuyo tema es: “Producción y uso del hongo *Trichoderma harzianum* en el control de moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en mazorcas de cacao” destacando así su importancia y fundamentos para el conocimiento técnico y académico del lector.

2.2.2. METODOLOGÍA:

La metodología y técnicas utilizadas en este trabajo de investigación fueron de tipo exploratorio y explicativo; exploratorio porque se centra en documentos técnicos ya existentes, de donde se recopiló toda la información para el contenido del presente caso de estudio; y explicativo porque detalla la relación que existe entre el agente causal de la enfermedad Moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri*) y su agente antagónico *Trichoderma harzianum*

2.3. RESULTADOS

La moniliasis es una enfermedad específica de la mazorca de cacao que provoca la pudrición total o parcial, dependiendo de la edad de la infección; los daños causados por la enfermedad varían y están influenciados por las condiciones climáticas, especialmente la temperatura y las precipitaciones pluviales. La incidencia de la enfermedad es mayor en climas cálidos y húmedos que en climas cálidos o moderadamente secos.

El hongo *T. harzianum* demuestra tener una mayor capacidad antagónica contra *M. royeri* al inducir, en condiciones de campo, los menores porcentajes de severidad externa e interna, disminuye el progreso de la enfermedad y en consecuencia la mayor disminución de daño en los frutos de cacao, destacándose como un agente con el mayor potencial para el control de *M. royeri*.

Dentro de la producción de *T. harzianum* es importante realizar pruebas de antagonismos, pruebas de efectividad en campo, y control de calidad, con la finalidad de evidenciar la germinación de conidios, ya que *T. harzianum* posee tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios, siendo estos dos últimos más estables.

Dentro del uso de *T. harzianum* contra *M. royeri* en campo se ha demostrado que *Trichoderma* disminuye la severidad interna en un 28 % y la severidad externa en un 19.5 % del patógeno respecto al control químico, mediante aplicaciones de forma quincenal.

2.4. DISCUSION DE RESULTADOS

La captura y producción de *T. harzianum* involucra una serie de procesos específicos que permiten obtener un producto biológico que contenga el mayor número de conidias viables para el control de *M. royeri* en mazorcas de cacao, en donde Sandoval y Noelting (2019) expresan que es importante evidenciar la viabilidad de los conidios, los mismos que pueden verse afectados por la exposición a la radiación solar, humedad y la temperatura de almacenamiento del producto; se recomienda que las aplicaciones foliares se realicen temprano en la mañana o en la tarde, previo riego del cultivo para facilitar la germinación.

Bautista (2017) expresa que los mecanismos de acción más importantes del hongo *T. harzianum* como la Producción de metabolitos, Micoparasitismo y Competencia, permiten su utilización para el manejo de la enfermedad moniliasis con una eficacia de entre 60 % y 93,2 %, siendo una alternativa sustentable para lograr aumentos en los rendimientos, calidad del cultivo, y reducir el impacto negativo que los agroquímicos tienen sobre el medio ambiente.

2.5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

2.5.1. CONCLUSIONES

La utilización de *T. harzianum* contribuye a favorecer la sanidad, el rendimiento y la inocuidad del cultivo de cacao, así como también disminuir el impacto ambiental desfavorable causado por el uso frecuente de productos químicos para el control de plagas

La producción de *T. harzianum* se realiza en varias etapas que son: primeramente, el aislamiento de cepas de Trichoderma, prueba de efectividad in vitro e in vivo y selección de cepas; la segunda etapa consiste en: preparación y acondicionamiento del sustrato, inoculación de los sustratos, incubación, secado, envasado y control de calidad

El hongo *T. harzianum* es un biocontrolador natural que usando ejecuta un mecanismo de acción específico en la membrana del hongo, demostrando inducir respuesta sistemática y resistencia de las plantas de cacao a la moniliasis, permitiendo tener mayor producción en las cosechas y mayor resistencia de las plantas de cacao ante la presencia de *M. rozeri*.

La evaluación antagónica de *T. harzianum* contra *M. rozeri* en el campo ha mostrado la disminución de la severidad interna de la enfermedad en un 28 % y la severidad externa en un 19.5 % del patógeno en relación al control químico.

2.5.2. RECOMENDACIONES

Dar charlas técnicas a los cultivadores sobre la producción de *T. harzianum* en las fincas cacaoteras.

Es importante que los agricultores cacaoteros tomen en consideración todas las actividades comprendidas para la producción de *T. harzianum* a fin de asegurar la sanidad de las plantaciones de cacao.

Se deben tomar en cuenta todas las recomendaciones técnicas sobre el uso de *T. harzianum* para el control de *M. royeri*.

2.6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS Y ANEXOS

2.6.1. REFERENCIAS

- Albrechts, A., Albrechts, M., Morínigo, B., Zapata, N., Raybrook, R., Paniagva, N. 2023. *Trichoderma* sp. Posible uso para el control biológico sostenible en huertos. *Revista de Investigación y Encuesta del Conocimiento Académico (Encarnación)* 17(17): 35-45.
- Aceves, M., Otero, M., Martens, R., Rodríguez, N., Ariza, F. Barrios, A. 2018. Producción masiva de *Trichoderma harzianum* Rifai en diferentes sustratos orgánicos. *Revista Chapingo, Serie Horticultura* 15(7): 68-79.
- Acosta, O. 2018. Comportamiento de *Trichoderma* sp. bajo diferentes condiciones de laboratorio. Tesis Ing. Agr. Ambato. Ecuador. UTA. 64 p.
- Acebes, A., Otero, M., Martínez, R., Rodríguez, N., Ariza, R., Barrios, A. 2018. Producción a gran escala de *Trichoderma harzianum* Rifai en diferentes sustratos orgánicos. *Revista Chapingo* 14 (2): 185–191.
- Andrade, C. 2019. Evaluación del efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* para el control de marchitez en mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) en el cantón Pillaro, provincia de Tungurahua. Tesis Ing. Agr. Riobamba. Ecuador. ESPC. 115 p.
- Allori, E., Yasem, M., Ploper, L. 2019. Evaluación de sustratos para la producción de esporas de *Trichoderma* y crecimiento de las cepas antagonistas TPT03, TPT02, MRT35 y MRT40 en arroz. *Revista de Agronomía del Noroeste Argentino* 37(1): 57-66.
- Avilez, A. 2020. Evaluación del potencial de un microencapsulado en masa de *Trichoderma* spp., para el biocontrol de *Moniliophthora roreri* a través de ensayos in vitro e in vivo. Tesis Ing. Agr. Guayaquil. Ecuador. ESPOL. 72 p.

- Antomarchi, Y., Tamayo, E., Guerra, J., Mas, S., Barrera, A. 2023. Producción de hongo *Trichoderma harzianum* a-34 en sustratos sólidos alternativos. PENTACIENCIAS 5(1): 259-267.
- Aceves, A., Sánchez, M, Martínez, R., Rodríguez, N., Ariza, R., Barrios, A. 2018. Producción a gran escala de *Trichoderma harzianum* Rifai en diferentes sustratos orgánicos. Revista Chapingo, Serie de horticultura: 14(2): 185-191.
- Benites, B., Marroquí, L. 2015. Producción de *Trichoderma harzianum* en diferentes sustratos orgánicos. Portal de la Ciencia, 4, 68-74.
- Bagnon, S., Lozano, M., Castañeda, S. 2019. Producción de aroma coco por *Trichoderma haniianllm* cultivado en medio sólido y en medio líquido. Biotecnología 12(5): 317-322.
- Bautistas, L. 2017. Producción de clamidosporas de *Trichoderma* en medios líquidos. Fitopatología Venezuela 3: 55.
- Benítez, S. 2019. Evaluación in vitro del efecto supresivo de *Trichoderma* spp. para el control de moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del Cacao (*Theobroma cacao*). Tesis Ing. Agr. Quito, Ecuador, USFQ. 70 p.
- Cuenca, J., Quevedo, J., Tuz, I., Chabla, J., Vera, E. 2022. *Trichoderma* spp: Propagación, dosificación y aplicación en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). Ciencia y Agricultura 19(3): 32-44.
- Cadena, F., Poma, E. 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, Bolivia. 9(2): 37-43.
- Campos, M. 2019. Efecto de sustratos inoculados con *Trichoderma*. Cultivo y producción de plantas de pimiento dulce (*Capsicum annum*) Linn en un

ambiente protegido. Tesis Ing. Agr. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica. 130 p.

Chiriboga, H., Gómez, G., Garcés, K. 2018. *Trichoderma* sp. para el control biológico de enfermedades. IICA. Paraguay. 28 p.

Danielson, R. 2018. Nutrición de carbono y nitrógeno en *Trichoderma*. *Biología y Bioquímica del suelo* 5:506-515.

Evans H., Stalpers J., Samson R., Benny G., 1978, 'Clasificación de *Monilia roleri*, un importante patógeno del cacao en América del Sur'. *Canadian Journal of Botany* 56(2): 528.

Falconí, C., Oleas, A., Páez, T., Yáñez, V. 2019. "Biocontrol de *Candida* en campo utilizando microorganismos epífitos aislados de mazorcas de cacao", "Estrategias biológicas para el control de la candidiasis en cacao", Promsa IQ, Quito. Ecuador. 21-28 p.

Falconí, C. 2010. Manual de taxonomía de *Trichoderma*. Microbiología agrícola en el Ecuador.

Flores, E., Huanca, G., Onofre, X., Jiménez, P., Torrez, M., Guarachi, H., Fernández, C. 2018. Producción de plantas de *Trichoderma* en diferentes sustratos. *Revista estudiantil AGRO-VET* 220-224.

García, R., Duran, M., Riera, R. 2019. Producción de biomasa de *Trichoderma harzianum* por fermentación líquida. *Fitosanidad* 10(4): 295-298.

García, T., Oleas A., Páez, T., 2018. "Biocontrol de *M. roleri* en campo utilizando microorganismos epífitos aislados de mazorcas de cacao de variedad CCN-51", "Estrategias biológicas para el control de la candidiasis del cacao", Promsa IQ, Quito, Ecuador. 48-53 p.

- Gato, J. 2018. Métodos y preparaciones para la conservación de *Trichoderma harzianum* rifai. *Fitopatología* 14(3): 189-195.
- Guilcapi, E. 2020. Efecto de *trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, en la producción de plantas de café (*Coffea arábica*) variedad caturra a nivel de vivero. Tesis Ing. Agr. Riobamba. Ecuador. ESPC. 95 p.
- Gómez, T. 2017. Evaluación de diferentes medios y condiciones para la producción de conidias de *Trichoderma* por fermentación líquida y sólida. Tesis Ing. Agr. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica. 125 p.
- Hernández, D., Ferrera, R., Alarcón, A. 2019. *Trichoderma*: importancia en agricultura, biotecnología y sistemas de fermentación para la producción de biomasa y enzimas de valor industrial. *Revista Chilena de Ciencias Agrícolas y Pecuarias* 35(1): 98-112.
- Hermosa, R., Viterbo, L., Monte, E. 2019. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology* 158: 17-25.
- Lascano, A. 2022. Efecto de un complejo de hongos antagonistas en el manejo de *Moniliophthora roreri* patógeno del cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN-51. Tesis Ing. Agr. Guayaquil, Ecuador, UAE. 79 p.
- López, T., Paramo, L., Delgado, D. 2022. Reproducción masiva de hongos *Trichoderma* previamente identificados de suelos Nicaragüenses en diferentes sustratos orgánicos. *Revista Científica Nexo* 35(3): 700-710.
- López, M., Ross, A., Jun, P. 2018. Expresión de genes asociados al parasitismo fúngico en aislados de *Trichoderma harzianum* para evaluar su eficacia como agentes de biocontrol. *Control biológico* 5(3): 59-66.
- Mas, S., Lobaina, E., Rodríguez, I., Tejera, H., Nunes, E. 2019. Modelado de biomasa de fase rápida y *Trichoderma harzianum* rifai (A-34). *Tecnología química*, 39(2): 444-454.

- Marina, S., Lampugnani, G., Zuluaga, S., Abramoff, C., Cordo, C., Monaco, C. 2019. Fungicida biológico a base de una cepa del hongo *Trichoderma harzianum*: su supervivencia en el suelo. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata 118(2): 1-5.
- Martínez, B., Infante, D., Reyes, Y. 2019. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Revista Protección Vegetal 28(1): 1-11.
- Otero, M., Martínez, R., Rodríguez, N., Ariza, R., Barrios, A. 2020. Producción masiva de *Trichoderma harzianum* Rifai en diferentes sustratos orgánicos. Revista Chapingo. Serie horticultura 14(2): 185-191.
- Ortiz, J., Hernández, G., Cruz, M., Figueroa, K., Hernández, F., Figueroa, B. 2019. Inhibición in vitro de aislamientos nativos de *Trichoderma* en presencia de la cepa comercial T22. Revista de Biotecnología Colombiana 15(1): 126 - 136.
- Osorio, R. 2019. Estudio del efecto de *Trichoderma harzianum* en el control de *Moniliophthora roreri* en plantas de *Theobroma cacao* en la provincia de Esmeraldas. Tesis Ing. Agr. Quito. Ecuador. ESPOL. 125 p.
- Perdomo, A. 2018. Protocolos para la producción y uso de microorganismos benéficos en condiciones de campo. Bogotá Positiva (68): 1-27
- Pérez, E., Zorrilla, J. 2019. Biofungicidas para el control de moniliasis en el cultivo de *Theobroma cacao* L. CLON 575 en la ESPAM MFL. Tesis Ing. Agr. Calceta, Ecuador, ESPAMMFL. 52 p.
- Peñón E., De Falco, P., Giachino, V. 2020. *Trichoderma harzianum* Rifai como promotor del crecimiento en la producción de viveros de *Eucalyptus globulus* Labill. Investigación forestal, CIFOR 21(2): 53-60.
- Romero, T., López, P., Ramírez, M. y Crow, D. 2019. Modelo cinético de parasitismo fúngico por *Trichoderma harzianum* sobre *Cladosporium*

cladosporioides aislado de frutos de cacao (*Theobroma cacao* L). Revista Chilena de Ciencias Agrícolas y Pecuarias 32(1): 32-45.

Reatigue, A. 2022. 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. Tesis Ing. Agr. Perú. UH. 95 p.

Ruíz, J. 2019. Evaluación de *Trichoderma harzianum* mod *Candida* en cacao; Tombadora, San Marcos. Ingeniería de Especialización. agricultura. Coatepec. URL. 64 p.

Ramírez, D. 2023. Efecto de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma* spp. En el control de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Aguaytía. Tesis Ing. Agr. Peru. UNU. 81 p.

Rodríguez, I., Martínez, C., Micheline, G., Agenor, F. 2020. Fermentación en estado sólido de *Trichoderma harzianum* en campo magnético. ICIDCA 49(1): 40-45.

Sandoval, L., Belesansky, D. 2020. Producción artesanal del hongo antagónico *Trichoderma Persoon* en sustrato sólido. Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental 7(3): 55-64.

Tirado, P., Lopera, A., Ríos, L. 2019. Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa* en *Theobroma cacao* L.: revisión sistemática. Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu 17(3): 417-430.

Troya, C., Vaca, L. 2019. Protocolo para la reproducción de cepas nativas de *Trichoderma* spp. en laboratorios artesanales. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Ecuador. 42 p.

- Sivila, N., Álvarez, S, Bonello, M. 2019. *Trichoderma* sp. sobre diferentes superficies y utilizando dos tipos de contenedores. Conferencia de Patología Argentina. Del 19 al 21 de abril 2019, Monada, Argentina.
- Sandoval, C., Noelting, M. 2019. *Trichoderma harzianum* Rifai produjo conidios en dos medios de propagación. *Fitosanidad* 15(4): 215-221.
- Sandoval, I., López, U., Bonilla, T., Oliva, U. 2019. Biocontrol de hongos transmitidos por el suelo mediante una combinación de *Trichoderma harzianum* y luz solar del clavel. *Fitosanidad* 7(4): 23-25.
- Saserio, C. 2018. Efecto de *Trichoderma* (cepa TS-3) en el control de enfermedades fúngicas de la papa. Congreso Científico Nacional sobre Tecnología de Bioplaguicidas. Expo Cree. 60 p.
- Stocco, M., Monaco, G, Lampugnani, C., Abramoff, N., Kripelz, G. Laporte, C., Segarra, V., Consolo, C. 2019. Banco Micológico de especies de *Trichoderma*. 2º Congreso Argentino de Fitopatología. 1, 2 y 3 de junio de 2019. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. p 392.
- Solís, K., Suárez, C. 2020. Uso de *Trichoderma*. Para combatir la candidiasis: un complejo de dieta de brujas elaborado con cacao de Ecuador. INIAP. Ecuador. 8 p.
- Sandovals, M., Belesanskis, C. 2020. Producción manual del hongo antagonista *Trichoderma Persoon* sobre sustratos sólidos. *Revista de divulgación de tecnología agrícola, agroindustrial y ambiental* 55-64.
- Sánchez L., Gamboa, J., Rincón, E. 2021. Control químico y cultural de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif & Par) del cacao (*Theobroma cacao* L) en el estado Barinas. *Revista Facultad de Agronomía* 22(2): 87-99.

- Villamil, J., Serra, L., Orat, Y., Mosquera, A., Fajardo, J., Pinzón, E., Mosquera, E., Martínez, J. 2018. Combinando prácticas culturales y control biológico para el manejo de *M. roleri*. *Revista de Ciencias Agrícolas* 32(2): 13-25.
- Vallejo, T. 2020. Caracterización y clasificación de *Trichoderma* autóctonos con diferentes medios de cultivo utilizados a nivel de laboratorio. Tesis Ing. Agr. Ambato. UTA. 121 p.
- Vásquez, J. 2018. Caracterización microbiológica y producción de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en cultivo artesanal. Ing. Agr. PUJ. 120 p.
- Vascones, D., Imbaquingo, C. 2019. Aislamiento, caracterización y evaluación de *Trichoderma*. como promotor del crecimiento de plantas de pasto de raigrás (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). *La Granja* 25(1): 53-61.
- Villegas, M., 2018. *Trichoderma*. Características generales y su potencial biológico para la agricultura sustentable (en línea), Consultado 01 sept. 2023. Disponible en <http://www.oriusbiotecnología.com/portal/content/view/12/7/>
- Varaschin, C., Astiz, M., Properi. 2020. Growth Promotion with *Trichoderma* spp. Formulations in Four Crops During Early Stages. Abstracts 5th International Pgpr Workshop, 137. Córdoba, Argentina.
- Verde, W. 2017. Dos Hongos Antagónicos (*Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*). Efecto en el control de la Moniliasis (*Moniliophthora roleri* Cif y Par. Evans et al.) del cacao en la Región Ucayali. Tesis. Ing. Agr. Perú. UNAS. 70 p.

2.6.2. ANEXOS



Figura 1. Síntomas y signos de moniliasis en los frutos: A. gibas o jorobas; B. puntos aceitosos sub-epidermales; C. manchas café y D. esporulación



Figura 2. Colonias de distintos aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre medios de cultivo APG

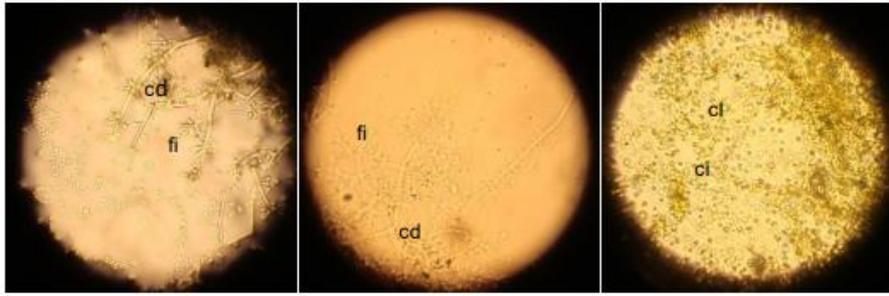


Figura 3. Estructuras de *Trichoderma* (40x), conidióforos: cd; fialidees: fd; conidios: ci; clamidosporas: cl.

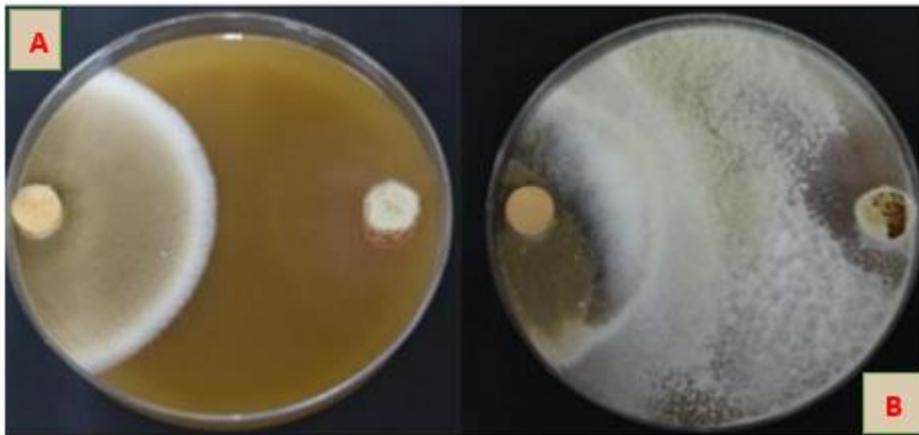


Figura 4. (A) Primer día de siembra Cultivo dual de *T. spp* frente a *M. roreri* izquierda (B) 360 horas después de la siembra *M. roreri* derecha *T. spp.*



Figura 5. Producción de *T. harzianum*