



Efecto antagónico *in vitro* de *Trichoderma asperellum* frente a *Moniliophthora perniciosa*

In vitro antagonistic effect of *Trichoderma asperellum* against *Moniliophthora perniciosa*

José Humberto Vera Rodríguez*, José Roberto Lucas Saltos,
 Wilfrido Javier Alvarado Ullauri, Alex Aurelio Ibarra Velasquez

Universidad Agraria del Ecuador UAE. Vía Puerto Marítimo - Avenida 25 de Julio y Pío Jaramillo (Campus principal) Guayaquil, Guayas, Ecuador, 091307.

RESUMEN: El estudio de hongos fitopatógenos en plantaciones de cacao es fundamental para proteger los cultivos y desarrollar estrategias de control efectivas. El estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto antagónico *in vitro* de *Trichoderma asperellum* frente a *Moniliophthora perniciosa* causante de la enfermedad "escoba de bruja". Se aislaron e identificaron molecularmente ambas especies (*M. perniciosa* de ramas de cacao (*Theobroma cacao* L.) enfermas y *T. asperellum* de la rizosfera) utilizando las técnicas de Barcoding ITS y Beta tubulina. Se aplicó el modelamiento matemático de crecimiento exponencial, para modelar el crecimiento de *M. perniciosa* en presencia del hongo antagonista *T. asperellum*, se aplicó el cálculo diferencial logístico basado en el modelo de Lotka-Volterra para competencia. El ensayo contó con 5 réplicas con sus respectivos controles. El análisis molecular confirmó la presencia de *M. perniciosa* 98 % y *T. asperellum* 100 % de identidad. Los ensayos *in vitro* demostraron que *T. asperellum* inhibe eficazmente a *M. perniciosa* mediante competencia. El modelo Lotka-Volterra predijo el dominio de *T. asperellum*. En conclusión, los resultados moleculares, *in vitro* y de modelado, proporcionan una base sólida para considerar a *T. asperellum* como un prometedor agente de biocontrol para la enfermedad "escoba de bruja" del cacao en condiciones controladas.

Palabras clave: Cacao, escoba de bruja, fitopatógeno, hongo, molecular.

ABSTRACT: The study of phytopathogenic fungi in cacao plantations is essential for crop protection and the development of effective control strategies. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* antagonistic effect of *Trichoderma asperellum* against *Moniliophthora perniciosa*, which causes the disease "witches' broom." Both species (*M. perniciosa* from diseased cacao (*Theobroma cacao* L.) branches and *T. asperellum* from the rhizosphere) were isolated and molecularly identified using ITS barcoding and beta tubulin techniques. Exponential growth mathematical modeling was applied to model the growth of *M. perniciosa* in the presence of the antagonistic fungus *T. asperellum*. Logistic differential calculation based on the Lotka-Volterra model for competition was applied. The trial included 5 replicates with their respective controls. Molecular analysis confirmed the presence of *M. perniciosa* at 98 % and *T. asperellum* at 100 %. *In vitro* assays demonstrated that *T. asperellum* effectively inhibits *M. perniciosa* through competition. The Lotka-Volterra model predicted *T. asperellum* dominance. In conclusion, the molecular, *in vitro*, and modeling results provide a solid basis for considering *T. asperellum* as a promising biocontrol agent for cacao witches' broom disease under controlled conditions.

Key words: Cocoa, witch's broom, phytopathogen, fungus, molecular.

*Autor para correspondencia: jhvera@uagraria.edu.ec

Recibido: 03/08/2025

Aceptado: 21/11/2025

Conflictos de intereses. Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Contribución de los autores: **Conceptualización:** José Humberto Vera Rodríguez. **Investigación:** José Humberto Vera Rodríguez, José Roberto Lucas Saltos, Wilfrido Javier Alvarado Ullauri. **Supervisión:** José Roberto Lucas Saltos. **Escritura del Borrador:** José Humberto Vera Rodríguez. **Escritura y edición final:** José Humberto Vera Rodríguez y Alex Aurelio Ibarra Velasquez. **Curación de datos:** Aurelio Ibarra Velasquez.

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



INTRODUCCIÓN

La agricultura moderna se enfrenta a desafíos constantes debido a las enfermedades fúngicas que afectan a los cultivos, ocasionando pérdidas económicas significativas y poniendo en riesgo la seguridad alimentaria global (1). Entre estas enfermedades, la escoba de bruja causada por el hongo *Moniliophthora perniciosa* (anteriormente *Crinipellis perniciosa*), representa una de las principales amenazas para el cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*) en diversas regiones productoras del mundo, incluyendo Ecuador (2). Este patógeno es responsable de la deformación de brotes, cojines florales y frutos, impactando severamente la producción y calidad del cacao (3).

El manejo de enfermedades fúngicas en la agricultura tradicionalmente ha dependido del uso de fungicidas sintéticos (4). Si bien estas sustancias ofrecen un control eficaz a corto plazo, su aplicación indiscriminada genera preocupación por los efectos negativos en el medio ambiente, la salud humana y la aparición de cepas de patógenos resistentes (5). Esta problemática ha impulsado la búsqueda de alternativas más sostenibles y ecológicas para el control de enfermedades, siendo el control biológico una de las estrategias más prometedoras (6).

En este contexto, el uso de microorganismos benéficos como agentes de control biológico ha ganado gran relevancia (7). El género *Trichoderma* se destaca como uno de los grupos de hongos más estudiados y aplicados en la agricultura debido a su versatilidad y sus múltiples mecanismos de acción antagonista contra fitopatógenos (8). Diversas especies de *Trichoderma* son reconocidas por su capacidad de promover el crecimiento vegetal, mejorar la absorción de nutrientes y, fundamentalmente, suprimir el desarrollo de enfermedades (9).

Dentro del género *Trichoderma*, la especie *Trichoderma asperellum* ha demostrado ser particularmente eficaz en el control de una amplia gama de patógenos fúngicos (10). Sus mecanismos antagonistas incluyen el micoparasitismo, donde el hongo benéfico ataca directamente al patógeno (11); la competencia por nutrientes y espacio, donde supera al patógeno en la colonización de sustratos (12); la producción de compuestos antifúngicos como metabolitos secundarios y enzimas líticas (13); y la inducción de resistencia sistémica en la planta hospedera (14).

La escoba de bruja del cacao, causada por *Moniliophthora perniciosa*, es una enfermedad de gran complejidad debido a la variabilidad genética del patógeno y a su ciclo de vida particular, que involucra diferentes estadios en la planta de cacao (15). El hongo infecta los tejidos meristemáticos, provocando una proliferación anormal de brotes y ramas, que eventualmente se secan y mueren, formando las características "escobas" (16). Si los frutos son afectados, se momifican y pierden su valor comercial (17).

A pesar de los esfuerzos de investigación, el control efectivo y sostenible de *M. perniciosa* sigue siendo un desafío (18). Las estrategias actuales a menudo combinan prácticas culturales, como la poda sanitaria, con la aplicación de fungicidas (19). Sin embargo, estas medidas no siempre son suficientes para mitigar el impacto de la enfermedad,

especialmente en zonas de alta presión de inóculo (20). Esto subraya la necesidad urgente de desarrollar nuevas herramientas de manejo.

El estudio tuvo como objetivo investigar el efecto antagonístico *in vitro* de *Trichoderma asperellum* frente a *Moniliophthora perniciosa*. Los resultados de esta investigación contribuirán al conocimiento sobre las interacciones biológicas, ofreciendo una base científica para el desarrollo de estrategias de control biológico más eficientes y amigables con el medio ambiente, beneficiando a los productores y al ecosistema cacaotero.

MATERIALES Y MÉTODOS

La toma de muestras para el aislamiento de los agentes fúngicos se llevó a cabo en el mes de septiembre del 2024, en la finca "Hermanos Quito" de la parroquia Lorenzo Garaicoa del cantón Simón Bolívar, provincia del Guayas-Ecuador, mientras que el procesamiento de las muestras se realizó en el laboratorio de microbiología de la Universidad Agraria del Ecuador.

Para el aislamiento de *T. asperellum* se aplicó la metodología propuesta por Vera (7) utilizando trampas de arroz y sembrar en medio PDA por sus características colorimétricas al género *Trichoderma*. Mientras que para *M. perniciosa* se tomó una rama de cacao con síntoma de la enfermedad, fue lavada con jabón neutro y agua destilada, se cortó la rama transversalmente hasta tener 5 pedazos de ≈3 cm, luego se sumergieron las fracciones en hipoclorito de sodio al 1% durante 2 minutos con enjuagues de agua estéril, finalmente dentro de la cabina de seguridad se sumergieron en etanol al 70 % durante 20 segundos, se realizó un corte longitudinal a los fragmentos eliminando la corteza y tomando fracciones del cambium vascular de la rama de ≈5 mm, los mismos que fueron sembrados sobre medio de cultivo PDA en la parte central de la placa e incubadas a 28 °C durante 14 días, para pasar a la fase de purificación.

La identificación molecular de los hongos se llevó a cabo mediante una serie de pasos estandarizados. Inicialmente, se procedió a la extracción de ADN a partir de 100 mg de cada muestra fúngica. Posteriormente, la integridad y pureza del ADN extraído se verificaron mediante espectrofotometría de microvolúmenes y electroforesis en gel de agarosa al 1 %. El ADN fue luego ajustado a una concentración de 20 ng/μL⁻¹ para su amplificación por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) utilizando los cebadores ITS1/ITS4 (21); y BtuB: Bt2a/Bt2b (22). Los productos de PCR resultantes se purificaron antes de la secuenciación por el método de Sanger. Finalmente, las secuencias obtenidas fueron depuradas informáticamente y comparadas con la base de datos de nucleótidos del GenBank (NCBI) para la identificación taxonómica del hongo.

Para determinar la dinámica de crecimiento de *M. perniciosa*, se diseñó un experimento comparativo. Un grupo control *M. perniciosa* representó la ausencia de competencia, mientras que el otro tratamiento incorporó la presencia de microorganismos con reconocida actividad antagonista *M. perniciosa* & *T. asperellum*. Este estudio se realizó en placas de Petri de 90 mm, utilizando medio PDA como sustrato para la inoculación simultánea y estéril del hongo patógeno y su correspondiente antagonista.

El progreso del micelio de *M. perniciosa* fue registrado diariamente en milímetros (mm) durante 7 días. Los datos de crecimiento recopilados sirvieron para calcular las velocidades de crecimiento específicas de cada entidad y la influencia de los agentes antagonistas en la disminución del crecimiento del patógeno.

La metodología aplicada para el procesamiento de los datos obtenidos en el experimento (**Tabla 1**) consistió en un modelamiento matemático predictivo utilizando el sistema de ecuaciones diferenciales de Lotka-Volterra para competencia interespecífica. Se definieron los parámetros clave del modelo para ambas especies (*M. perniciosa* y *T. asperellum*), incluyendo la población inicial, la tasa de crecimiento intrínseca, la capacidad de carga del ambiente y los coeficientes que cuantifican la interacción competitiva mutua entre los dos hongos (**Tabla 2**).

Tabla 1. Datos experimentales de población

Días	<i>M. perniciosa & T. asperellum</i> (mm)	<i>M. perniciosa</i> Control (mm)
1	10	15
2	14	20
3	17	26
4	20	32
5	24	34
6	26	36
7	28	40

A partir de los datos experimentales se estimaron los parámetros para la tasa de crecimiento Intrínseca (r), capacidad de carga (K) y Coeficiente de Competencia (α) mediante métodos estadísticos y numéricos, buscando el conjunto de parámetros que mejor explica las dinámicas de población observadas.

Estos valores son los que se aplicaron en las fórmulas del modelo de Lotka-Volterra para realizar las simulaciones de crecimiento. Las fórmulas generales del modelo de Lotka-Volterra para competencia utilizadas para generar los datos de la gráfica consistieron en dos ecuaciones diferenciales:

Para la Especie 1 (*M. perniciosa*, que llamaremos N1):

$$\frac{dN_1}{dt} = r_1 N_1 \left(1 - \frac{N_1 + \alpha_{12} N_2}{K_1}\right)$$

Para la Especie 2 (*T. asperellum*, que llamaremos N2):

$$\frac{dN_2}{dt} = r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2 + \alpha_{21} N_1}{K_2}\right)$$

Donde:

N_1 : Población de *M. perniciosa* en el tiempo t.

N_2 : Población de *T. asperellum* en el tiempo t.

$\frac{dN_1}{dt}$: Tasa de cambio de la población de *M. perniciosa* con respecto al tiempo.

$\frac{dN_2}{dt}$: Tasa de cambio de la población de *T. asperellum* con respecto al tiempo.

r_1 : Tasa de crecimiento intrínseca de *M. perniciosa* (0.5).

r_2 : Tasa de crecimiento intrínseca de *T. asperellum* (0.8).

K_1 : Capacidad de carga de *M. perniciosa* (10000).

K_2 : Capacidad de carga de *T. asperellum* (15000).

α_{12} : Coeficiente de competencia que representa el efecto de *T. asperellum* (N_2) sobre *M. perniciosa* (N_1) (0.7).

α_{21} : Coeficiente de competencia que representa el efecto de *M. perniciosa* (N_1) sobre *T. asperellum* (N_2) (0.2).

Con estos parámetros, se procedió a la integración numérica de las ecuaciones diferenciales que describen la dinámica poblacional del antagonismo durante el período de evaluación, lo que permitió obtener la evolución de las poblaciones de *M. perniciosa* y *T. asperellum* a lo largo del tiempo. Finalmente, los resultados de la simulación se representaron visualmente mediante una gráfica, que ilustra las curvas de crecimiento de ambas especies bajo las condiciones de competencia definidas por el modelo.

RESULTADOS

Identificación molecular de las especies fúngicas

La **Figura 1** muestra los resultados de la lectura de electroforesis, permitiendo observar amplicones de aproximadamente 400 pb y 920 pb, respectivamente.

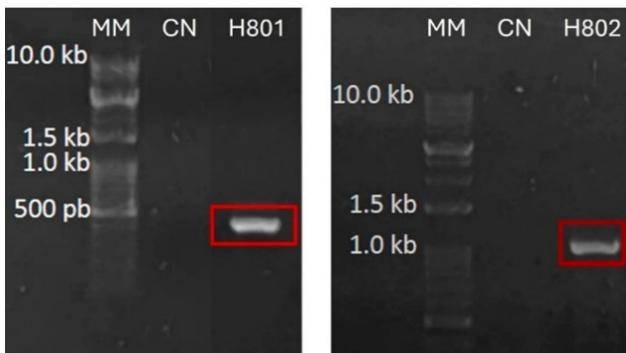
A partir de las lecturas resultantes de la secuenciación SANGER se obtuvieron secuencias ensambladas que permitieron determinar la identidad de las especies, según se detallan en la **Tabla 3**.

Competencia antagónica entre las especies fúngicas

La **figura 2** demuestra claramente la actividad antagónica de *T. asperellum* contra *M. perniciosa* *in vitro*. *T. asperellum* inhibe eficazmente el crecimiento de *M. perniciosa*, probablemente a través de mecanismos como la competencia por el espacio, nutrientes y el micoparasitismo o la producción de compuestos antifúngicos por la cepa de *Trichoderma* donde parasita al hongo patógeno.

Tabla 2. Parámetros de entrada del modelo Lotka-Volterra para (*M. perniciosa* y *T. asperellum*)

Parámetro	<i>M. perniciosa</i>	<i>T. asperellum</i>	Unidad	Descripción
(Nº)	100	50	UFC/mL	Población Inicial de cada hongo.
(r)	0.5	0.8	1/día	Tasa de crecimiento máxima de cada hongo en ausencia de competencia.
(K)	10000	15000	UFC/mL	Población máxima que el ambiente puede soportar para cada hongo por separado.
(αij)	0.7 (αMP,TA)	0.2 (αTA,MP)	Adimensional	Efecto competitivo de una especie sobre la otra. (αMP,TA se refiere al efecto de <i>T. asperellum</i> sobre <i>M. perniciosa</i> ; αTA,MP se refiere al efecto de <i>M. perniciosa</i> sobre <i>T. asperellum</i>).

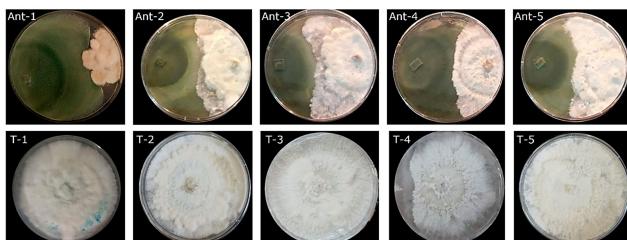


MM= Marcador de peso molecular y CN= Control negativo, kb= Kilobase, pb= pares de base

Figura 1. Gel de agarosa al 1 % con productos de PCR para los fragmentos H801 (BtuB) y H802 (ITS)

Tabla 3. Identificación molecular de los aislados fúngicos

Código	Organismo	Fragmento	Identidad	Accesión
H801	<i>Trichoderma asperellum</i>	BtuB	100 %	PP596864.1
H802	<i>Moniliophthora perniciosa</i>	ITS	98 %	KX913250



Ant-1: antagonismo 1 (crecimiento de *T. asperellum* y *M. perniciosa*);
 Ant-2: antagonismo 2 (crecimiento de *T. asperellum* y *M. perniciosa*);
 Ant-3: antagonismo 3 (crecimiento de *T. asperellum* y *M. perniciosa*);
 Ant-4: antagonismo 4 (crecimiento de *T. asperellum* y *M. perniciosa*);
 Ant-5: antagonismo 5 (crecimiento de *T. asperellum* y *M. perniciosa*).
 T-1: Testigo 1 (crecimiento de *M. perniciosa*); T-2: Testigo 2 (crecimiento de *M. perniciosa*); T-3: Testigo 3 (crecimiento de *M. perniciosa*); T-4: Testigo 4 (crecimiento de *M. perniciosa*); T-5: Testigo 5 (crecimiento de *M. perniciosa*)

Figura 2. Ensayo de antagonismo *in vitro* entre *T. asperellum* y *M. perniciosa* en placas de Petri con medio de cultivo PDA a los 7 días

Esto sugiere que *T. asperellum* tiene potencial como agente de biocontrol contra *M. perniciosa*, que es el agente causal de la enfermedad conocida como "escoba de Bruja" en el cacao.

Dinámica de las poblaciones bajo el modelo de Lotka-Volterra

La Figura 3, presenta una simulación de la interacción competitiva entre el hongo patógeno *M. perniciosa* (representado por la línea azul) y el hongo antagonista *T. asperellum* (línea naranja) durante un período de siete días en condiciones *in vitro*.

La Figura 3 ilustra cómo las poblaciones de ambas especies, partiendo de densidades iniciales de 100 UFC/mL para *M. perniciosa* y 50 UFC/mL para *T. asperellum*, evolucionan bajo los parámetros definidos por el modelo de Lotka-Volterra de competencia. La observación más destacada es el crecimiento exponencial inicial de ambas poblaciones, seguido por una divergencia progresiva a partir del tercer día aproximadamente. *T. asperellum* exhibe una curva de crecimiento significativamente más pronunciada y alcanza una población final mucho mayor (\approx 6400 UFC/mL) que *M. perniciosa* (\approx 1700 UFC/mL) al final del período de 7 días.

DISCUSIÓN

Este resultado sugiere una alta especificidad y calidad de la secuencia obtenida. *T. asperellum* es un hongo ampliamente reconocido por su potencial como agente de biocontrol contra diversas enfermedades de plantas (23), mientras que *M. perniciosa* es el agente causal de la enfermedad conocida como "escoba de bruja" en el cacao, una de las enfermedades más devastadoras para este cultivo (15).

Estos hallazgos *in vitro* son prometedores para el desarrollo de estrategias sostenibles de control biológico contra *M. perniciosa*, una enfermedad devastadora que causa pérdidas significativas en la producción de cacao a nivel mundial (24). No obstante, es crucial que estos resultados sean validados en condiciones de campo para confirmar la eficacia de *T. asperellum* en un entorno más complejo y variable, donde factores ambientales como la temperatura, la humedad y la interacción con otros microorganismos pueden influir en la dinámica del antagonismo (11).

Esta dinámica es un reflejo directo de los parámetros intrínsecos de crecimiento (r) y de competencia (α) asignados en el modelo. La simulación demuestra el potencial del modelo de Lotka-Volterra para predecir y entender las interacciones ecológicas entre especies, un concepto bien establecido en la ecología de poblaciones (25).

Los ensayos de antagonismo *in vitro* demostraron inequívocamente que *T. asperellum* ejerce una potente actividad inhibitoria sobre el crecimiento de *M. perniciosa*. La simulación de la dinámica poblacional mediante el modelo de Lotka-Volterra corrobora el fuerte potencial antagónico de *T. asperellum*. El modelo predice que, incluso partiendo de una menor densidad inicial, *T. asperellum* supera significativamente la población de *M. perniciosa* en un corto período de tiempo (7 días), lo que respalda su capacidad para desplazar y controlar al patógeno en un sistema competitivo.

CONCLUSIONES

El estudio confirmó la identidad molecular de los aislados fúngicos utilizados: *Trichoderma asperellum* (H801) y *Moniliophthora perniciosa* (H802), mediante la amplificación y secuenciación de los genes BtuB e ITS, respectivamente, obteniendo un alto porcentaje de identidad con secuencias de referencia en bases de datos.

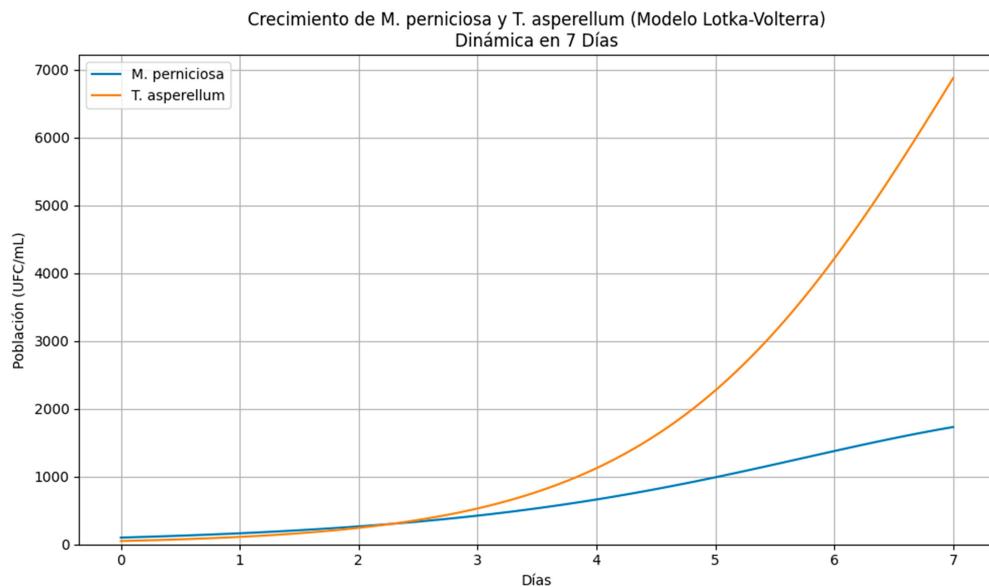


Figura 3. Dinámica de las poblaciones de *M. perniciosa* y *T. asperellum* durante los primeros 7 días de competencia, según el modelo de Lotka-Volterra

En conjunto, estos resultados moleculares, *in vitro* y de modelado, proporcionan una base sólida para considerar a *T. asperellum* como un prometedor agente de biocontrol para la enfermedad de la "escoba de bruja" del cacao, aunque su validación en condiciones de campo es esencial para confirmar su eficacia en entornos reales.

BIBLIOGRAFÍA

- Vera-Rodríguez JH, Duarte-Cuesta JM, del Rocío Villamar-Aveiga M, Sevilla-Carrasco JD, Ortiz-Mata JD, Gavin-Moyano CS, et al. Morphological characterization, molecular identification, and phylogenetic analysis of *Lasiodiplodia theobromae* associated with CCN-51 cacao plants in Ecuador. Sci Agropecu [Internet]. 2025 Aug 8 [cited 2025 Sep 8];16(4):513-9. Available from: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2025.039>
- Peralta SLP, Herrera CW, Castro B del RG. Estimación de pérdidas económicas en Cacao causado por Escoba de Bruja (*Crinipellis Perniciosa*) y Monilia (*Monilia Roreri*) en pequeños productores. Rev la Univ del Zulia [Internet]. 2024;15(42):179-92. Available from: <https://doi.org/10.46925/rdluz.42.10>
- Sánchez MAL, Aguayo AAA, Campoverde AG. El Análisis comparativo sobre la incidencia de las tres principales enfermedades en el cacao CCN-51, en el cantón La Troncal, provincia del Cañar, Ecuador. Rev Científica Ciencias Nat y Ambient [Internet]. 2018;12(1). Available from: <https://doi.org/10.53591/cna.v12i1.271>
- Villa-Martínez A, Pérez-Leal R, Morales-Morales HA, Basurto-Sotelo M, Soto-Parra JM, Martínez-Escudero E. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. Acta agronómica [Internet]. 2015;64(2):194-205. Available from: <https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358>
- Bobadilla CCC, Ruíz JRC. Efecto antifúngico del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani*. Sagasteguiana [Internet]. 2015;3(1):79-86. Available from: <https://revistas.uniru.edu.pe/index.php/REVSAGAS/article/view/2011>
- Jeres-Caguana GA, Montaño-Roldan VL, Ordoñez-Zuñiga NL, Vera-Rodríguez JH, Lucas-Vidal LR. Efecto biorremediador de la espirulina y *Trichoderma* spp. en suelo contaminado con plomo (Pb). Multidiscip Collab J [Internet]. 2025;3(2):1-12. Available from: <https://doi.org/10.70881/mcj/v3/n2/48>
- Vera J, Sarango Y, Villamar M, Ortiz J, Sevilla-Carrasco J, Duarte J LL. Effect of herbicides on the growth of beneficial microorganisms in rhizospheric soil. Rev Fac Agron [Internet]. 2025;42(2):e254222. Available from: <https://www.produccioncientificalaiz.org/index.php/agronomia/article/view/43831>
- Parraguirre-Lezama C, Romero-Arenas O, Cruz Coronel A, Mauricio-Gutiérrez A, Contreras-Paredes CA, Rivera Tapia A. Toxicidad de fungicidas de contacto en cuatro especies de *Trichoderma*, un enfoque de compatibilidad *in vitro*. Rev Mex Fitopatol [Internet]. 2025;43(1). Available from: <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2402-7>
- Rios-Catota DV, Álvarez-Sánchez AR, Vera-Rodríguez JH. Biosíntesis de nanopartículas de plata mediante *Trichoderma asperellum* y su impacto en el crecimiento vegetativo del maíz (*Zea mays* L.). Multidiscip Collab J [Internet]. 2025;3(2):148-58. Available from: <https://doi.org/10.70881/mcj/v3/n2/57>
- Cruz A, Rivero D, Echevarría A, Rodríguez AT. Manejo de hongos fitopatógenos en *Oryza sativa* con la aplicación de *Trichoderma asperellum*. Cultiv Trop [Internet]. 2022;43(4):1-5. Available from: <https://cu-id.com/2050/v43n4e01>

11. Duarte-Leal Y, Lamz-Piedra A, Martínez-Coca B. Antagonismo *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a *Sclerotium rolfsii* Sacc. Rev protección Veg [Internet]. 2017;32(3):0. Available from: http://scielo.sld.cu/scie.php?pid=S1010-2752201700030003&script=sci_arttext
12. Martínez B, Infante D, Reyes Y. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Rev Protección Veg [Internet]. 2013;28(1):1-11. Available from: http://scielo.sld.cu/scie-lo.php?pid=s1010-2752201300010001&script=sci_arttext
13. Mesa-Vanegas AM, Marin A, Calle-Osorno J. Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. Actual biológicas [Internet]. 2019;41(111):32-44. Available from: <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02>
14. Camacho-Luna V, Flores-Moctezuma HE, Rodríguez-Monroy M, Montes-Belmont R, Sepúlveda-Jiménez G. Inducción de la respuesta de defensa de plantas de cebolla en la interacción con *Trichoderma asperellum* y *Alternaria porri*. Rev Mex ciencias agrícolas [Internet]. 2021;12(4):685-98. Available from: <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i4.2683>
15. Tirado-Gallego PA, Lopera-Álvarez A, Ríos-Osorio LA. Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa* en *Theobroma cacao* L.: revisión sistemática. Cienc y Tecnol Agropecu [Internet]. 2016;17(3):417-30. Available from: http://dx.doi.org/10.21930/rcta.vol17_num3_art:517
16. Lopes MA, Gomes DS, Koblitz MGB, Pirovani CP, de Mattos Cascardo JC, Góes-Neto A, et al. Use of response surface methodology to examine chitinase regulation in the basidiomycete *Moniliophthora perniciosa*. Mycol Res [Internet]. 2008;112(3):399-406. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.10.017>
17. Garcia O, Macedo JAN, Tibúrcio R, Zaparoli G, Rincones J, Bittencourt LMC, et al. Characterization of necrosis and ethylene-inducing proteins (NEP) in the basidiomycete *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom in *Theobroma cacao*. Mycol Res [Internet]. 2007;111(4):443-55. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.01.017>
18. Rivera-Fernández RD, Valarezo-Beltron O, Macías LV, Chavarría-Párraga JE, Cedeño ÁMG. Efecto de la poda fitosanitaria sobre la enfermedad escoba de bruja en el cultivo de cacao. Intropica Rev del Inst Investig Trop [Internet]. 2014;9(1):129-36. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5111585>
19. Almestar-Montenegro J, Leiva-Espinoza S, Borjas-Ventura R, Valderrama-Palacios D, León-Rojas F, Castro-Cepero V, et al. Efecto de la poda y la remoción de frutos sobre las enfermedades de la mazorca de cacao en Copallín, Amazonas, Perú. Idesia (Arica) [Internet]. 2024;42(4):69-77. Available from: <http://dx.doi.org/10.4067/s0718-34292024000400069>
20. Hernández-Villegas J. Incidencia de la escoba de bruja (*Crinipellis perniciosa*) sobre el rendimiento de dos agroecosistemas de cacao con diferentes condiciones de manejo. Bioagro [Internet]. 2016;28(1):59-64. Available from: https://ve.scieno.org/scielo.php?pid=S1316-33612016000100008&script=sci_arttext
21. White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protoc a Guid to methods Appl [Internet]. 1990;18(1):315-22. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
22. Glass NL, Donaldson GC. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. Appl Environ Microbiol [Internet]. 1995;61(4):1323-30. Available from: <https://doi.org/10.1128/aem.61.4.1323-1330.1995>
23. Guigón-López C, Guerrero-Prieto V, Vargas-Albores F, Carvajal-Millán E, Ávila-Quezada GD, Bravo-Luna L, et al. Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento *in vitro* y antagonismo contra hongos fitopatógenos. Rev Mex Fitopatol [Internet]. 2010;28(2):87-96. Available from: https://www.scie-lo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092010000200002&script=sci_arttext
24. Mondego JMC, Carazzolle MF, Costa GGL, Formighieri EF, Parizzi LP, Rincones J, et al. A genome survey of *Moniliophthora perniciosa* gives new insights into Witches' Broom Disease of cacao. BMC Genomics [Internet]. 2008;9:1-25. Available from: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-548>
25. Cano MA. Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una revisión. Rev UDCA Actual Divulg Científica [Internet]. 2011;14(2):15-31. Available from: http://www.scieno.org.co/scielo.php?pid=S0123-4226201100020003&script=sci_arttext