

## Biocontrol de *Moniliophthora roreri* con *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* en cacao CCN-51

### Biocontrol of *Moniliophthora roreri* with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* in cocoa CCN-51

### Biocontrolo de *Moniliophthora roreri* com *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis* em cacau CCN-51

Varas Carvajal, Ivonne Alexandra

Universidad Agraria del Ecuador

[ivonnevarascarvajal@outlook.com](mailto:ivonnevarascarvajal@outlook.com)

<https://orcid.org/0000-0003-0711-4900>



Macías Holguín, Cristhian John

Universidad Técnica Estatal de Quevedo

[cristhian.macias2016@uteq.edu.ec](mailto:cristhian.macias2016@uteq.edu.ec)

<https://orcid.org/0000-0003-2068-8503>



Mendoza Thompson, Javier Ulises

Universidad Agraria del Ecuador

[javiermt1898@hotmail.com](mailto:javiermt1898@hotmail.com)

<https://orcid.org/0000-0002-5891-453X>



Cárdenas Briones, Denis Kevin

Universidad Técnica Estatal de Quevedo

[denis.cardenas2016@uteq.edu.ec](mailto:denis.cardenas2016@uteq.edu.ec)

<https://orcid.org/0009-0003-9357-8927>



Bravo Díaz, Luis Fernando

Universidad Agraria del Ecuador

[taipeilouis77@gmail.com](mailto:taipeilouis77@gmail.com)

<https://orcid.org/0009-0004-9109-0167>



DOI / URL: <https://doi.org/10.55813/gaea/ccri/v5/nE4/462>

#### Como citar:

Varas Carvajal, I. A., Macías Holguín, C. J., Mendoza Thompson, J. U., Cárdenas Briones, D. K., & Bravo Díaz, L. F. (2024). Biocontrol de *Moniliophthora roreri* con *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* en cacao CCN-51. *Código Científico Revista De Investigación*, 5(E4), 77–92.

Recibido: 22/07/2024

Aceptado: 11/08/2024

Publicado: 30/09/2024

### Resumen

La producción de cacao en Ecuador es fundamental tanto económica como culturalmente, pero enfrenta serios problemas debido al hongo *Moniliophthora roreri*, causante de la moniliasis. Se evaluó la eficacia de los agentes de biocontrol *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* para controlar *M. roreri* en cacao CCN-51. La investigación se realizó en la finca "San Pedro" en Bolívar, utilizando un diseño de bloques completos al azar con cuatro tratamientos y tres repeticiones, totalizando 12 unidades experimentales. Se aplicaron diferentes dosis de biocontrol y un tratamiento convencional a intervalos regulares usando una bomba fumigadora. Los datos de rendimiento y fitopatología se analizaron con ANOVA y la prueba de Tukey, con un error tipo del 5%. Los resultados preliminares no mostraron diferencias significativas en mazorcas enfermas, sanas e incidencia de *M. roreri*, pero hubo variaciones en peso de mazorcas, rendimiento por hectárea y severidad de la moniliasis. El tratamiento con *T. harzianum* (T2) mostró menor severidad de la enfermedad. Estos hallazgos ayudarán a los productores a implementar estrategias de manejo más sostenibles, reduciendo el impacto de la moniliasis en la producción de cacao.

**Palabras clave:** microorganismos, inhibición, fitopatología, rendimiento.

### Abstract

Cocoa production in Ecuador is fundamental both economically and culturally, but faces serious problems due to the fungus *Moniliophthora roreri*, which causes moniliasis. The efficacy of the biocontrol agents *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* to control *M. roreri* on CCN-51 cocoa was evaluated. The research was carried out at the "San Pedro" farm in Bolivar, using a randomized complete block design with four treatments and three replications, totaling 12 experimental units. Different doses of biocontrol and a conventional treatment were applied at regular intervals using a fumigation pump. Yield and phytopathology data were analyzed with ANOVA and Tukey's test, with a standard error of 5%. Preliminary results showed no significant differences in diseased, healthy ears and incidence of *M. roreri*, but there were variations in ear weight, yield per hectare and severity of moniliasis. The *T. harzianum* treatment (T2) showed lower disease severity. These findings will help farmers to implement more sustainable management strategies, reducing the impact of moniliasis on cocoa production.

**Keywords:** microorganisms, inhibition, phytopathology, yield.

### Resumo

A produção de cacau no Equador é econômica e culturalmente crucial, mas enfrenta sérios problemas devido ao fungo *Moniliophthora roreri*, que causa a monilíase. Foi avaliada a eficácia dos agentes de biocontrole *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis* no controle de *M. roreri* no cacau CCN-51. A pesquisa foi realizada na fazenda "San Pedro", em Bolívar, utilizando um delineamento em blocos completos casualizados com quatro tratamentos e três repetições, totalizando 12 unidades experimentais. Diferentes doses de biocontrole e um tratamento convencional foram aplicados em intervalos regulares usando um pulverizador de bomba. Os dados de rendimento e de patologia vegetal foram analisados com ANOVA e teste de Tukey, com um erro padrão de 5%. Os resultados preliminares não mostraram diferenças significativas nas espigas doentes e saudáveis e na incidência de *M. roreri*, mas houve variações no peso da espiga, no rendimento por hectare e na gravidade da monilíase. O tratamento com *T. harzianum* (T2) apresentou menor gravidade da doença. Estes resultados ajudarão os

agricultores a implementar estrategias de gestión más sustentables, reduciendo el impacto de la moniliasis en la producción de cacao.

**Palabras-clave:** microorganismos, inhibición, fitopatología, rendimiento.

## Introducción

El cacao (*Theobroma cacao*), es una especie nativa de las laderas ecuatoriales orientales inferiores de los Andes en América del Sur. Los nativos de América Central lo domesticaron y lo consideraban de origen divino (K. Nair, 2021). El tamaño de la planta de cacao es variable según su ubicación geográfica, la variedad y las condiciones edafoclimáticas de la región en la que se encuentra (Rodríguez *et al.*, 2019).

Botánicamente, el fruto del cacao es una drupa, con frecuencia llamada "mazorca", la cual posee diferentes tonalidades, en función de la variedad, posee además un tamaño promedio de 25 cm con cascara fuerte y gruesa. Además, la mazorca contiene granos con un peso de aproximadamente 1.8 g, una pulpa blanca y jugosa con un sabor simultáneamente ácido y dulce envuelven estos granos (Herrera, 2018).

El cacao ecuatoriano, específicamente la variedad CCN-51, ha ganado reconocimiento a nivel mundial y es altamente valorado. En el país se dedican aproximadamente 400,000 hectáreas al cultivo de cacao, de las cuales alrededor de 100,000 hectáreas corresponden a la variedad CCN-51. Estas plantaciones representan más del 50% de las 260,000 toneladas de cacao producidas en Ecuador, lo que posiciona al país como el cuarto productor mundial (Pilaloe *et al.*, 2021). La actividad cacaotera tiene impacto importante en los principales países productores, generando alrededor de 1,500,000 empleos directos en las etapas de producción, procesamiento y comercialización (Arvelo *et al.*, 2018).

Al tener una alta relevancia se enfrenta a diversos desafíos, siendo el hongo patógeno *Moniliophthora roreri*, causante de la enfermedad conocida como moniliasis uno de los desafíos más significativos (El Salous *et al.*, 2020). Esta enfermedad afecta los frutos del cacao, provocando una disminución en la calidad y cantidad de la cosecha (Valenzuela *et al.*, 2023), con pérdidas que pueden llegar hasta el 100 % (Torres *et al.*, 2019).

*M. roreri* se desarrolla mejor con una humedad relativa del 85% y temperaturas que superiores a 25 °C. La lluvia y los insectos, así como el viento, propagan sus esporas entre los frutos y los árboles cercanos (Bravo, 2019). Las conidias son las únicas estructuras capaces de infectar, posándose en la superficie del fruto y germinando si hay agua, aunque pueden fallecer por desecación o radiación; al germinar pueden penetrar la cáscara del fruto (Torres *et al.*,

2019). El período de incubación del patógeno antes de presentar síntomas es de 3 a 8 semanas, dependiendo de la susceptibilidad del árbol, la gravedad del ataque y las condiciones climáticas, en particular la lluvia (Gómez *et al.*, 2022).

Los síntomas del patógeno varían según la etapa de desarrollo del fruto. En las primeras fases, aparecen protuberancias y manchas marrones, que en frutos más maduros se oscurecen aún más. Los frutos infectados suelen ser más pesados que los sanos (Lamilla, 2022). Externamente, se observan necrosis, deformación y pudrición en las mazorcas. Aunque algunos frutos de 60 a 80 días pueden parecer normales por fuera, presentan necrosis interna que eventualmente los mata. Estos frutos afectados desarrollan un color café oscuro y se cubren de una capa cremosa de esporas del hongo, que parece una "pelusa" (Hernández, 2018).

La incidencia y la severidad de la moniliasis en cacao CCN-51 han aumentado en los últimos diez años un 2% en la costa ecuatoriana. No obstante, se prevé que en la amazonia *M. rozeri* disminuirá un 5% hasta el 2050 (Plasencia *et al.*, 2022). La propagación y persistencia de la enfermedad han sido influenciadas por los factores climáticos favorables para el desarrollo del patógeno, así como por la falta de métodos de control efectivos (Lamilla, 2022).

El control de la enfermedad se ha basado tradicionalmente en fungicidas de cobre, aunque estos tienen efectos negativos en el medio ambiente y la salud humana (López *et al.*, 2018; Serrano *et al.*, 2021). Como alternativa menos invasiva, el control biológico con bacterias y hongos ha ganado atención, estos organismos interfieren en el ciclo biológico del patógeno y fortalecen la defensa de las plantas al crear barreras protectoras (Köhl *et al.*, 2019), actúan a través de múltiples mecanismos, incluyendo antibiosis, competencia, micoparasitismo, lisis enzimática e inducción de resistencia en las plantas (Figuroa, 2018). En cultivos de cacao, se ha estudiado el uso de bacterias endófitas como *Bacillus*, que producen lipopéptidos antifúngicos, para inhibir hongos patógenos (Perez *et al.*, 2018; Villarreal *et al.*, 2018).

Los resultados con *Bacillus* y *Trichoderma* han sido prometedores (Soto *et al.*, 2022), mostrando eficacia en el control de enfermedades como la moniliasis (Anzules *et al.*, 2019; Vera *et al.*, 2018). Investigaciones revelan que *Trichoderma* es más efectivo que *Bacillus* para el control de la enfermedad en campo (Viteri *et al.*, 2018) en varios cultivos como el arroz (Poveda, 2021). En el caso del cacao, se ha logrado disminuir la severidad de *M. rozeri* con aplicaciones de *Trichoderma* (Cadena y Poma, 2022). Además, el uso de *Trichoderma* ha mejorado el rendimiento del cacao, como se demostró en varios estudios, incluyendo la reducción de la incidencia de la enfermedad con el uso de *T. harzianum* (González *et al.*, 2018;

Hernández, 2019; Ruiz, 2018). Estos hallazgos destacan el potencial del control biológico en la gestión de la moniliasis (Bermeo, 2022).

No obstante, no hay datos precisos sobre la eficacia de *T. harzianum* y *B. subtilis* para controlar *M. royeri* en el cultivo de cacao CCN-51, a pesar de investigaciones anteriores que han examinado su potencial como agentes de biocontrol en otros cultivos comerciales, como la papa (Wang *et al.*, 2019) o maní (Illa *et al.*, 2020). Es esencial realizar una evaluación detallada de las dosis adecuadas de los agentes de biocontrol y su impacto en la incidencia y severidad de la enfermedad, así como en el rendimiento y la calidad de los granos de cacao.

El objetivo de la presente investigación es evaluar la eficacia de *T. harzianum* y *B. subtilis* en el control de *M. royeri* en el cultivo de cacao CCN-51 (*T. cacao*). Los resultados de este estudio proporcionarán información científica y práctica a los productores de cacao, ayudándoles a implementar estrategias de manejo más sostenibles y reduciendo los impactos negativos de la moniliasis en la producción de cacao en la región.

## Metodología

### Localización

Esta investigación se llevó a cabo en la finca “San Pedro”, perteneciente al cantón Las Naves, provincia de Bolívar, coordenadas geográficas UTM (17M) X: 690150 Y: 9865850. Se trabajó en una plantación de 5 hectáreas de cacao de la variedad CCN-51 con 13 años de antigüedad, utilizando un sistema de siembra cuadrado con distancias de 3 m x 3 m entre plantas. La investigación se centró en evaluar 4 plantas por cada tratamiento, llevándose a cabo entre septiembre y diciembre de 2023.

### Establecimiento del ensayo

Antes de iniciar el proyecto de investigación, se realizó un control mecánico de malezas utilizando una motoguadaña. Con el área de investigación lista, se procedió a delimitar las parcelas experimentales para cada tratamiento y sus repeticiones. Las parcelas se establecieron según las dimensiones estándar para este tipo de ensayo, utilizando cintas de colores y estacas para marcar los límites. Las labores de campo como: fertilización, control de malezas, riego, podas y cosecha se las realizaron de forma manual en los tratamientos en estudio.

### Diseño experimental

En este proyecto de investigación se evaluaron cuatro tratamientos que corresponden a la aplicación individual y en asociación de agentes de control biológico en distintas dosis y un tratamiento testigo de un producto de uso convencional.

Las dosis utilizadas en el estudio se basaron en las recomendaciones del fabricante de los productos biológicos. Los tratamientos evaluados se presentan en la tabla 1. Las aplicaciones se realizaron cada 15 días durante los tres meses del estudio. Para aplicar las dosis de los tratamientos, se empleó una fumigadora de mochila motorizada con una capacidad de 20 litros, utilizando la cantidad especificada para cada aplicación.

**Tabla 1:**

*Tratamientos evaluados en la investigación*

Tratamientos	Descripción
T1	<i>T. harzianum</i> (250 ml/ha) + <i>B. subtilis</i> (250 ml/ha)
T2	<i>T. harzianum</i> (250 ml/ha)
T3	<i>B. subtilis</i> (250 ml/ha)
T4	Control (Sulfato de cobre pentahidratado 300 ml/ha)

*Nota:* Autores (2024).

Se planteó el diseño de bloques completos al azar (DBCA), en donde la unidad experimental estuvo conformada por grupos de 12 plantas, cubriendo un área de 54 m<sup>2</sup>. El área total del ensayo fue 1485 m<sup>2</sup>. Se descartaron las plantas de efecto borde para el muestreo de las variables de estudio.

Las frecuencias de aplicación de los tratamientos fueron a los 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días. Esto en consideración de que los productos de origen biológico necesitan de tiempo y de dosis frecuentes para su correcto funcionamiento.

Se evaluaron variables fitosanitarias (Número de mazorcas enfermas y sanas por planta; Porcentaje de incidencia y severidad de moniliasis (Ayala, 2008)) y de rendimiento (Peso de almendra de 10 mazorcas y rendimiento por hectárea)

#### Análisis estadístico

Los datos recopilados en la evaluación de las variables se sometieron al análisis de varianza (ANOVA), con el fin de establecer diferencias significativas, entre las alternativas de control. El modelo de ANOVA que se utilizó se describe en la tabla 2. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey. Todos estos análisis se realizaron considerando el 5% de probabilidad de Error tipo I ( $p < 0.05$ ), se usó el software Infostat.

**Tabla 2:**

*Esquema de análisis de varianza (ANOVA) del diseño de bloques completamente al azar (DBCA).*

Fuente de variación	Grados de libertad
Bloque	4
Tratamientos	3
Error Experimental	12
Total	19

*Nota:* Autores (2024).

## Resultados

### Número de mazorcas enfermas por planta

Los datos indicaron que la cantidad de mazorcas enfermas fluctuó cada 15 días, variando entre 27 y 3, con una tendencia a la disminución (tabla 3). A los 75 días, el tratamiento T1 mostró el menor número de mazorcas afectadas. El coeficiente de variación también cambió durante el ensayo, registrando valores entre 14.29% y 22.53%.

**Tabla 3:**

*Número de mazorcas enfermas por planta a los 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días, después de establecido el ensayo.*

Tratamientos	Numero de mazorcas enfermas					
	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
T1	21.4 a	15.6 a	18.0 a	24.8 a	2.6 c	9.8 a
T2	21.8 a	15.8 a	18.8 a	26.2 a	2.8 bc	7.8 a
T3	22.4 a	13.0 a	21.0 a	23.0 a	4.0 ab	8.0 a
T4	22.8 a	17.2 a	24.8 a	26.6 a	4.2 a	11.0 a
CV	14.29%	19.68 %	22.03 %	16.81 %	22.53 %	21.30 %

*Nota:* Autores (2024).

Los datos de la investigación revelaron que la cantidad de mazorcas enfermas presentó variaciones a lo largo del tiempo en todos los tratamientos. A los 75 días, el tratamiento T1 (con *T. harzianum*) mostró una reducción significativa en el número de mazorcas enfermas, siendo el más eficaz durante ese período de evaluación. Estos hallazgos coinciden con los de (Ramirez, 2023), quien también reportó la menor cantidad de mazorcas enfermas a los 75 días.

Esto se debe a que los agentes de biocontrol requieren más tiempo para colonizar y ejercer su efecto antagonista contra los patógenos, como indicaron (Viteri *et al.*, 2018).

Número de mazorcas sanas por unidad de muestreo

La cantidad de mazorcas sanas oscilaron entre 263 y 32 cada 15 días (tabla 4). Con un CV del 11.78% al 27.60%, el coeficiente de variación también cambió durante el ensayo, que se llevó a cabo en el campo. Dado que el número de mazorcas sanas en cada período era similar, la prueba de Tukey al 5% reveló que no hubo diferencias notables entre los tratamientos.

#### Tabla 4:

Número de mazorcas sanas por unidad de muestreo

Tratamientos	Numero de mazorcas sanas					
	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
T1	194.40 a	248.80 a	237.20 a	143.00 a	72.40 a	39.60 a
T2	224.40 a	255.40 a	263.40 a	134.20 a	53.40 a	35.20 a
T3	217.80 a	227.80 a	247.60 a	136.20 a	63.60 a	32.80 a
T4	208.40 a	220.40 a	228.20 a	153.40 a	62.60 a	38.40 a
CV	11.78%	13.31 %	11.98 %	19.79 %	27.60 %	20.98 %

Nota: Autores (2024).

En cada tratamiento, la cantidad de mazorcas sanas también cambió con el tiempo, al igual que el número de mazorcas enfermas. Se observó una tendencia a mantener un número similar de mazorcas sanas durante cada periodo de evaluación, a pesar de que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Los agentes de biocontrol como *T. harzianum* y *B. subtilis* tienen la capacidad de influir en la asimilación de los nutrientes de las plantas; por lo tanto, es uno de los factores que contribuyen a que las plantas produzcan mazorcas más sanas (Tirado *et al.*, 2016). Además, coincide con (Paredes, 2016), quien afirma que la aplicación de fungicidas de síntesis química no promueve el aumento de la cantidad de mazorcas; esto se debe a la inactivación de aminoácidos o a procesos químicos de gran importancia en la planta de cacao (Bermeo, 2022).

#### Porcentaje de incidencia

Los porcentajes de incidencia de *M. royeri* tuvieron cierta variación cada 15 días, entre 21.59 y 8.04% (tabla 5). Sin embargo, a los 75 días, T3 presentó un promedio del 8.12%, el más bajo durante ese período de evaluación. El coeficiente de variación se modificó a medida que avanzaba el ensayo para esta variable.



**Tabla 5:**

*Porcentaje de incidencia de Moniliophthora roreri a los 15, 30, 45, 60,75 y 90 días después de establecido el ensayo.*

Tratamientos	Porcentaje de incidencia					
	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
T1	11.80 a	7.08 a	8.78 b	17.26 a	10.24 ab	18.20 a
T2	13.00 a	8.80 a	8.04 b	19.63 a	9.72 ab	19.91 a
T3	13.40 a	8.28 a	10.15 ab	16.39 a	8.12 b	19.33 a
T4	13.40 a	9.78 a	12.63 a	18.27 a	12.02 a	21.59 a
CV	14.60%	17.51 %	14.75 %	18.51 %	20.10 %	20.59 %

Nota: Autores (2024).

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en general. En otras investigaciones se ha constatado la eficiencia de *B. subtilis* en el control de hongos fitopatógenos como *M. roreri* (Karimi *et al.*, 2012; Magaña, 2015; Ramirez, 2023) pero en otras variedades de cultivos, *Fusarium capsici* (Villares, 2020), *Hemileia vastatrix* (Cosinga, 2021), obteniendo la menor incidencia bajo la aplicación de *B. subtilis*, lo que permite que sea un agente de control eficaz en la reducción de la incidencia de hongos, esto de acuerdo a su mecanismo de acción como lo indica (Layton *et al.*, 2011).

**Severidad de moniliasis**

La investigación sobre el rendimiento y la severidad de *M. roreri*. patógeno causante de la moniliasis en cacao. reviste una importancia crucial en el ámbito agrícola y económico. La tabla 6 presenta datos específicos sobre la severidad a los 90 días después del establecimiento del ensayo. La variable de interés. la severidad, se cuantifica con detalle para cada tratamiento. aportando valiosa información sobre la eficacia de diferentes enfoques o medidas aplicadas.

**Tabla 6:**

*Severidad de moniliasis a los 90 días después de establecido el ensayo.*

Nº	Tratamientos	Severidad (%)
1	T1	71.33 b
2	T2	66.39 c
3	T3	74.44 ab
4	T4	75.30 a
	CV	22.13 %

Nota: Autores (2024).

La severidad de moniliasis a los 90 días después del establecimiento del ensayo mostró variaciones significativas entre los tratamientos evaluados. El tratamiento T2 (*T. harzianum*) exhibió una severidad relativamente menor (66.39 %) en comparación con otros tratamientos, lo que indica una eficacia relativa en el control del patógeno, este resultado coincide con los obtenidos por (Macías, 2022), quien consiguió que la severidad de *M. royeri* disminuyera después de la aplicación de *T. harzianum*. En otras investigaciones también se vislumbra la acción antagonista de *T. harzianum*, (Ramírez, 2023) presentó 1.2 % de severidad de *M. royeri*, siendo estos antecedentes concordantes con los resultados obtenidos, en las cuales se demuestra la acción supresora de *T. harzianum* y *B. subtilis* contra *M. -\*royeri* en el cultivo de cacao

**Peso de 10 mazorcas y rendimiento de grano fresco**

Los datos indicaron que el peso de 10 mazorcas varió cada 15 días, fluctuando entre 1004.2 y 2593.2 g (tabla 7). El coeficiente de variación para esta medida también mostró cambios a lo largo del ensayo, con valores que oscilaron entre 6.14% y 31.73%, dado que se trató de un experimento de campo.

**Tabla 7:**

*Peso de 10 mazorcas*

Tratamientos	Peso de 10 mazorcas (g)					
	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
T1	1551.2 a	1610.8 a	2556.2 a	2593.2 a	2404.0 a	1318.0 a
T2	1541.0 a	1242.2 a	2519.6 a	2449.8 a	2427.0 a	1296.8 a
T3	1768.2 a	1508.4 a	2573.4 a	2525.6 a	2535.0 a	1249.8 a
T4	1418.6 a	1424.2 a	2409.2 a	2463.4 a	2378.2 a	1004.2 a
CV	31.73%	28.96 %	6.14 %	7.19 %	18.94 %	25.55 %

Nota: Autores (2024).

De acuerdo con la tabla 8, los datos revelaron que el rendimiento tuvo cierta variación cada 15 días, oscilando entre 1380.1 a 2881.1 kg/ha. De acuerdo con la prueba de Tukey al 5%, no existieron diferencias significativas entre los tratamientos, mostrando número de mazorcas sanas similares cada período.

**Tabla 8:**

*Rendimiento de grano fresco.*

Tratamientos	Rendimiento (kg/ha)					
	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
T1	1723.4 a	1789.6 a	2839.94	2881.1 a	2670.8 a	1464.3 a

T2	1712.1 a	1380.1 a	2799.28	2721.7 a	2696.4 a	1440.7 a
T3	1964.5 a	1675.8 a	2859.05	2805.9 a	2816.4 a	1388.5 a
T4	1576.1 a	1582.3 a	2676.62	2736.8 a	2642.2 a	1115.7 a
CV	31.73%	28.96 %	6.14 %	7.19 %	18.94 %	25.55 %

Nota: Autores (2024).

En todos los tratamientos, hubo una cierta variación en el peso de 10 mazorcas y en el rendimiento por hectárea. Se observó una tendencia a mantener un rendimiento y un peso comparable durante cada periodo de evaluación, a pesar de que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en general. Según (Paredes, 2016) se logró un alto rendimiento con la utilización de *B. subtilis* y *Trichoderma* spp., así como un peso de mazorca superior al control químico. Sin embargo, la evaluación se llevó a cabo a los 120 días, lo que indica que los biocontroladores requieren al menos 4 meses para alcanzar su punto máximo en el sistema suelo-planta.

Los resultados obtenidos a lo largo de 90 días permitieron obtener una visión integral de cómo estos agentes de biocontrol generaron un impacto en diferentes variables relacionadas con la producción y salud de las mazorcas de cacao. (Illa *et al.*, 2020) indican que la combinación *T. harzianum* y *B. subtilis* permite controlar diversos hongos, esto de acuerdo con su actividad antagonista. Otros investigadores como (Cadena y Poma, 2022; Rini y Sulochana, 2007; Ruiz, 2018) indican que al combinarse *T. harzianum* y *B. subtilis* se puede obtener un mejor efecto en el control de *M. royeri*.

## Discusión

La investigación sobre el biocontrol de *Moniliophthora royeri* en cacao CCN-51 utilizando *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* reveló que, aunque estos agentes mostraron potencial para reducir la severidad de la moniliasis, los resultados no fueron consistentemente significativos en todos los parámetros evaluados. El tratamiento con *T. harzianum* (T2) destacó por su capacidad de disminuir la severidad de la enfermedad, alineándose con estudios previos que han reportado su eficacia en el control de patógenos fúngicos (Viteri *et al.*, 2018; Macías, 2022). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en indicadores clave como el número de mazorcas sanas o el rendimiento por hectárea, lo que sugiere que la efectividad de estos biocontroladores puede depender de factores externos, como las condiciones ambientales y la duración del tratamiento (Soto *et al.*, 2022).

Estos hallazgos subrayan la necesidad de optimizar las dosis y combinaciones de biocontroladores para mejorar su efectividad y de considerar un enfoque de manejo integrado que combine estos agentes con otras prácticas culturales. La variabilidad en los resultados sugiere que, aunque el uso de *T. harzianum* y *B. subtilis* ofrece una alternativa prometedora al uso de fungicidas químicos, su implementación debe ser cuidadosamente ajustada a las condiciones específicas de cada área de cultivo. Es crucial continuar investigando para determinar cómo estos biocontroladores pueden ser utilizados de manera más efectiva en el largo plazo, contribuyendo así a la sostenibilidad y productividad del cacao en Ecuador (Cadena & Poma, 2022; Bermeo, 2022).

## Conclusión

Durante los 90 días del ensayo, se produjeron variaciones en la cantidad de mazorcas enfermas y sanas y en el porcentaje de incidencia. No hubo diferencias notables entre los tratamientos a pesar de la variabilidad, excepto a los 75 días, cuando *T. harzianum* + *B. subtilis* presentó una menor cantidad de mazorcas enfermas, lo que sugiere que el tratamiento podría tener un efecto positivo. No obstante, la prueba de Tukey no encontró variaciones significativas en otros momentos, lo que indica que el uso de biocontroladores no tuvo un impacto consistente en el manejo de la moniliasis.

El tratamiento con la menor severidad de la moniliasis a los 90 días fue *T. harzianum*, con un promedio del 66.39%, seguido por *B. subtilis* y *T. harzianum* + *B. subtilis*. En comparación con otros métodos, *T. harzianum* podría ser más efectivo en el control de *M. royeri*, a pesar de que estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Durante el ensayo, se observaron variaciones en el peso de 10 mazorcas y el rendimiento por hectárea en diferentes momentos; el rendimiento del cacao CCN-51 no mostró diferencias significativas entre los tratamientos. Se observó en ciertos momentos del ensayo una tendencia hacia un mejor rendimiento en ciertos tratamientos, a pesar de que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Esto indica que la aplicación de *T. harzianum* y *B. subtilis* puede afectar el rendimiento del cacao CCN-51; sin embargo, se requieren más investigaciones para confirmar estos hallazgos y determinar el impacto a largo plazo en el rendimiento del cultivo.

## Referencias bibliográficas

- Anzules, V., Borjas, R., Alvarado, L., Castro, V. y Julca, A. (2019). Control cultural, biológico y químico de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* spp en *Theobroma cacao* 'CCN-51'. *Scientia Agropecuaria*, 10(4), 511-520.
- Arvelo, M. A., González, D., Maroto, S., Delgado, T. y Montoya, P. (2018). Manual técnico del cultivo de cacao Buenas prácticas para América Latina. En *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)*.
- Ayala, M. (2008). *Manejo integrado de moniliasis (Moniliophthora roreri) en el cultivo de cacao (Theobroma cacao L.) mediante el uso de fungicidas, combinado con labores culturales*. [Tesis]. Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Bermeo, F. (2022). *Evaluación de mezclas de fungicidas orgánicos en el manejo de moniliasis (Moniliophthora roreri) en el cultivo de cacao Naranjito–Guayas* [Tesis de licenciatura]. Universidad Agraria del Ecuador.
- Bravo, J. (2019). *Evaluación in vitro de la actividad biocida de diferentes fungicidas sobre el crecimiento radial de Moniliophthora roreri, Moniliophthora perniciosa y Phytophthora palmivora, agentes causales de enfermedades en cacao* [Tesis]. Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
- 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*, 9(2), 37-43. <https://doi.org/10.53287/toks1912pc491>
- Cosinga, R. (2021). *Efecto de Bacillus subtilis, Lecanicillium lecanii y Trichoderma spp., en control de Hemileia vastatrix en Coffea arabica en Pangoa* [Tesis]. Universidad Nacional del Centro del Perú.
- El Salous, A., Marcillo, J., Gómez, J. y Martínez, F. (2020). Mejoramiento de la calidad del cultivo de cacao en Ecuador. *Revista Venezolana de Gerencia: RVG*, 25(3), 368-380.
- Figueroa, Y. (2018). *Estudio del daño de la Moniliophthora roreri (monilia) en la producción del cultivo de cacao en el Valle de Hacha. San Vicente* [Tesis]. Universidad Estatal del Sur de Manabí.
- Gómez, S., Beltrán, C. y Gómez, S. (2022). In vitro effect of cocoa leachates on growth and development of *Moniliophthora roreri* ([Cif.] HC Evans et al.) isolated from *Theobroma cacao* (L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 16(2).
- González, G., Quevedo, J. y García, R. (2018). Alternativas orgánicas para el control de Monilia (*Moniliophthora roreri*, Cif. Y Par) en el cultivo de cacao. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(2), 56-62.
- Guamán-Rivera, S. A. (2022). Desarrollo de Políticas Agrarias y su Influencia en los Pequeños Agricultores Ecuatorianos. *Revista Científica Zambos*, 1(3), 15-28. <https://doi.org/10.69484/rcz/v1/n3/30>
- Guamán-Rivera, S. A., & Flores-Mancheno, C. I. (2023). Seguridad Alimentaria y Producción Agrícola Sostenible en Ecuador. *Revista Científica Zambos*, 2(1), 1-20. <https://doi.org/10.69484/rcz/v2/n1/35>

- Hernández, E. (2018). Las moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif & Par) del Cacao: búsqueda de estrategias del manejo. *Agro productividad*, 5(6).
- Hernández, E. (2019). *Eficacia del control de moniliasis (Moniliophthora roreri) por cuatro cepas de Trichoderma sp. En cacao fino de aroma en Bagua-Amazonas* [Tesis]. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza.
- Herrera, H. (2018). *La producción del cacao y el desarrollo humano local de Tocache-San Martín. 2006-2015* [Tesis]. Universidad Nacional de Trujillo.
- Herrera-Feijoo, R. J. (2024). Principales amenazas e iniciativas de conservación de la biodiversidad en Ecuador. *Journal of Economic and Social Science Research*, 4(1), 33–56. <https://doi.org/10.55813/gaea/jessr/v4/n1/85>
- Illa, C., Torassa, M., Pérez, M. y Pérez, A. (2020). Effect of biocontrol and promotion of peanut growth by inoculating *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* under controlled conditions and field. *Revista mexicana de fitopatología*, 38(1), 119-131.
- Karimi, K., Amini, J., Harighi, B. y Bahramnejad, B. (2012). Evaluation of biocontrol potential of *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. against *Fusarium* wilt of chickpea. *Australian Journal of Crop Science*, 6(4), 695-703.
- Köhl, J., Kolnaar, R. y Ravensberg, W. J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. En *Frontiers in plant science* (p. 845). Frontiers.
- Lamilla, A. (2022). *Control químico de Monilia (Moniliophthora roreri) en el cultivo de Cacao (Theobroma cacao L.), en Ecuador* [Tesis]. Universidad Técnica de Babahoyo.
- Layton, C., Maldonado, E., Monroy, L., Corrales, L. y Sánchez, L. (2011). *Bacillus* spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. *Nova*, 9(16), 177. <https://doi.org/10.22490/24629448.501>
- López, U., Brito, H., López, D., Salaya, J. y Gómez, E. (2018). Papel de *Trichoderma* en los sistemas agroforestales-cacaotal como un agente antagonico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20(1), 91-100.
- Macías, M. (2022). *Eficiencia de diferentes fungicidas orgánicos sobre Moniliophthora roreri en cacao (Theobroma cacao L.) CCN-51 en dos zonas* [Tesis de maestría]. Universidad Agraria del Ecuador.
- Magaña, M. (2015). *Efecto de Bacillus subtilis sobre el rendimiento, desarrollo y propiedades nutraceuticas de fresa*.
- Nair, K. (2021). *Cocoa (Theobroma cacao L.)*. En K. P. Nair (Ed.), *Tree Crops* (pp. 153-213). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-62140-7\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-62140-7_5)
- Paredes, M. (2016). *El manejo fitosanitario del cultivo de cacao nacional (Theobroma cacao L.) y el rendimiento del mismo, en la Asociación Kallari* [Tesis de Maestría]. Universidad Técnica de Ambato.
- Perez, K. J., Viana, J., Lopes, F., Pereira, J., dos Santos, D., Oliveira, J., Velho, R., Crispim, S., Nicoli, J., Brandelli, A. y Nardi, R. (2018). *Bacillus* spp. Isolated from Puba as a Source of Biosurfactants and Antimicrobial Lipopeptides. *Frontiers in Microbiology*, 8(1), 61. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00061>

- Pilalao, W., Pérez, D., Alvarado, A. y Torres, S. (2021). Manejo agroecológico de la Moniliasis en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) mediante la utilización de biofungicidas y podas fitosanitarias en el cantón La Troncal. *Alfa Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinaria*, 5(15), 70-85.
- Plasencia, A., Vilchez, C., Ferrer, Y. y Veloz, C. E. (2022). Efecto del cambio climático sobre la distribución potencial del hongo *Moniliophthora roreri* y el cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) en Ecuador continental. *Revista Terra Latinoamericana*, 40(1), 1-14. <https://doi.org/10.28940/terra.v40i0.1151>
- Poveda, J. (2021). *Trichoderma* as biocontrol agent against pests: New uses for a mycoparasite. *Biological Control*, 159, 104634.
- Ramirez, 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]. Universidad Nacional de Ucayali.
- Rini, C. y Sulochana, K. (2007). Management of seedling rot of chilli (*Capsicum annuum* L.) using *Trichoderma* spp. and fluorescent pseudomonads (*Pseudomonas fluorescens*). *Journal of Tropical Agriculture*, 44(0), 79-82.
- Rodríguez, C., Caicedo, A., Sounigo, O., Argout, X., Alvarado, G. y Yockteng, R. (2019). Cacao breeding in Colombia, past, present and future. *Breeding Science*, 69(3), 373-382.
- Ruiz, J. L. (2018). *Evaluación de Trichoderma harzianum para el control de Moniliophthora roreri en cacao, El Tumbador, San Marcos* [Tesis]. Universidad Rafael Landívar.
- Serrano, L., Sosa, A., Sosa, D., Bonilla, J., Romero, C., Galarza, L. y Coronel, J. (2021). Biosurfactants synthesized by endophytic *Bacillus* strains as control of *Moniliophthora perniciosa* and *Moniliophthora roreri*. *Scientia Agricola*, 78(1), 1-11. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2020-0172>
- Soto, R., Gonzales, E., Fernandez, J., Angeles, J., Huamán, A., & Mehdi, M. (2022). Antifungal effect from *Zingiber officinale*, *Aloe vera*, and *Trichoderma* sp. for control of *Moniliophthora roreri* in *Theobroma cacao* in Huánuco, Peru. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 75(1), 9823-9830.
- Tirado, P. A., Lopera Álvarez, A. y Ríos Osorio, L. A. (2016). Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa* en *Theobroma cacao* L.: Revisión sistemática. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 17(3), 417-430. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol17\\_num3\\_art:517](https://doi.org/10.21930/rcta.vol17_num3_art:517)
- Torres, M., Quevedo, I., Ortiz, C., Lagúnez, L., Nieto, D. y Pérez, M. (2019). Control químico de *Moniliophthora roreri* en México. *Biotecnia*, 21(2), 55-61.
- Valenzuela, J., Guevara, F., Vicente, P. y Galindo, P. (2023). Eco-Friendly Biocontrol of Moniliasis in Ecuadorian Cocoa Using Biplot Techniques. *Sustainability*, 15(5), 4223.
- Vera, M., Bernal, A., Leiva, M., Vera, A., Vera, D., Peñaherrera, S., Solís, K., Terrero, P. y Jiménez, V. E. (2018). Microorganismos endófitos asociados a *Theobroma cacao* como agentes de control biológico de *Moniliophthora roreri*. *Centro Agrícola*, 45(3), 81-87.
- Villares, D. (2020). *Estudio comparativo de Trichoderma harzianum más Bacillus subtilis para el control causal en el cultivo de ají (Capsicum annuum) en el cantón Ventanas* [Tesis].

Universidad Agraria del Ecuador.

- Villarreal, M., Villa, E., Cira, L., Estrada, M., Parra, F. y Santos, S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(1), 95-130.
- Viteri, S., Villamil, J., & Villegas, W. (2018). Aplicación de antagonistas microbianos para el control biológico de *Moniliophthora roreri* Cif & Par en *Theobroma cacao* L. bajo condiciones de campo. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 68(1), 7441-7450.
- Wang, Z., Li, Y., Zhuang, L., Yu, Y., Liu, J., Zhang, L., Gao, Z., Wu, Y., Gao, W. y Ding, G. (2019). A rhizosphere-derived consortium of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* suppresses common scab of potato and increases yield. *Computational and structural biotechnology journal*, 17, 645-653