

**Artículo**

# Potencial de *Trichoderma* spp como agente antagonista de *Phytophthora palmivora* en plántulas de cacao variedad CCN-51

## **Potential of *Trichoderma* spp. as an Antagonistic Agent against *Phytophthora palmivora* in CCN-51 Cocoa Seedlings**

Ángel Virgilio Cedeño Moreira <sup>1,\*</sup>, César Fabián Varas Beltrán <sup>2</sup>, Ítalo Fernando Espinoza Guerra <sup>3,\*</sup>, Camilo Alexander Mestanza Uquillas <sup>4</sup>, Ketty Vanessa Arellano Ibarra <sup>5</sup>, Odalis Celine Vilela Sabando <sup>6</sup>

- <sup>1</sup> Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, Quevedo; <https://orcid.org/0000-0002-6564-5569>
- <sup>2</sup> Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, Quevedo; <https://orcid.org/0000-0002-1885-5977>; [cvarasb@uteq.edu.ec](mailto:cvarasb@uteq.edu.ec)
- <sup>3</sup> Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, Quevedo; <https://orcid.org/0000-0002-2975-3087>
- <sup>4</sup> Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, Quevedo; <https://orcid.org/0000-0001-9299-170X>; [cmestanza@uteq.edu.ec](mailto:cmestanza@uteq.edu.ec)
- <sup>5</sup> Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, Quevedo; <https://orcid.org/0000-0001-7168-7485>; [ketty.arellano2017@uteq.edu.ec](mailto:ketty.arellano2017@uteq.edu.ec)
- <sup>6</sup> Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, Quevedo; <https://orcid.org/0009-0004-0949-3646>; [ovilelas@uteq.edu.ec](mailto:ovilelas@uteq.edu.ec)

\* Correspondencia: [acedenom@uteq.edu.ec](mailto:acedenom@uteq.edu.ec); [iespinoza@uteq.edu.ec](mailto:iespinoza@uteq.edu.ec)



<https://doi.org/10.70881/hnj/v3/n2/58>

**Resumen:** *Phytophthora palmivora* es un patógeno devastador en cultivos de cacao, que causa enfermedades como la podredumbre de la vaina y la pudrición de la raíz, afectando significativamente la productividad y calidad de los cultivos. Dado que el control químico presenta desafíos debido a la resistencia del patógeno y sus efectos ambientales, el control biológico mediante hongos como *Trichoderma harzianum* se presenta como una alternativa prometedora. Este estudio evaluó el potencial de tres cepas de *Trichoderma* (TCH-01, TCH-22, TCH-09) como agentes biocontroladores de *P. palmivora* en plántulas de cacao variedad CCN-51. Se realizaron evaluaciones de crecimiento radial de las cepas, inhibición del crecimiento y esporulación de *P. palmivora* *in vitro*, así como de la incidencia y severidad de la enfermedad en las plántulas tratadas. Los resultados mostraron que TCH-01 fue la cepa más eficaz, logrando una inhibición del crecimiento de *P. palmivora* del 80% y una inhibición de la esporulación del 96%, lo que fue significativamente superior a las otras cepas. En las plántulas de cacao, TCH-01 también presentó la menor incidencia (10%) y severidad (20%) de la enfermedad, en comparación con los controles. Estos resultados demuestran que TCH-01 tiene un alto potencial para ser utilizado como biocontrolador de *P. palmivora*, contribuyendo a estrategias de manejo más sostenibles y reduciendo la dependencia de tratamientos químicos en el cultivo de cacao.

**Recibido:** 04/04/2025  
**Revisado:** 24/04/2025  
**Aceptado:** 25/04/2025  
**Publicado:** 30/04/2025



**Copyright:** © 2025 por los autores. Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la [Licencia Creative Commons, Atribución-NoComercial 4.0 Internacional. \(CC BY-NC\).](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

**Palabras clave:** Biocontrol, cacao, incidencia, severidad, inhibición

**Abstract:** *Phytophthora palmivora* is a devastating pathogen in cocoa crops, causing diseases such as pod rot and root rot, significantly affecting productivity and quality. Since chemical control poses challenges due to the pathogen's resistance and environmental impacts, biological control through fungi such as *Trichoderma harzianum* emerges as a promising alternative. This study evaluated the potential of three *Trichoderma* strains (TCH-01, TCH-22, TCH-09) as biocontrol agents against *P. palmivora* in CCN-51 cocoa seedlings. Radial growth evaluations of the strains, as well as growth inhibition and sporulation of *P. palmivora* *in vitro*, were conducted, along with assessments of disease incidence and severity in the treated seedlings. The results showed that TCH-01 was the most effective strain, achieving 80% growth inhibition of *P. palmivora* and 96% inhibition of sporulation, significantly outperforming the other strains. In the cocoa seedlings, TCH-01 also showed the lowest incidence (10%) and severity (20%) of the disease, compared to the controls. These results demonstrate that TCH-01 has high potential to be used as a biocontrol agent for *P. palmivora*, contributing to more sustainable management strategies and reducing reliance on chemical treatments in cocoa cultivation.

**Keywords:** Biocontrol, cocoa, incidence, severity, inhibition

## 1. Introducción

La variedad de cacao CCN-51 (Colección Castro Naranjal 51) se ha consolidado como una de las más importantes a nivel agronómico y económico por su alta productividad, rápida entrada en producción y moderada tolerancia a enfermedades como la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) y la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*), lo que ha favorecido su adopción en sistemas de producción a gran escala (Stagnati et al., 2020; Amores, 2024). No obstante, en los últimos años, diversos estudios y reportes de campo han evidenciado una creciente susceptibilidad de esta variedad a *Phytophthora spp.*, agente causal de la pudrición negra del fruto, lo que representa una amenaza significativa para su sostenibilidad comercial (Cedeño et al., 2020). En este contexto, el presente estudio seleccionó a la variedad CCN-51 como modelo experimental con el fin de evaluar la eficacia de cepas antagonistas del género *Trichoderma* como estrategia biológica para el control de *Phytophthora*, contribuyendo así al manejo integrado de enfermedades en el cultivo de cacao.

Varios estudios han demostrado que *Phytophthora palmivora* es un patógeno que afecta significativamente a diversas especies vegetales, siendo especialmente devastador en cultivos de cacao (*Theobroma cacao*), donde causa enfermedades como la podredumbre de la vaina y la pudrición de la raíz (Simamora et al., 2021). Estas infecciones conducen a una disminución en la productividad, calidad y rendimiento de los cultivos, lo que representa un desafío importante para los productores de cacao a nivel mundial (Misman, et al., 2022; Puig et al., 2021). A pesar de los esfuerzos por desarrollar métodos efectivos para el control de esta enfermedad, el manejo de *P. palmivora* sigue siendo complicado debido a su capacidad para producir esporas resistentes y su amplia dispersión en condiciones favorables de humedad y temperatura (Balanagouda et al., 2021).

En este contexto, el control biológico se presenta como una alternativa prometedora para reducir la dependencia de fungicidas químicos, los cuales no solo son costosos, sino que también contribuyen a la resistencia de los patógenos y afectan negativamente al medio ambiente (Fenta y Mekonnen, 2024). Uno de los agentes biocontroladores más estudiados y utilizados en la lucha contra diversos patógenos fúngicos es el hongo

*Trichoderma harzianum*, que ha demostrado poseer una amplia gama de mecanismos antagonistas, como la competencia por nutrientes, la producción de compuestos antimicrobianos y la inducción de resistencia en las plantas hospedadoras (Poveda, 2021; Manzar et al., 2022).

Diversos estudios han señalado la capacidad de *Trichoderma* para suprimir el crecimiento de *Phytophthora* spp., lo que sugiere que las cepas de *Trichoderma* podrían ser una herramienta eficaz en el manejo integrado de enfermedades fúngicas en cacao (Sarria et al., 2021). Sin embargo, a pesar de los resultados prometedores, la efectividad de las cepas de *Trichoderma* puede variar dependiendo de factores como la cepa utilizada, las condiciones ambientales y la etapa de desarrollo de la planta (Ferreira y Musumeci, 2021). Por lo tanto, es crucial realizar estudios más profundos que comparan las diferentes cepas de *Trichoderma* en condiciones controladas para identificar aquellas con el mayor potencial de biocontrol frente a *P. palmivora*.

Entre las especies más destacadas de *Trichoderma* se encuentran *Trichoderma harzianum* (Khoiri et al., 2023), *Trichoderma koningiopsis* (Zapata y Botina, 2023) y *Trichoderma viride* (Putra et al., 2022), las cuales han mostrado un alto potencial antagonista mediante mecanismos como la competencia por espacio y nutrientes, la producción de metabolitos antifúngicos y la micoparasitación directa (Sukorini et al., 2021). Estudios realizados en condiciones *in vitro* e *in vivo* han confirmado su capacidad para reducir significativamente la incidencia y severidad de la pudrición negra del fruto, convirtiéndolas en alternativas viables y sostenibles dentro del manejo integrado de enfermedades (Sirikamonsathien et al., 2023).

Los metabolitos producidos por *Trichoderma* desempeñan un papel crucial en su capacidad para inhibir el crecimiento de patógenos como *Phytophthora palmivora*. Estos metabolitos incluyen una variedad de compuestos bioactivos que tienen efectos antifúngicos, antibacterianos y antimicrobianos, lo que les permite actuar como herramientas eficaces en el biocontrol de enfermedades de plantas (Ayyandurai et al., 2024; Shahriar et al., 2022). Entre los principales metabolitos antimicrobianos de *Trichoderma* se encuentran las trichoderminas, peptaiboles, lactonas y proteínas hidrolíticas (Nakkeeran et al., 2021; Alfaro et al., 2022).

El objetivo principal de este estudio fue identificar qué cepa de *Trichoderma* presenta el mayor potencial para ser utilizada como biocontrolador de *P. palmivora* en cacao, evaluando tanto su efectividad directa sobre el patógeno como su impacto en la reducción de los síntomas de la enfermedad en las plantas hospedadoras. La información obtenida de este trabajo contribuirá a la implementación de prácticas agrícolas más sostenibles y eficaces para el manejo de *P. palmivora*, reduciendo la dependencia de químicos y promoviendo el uso de agentes biológicos naturales.

En este contexto, el presente estudio no solo busca aportar soluciones efectivas al manejo de *Phytophthora palmivora* en cacao, sino también contribuir a los Objetivos de Desarrollo Sostenible, en particular al ODS 12 (Producción y Consumo Responsables) y al ODS 13 (Acción por el Clima). La incorporación de cepas de *Trichoderma* como alternativa biológica al uso de fungicidas químicos promueve prácticas agrícolas más sostenibles, con un menor impacto ambiental, beneficiando especialmente a pequeños productores, programas de manejo integrado y sistemas agroecológicos orientados a la sostenibilidad.

## 2. Materiales y Métodos

### Aislamiento de las cepas de *Trichoderma*

Las cepas de *Trichoderma* fueron aisladas a partir de muestras de suelo recolectadas de plantaciones de cacao de más de 20 años de edad, que no habían recibido intervención química en los últimos años. Las muestras se obtuvieron de suelos de plantaciones con antecedentes de infección por *Phytophthora palmivora*, un patógeno común en estos cultivos. El aislamiento de las cepas se realizó mediante el método de dilución en serie, utilizando placas de agar PDA (Papa Dextrosa Agar) para favorecer el crecimiento de hongos saprófitos. Las muestras de suelo fueron procesadas en condiciones asépticas para evitar la contaminación con otros microorganismos. Posteriormente, las placas se incubaron a 25°C durante un período de 5 a 7 días, lo que permitió el desarrollo de las colonias fúngicas. Las colonias de *Trichoderma* fueron seleccionadas en función de su morfología característica, como la presencia de estructuras de conidios en forma de esporas y un micelio blanco algodonoso, que son indicadores típicos de este género.

### Extracción de ADN

Se utilizó el kit comercial GeneJET Genomic DNA (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) para la extracción de ADN genómico de las cepas seleccionadas. El ADN fue extraído siguiendo las instrucciones del fabricante, con modificaciones mínimas para optimizar el rendimiento. La calidad y concentración del ADN extraído fueron evaluadas utilizando un espectrofotómetro (NanoDrop 2000, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA).

### Amplificación de la región ITS

Para la identificación molecular, se amplificó la región del espaciador interno transcrita (ITS) del ADN ribosómico utilizando los cebadores ITS1 5'-TCCGTAGGTGAAACCTGCGG-3' e ITS4 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3', que son ampliamente utilizados para la identificación de hongos en estudios filogenéticos. La reacción de PCR se llevó a cabo en un volumen final de 25 µL, que contenía 12.5 µL de Taq Master Mix (Thermo Fisher Scientific), 1 µL de cada cebador (10 µM), 2 µL de ADN templado, y 8.5 µL de agua ultrapura. Las condiciones del ciclo de PCR fueron las siguientes: 95°C durante 3 minutos (desnaturalización inicial), seguido de 35 ciclos de 95°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos (hibridación), y 72°C por 1 minuto, con una extensión final a 72°C durante 5 minutos.

### Purificación y secuenciación

Los productos de PCR fueron purificados utilizando el kit GeneJET PCR Purification Kit (Thermo Fisher Scientific) y enviados a un servicio de secuenciación comercial (Macrogen, Seúl, Corea) para obtener las secuencias en ambas direcciones.

### Análisis filogenético y comparación de secuencias

Las secuencias obtenidas fueron procesadas y analizadas utilizando el software ChromasPro (Technelysium, Australia) para la alineación y edición de las secuencias. Posteriormente, las secuencias fueron comparadas con las disponibles en la base de datos GenBank utilizando la herramienta BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para determinar la identidad de las cepas. La identidad y la cobertura de la secuencia se calcularon en función de la comparación con las secuencias de referencia de *Trichoderma*.

### Construcción del dendrograma filogenético

Para evaluar las relaciones filogenéticas entre las cepas aisladas de *Trichoderma* y otras especies del género, se realizó un análisis filogenético utilizando el método de Máxima Verosimilitud en el software MEGA X. Se seleccionó el modelo de sustitución más adecuado (Tamura-Nei) basado en los resultados del ModelTest y se calculó el soporte de los nodos utilizando el método de Bootstrap con 1000 réplicas. El dendrograma resultante se utilizó para visualizar la relación filogenética de las cepas de *Trichoderma* en este estudio.

### Velocidad de crecimiento

La velocidad de crecimiento radial de las cepas de *Trichoderma* (TCH-01, TCH-22, TCH-09) se evaluó mediante el cultivo de las cepas en medio de agar PDA (Papa Dextrosa Agar). Se inocularon discos de 5 mm de diámetro de cada cepa, extraídos de colonias en crecimiento, en el centro de placas de Petri estériles de 9 cm de diámetro. Las placas se incubaron a 25°C durante 24, 48 y 72 horas. El crecimiento radial se midió en dos direcciones perpendiculares en cada placa, y se calculó el diámetro promedio de las colonias en cada intervalo de tiempo. Las mediciones se realizaron en triplicado para cada cepa y cada intervalo de tiempo, y se utilizó un control negativo (placas sin inocular) para verificar la ausencia de contaminación. Los datos obtenidos fueron analizados utilizando un análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) para determinar las diferencias significativas en el crecimiento radial entre las diferentes cepas a los distintos tiempos de evaluación.

### Evaluación de inhibición *in vitro*

La inhibición *in vitro* del crecimiento de *Phytophthora palmivora* por las cepas de *Trichoderma* (TCH-01, TCH-22, TCH-09) se evaluó utilizando el método de confrontación directa en placas de agar PDA. Se prepararon placas de Petri de 9 cm de diámetro con medio agar PDA estéril. Un disco de 5 mm de diámetro de una colonia de *P. palmivora* cepa VPP 44 correspondiente al banco de cepas de la UTEQ fue colocado en el centro de cada placa. Posteriormente, se inoculó un disco de 5 mm de diámetro de cada cepa de *Trichoderma* a una distancia de 2 cm del disco de *P. palmivora*. Las placas fueron incubadas a 25°C en condiciones controladas durante 7 días. La inhibición del crecimiento de *P. palmivora* se evaluó midiendo el diámetro del crecimiento de la colonia de *P. palmivora* en las placas. La inhibición se calculó como el porcentaje de reducción en el crecimiento radial de *P. palmivora* en presencia de *Trichoderma*, en comparación con el crecimiento en las placas de control (sin *Trichoderma*).

Las mediciones se realizaron en triplicado para cada tratamiento y se incluyó un control negativo (placa con *P. palmivora* sin *Trichoderma*). Los datos obtenidos fueron analizados utilizando un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) para determinar las diferencias significativas entre las cepas de *Trichoderma* en su capacidad para inhibir el crecimiento de *P. palmivora*.

### Inhibición de la infección en plántulas

La evaluación de la inhibición de *Phytophthora palmivora* en plántulas de cacao se realizó mediante un bioensayo en condiciones controladas utilizando plántulas de cacao variedad CCN-51, las cuales fueron tratadas con suspensiones de conidios de las cepas de *Trichoderma* (TCH-01, TCH-22, TCH-09) y posteriormente inoculadas con zoosporas de *P. palmivora*. Se aplicaron 10 mL de la suspensión de *Trichoderma* en las hojas jóvenes de las plántulas y, 24 horas después, se inoculó con la suspensión de

zoosporas. La incidencia de la enfermedad se calculó semanalmente durante 4 semanas como el porcentaje de plantas infectadas con síntomas visibles, mientras que la severidad se evaluó utilizando la escala visual de González y Pérez (2021), considerando el porcentaje de la hoja afectada. Se incluyó un control negativo sin tratamiento y sin inoculación. Los resultados fueron analizados mediante ANOVA y la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) para identificar diferencias significativas entre los tratamientos y el control.

### 3. Resultados

#### Identificación molecular

Los resultados demostraron que todos los aislamientos corresponden al género *Trichoderma*, confirmando la correcta clasificación genética de las cepas aisladas. La cepa T14, identificada como *Trichoderma koningiopsis*, mostró una cobertura de consulta del 100% y una identidad del 100% con el número de acceso GenBank [MG266013.1](#). La cepa TH-01, correspondiente a *Trichoderma harzianum*, presentó también una cobertura del 100%, con una identidad del 99%, y se encuentra registrada con el número de acceso [OM078502.1](#). Finalmente, la cepa ZNWPL9, también de *Trichoderma harzianum*, alcanzó una cobertura de consulta del 100% y una identidad del 100%, con el número de acceso [KR868395.1](#).

**Tabla 1.**

Identificación molecular de los aislamientos de *Trichoderma* mediante comparación con secuencias de referencia en la base de datos NCBI/GenBank.

AISLADO		Identidad (Base de datos NCBI / GenBank)			
Código	Nomenclatura	Cepa	Cobertura de consulta (%)	Identidad (%)	Número de acceso
TCH-01	<i>Trichoderma koningiopsis</i>	T14	100	100	<a href="#">MG266013.1</a>
TCH-22	<i>Trichoderma harzianum</i>	TH-01	100	99	<a href="#">OM078502.1</a>
TCH-09	<i>Trichoderma harzianum</i>	ZNWPL9	100	100	<a href="#">KR868395.1</a>

#### Relación filogenética

El dendrograma obtenido muestra la relación filogenética entre diversas cepas de *Trichoderma* y *Phytophthora infestans* (Figura 1). Se observa una clara separación entre los dos géneros, con las cepas de *Trichoderma* agrupándose en dos grandes clústeres: uno correspondiente a *Trichoderma harzianum* y otro a *Trichoderma koningii*.

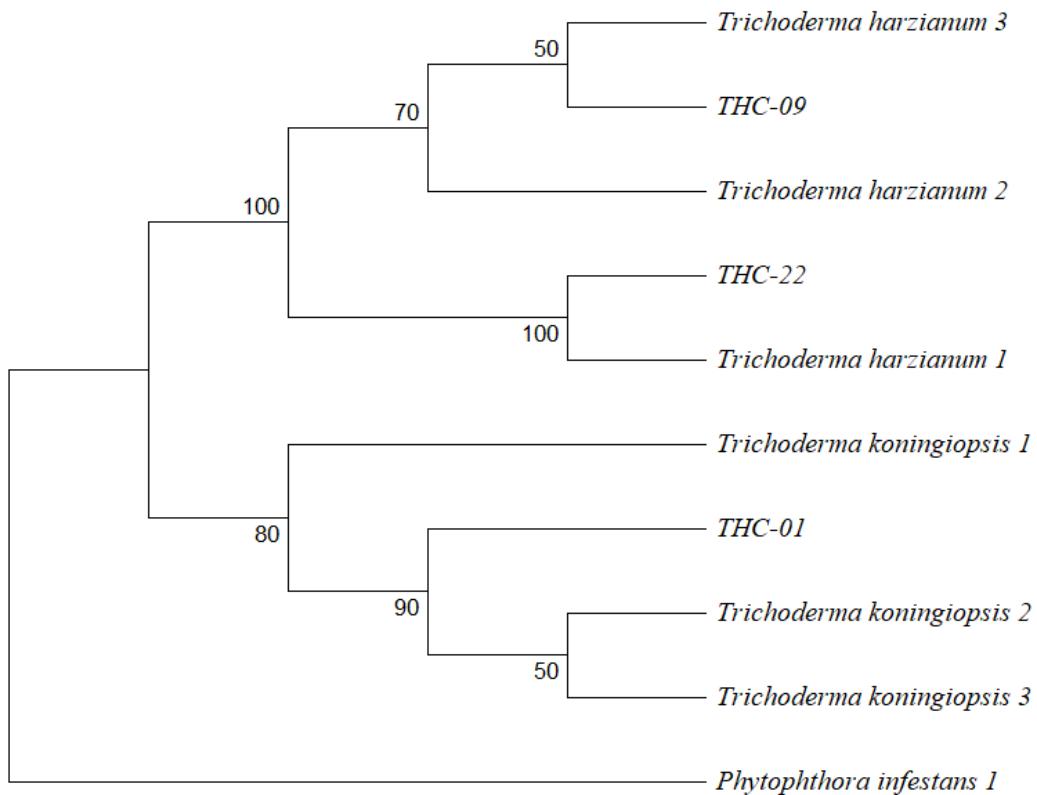
Dentro del clúster de *Trichoderma harzianum*, las cepas *Trichoderma harzianum* 1, *Trichoderma harzianum* 2 y *Trichoderma harzianum* 3 se agrupan estrechamente, con un valor de bootstrap de 100%, lo que indica una alta confianza en su relación. Por otro lado, la cepa *THC-09* se separa de este grupo con un valor de bootstrap del 80%, lo que sugiere una divergencia significativa respecto a las otras cepas de *T. harzianum*.

Asimismo, la cepa *THC-22* también se agrupa con alta confiabilidad (100%) con las otras cepas de *T. harzianum*.

El segundo clúster, correspondiente a *Trichoderma koningii*, muestra una clara subdivisión entre las cepas *Trichoderma koningii* 1, *Trichoderma koningii* 2 y *Trichoderma koningii* 3. Las cepas *THC-01* y *THC-01* también se incluyen en este grupo, con valores de bootstrap del 90% y 80%, respectivamente, lo que indica una buena separación dentro del grupo. Finalmente, la cepa de *Phytophthora infestans* se agrupa en un clúster completamente separado de las cepas de *Trichoderma*, lo que refleja la divergencia genética entre estas dos especies.

### Figura 1.

Dendrograma basado en un análisis filogenético de las cepas de *Trichoderma* y *Phytophthora infestans* utilizando datos moleculares. El árbol muestra las relaciones evolutivas entre las siguientes cepas de *Trichoderma*: *Trichoderma harzianum* 1, *Trichoderma harzianum* 2, *Trichoderma harzianum* 3, *THC-09*, *THC-22*, *Trichoderma koningii* 1, *Trichoderma koningii* 2, *Trichoderma koningii* 3, y *THC-01*. *Phytophthora infestans* 1 se muestra como un grupo distinto.



### Velocidad de crecimiento

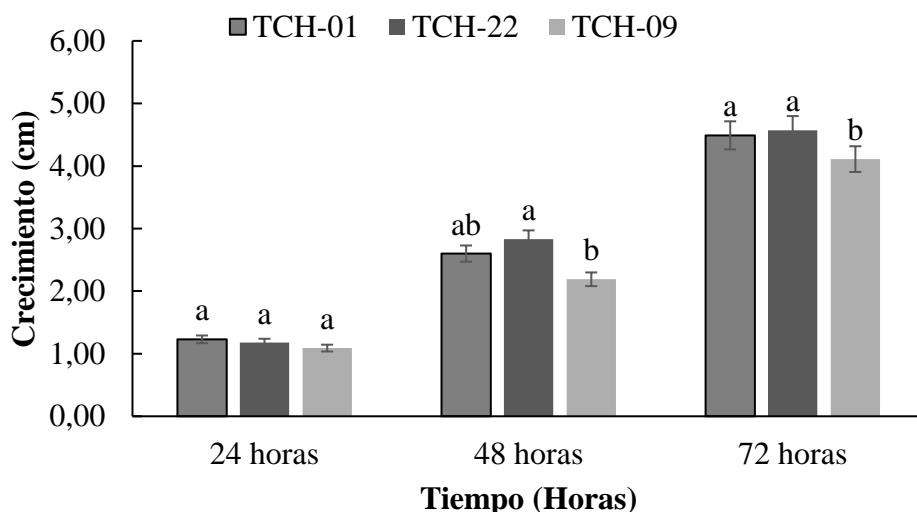
El crecimiento radial de las cepas de *Trichoderma* (*TCH-01*, *TCH-22*, *TCH-09*) fue evaluado durante tres intervalos de tiempo (24, 48 y 72 horas) para determinar su capacidad de expansión en condiciones controladas (Figura 1). Los resultados obtenidos muestran un patrón de crecimiento progresivo, con un aumento significativo en el diámetro del crecimiento radial a medida que transcurría el tiempo de incubación.

A las 24 horas, las cepas mostraron un crecimiento moderado, con valores de 1.23 cm para *TCH-01*, 1.18 cm para *TCH-22* y 1.09 cm para *TCH-09*. Estos resultados indican que las tres cepas iniciaron su crecimiento de manera similar en el primer periodo de observación, sin diferencias significativas entre ellas. Sin embargo, a las 48 horas, se observó un aumento sustancial en el crecimiento de todas las cepas. En este intervalo, *TCH-22* mostró el mayor aumento, alcanzando 2.83 cm, seguido por *TCH-01* con 2.60 cm y *TCH-09* con 2.19 cm.

A las 72 horas, el crecimiento continuó incrementándose de manera notable, alcanzando 4.57 cm para *TCH-22*, 4.49 cm para *TCH-01* y 4.11 cm para *TCH-09*. *TCH-22* presentó consistentemente los mayores valores de crecimiento a lo largo de todos los periodos, lo que sugiere que esta cepa podría tener una tasa de crecimiento más rápida en comparación con las otras cepas estudiadas.

## Figura 2.

Crecimiento radial de las cepas *Trichoderma* (*TCH-01*, *TCH-22*, *TCH-09*) en función del tiempo (24, 48 y 72 horas). Los valores representan el crecimiento en centímetros (cm) y se muestran como la media  $\pm$  error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre las cepas, según el análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

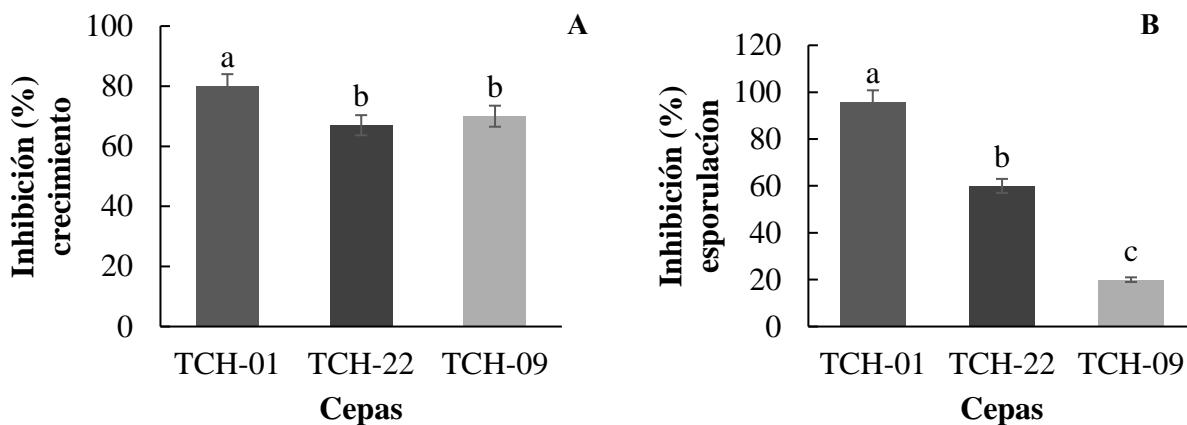


## Inhibición *in vitro*

En la evaluación de la inhibición del crecimiento de *Phytophthora palmivora* (Figura 3A), se observó que todas las cepas de *Trichoderma* evaluadas mostraron una capacidad significativa para reducir el crecimiento del patógeno. La cepa *TCH-01* fue la más efectiva, con una inhibición del crecimiento de aproximadamente 80%, que fue significativamente superior a las otras cepas. En contraste, *TCH-22* y *TCH-09* presentaron inhibiciones del 67% y 70%, respectivamente. El análisis estadístico (prueba de Tukey) indicó diferencias significativas entre las cepas, siendo *TCH-01* significativamente más eficaz que *TCH-22* y *TCH-09* ( $p < 0.05$ ).

En cuanto a la inhibición de la esporulación de *P. palmivora* (Figura 3B), los resultados mostraron que *TCH-01* inhibió la esporulación, alcanzando un 96%, lo que sugiere una capacidad excepcional para suprimir la formación de esporangios. Por otro lado, *TCH-22* mostró una inhibición del 60%, mientras que *TCH-09* presentó la menor capacidad

con una inhibición de solo el 20%. Las diferencias entre las cepas fueron estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ), como se indica con las letras "a", "b", y "c", donde *TCH-01* resultó ser más eficaz en la inhibición de la esporulación en comparación con *TCH-22* y *TCH-09*.



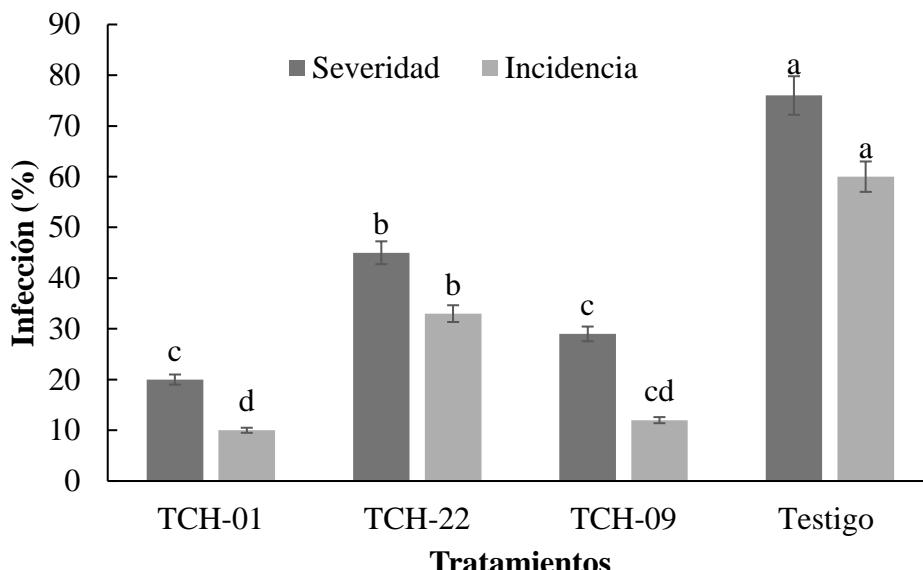
**Figura 3.** Inhibición del crecimiento y la esporulación de *Phytophthora palmivora* por cepas de *Trichoderma* (*TCH-01*, *TCH-22*, *TCH-09*). Panel A: Inhibición del crecimiento de *P. palmivora* por las cepas de *Trichoderma*. Panel B: Inhibición de la esporulación de *P. palmivora* por las cepas de *Trichoderma*. Los valores representan la media  $\pm$  error estándar de tres repeticiones. Las letras " " indican diferencias significativas entre las cepas, según el análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

#### Inhibición de la infección en plántulas

En la Figura 4 se presentan los resultados de la infección de *Phytophthora palmivora* en plantas de cacao tratadas con diferentes cepas de *Trichoderma* (*TCH-01*, *TCH-22*, *TCH-09*) y un grupo control (testigo). Se evaluaron dos parámetros: incidencia y severidad de la enfermedad. En términos de incidencia, el tratamiento con *TCH-01* presentó el menor porcentaje de infección (10%), seguido de *TCH-22* y *TCH-09*, con incidencias de aproximadamente 33% y 12%, respectivamente. El testigo mostró la mayor incidencia, alcanzando un 60%. En cuanto a severidad, el tratamiento con *TCH-01* también mostró el menor porcentaje (20%), mientras que *TCH-22* y *TCH-09* presentaron severidades de 45% y 29%, respectivamente. Mientras que el testigo mostró la mayor severidad con un 76%.

#### Figura 4.

Infección de *Phytophthora palmivora* en plantas de cacao tratadas con diferentes cepas de *Trichoderma* (*TCH-01*, *TCH-22*, *TCH-09*) y un testigo (sin tratamiento). Se muestra el porcentaje de incidencia (barras grises) y severidad (barras negras) de la enfermedad en cada tratamiento. Los valores son expresados como la media  $\pm$  error estándar. Las letras indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, según el análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).



#### 4. Discusión

En un estudio realizado por Woo et al. (2023) se señaló que *Trichoderma* se encuentra de manera natural en suelos agrícolas debido a su habilidad para competir con otros microorganismos por nutrientes y su capacidad para descomponer materia orgánica. Además, Awad et al. (2022) expresa que *Trichoderma* forma parte del microbiota del suelo, especialmente en suelos que no han recibido tratamiento químico durante largos períodos, como las plantaciones de cacao en este estudio, lo que favorece la presencia y proliferación de estos hongos.

Las plantaciones de cacao, que son suelos ricos en materia orgánica debido a la caída constante de hojas y frutos, proporcionan un ambiente ideal para que las especies de *Trichoderma* se desarrolle, ya que este género de hongos se alimenta principalmente de residuos orgánicos y residuos de otros microorganismos (Delgado et al., 2021). Asimismo, en suelos con antecedentes de infección por *Phytophthora palmivora*, como en este estudio, las cepas de *Trichoderma* pueden prevalecer debido a su habilidad para actuar como antagonistas biológicos, competiendo directamente con *P. palmivora* por recursos y espacio, e inhibiendo su crecimiento mediante la producción de compuestos antimicrobianos (Thomas et al., 2024; Modrzewska et al., 2022).

De acuerdo con Bustamante et al. (2001), la identificación de cepas específicas de *Trichoderma* en suelos de cacao puede estar relacionada con la adaptación de estas cepas a las condiciones particulares del cultivo. Por ejemplo, *TCH-01*, *TCH-22*, y *TCH-09* podrían tener características que les permitan prosperar en los suelos del cacao, como una mayor resistencia a las condiciones de humedad alta y una capacidad más eficiente para colonizar el rizósfera del cacao, lo cual les permite establecerse y competir con otros patógenos presentes en el suelo.

Diversos estudios, demuestran que el patrón de crecimiento observado en las cepas de *Trichoderma* a lo largo del tiempo puede ser explicado a partir de la fisiología de los hongos y su interacción con el medio ambiente (Cabral et al., 2022). La fase de adaptación inicial, con un crecimiento moderado a las 24 horas, es una respuesta típica de los hongos al medio de cultivo, donde durante este período el hongo establece su micelio y ajusta sus mecanismos metabólicos a las condiciones de crecimiento (Illescas et al., 2021). En este sentido, la fase de crecimiento más lento al inicio se debe a la

necesidad del hongo de adaptarse al nuevo entorno, sin embargo, una vez establecido, *Trichoderma* experimenta una fase de expansión rápida debido a su alta eficiencia en la absorción de nutrientes y su capacidad para competir con otros microorganismos (Kumar et al., 2023).

La observación de un crecimiento más pronunciado a las 48 horas, especialmente para TCH-22, podría explicarse por la capacidad de esta cepa para utilizar los recursos disponibles de manera más eficiente. Estudios previos han demostrado que *Trichoderma* puede inducir la producción de enzimas extracelulares, como celulasas y quitinasas, que permiten la descomposición de los componentes del medio de cultivo, lo que facilita la expansión del hongo (Asad, 2022; Mejía et al., 2021). La mayor producción de estas enzimas podría ser la causa del crecimiento más rápido en comparación con las otras cepas en este intervalo.

Las especies *Trichoderma harzianum* y *T. koningiopsis* son reconocidas por su capacidad para producir metabolitos antifúngicos, como quitinasas y peptaiboles, que les confieren una notable actividad antagónica contra fitopatógenos (Kurchenko et al., 2023). Estudios han demostrado que la producción de estos compuestos se incrementa durante las interacciones con hongos patógenos (Sridharan et al., 2021). Por ejemplo, se ha observado que *T. harzianum* aumenta la síntesis de ciertos metabolitos secundarios al enfrentarse a patógenos como *Rhizoctonia solani* y *Botrytis cinerea*. Asimismo, investigaciones sobre *T. koningiopsis* han reportado su eficacia en la inhibición del crecimiento de *Fusarium solani*, atribuida a la producción de enzimas hidrolíticas y otros compuestos antifúngicos (Wang et al., 2023).

En términos de la variabilidad entre cepas, estudios como el de Xiao et al. (2023) indican que diferentes cepas de *Trichoderma* pueden mostrar diferentes tasas de crecimiento debido a factores genéticos. Algunas cepas tienen un mayor potencial de crecimiento debido a su capacidad para adaptarse a condiciones específicas del medio de cultivo, como la concentración de nutrientes y la competencia con otros organismos. Esta variabilidad entre cepas es fundamental en los estudios de biocontrol, ya que las cepas más rápidas en crecimiento podrían tener ventajas competitivas para su uso en la lucha contra patógenos como *Phytophthora palmivora* (Pedrero et al., 2021).

La capacidad de *Trichoderma* para inhibir el crecimiento y la esporulación de *P. palmivora* se ha atribuido a una combinación de factores, incluyendo la competencia por nutrientes, la producción de metabolitos secundarios antimicrobianos y la inducción de respuestas de defensa en las plantas hospedadoras (Lopes et al., 2024; Poveda y Baptista, 2021).

En cuanto a la inhibición de la esporulación, la producción de compuestos antimicrobianos por *Trichoderma* también juega un papel importante. Algunos estudios han demostrado que *Trichoderma* puede interferir en la formación de esporas de patógenos, impidiendo la germinación o el desarrollo de estructuras reproductivas (Alfiky y Weisskopf, 2021; Thangaraj et al., 2025). En este estudio, TCH-01 inhibió un 96% de la esporulación de *P. palmivora*, lo que sugiere que esta cepa tiene un mecanismo más eficiente para suprimir la formación de esporangios. En contraste, las cepas TCH-22 y TCH-09 mostraron una inhibición menor, lo que indica que su capacidad para interferir en la esporulación es menos pronunciada, posiblemente debido a una menor producción de compuestos antimicrobianos o una capacidad reducida para colonizar el patógeno.

La variabilidad en la eficacia de las cepas de *Trichoderma* observada en este estudio también puede estar relacionada con la genética de las cepas. Diferentes cepas de

*Trichoderma* tienen diferentes capacidades para producir enzimas de degradación de la pared celular (como quitinasas y celulasas), que podrían ser más efectivas contra algunos patógenos que otros (Assis et al., 2024) Además, el análisis filogenético de las cepas de *Trichoderma* en estudios previos ha mostrado que las cepas de *T. harzianum* suelen ser más agresivas en sus interacciones con otros hongos debido a su capacidad para producir una amplia gama de metabolitos secundario (Tyśkiewicz et al., 2022).

En condiciones de campo, *Trichoderma harzianum* y *T. koningiopsis* han mostrado una notable capacidad para inhibir patógenos asociados a los cultivos, especialmente a patógenos causante de enfermedades vasculares (Caccavo et al., 2022; Luo et al., 2023). Investigaciones ejecutadas por Santoyo et al. (2024) establecen que varias especies de *Trichoderma* se establecen eficientemente en el suelo y en la rizósfera, incluso en ambientes tropicales con alta humedad, lo que favorece su persistencia y eficacia biocontroladora. Sin embargo, Asghar et al. (2024) expresa que, a pesar de su demostrado potencial como agente de control biológico, el uso de *Trichoderma* en aplicaciones de campo presenta algunas limitaciones que pueden afectar su eficacia. Por otra parte, Leuratti et al. (2025) demuestra que una de las principales restricciones es la variabilidad de las condiciones ambientales, como la temperatura, humedad, pH del suelo y radiación solar, que pueden reducir la viabilidad y actividad del hongo tras su aplicación. Además, su eficacia puede disminuir en suelos con alta carga microbiana competitiva o contaminados, donde la colonización por *Trichoderma* es menos eficiente (Zhao et al., 2025).

Una de las principales limitaciones del presente estudio radica en que las evaluaciones se realizaron exclusivamente bajo condiciones controladas, tanto *in vitro* como en invernadero, lo cual, si bien permite obtener resultados precisos y repetibles, no refleja completamente la complejidad de los agroecosistemas reales. Según estudios de Wu et al. (2022) factores ambientales como la variabilidad climática, las interacciones microbiológicas del suelo y la dinámica propia del cultivo en campo pueden influir significativamente en la eficacia de las cepas de *Trichoderma*. Dugassa et al. (2021) recomienda que fundamental desarrollar ensayos en condiciones de campo abierto, que permitan validar el comportamiento antagonista de *T. harzianum* y *T. koningiopsis* frente a *Phytophthora palmivora*, y así determinar su viabilidad como herramienta efectiva dentro de programas de manejo integrado en plantaciones comerciales de cacao.

La interacción entre *Trichoderma* y el microbiota del suelo en sistemas cacaoteros representa un componente clave para el desarrollo de suelos supresivos, capaces de limitar naturalmente la proliferación de patógenos. Al introducir cepas de *Trichoderma* con actividad antagonista, no solo se inhibe directamente a agentes como *Phytophthora palmivora*, sino que también se modula positivamente la comunidad microbiana nativa, favoreciendo poblaciones benéficas y fortaleciendo los mecanismos de defensa del ecosistema edáfico. Esta relación simbiótica puede mejorar la disponibilidad de nutrientes, estimular el crecimiento radicular y reducir la dependencia de insumos químicos, promoviendo una salud integral del agroecosistema. Así, *Trichoderma* no solo actúa como un biocontrolador puntual, sino como un regulador ecológico que contribuye a la resiliencia y sostenibilidad de los sistemas agrícolas a largo plazo.

## 5. Conclusiones

Los resultados de este estudio confirman el potencial de *Trichoderma harzianum* como un agente biocontrolador eficaz contra *Phytophthora palmivora* en plántulas de cacao. Estos hallazgos resaltan el alto potencial biocontrolador de TCH-01, sugiriendo su prometedora aplicación para reducir la incidencia y severidad de *P. palmivora* en el cultivo de cacao.

Las diferencias observadas en la capacidad inhibidora de las cepas sobre el crecimiento y la esporulación de *Phytophthora palmivora* sugieren que los factores genéticos y los perfiles metabólicos juegan un papel clave en su eficacia. TCH-01 presentó un rendimiento superior, reduciendo significativamente la incidencia y severidad de la enfermedad en las plántulas de cacao.

**Contribución de los autores:** Conceptualización, AV-CM. y KV-AI.; metodología, CF-VB.; software, IF-EG.; validación, AV-CM.; análisis formal, CF-VB.; investigación, KV-AI.; recursos, IF-EG. y CA-MU.; redacción del borrador original, CA-MU.; redacción, revisión y edición, AV-CM.; visualización, OC-VS.; supervisión, AV-CM. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

**Financiamiento:** Esta investigación no ha recibido financiación externa

**Agradecimientos:** Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ) por su apoyo invaluable durante el desarrollo de este estudio. Agradezco a los docentes, investigadores y al personal administrativo por brindar los recursos necesarios, el acompañamiento y la infraestructura adecuada para llevar a cabo este trabajo. Su compromiso con la formación académica y la investigación ha sido fundamental para el éxito de este proyecto.

**Declaración de disponibilidad de datos:** Los datos están disponibles previa solicitud a los autores de correspondencia: [acedenom@uteq.edu.ec](mailto:acedenom@uteq.edu.ec)

**Conflicto de interés:** Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

## Referencias bibliográficas

- Alfaro-Vargas, P., Bastos-Salas, A., Muñoz-Arrieta, R., Pereira-Reyes, R., Redondo-Solano, M., Fernández, J., Mora-Villalobos, A., & López-Gómez, J. P. (2022). Peptaibol production and characterization from *Trichoderma asperellum* and their action as biofungicide. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 8(10), 1037. <https://doi.org/10.3390/jof8101037>
- Alfiky, A., & Weisskopf, L. (2021). Deciphering *Trichoderma*-plant-pathogen interactions for better development of biocontrol applications. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 7(1), 61. <https://doi.org/10.3390/jof7010061>
- Amores, F. (2024). History, origin, cultivars, and cacao research in Ecuador. En *Sustainable Cacao Cultivation in Latin America* (pp. 16–32). Routledge.
- Asad, S. A. (2022). Mechanisms of action and biocontrol potential of *Trichoderma* against fungal plant diseases - A review. *Ecological Complexity*, 49(100978), 100978. <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2021.100978>

- Asghar, W., Craven, K. D., Kataoka, R., Mahmood, A., Asghar, N., Raza, T., & Iftikhar, F. (2024). The application of *Trichoderma* spp., an old but new useful fungus, in sustainable soil health intensification: A comprehensive strategy for addressing challenges. *Plant Stress*, 12(100455), 100455. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100455>
- Assis, M. A., da Silva, J. J. B., de Carvalho, L. M., Parreira, L. S., Cairo, J. P. L. F., Marone, M. P., Gonçalves, T. A., Silva, D. S., Dantzger, M., de Figueiredo, F. L., Carazzolle, M. F., Pereira, G. A. G., & Damasio, A. (2024). A multiomics perspective on plant cell wall-degrading enzyme production: Insights from the unexploited fungus *Trichoderma erinaceum*. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 10(6), 407. <https://doi.org/10.3390/jof10060407>
- Awad-Allah, E. F. A., Mohamed, I. A. A., Allah, S. F. A. A., Shams, A. H. M., & Elsokkary, I. H. (2022). *Trichoderma* species: An overview of current status and potential applications for sustainable agriculture. *Indian journal of agricultural research, Of.* <https://doi.org/10.18805/ijare.af-751>
- Ayyandurai, M., Theradimani, M., Harish, S., Manonmani, K., Madhu, G. S., Yesu Raja, I., Balakumbahan, R., & Kavitha Pushpam, A. (2024). Bioprospecting of microbial agents and their metabolites as potential inhibitors of *Phytophthora cinnamomi*, the causal agent of avocado root rot. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 133(102362), 102362. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2024.102362>
- Balanagouda, P., Vinayaka, H., Maheswarappa, H. P., & Narayanaswamy, H. (2021). *Phytophthora* diseases of arecanut in India: prior findings, present status and future prospects. *Indian Phytopathology*, 74(3), 561–572. <https://doi.org/10.1007/s42360-021-00382-8>
- Bustamante, D. E., Calderon, M. S., Leiva, S., Mendoza, J. E., Arce, M., & Oliva, M. (2021). Three new species of *Trichoderma* in the *Harzianum* and *Longibrachiatum* lineages from Peruvian cacao crop soils based on an integrative approach. *Mycologia*, 113(5), 1056–1072. <https://doi.org/10.1080/00275514.2021.1917243>
- Cabral-Miramontes, J. P., Olmedo-Monfil, V., Lara-Banda, M., Zúñiga-Romo, E. R., & Aréchiga-Carvajal, E. T. (2022). Promotion of plant growth in arid zones by selected *Trichoderma* spp. Strains with adaptation plasticity to alkaline pH. *Biology*, 11(8), 1206. <https://doi.org/10.3390/biology11081206>
- Caccavo, V., Forlano, P., Mang, S. M., Fanti, P., Nuzzaci, M., Battaglia, D., & Trotta, V. (2022). Effects of *Trichoderma harzianum* strain T22 on the arthropod community associated with tomato plants and on the crop performance in an experimental field. *Insects*, 13(5), 418. <https://doi.org/10.3390/insects13050418>
- Cedeño Moreira, Á. V., Romero Meza, R. F., Auhing Arcos, J. A., Mendoza León, A. F., Abasolo Pacheco, F., & Canchignia Martínez, H. F. (2020). Characterization of *Phytophthora* spp. and application of rhizobacteria with biocontrol potential in black pod disease in *Theobroma cacao* variety CCN-51. *Scientia agropecuaria*, 11(4), 503–512. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.04.05>
- Delgado-Ospina, J., Molina-Hernández, J. B., Chaves-López, C., Romanazzi, G., & Paparella, A. (2021). The role of fungi in the cocoa production chain and the

- challenge of climate change. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 7(3), 202. <https://doi.org/10.3390/jof7030202>
- Dugassa, A., Alemu, T., & Woldehawariat, Y. (2021). In-vitro compatibility assay of indigenous *Trichoderma* and *Pseudomonas* species and their antagonistic activities against black root rot disease (*Fusarium solani*) of faba bean (*Vicia faba* L.). *BMC Microbiology*, 21(1), 115. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02181-7>
- Fenta, L., & Mekonnen, H. (2024). Microbial biofungicides as a substitute for chemical fungicides in the control of phytopathogens: Current perspectives and research directions. *Scientifica*, 2024, 5322696. <https://doi.org/10.1155/2024/5322696>
- Ferreira, F. V., & Musumeci, M. A. (2021). *Trichoderma* as biological control agent: scope and prospects to improve efficacy. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(5), 90. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03058-7>
- González, C., & Pérez, M. (2021). Evaluación de la incidencia y severidad de *Phytophthora palmivora* en cacao en diferentes épocas del año. *Revista de Fitopatología Tropical*, 48(3), 45-59. <https://doi.org/10.1234/rft2021>
- Illescas, M., Pedrero-Méndez, A., Pitorini-Bovolini, M., Hermosa, R., & Monte, E. (2021). Phytohormone production profiles in *Trichoderma* species and their relationship to wheat plant responses to water stress. *Pathogens*, 10(8), 991. <https://doi.org/10.3390/pathogens10080991>
- Khoiri, S., Larasati, R. S., & Megasari, D. (2023). Efektivitas *Trichoderma harzianum* OC12 dalam menekan *Phytophthora palmivora* penyebab penyakit busuk buah kakao. *Agropross: National Conference Proceedings of Agriculture*, 189–195. <https://doi.org/10.25047/agropross.2023.477>
- Kumar, V., Koul, B., Taak, P., Yadav, D., & Song, M. (2023). Journey of *Trichoderma* from pilot scale to mass production: A review. *Agriculture*, 13(10), 2022. <https://doi.org/10.3390/agriculture13102022>
- Kurchenko, I., Patyka, V., Kalinichenko, A., & Kopylov, Y. (2023). The genus *Trichoderma* as biocontrol agent of plant pathogens. En *The Chemical Dialogue Between Plants and Beneficial Microorganisms* (pp. 153–165). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91734-6.00012-0>
- Leuratti, T., Fellin, L., Michelon, N., Palacios Tario, J. B., Gutiérrez, J. E. S., Gianquinto, G., Orsini, F., & Zanin, G. (2025). Optimizing tomato seedling production in the tropics: Effects of *Trichoderma*, Arbuscular mycorrhizal fungi, and key agronomical factors. *Agronomy (Basel, Switzerland)*, 15(2), 392. <https://doi.org/10.3390/agronomy15020392>
- Lopes, A. D., Rivadavea, W. R., & Silva, G. J. (2024). *Trichoderma* secondary metabolites for effective plant pathogen control. En *Nanohybrid Fungicides* (pp. 239–255). Elsevier
- Luo, M., Chen, Y., Huang, Q., Huang, Z., Song, H., & Dong, Z. (2023). *Trichoderma koningiopsis* Tk905: an efficient biocontrol, induced resistance agent against banana *Fusarium* wilt disease and a potential plant-growth-promoting fungus. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1301062. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1301062>

- Manzar, N., Kashyap, A. S., Goutam, R. S., Rajawat, M. V. S., Sharma, P. K., Sharma, S. K., & Singh, H. V. (2022). Trichoderma: Advent of versatile biocontrol agent, its secrets and insights into mechanism of biocontrol potential. *Sustainability*, 14(19), 12786. <https://doi.org/10.3390/su141912786>
- Mejía, C., Ardila, H. D., Espinel, C., Brandão, P. F. B., & Villamizar, L. (2021). Use of Trichoderma koningiopsis chitinase to enhance the insecticidal activity of Beauveria bassiana against Diatraea saccharalis. *Journal of Basic Microbiology*, 61(9), 814–824. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100161>
- Misman, N., Samsulrizal, N. H., Noh, A. L., Wahab, M. A., Ahmad, K., & Ahmad Azmi, N. S. (2022). Host range and control strategies of Phytophthora palmivora in southeast Asia perennial crops. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 45(4), 991–1019. <https://doi.org/10.47836/pjtas.45.4.09>
- Modrzewska, M., Bryła, M., Kanabus, J., & Pierzgalski, A. (2022). *Trichoderma* as a biostimulator and biocontrol agent against *Fusarium* in the production of cereal crops: Opportunities and possibilities. *Plant Pathology*, 71(7), 1471–1485. <https://doi.org/10.1111/ppa.13578>
- Nakkeeran, S., Rajamanickam, S., Karthikeyan, M., Mahendra, K., Renukadevi, P., & Johnson, I. (2021). Antimicrobial secondary metabolites from *Trichoderma* spp. as next generation fungicides. En *Biocontrol Agents and Secondary Metabolites* (pp. 257–282). Elsevier.
- Pedrero-Méndez, A., Insuasti, H. C., Neagu, T., Illescas, M., Rubio, M. B., Monte, E., & Hermosa, R. (2021). Why is the correct selection of *Trichoderma* strains important? The case of wheat endophytic strains of *T. harzianum* and *T. simmonsi*. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 7(12), 1087. <https://doi.org/10.3390/jof7121087>
- Poveda, J. (2021). *Trichoderma* as biocontrol agent against pests: New uses for a mycoparasite. *Biological Control: Theory and Applications in Pest Management*, 159(104634), 104634. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104634>
- Poveda, J., & Baptista, P. (2021). Filamentous fungi as biocontrol agents in olive (*Olea europaea* L.) diseases: Mycorrhizal and endophytic fungi. *Crop Protection (Guildford, Surrey)*, 146(105672), 105672. <https://doi.org/10.1016/j.cropo.2021.105672>
- Puig, A. S., Quintanilla, W., Matsumoto, T., Keith, L., Gutierrez, O. A., & Marelli, J.-P. (2021). Phytophthora palmivora Causing Disease on Theobroma cacao in Hawaii. *Agriculture*, 11(5), 396. <https://doi.org/10.3390/agriculture11050396>
- Putra, S., Ferry, Y., & Harni, R. (2022). Pengendalian penyakit busuk buah kakao menggunakan *Trichoderma* dan pupuk Kalium. *Kultivasi*, 21(2). <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v21i2.36807>
- Santoyo, G., Orozco-Mosqueda, M. D. C., Afidi, M. S., Mitra, D., Valencia-Cantero, E., & Macías-Rodríguez, L. (2024). *Trichoderma* and *Bacillus* multifunctional allies for plant growth and health in saline soils: recent advances and future challenges. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1423980. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1423980>

- Sarria, G., Garcia, A., Mestizo, Y., Medina, C., Varón, F., Mesa, E., & Hernandez, S. (2021). ANTAGONISTIC INTERACTIONS BETWEEN *Trichoderma* spp. AND *Phytophthora palmivora* (Butler) FROM OIL PALM IN COLOMBIA. *European Journal of Plant Pathology*, 161(4), 751–768. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02363-z>
- Shahriar, S. A., Islam, M. N., Chun, C. N. W., Kaur, P., Rahim, M. A., Islam, M. M., Uddain, J., & Siddiquee, S. (2022). Microbial metabolomics interaction and ecological challenges of *Trichoderma* species as biocontrol inoculant in crop rhizosphere. *Agronomy (Basel, Switzerland)*, 12(4), 900. <https://doi.org/10.3390/agronomy12040900>
- Simamora, A. V., Hahuly, M. V., & Henuk, J. B. D. (2021). Endophytic fungi as potential biocontrol agents of *Phytophthora palmivora* in the cocoa plant. *Biodiversitas: journal of biological diversity*, 22(5). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220519>
- Sirikamonsathien, T., Kenji, M., & Dethoup, T. (2023). Potential of endophytic *Trichoderma* in controlling *Phytophthora* leaf fall disease in rubber (*Hevea brasiliensis*). *Biological Control: Theory and Applications in Pest Management*, 179(105175), 105175. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105175>
- Sridharan, A. P., Sugitha, T., Karthikeyan, G., Nakkeeran, S., & Sivakumar, U. (2021). Metabolites of *Trichoderma longibrachiatum* EF5 inhibits soil borne pathogen, *Macrophomina phaseolina* by triggering amino sugar metabolism. *Microbial Pathogenesis*, 150(104714), 104714. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104714>
- Stagnati, L., Soffritti, G., Martino, M., Bortolini, C., Lanubile, A., Busconi, M., & Marocco, A. (2020). Cocoa beans and liquor fingerprinting: A real case involving SSR profiling of CCN51 and “Nacional” varieties. *Food Control*, 118(107392), 107392. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107392>
- Sukorini, H., Wirasdenty Aigahayunindy, F., Dani Septia, E., & Khewkhom, N. (2021). Exploration and effectiveness of *Trichoderma* sp. From Jember and Trenggalek, East Java, Indonesia cacao plantation as A biological control of *Phytophthora palmivora*. *E3S web of conferences*, 226, 00022. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202122600022>
- Thangaraj, P., Balamurali, A. S., & Muthusamy, N. (2025). Biological control of *Trichoderma* spp.: Mechanisms of action against phytopathogens, insect pests, and its multifaceted roles in agro-ecosystems. *Environment conservation journal*, 26(1), 302–314. <https://doi.org/10.36953/ecj.28922909>
- Thomas, G. V., Krishnakumar, V., & Prabhu, S. R. (2024). New paradigms in soil health management for sustainable production of plantation crops. In *Soil Health Management for Plantation Crops* (pp. 487–533). Springer Nature Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-97-0092-9\\_11](https://doi.org/10.1007/978-981-97-0092-9_11)
- Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., & Jaroszuk-Ścisł, J. (2022). *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2329. <https://doi.org/10.3390/ijms23042329>

- Wang, Y., Zhu, X., Wang, J., Shen, C., & Wang, W. (2023). Identification of Mycoparasitism-Related Genes against the Phytopathogen *Botrytis cinerea* via Transcriptome Analysis of *Trichoderma harzianum* T4. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/jof9030324>
- Woo, S. L., Hermosa, R., Lorito, M., & Monte, E. (2023). *Trichoderma*: a multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. *Nature Reviews Microbiology*, 21(5), 312–326. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00819-5>
- Wu, J., Zhu, J., Zhang, D., Cheng, H., Hao, B., Cao, A., Yan, D., Wang, Q., & Li, Y. (2022). Beneficial effect on the soil microenvironment of *Trichoderma* applied after fumigation for cucumber production. *PloS One*, 17(8), e0266347. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266347>
- Xiao, Z., Zhao, Q., Li, W., Gao, L., & Liu, G. (2023). Strain improvement of *Trichoderma harzianum* for enhanced biocontrol capacity: Strategies and prospects. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1146210. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1146210>
- Zapata-Narváez, Y. A., & Botina-Azain, B. L. (2023). Effect of adjuvants, fungicides and insecticides on the growth of *Trichoderma koningiopsis* Th003. *Revista mexicana de fitopatología: la revista oficial de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*, 41(3). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2305-1>
- Zhao, C., Yao, J., Knudsen, T. Š., Hu, W., & Cao, Y. (2025). Combined modified montmorillonite and microbial consortium enhanced the remediation effect of As and Cd-contaminated soil in a smelting area. *Journal of Cleaner Production*, 145329, 145329. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2025.145329>