

Artículo

Trichoderma spp. en la propagación sostenible de *Theobroma cacao* L. bajo distintos sustratos

Trichoderma spp. in the Sustainable Propagation of *Theobroma cacao* L. under Different Substrates

Mercedes Susana Carranza Patiño ^{1,*}, Vanessa Carolina Rivera Castillo ², Carmen Victoria Marín Cuevas ³, Juan Antonio Torres Rodríguez ⁴ y Ángel Virgilio Cedeño Moreira ⁵

¹ Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, Quevedo; <https://orcid.org/0000-0002-0917-0415>

² Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, Quevedo; <https://orcid.org/0009-0005-0697-8100>; vanessa.rivera2015@uteq.edu.ec

³ Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, Quevedo; <https://orcid.org/0000-0002-8128-9170>; cmarin@uteq.edu.ec

⁴ Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, Quevedo; <https://orcid.org/0000-0003-3326-4371>; jatorres@uteq.edu.ec

⁵ Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, Quevedo; <https://orcid.org/0000-0002-6564-5569>; acedenom@uteq.edu.ec

* Correspondencia: mcarranza@uteq.edu.ec

Cita: Carranza Patiño, M. S., Rivera Castillo, V. C., Marín Cuevas, C. V., Torres Rodríguez, J. A., & Cedeño Moreira, A. V. (2025). *Trichoderma* spp. en la propagación sostenible de *Theobroma cacao* L. bajo distintos sustratos. *Multidisciplinary Collaborative Journal*, 3(2), 92-113. <https://doi.org/10.70881/mcj/v3/n2/52>

Recibido: 20/03/2025

Revisado: 10/04/2025

Aceptado: 15/04/2025

Publicado: 24/04/2025



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/>)

 <https://doi.org/10.70881/mcj/v3/n2/52>

Resumen: El uso de *Trichoderma* spp. representa una alternativa sostenible para mejorar la propagación de plántulas de *Theobroma cacao* L. Este estudio evaluó el efecto de cepas seleccionadas de *Trichoderma* spp. sobre la germinación y crecimiento inicial del cacao Nacional, bajo diferentes sustratos en condiciones de vivero. Se aplicaron cuatro cepas (*T. harzianum* cepas 1 y 2, *T. reesei* y *T. viride*), además de un control, en tres mezclas de sustratos: tierra de monte + abono orgánico, tierra de monte + perlita y tierra de monte + turba. La germinación de las semillas fue alta (100%) en todos los tratamientos. Sin embargo, la supervivencia de plántulas mejoró notablemente con el uso de turba (>90%) frente al sustrato tierra de monte + abono (52,5%). En cuanto al crecimiento, *T. viride* en perlita promovió un mayor peso radicular fresco (12,18 g) y seco (6,91 g), además de una mayor altura (38,31 cm). Asimismo, *T. viride* en turba generó la mayor biomasa aérea fresca (16,05 g) y seca (9,19 g). Los resultados confirman que la inoculación con *Trichoderma* spp., en combinación con sustratos adecuados, fortalece el crecimiento inicial de las plántulas de cacao, lo que aumenta su vigor y potencial productivo en sistemas agroecológicos sostenibles. La elección adecuada de cepa y sustrato es clave para mejorar la eficiencia y sostenibilidad en viveros de cacao, lo que contribuye a una agricultura de alto rendimiento con menor dependencia de insumos químicos.

Palabras clave: Biocontroladores; microbiota rizosférica; fitomejoramiento sostenible; interacción planta-microorganismo; producción de plántulas.

Abstract: The use of *Trichoderma* spp. represents a sustainable alternative to improve the propagation of *Theobroma cacao* L. seedlings. This study evaluated the effect of selected *Trichoderma* spp. strains on the germination and initial growth of Nacional cacao under different substrates in nursery conditions. Four strains (*T. harzianum* strains 1 and 2, *T. reesei*, and *T. viride*), as well as a control, were applied to three substrate mixtures: forest

soil + organic compost, forest soil + perlite, and forest soil + peat. Seed germination was high (100%) in all treatments. However, seedling survival significantly improved with the use of peat (>90%) compared to forest soil + compost (52.5%). In terms of growth, *T. viride* in perlite promoted greater fresh root weight (12.18 g) and dry root weight (6.91 g), as well as greater seedling height (38.31 cm). Similarly, *T. viride* in peat generated the highest shoot fresh biomass (16.05 g) and dry biomass (9.19 g). The results confirm that inoculation with *Trichoderma* spp., in combination with suitable substrates, enhances the initial growth of cacao seedlings, increasing their vigor and productive potential in sustainable agroecological systems. The appropriate selection of strain and substrate is key to improving efficiency and sustainability in cacao nurseries, contributing to high-performance agriculture with lower dependence on chemical inputs.

Keywords: Biocontrol agents; rhizospheric microbiota; sustainable crop improvement; plant–microorganism interaction; seedling production

1. Introducción

El cultivo del cacao Nacional Fino de Aroma es el primer factor que fortalece la agricultura ecuatoriana (Valdez, 2021). El *Theobroma cacao* L. representa la diversidad agrícola de la nación y es un pilar económico clave. Su importancia radica en la calidad gourmet que aportan al mercado mundial, especialmente en la industria del chocolate fino (Gómez & Rocha, 2018). El cacao Nacional no solo posee atributos organolépticos valorados internacionalmente, sino que también representa una fuente de diversidad genética endémica con alto potencial de resiliencia frente a estreses bióticos y abióticos (Thomas et al., 2024). En adición, la Unión Europea establece restricciones específicas sobre el contenido de cadmio, lo que obliga a utilizar prácticas agrícolas innovadoras (Marini et al., 2020). Por lo tanto, el cacao ecuatoriano se ubica en una posición competitiva en el que la adaptación y la sostenibilidad son primordiales.

Sin embargo, la germinación y el crecimiento inicial de este cultivo presentan alta sensibilidad ante factores ambientales, como la temperatura y la humedad (Dos Santos et al., 2023). Estas etapas tempranas también se ven influenciadas por la correcta selección de sustratos, que facilitan la nutrición y el desarrollo radicular. De manera simultánea, el uso de bioestimulantes, en particular *Trichoderma* spp., promueve un crecimiento más robusto y una mayor eficiencia en la producción (Morillo et al., 2023). En consecuencia, la adopción de estrategias basadas en microorganismos benéficos cobra relevancia en la agricultura moderna. Aun así, se requiere mayor investigación que evalúe la efectividad conjunta de estos hongos y sustratos en el contexto específico del cacao Nacional Fino de Aroma.

En países como Perú, el empleo de cepas nativas de *Trichoderma* spp. ha demostrado resultados exitosos en la producción de cacao. Por ejemplo, Chavez-Jalk et al. (2022) evidenciaron que cepas endófitas de *Trichoderma* incrementaron significativamente el crecimiento radicular y la altura de plántulas de *Theobroma cacao* en condiciones de vivero, lo que destaca su potencial en sistemas de propagación temprana. Asimismo, (Leiva et al., 2020) identificaron cepas nativas con alta capacidad de micoparasitismo contra *Moniliophthora roreri*, agente causal de la pudrición escarchosa de la mazorca, lo que refuerza su rol como agentes de biocontrol. Estos antecedentes regionales validan la pertinencia de evaluar combinaciones cepa-sustrato adaptadas a las condiciones agroecológicas del Ecuador.

Por otro lado, persiste una brecha de conocimiento sobre la interacción detallada entre cepas de *Trichoderma* spp. y distintos sustratos (Avadí, 2023). Esta carencia informativa limita la optimización de los rendimientos y la sostenibilidad del cultivo de cacao. Aunque varias investigaciones han estudiado el potencial de *Trichoderma* spp. como bioestimulante y agente de control biológico, su impacto directo en la germinación y el crecimiento inicial del cacao Nacional sigue siendo ambiguo. Asimismo, la importancia de examinar las condiciones agroecológicas de Ecuador resulta ineludible, dado que influyen en la efectividad de estos microorganismos. Por consiguiente, la exploración de dichas interacciones se vuelve imprescindible para afrontar los retos de la agricultura sostenible.

En este contexto, el cacao no solo posee relevancia económica para numerosas regiones tropicales, sino que también representa un cultivo con alto valor sociocultural y potencial para el desarrollo de sistemas productivos sostenibles (Quiroz-Vera et al., 2023). De igual forma, el empleo de microorganismos benéficos, específicamente cepas de *Trichoderma* spp., podría constituir un enfoque estratégico en la fase de vivero, facilitando la optimización del crecimiento, la reducción de enfermedades y la adaptación de las plantas a condiciones de estrés abiótico (Morillo et al., 2023). Aun así, subsisten vacíos en la literatura sobre la interacción precisa entre estos hongos y distintos sustratos, así como sobre la persistencia a largo plazo de estas cepas en ambientes con características edafoclimáticas variables.

Las fases iniciales del establecimiento del cacao en vivero son altamente sensibles a factores como el tipo de sustrato, la disponibilidad de nutrientes, la incidencia de patógenos y el manejo ambiental, elementos que condicionan directamente la calidad y supervivencia de las plántulas (Pérez-Martínez et al., 2017). A nivel regional, ensayos controlados han demostrado que la fertilización racional y el uso de sustratos enriquecidos pueden mejorar el desarrollo morfológico y fisiológico de plántulas, optimizando su preparación para el trasplante (Quiñones-Cabezas et al., 2024). En este contexto, el uso de cepas benéficas como *Trichoderma* spp. surge como una estrategia agroecológica con potencial para reforzar la sanidad, el crecimiento radicular y la resistencia a estreses, sin recurrir a insumos sintéticos, alineándose con los principios de sostenibilidad y bioeconomía circular.

Estos indicadores reflejan la necesidad urgente de innovar en las fases tempranas del manejo de cacao, especialmente en lo referente a la formulación de sustratos adecuados y al uso de agentes biológicos que favorezcan la sanidad y el desarrollo inicial de las plántulas. Si bien estudios recientes han documentado el efecto positivo de *Trichoderma* spp. sobre cultivos perennes, incluyendo cacao, en términos de promoción del crecimiento y control de patógenos (Chavez-Jalk et al., 2022; de Sousa et al., 2021a), persisten vacíos significativos respecto a su interacción con distintos tipos de sustratos bajo condiciones controladas de vivero, particularmente en sistemas que emplean cacao Nacional Fino de Aroma. Asimismo, esta investigación se inscribe en el paradigma agroecológico, al fomentar el uso de bioinsumos que reducen la dependencia de productos sintéticos, alineándose con los principios de bioeconomía circular y agricultura regenerativa (Altieri & Nicholls, 2017). Por tanto, esta investigación se fundamenta en la hipótesis de que la aplicación de cepas de *Trichoderma* spp. en sustratos formulados (por ejemplo, turba mezclada con tierra de monte) incrementa

significativamente la germinación y el crecimiento inicial de plántulas de cacao Nacional, en comparación con tratamientos sin inoculación.

2. Materiales y Métodos

2.1. Ubicación y condiciones experimentales

La investigación se efectuó en los predios del Campus Experimental “La María” de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), provincia de Los Ríos, Ecuador. Según INIAP (2018), la zona presenta una temperatura promedio anual de 24 °C, precipitaciones de alrededor de 2000 mm/año y humedad relativa superior al 80 %. Para controlar el clima y la humedad de manera más estable, se empleó un invernadero con cubierta plástica, donde la temperatura osciló entre 24 y 27 °C. El riego se realizó de forma manual cada tres días, siguiendo lineamientos similares a los descritos por (Hoover, 2018).

La semilla utilizada fue de cacao Nacional, recolectada de mazorcas procedentes del banco de germoplasma de la Finca “La Represa” de la UTEQ, las cuales mostraban germinabilidad estable en estudios previos (Carranza et al., 2022). Asimismo, las cepas de *Trichoderma* spp. (*T. harzianum*, *T. reesei* y *T. viride*) se obtuvieron del banco de germoplasma de la UTEQ, confirmando su identidad y viabilidad antes del uso experimental.

2.2. Experimento 1: Germinación de semillas en presencia de *Trichoderma* spp.

1. Material biológico y pregerminación

Se emplearon 240 semillas de *T. cacao* L. (var. Nacional) seleccionadas por sus características de productividad y resistencia a enfermedades (Carranza et al., 2022), sometidas a un método pregerminativo consistente en escarificación manual 48 horas previas al establecimiento, seguido de desinfección con hipoclorito de sodio al 1% durante 3 minutos (Kaba et al., 2022). Las semillas se colocaron en bandejas germinadoras por 8 días.

Una vez confirmada la germinación, se trasladaron a fundas rellenas con el sustrato correspondiente, según el diseño descrito más adelante.

2. Preparación de sustratos y siembra

Se esterilizó cada combinación de sustrato (tierra de monte + abono orgánico, tierra de monte + perlita, tierra de monte + turba) en autoclave a 121 °C durante 25 minutos.

Una vez enfriados, se dispusieron en fundas de vivero y se sembraron las plántulas de cacao.

3. Diseño experimental

Se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con tres tratamientos de sustrato, considerando la adición o presencia de *Trichoderma* spp. en su etapa inicial (en semilla o en la bandeja germinadora).

Cada tratamiento incluyó 80 semillas (repetido en 10 unidades experimentales), totalizando 30 unidades y 240 semillas.

4. Tratamientos de sustrato

T1: Tierra de monte + Abono (proporción 2:1)

T2: Tierra de monte + Perlita (2:1)

T3: Tierra de monte + Turba (2:1)

2.3. Experimento 2: Crecimiento en vivero y evaluación de distintos sustratos con aplicación de *Trichoderma* spp.

1. Manejo de cepas de *Trichoderma*

Para facilitar el contacto inicial, se sumergieron las semillas germinadas en una suspensión de esporas (1×10^8 esporas/mL) antes de su colocación en el sustrato asignado.

El riego se realizó con regadera manual cada tres días, procurando mantener la humedad adecuada para favorecer la germinación y la supervivencia inicial (Hoover, 2018).

2. Aplicación de cepas de *Trichoderma* spp.

Se reactivaron las cepas en medio Agar Dextrosa de Papa (PDA) a 28 °C por 48 horas (Reyes-Reyes et al., 2022).

Las cepas desarrolladas se inocularon en sustrato de arroz estéril para incrementar la concentración de esporas (aprox. 1×10^8 esporas/mL).

La aplicación se realizó mediante atomizador (2 mL/planta) en dos momentos: a los 15 días de establecidas (experimento 1) y a los 30 días después de la siembra en el vivero.

3. Diseño experimental

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial 5×3 (cinco tratamientos de *Trichoderma* —cuatro cepas más un control sin *Trichoderma*— y tres sustratos). Cada tratamiento se repitió 5 veces, totalizando 75 unidades experimentales, con 3 observaciones por unidad (225 observaciones totales).

4. Factores considerados

Factor A (cepas de *Trichoderma*):

C1: *T. harzianum* (1)

C2: *T. reesei*

C3: *T. harzianum* (2)

C4: *T. viride*

C5: Control (sin *Trichoderma*)

Factor B (sustrato):

S1: Tierra de monte + Abono orgánico (2:1)

S2: Tierra de monte + Perlita (2:1)

S3: Tierra de monte + Turba (2:1)

Se utilizaron cinco repeticiones por tratamiento con diez plántulas cada una, considerando los estándares metodológicos para ensayos en viveros de cacao, que recomiendan entre tres y cinco repeticiones para asegurar precisión estadística y reducir el error experimental (Pimentel-Gomes & Garcia, 2002). Esta cantidad permitió aplicar análisis de varianza y pruebas de comparación de medias de forma robusta (Pimentel-Gomes & Garcia, 2002).

2.4. Variables evaluadas

Las siguientes variables se midieron en los momentos oportunos según cada fase (germinación o crecimiento), pero se describen en este apartado de manera unificada para evitar duplicidades

1. Porcentaje de germinación (PG)

Para la tasa de germinación, se empleó una fórmula utilizada por Veobides et al. (2018) a los 8 días de la siembra y que consta de los siguientes datos:

$$\% \text{ de germinación} = \frac{\text{Semillas germinadas}}{\text{Número total de semillas}} \times 100$$

2. Porcentaje de sobrevivencia (PS)

Para la tasa de supervivencia fueron registrado a los 15 días de establecido el ensayo, donde se empleó una fórmula utilizada por (Kaba et al., 2022) que consta de los siguientes datos:

$$\% \text{ de supervivencia} = \frac{\text{Número de plantulas } tf}{\text{Número de semillas germinadas}} \times 100$$

3. Altura de plántula (cm)

Medida desde la base hasta el ápice de la parte aérea, con regla graduada (Aguilar Jiménez et al., 2016).

4. Diámetro de tallo (mm)

Se cuantificó con calibrador electrónico, a 2 cm por encima de la raíz (Reyes-Reyes et al., 2022).

5. Índice de robustez

Relación entre la altura y el diámetro del tallo, expresada como una proporción o índice, para evaluar la proporcionalidad y el equilibrio en el crecimiento. Se realizó mediante el empleo de la siguiente fórmula (Sáenz et al. 2018):

$$\text{índice de robustez} = \frac{\text{Diámetro del tallo (cm)}}{\text{Altura de planta (cm)}}$$

6. Peso fresco y seco (g)

- **Peso fresco (PF):** Se obtuvo inmediatamente tras extraer la plántula del sustrato.

- **Peso seco (PS):** Luego de la desecación en horno a ~ 70 °C hasta peso constante, usando balanza de precisión.

7. Longitud radicular (cm)

Se midió desde el cuello de la raíz hasta el ápice, con un calibrador de Vernier (Reyes-Reyes et al., 2022).

8. Volumen radicular (cm³) y área radicular (cm²)

Volumen: Método de desplazamiento de agua en cilindro graduado. Desarrollo basado en (INIAP, 2018).

Área: Se escanearon las raíces y se analizó la imagen con el software ImageJ (Schneider et al., 2012).

9. Número de hojas

Conteo manual de hojas totalmente expandidas en cada plántula (Reyes-Reyes et al., 2022).

2.5. Análisis estadístico

Para todas las variables cuantitativas, inicialmente se aplicaron las pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (Levene). Al detectarse que los datos no seguían una distribución normal y presentaban heterogeneidad de varianzas, se optó por la transformación raíz cuadrada (\sqrt{x}) en todas las mediciones con el fin de estabilizar la varianza y aproximar la distribución a la normalidad. Esta elección obedeció a que los valores observados eran estrictamente positivos y se adaptaban adecuadamente a dicha transformación (Melo et al., 2020). Luego de la transformación, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia $\alpha = 0,05$, utilizando el software estadístico InfoStat versión 2020 (Infostat, 2020). Posteriormente, cuando se hallaron diferencias significativas, se empleó la prueba de Tukey para la comparación de medias.

3. Resultados

3.1. Porcentaje de germinación

En el análisis del porcentaje de germinación, se observó una consistencia total a través de todos los tratamientos. Cada uno de los tratamientos (T1, T2 y T3) alcanzó un porcentaje de germinación del 100 %. Esta uniformidad indica que, independientemente del sustrato utilizado, la germinación de las semillas de cacao Nacional no se vio afectada. Este resultado es fundamental, ya que sugiere que los factores críticos que influyen en la sobrevivencia de las semillas se manifiestan en etapas posteriores a la germinación.

3.2 Porcentaje de sobrevivencia (%)

Los análisis evidenciaron diferencias notables en la sobrevivencia de las plántulas según el sustrato: T1 alcanzó solo el 52,50 %, mientras que T2 y T3 superaron el 90 %. El análisis de varianza confirmó diferencias estadísticamente significativas entre T1 y los demás tratamientos, sin hallarse discrepancias entre T2 y T3 ($p > 0,05$). Estas cifras subrayan la influencia crítica del sustrato en la viabilidad de las plántulas una vez

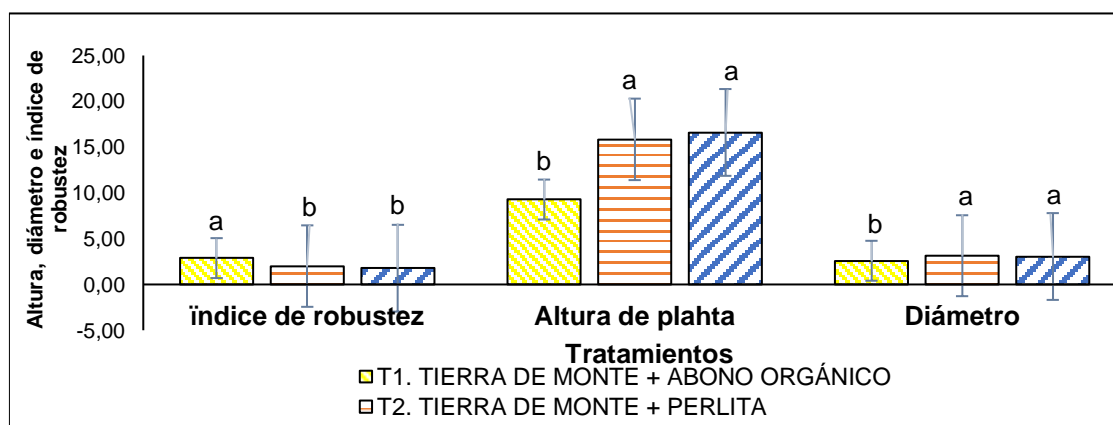
completada la germinación, la cual fue del 100 % en todos los casos. Por consiguiente, se infiere que los factores que influyen en la mortalidad operan mayoritariamente tras el surgimiento de las semillas.

3.3. Índice de robustez, altura y diámetro de las plántulas de cacao

Los análisis evidenciaron un comportamiento diferencial para la altura, el diámetro del tallo y el índice de robustez según el sustrato empleado (Figura 1). En primer lugar, el tratamiento T3 (tierra de monte + turba) alcanzó la mayor altura promedio (16,61 cm), superando a T2 (15,85 cm) y T1 (9,29 cm), con diferencias estadísticamente significativas frente a este último ($p < 0,05$). De forma similar, el diámetro del tallo fue mayor en T3 y T2 en comparación con T1, aunque las diferencias entre T3 y T2 no resultaron significativas. No obstante, T1 presentó el índice de robustez más elevado, lo que sugiere que, a pesar de un menor crecimiento en altura, la relación entre altura y diámetro fue más favorable en este tratamiento que en los demás, como se muestra en la Figura 1.

Figura 1

Influencia de diferentes sustratos en el crecimiento inicial de plántulas de cacao Nacional



Nota: En la figura 1 se observa los valores medios de las variables diámetro del tallo, altura de planta y el índice de robustez para las plántulas de cacao Nacional creciendo en tres sustratos diferentes (T1, T2, T3), con barras de error que representan la desviación estándar. Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos según la prueba de Tukey ($p > 0.05$).

3.3. Determinación del impacto de cepas seleccionadas de *Trichoderma* spp. en el crecimiento de plántulas de cacao en distintos sustratos

La evaluación del efecto simple tanto del factor A (cepas de *Trichoderma* spp.) como del factor B (sustratos) evidenció diferencias significativas en múltiples parámetros de crecimiento de *T. cacao* cv. Nacional (Tabla 5). En primer lugar, *T. viride* alcanzó la mayor altura promedio de plántulas (33,65 cm), lo que resalta su potencial para fortalecer el vigor inicial. Por contraste, *T. harzianum* 1 (25,09 cm) mostró un efecto más moderado, indicando posibles diferencias en adaptabilidad o interacción con las condiciones del vivero.

En lo que respecta al diámetro del tallo, *T. reesei* se destacó con 6,21 mm, lo que sugiere una predisposición a generar una estructura más robusta. Por el contrario, *T.*

harzianum 2 registró el menor diámetro (5,58 mm) entre las cepas evaluadas. Asimismo, el número de hojas no se vio potenciado por la presencia de hongos benéficos, pues el control (14,84 hojas) superó a las plántulas tratadas con *Trichoderma*.

Sin embargo, *T. viride* lideró en peso fresco aéreo (13,89 g) y peso seco aéreo (7,53 g), incluso por encima del control. Este hallazgo pone de manifiesto su eficacia para promover un mayor crecimiento vegetativo global, reflejado en el aumento de la biomasa. Además, el análisis de la composición de los sustratos corroboró que las diferencias observadas en el desarrollo aéreo están estrechamente vinculadas con la interacción específica entre cepas de *Trichoderma* y los materiales empleados, subrayando la importancia de elegir estrategias personalizadas para la propagación sostenible de cacao, en la Tabla 1 se muestra los valores.

Tabla 1

Efecto simple de las variables altura, diámetro número de hojas peso fresco y seco aéreo.

FACTOR A	AP	DT	NH	PFA	PSA
<i>T. harzianum 1</i>	25,09 c	5,9 ab	13,73 ab	11,3 ab	6,81 a
<i>T. reesei</i>	32,67 ab	6,21 a	13,69 ab	11,2 ab	6,29 a
<i>T. harzianum 2</i>	28,68 bc	5,58 b	12,42 b	9,02 b	5,4 a
<i>T. viride</i>	33,65 a	6,09 ab	13,6 ab	13,9 a	7,53 a
Control	32,91 ab	6,08 ab	14,84 a	12,5 a	7,03 a
FACTOR B	AP	DT	NH	PFA	PSA
SP	31,11 ab	6,11 a	13,76 a	11,9 a	5,44 b
ST	32,44 a	5,75 a	13,77 a	10,6 a	6,9 ab
SAO	28,26 b	6,05 a	13,44 a	12,2 a	7,5 a

Nota: AP (Altura Plántulas), DT (Diámetro del tallo), NH (Numero de hojas), PFA (Peso Fresco Aéreo), PSA (Peso Seco Aéreo), SP (Sustrato Perlita), ST (Sustrato Turba), SAO (Sustrato Abono Orgánico).

3.4. Efecto de la interacción en la aplicación de *Trichoderma* spp en plántulas de cacao Nacional

La evaluación conjunta de las cepas de *Trichoderma* spp. y los sustratos empleados evidenció resultados diferenciados en diversos parámetros de crecimiento y desarrollo de *T. cacao* Nacional. A continuación, se describen los hallazgos más relevantes para cada variable evaluada.

3.4.1. Peso fresco aéreo (g)

La aplicación de *T. viride* en turba alcanzó el mayor peso fresco aéreo, con 16,05 g, lo que indica una marcada sinergia entre esta cepa y el sustrato para promover la formación de biomasa. En comparación, los tratamientos control con agua destilada

mostraron valores inferiores, reafirmando la incidencia positiva de la inoculación con *Trichoderma* spp. sobre la producción de masa vegetal.

3.4.2. Peso seco aéreo (g)

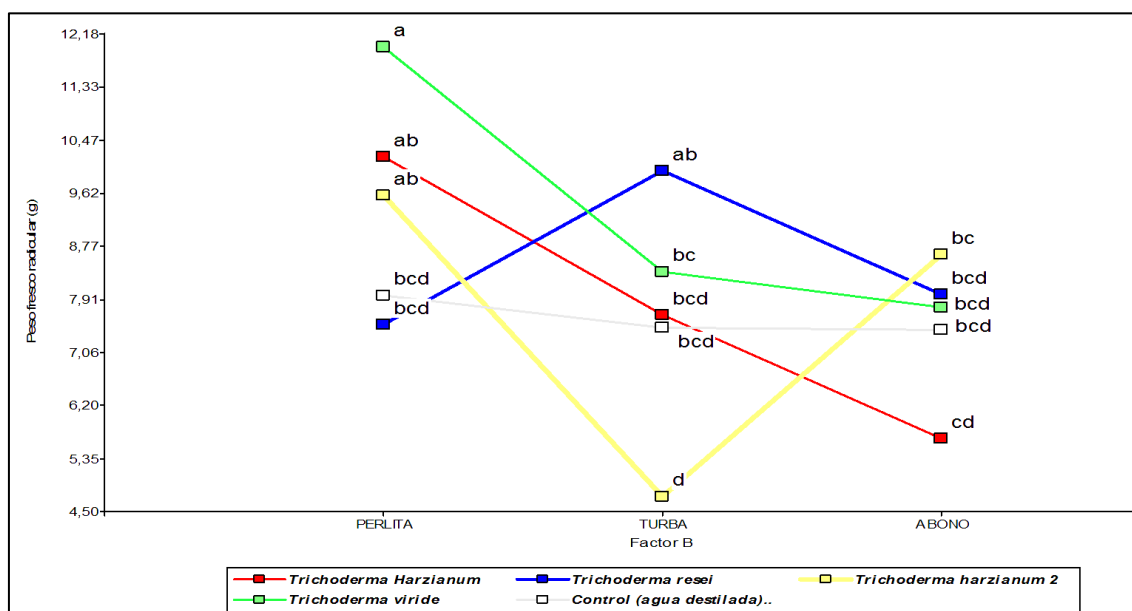
De manera similar, *T. viride* destacó en peso seco aéreo, con 9,19 g en turba y 9,07 g en perlita. Estos datos subrayan la efectividad de esta cepa para incrementar la biomasa aérea, esencial para la productividad a mediano y largo plazo. El control con agua destilada, aunque tuvo un efecto favorable, no superó los resultados obtenidos con *T. viride*.

3.4.3. Peso fresco radicular (g)

En el sistema radicular, *T. viride* en perlita obtuvo el valor más elevado de peso fresco (12,18 g), evidenciando la ventaja de la alta porosidad de este sustrato combinada con la actividad promotora de la cepa. Por el contrario, *T. harzianum 2* en turba presentó el promedio más bajo (4,5 g), lo que indica una respuesta menos favorable en esa combinación específica, como se muestra en la Figura 2.

Figura 2

Peso fresco radicular de las plántulas de cacao por aplicación de Trichoderma spp.



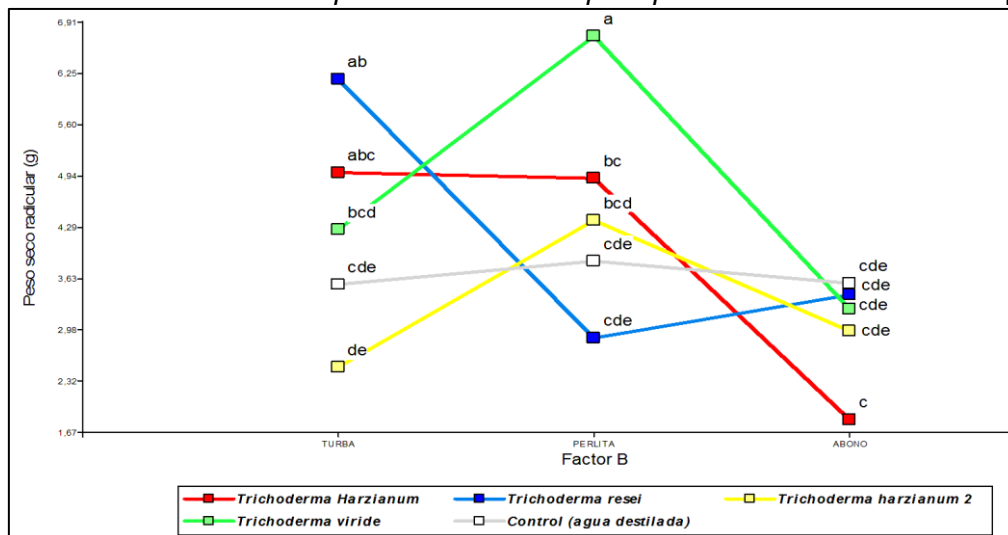
Nota: En la figura 2, las letras indican grupos estadísticos significativos donde tratamientos que comparten letras no difieren significativamente entre sí según la prueba de comparación múltiple ($p > 0.05$).

3.4.3. Peso seco radicular (g)

El parámetro de peso seco radicular alcanzó su máximo con *T. viride* en perlita (6,91 g). Este resultado reafirma la importancia de la interacción hongo-sustrato para un crecimiento robusto de las raíces. Por otro lado, las plantas control regadas con agua mostraron valores menores, evidenciando la contribución positiva de *Trichoderma* spp. en la acumulación de biomasa radicular, como se muestra en la Figura 3.

Figura 3

Peso seco radicular de las plántulas de cacao por aplicación de Trichoderma spp.



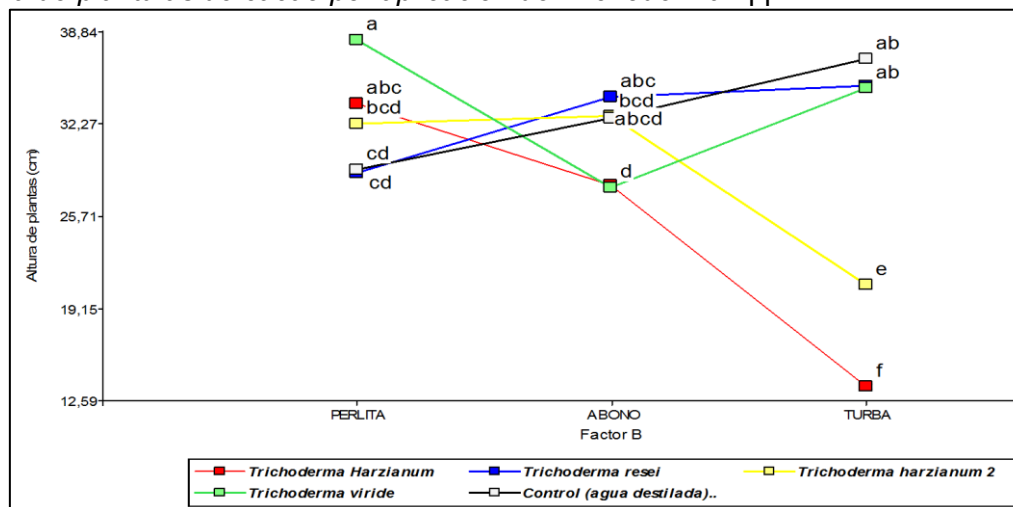
Nota: En la figura 3, las letras indican grupos estadísticos significativos donde tratamientos que comparten letras no difieren significativamente entre sí según la prueba de comparación múltiple ($p > 0.05$).

3.4.4. Altura de la plántula (cm)

La mayor altura promedio (38,31 cm) se registró con *T. viride* en perlita, lo que revela una combinación óptima para maximizar el crecimiento vertical de las plántulas. Cabe señalar que el sustrato turba, incluso en ausencia de *Trichoderma* spp., también mantuvo un desempeño favorable (36,97 cm), confirmando las propiedades beneficiosas de la turba para el crecimiento de *T. cacao*, como se muestra en la Figura 4.

Figura 4

Altura de plántulas de cacao por aplicación de Trichoderma spp.



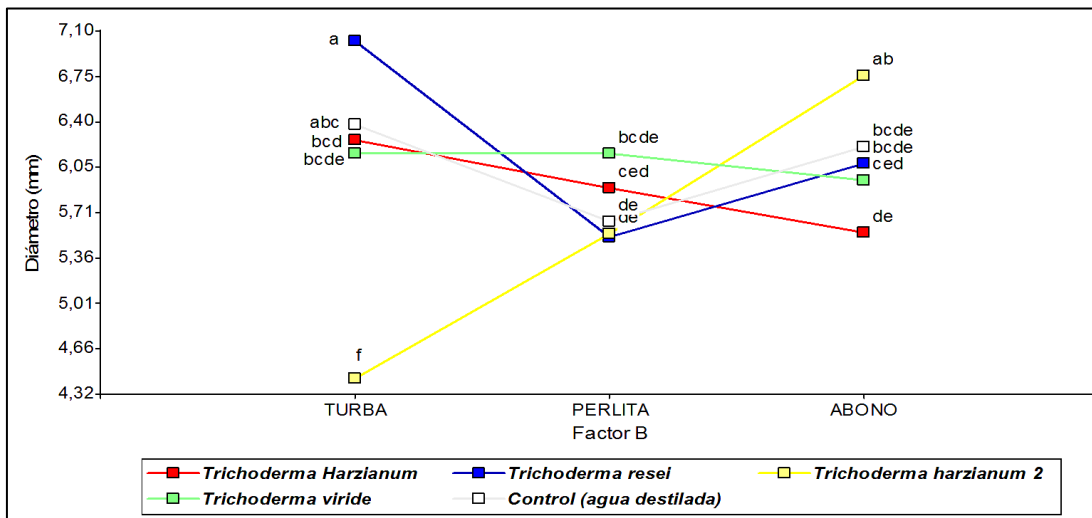
Nota: En la figura 4, las letras indican grupos estadísticos significativos donde tratamientos que comparten letras no difieren significativamente entre sí según la prueba de comparación múltiple ($p > 0.05$).

3.4.5. Diámetro del tallo (mm)

El diámetro del tallo más elevado (7,02 mm) se obtuvo con *T. reesei* en turba. Este hallazgo indica que ciertas cepas de *Trichoderma* spp. pueden orientar el crecimiento hacia una mayor robustez estructural. Asimismo, *T. harzianum* cepa 2 en abono alcanzó 6,76 mm, revelando una respuesta igualmente prometedora en condiciones específicas de fertilidad orgánica, como se muestra en la Figura 5.

Figura 5

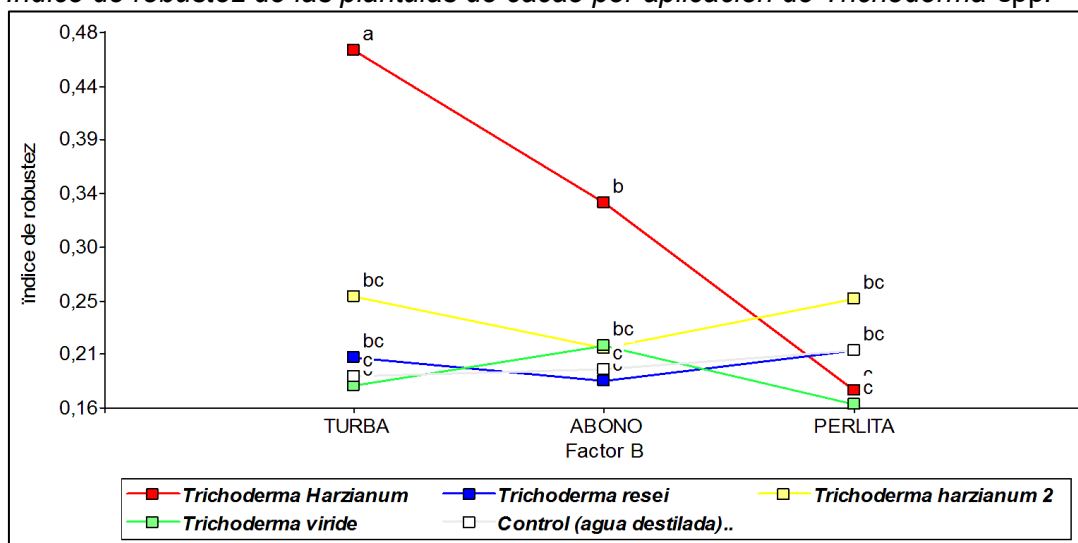
Diámetro del tallo de las plántulas de cacao por aplicación de *Trichoderma* spp.



Nota: En la figura 5, las letras indican grupos estadísticos significativos donde tratamientos que comparten letras no difieren significativamente entre sí según la prueba de comparación múltiple ($p > 0.05$).

3.4.6. Índice de robustez

En cuanto al índice de robustez, calculado como el cociente entre altura y diámetro del tallo, la interacción de *T. harzianum* 1 con turba se destacó con un valor de 0,47. Este dato sugiere que la cepa y el sustrato favorecen conjuntamente una arquitectura que equilibra altura y grosor del tallo, característica esencial para la resistencia mecánica y la adaptación al entorno, como se muestra en la Figura 6.

Figura 6Índice de robustez de las plántulas de cacao por aplicación de *Trichoderma* spp.

Nota: En la figura 6, las letras indican grupos estadísticos significativos donde tratamientos que comparten letras no difieren significativamente entre sí según la prueba de comparación múltiple ($p > 0.05$).

3.4.7. Número de hojas

Finalmente, la mayor cantidad de hojas (15,13) se obtuvo con la combinación de *T. viride* y perlita, resaltando una vez más el potencial de esta cepa y la aireación aportada por la perlita. Asimismo, *T. reesei* en abono (15,00) y el control regado con agua en abono (14,93) también exhibieron resultados destacados, evidenciando que el aporte nutritivo del sustrato orgánico puede ser determinante para la proliferación foliar.

En síntesis, las variaciones registradas confirman que la respuesta de *T. cacao* a la inoculación con *Trichoderma* spp. depende tanto de la cepa seleccionada como del sustrato disponible, lo que ofrece oportunidades de optimizar prácticas de propagación y manejo agronómico para mejorar la productividad y resiliencia del cultivo.

3.5. Evaluación de la influencia de diferentes cepas de *Trichoderma* spp. y sustratos en el volumen y longitud radicular de las plántulas de cacao Nacional

En esta fase del estudio, se analizó la influencia de diversas cepas de *Trichoderma* spp. (Factor A) y de distintos sustratos (Factor B) sobre el volumen y la longitud radicular de las plántulas de cacao Nacional. El objetivo fue determinar qué combinaciones optimizan el desarrollo subterráneo de la planta, reflejado en una mayor exploración del perfil del suelo y, por consiguiente, en el fortalecimiento de la adquisición de nutrientes y agua.

Tal como se ilustra en la Tabla 2, la cepa *T. harzianum* 1 alcanzó el volumen radicular más elevado (8,58 mL), mostrando diferencias estadísticas respecto a *T. harzianum* 2 (6,64 mL) y tendiendo a superar los valores de las demás cepas y del control. No obstante, para la longitud radicular, los resultados no evidenciaron diferencias marcadamente significativas entre las cepas evaluadas, lo que sugiere que, aunque *T. harzianum* 1 promueve una mayor masa radicular, la extensión de las raíces no parece variar de forma notable al comparar todas las cepas con el control.

Por otro lado, al considerar los sustratos (tierra de monte + perlita, tierra de monte + turba y tierra de monte + abono orgánico), se aprecia que las medias no difieren estadísticamente ni en volumen ni en longitud. Este hallazgo podría indicar que, bajo las condiciones del ensayo, la composición del sustrato ejerce un efecto menos determinante que el tipo de cepa de *Trichoderma* en cuanto a la capacidad de las raíces para expandirse y acumular biomasa. En conjunto, los resultados señalan que la elección de la cepa de *Trichoderma* resulta crítica para fortalecer el sistema radicular, mientras que los tres sustratos considerados ofrecen un desempeño similar, al menos en relación con el volumen y la longitud de las raíces.

Tabla 2

Efecto simple de las variables volumen y longitud radicular

FACTOR A	Volumen radicular	Longitud radicular
<i>T. harzianum 1</i>	8,58 a	24,84 a
<i>T. reesei</i>	8,07 ab	23,38 a
<i>T. harzianum 2</i>	6,64 b	21,26 a
<i>T. viride</i>	6,96 ab	24,72 a
Control	8,31 ab	24,01 a
FACTOR B	Volumen radicular	Longitud radicular
TM + perlita	7,87 a	7,87 a
TM + turba	7,99 a	7,99 a
TM + abono orgánico	7,28 a	7,28 a

3.5.1. Volumen radicular (cm³)

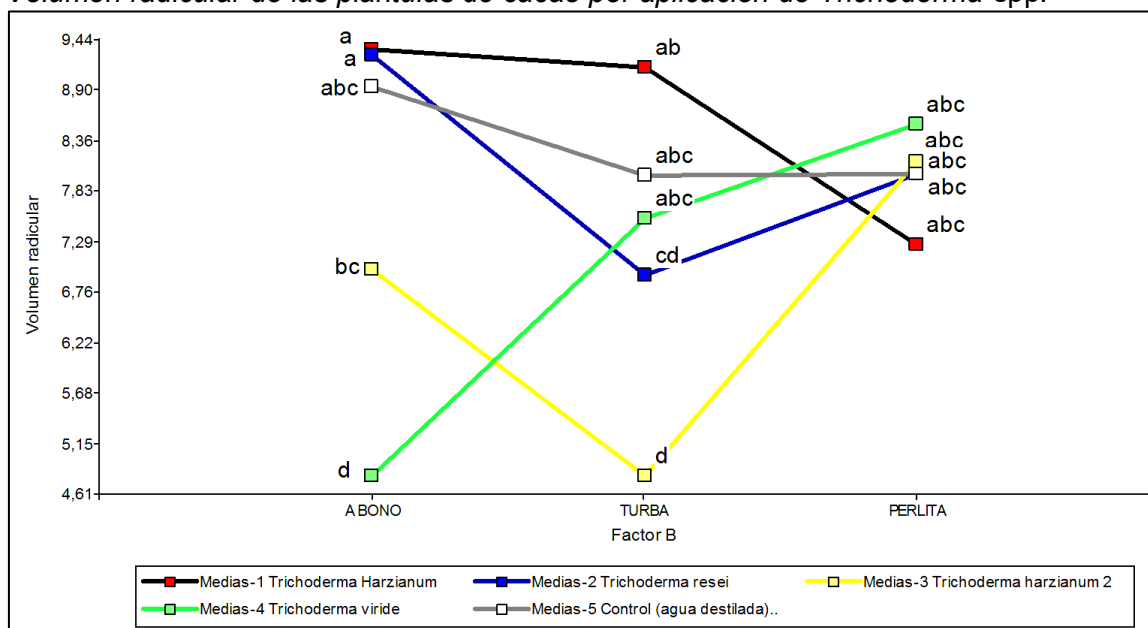
Las cepas *Trichoderma harzianum 1* y *Trichoderma reesei*, cultivadas en abono, presentaron los mayores volúmenes radiculares, con 9,33 cm³ y 9,27 cm³ respectivamente. Además, *Trichoderma harzianum* cultivado en turba mostró un buen desempeño, alcanzando un volumen radicular de 9,13 cm³.

En lo que respecta a la perlita como sustrato, tanto *Trichoderma viride* como *Trichoderma harzianum* cepa 2 alcanzaron volúmenes radiculares significativos, con 8,53 cm³ y 8,13 cm³ respectivamente. En contraste el control en perlita obtuvo un volumen radicular de 8,00 cm³, respaldando la idea de que la perlita facilita el crecimiento radicular independientemente de la presencia de *Trichoderma*.

Sin embargo, *Trichoderma harzianum* cepa 2 y *Trichoderma viride* experimentaron los menores volúmenes radiculares en turba, con solo 4,80 cm³, mientras que, control con agua destilada en abono también destacó con un volumen radicular de 8,94 cm³, lo que indica que el abono por sí solo contribuye al crecimiento de las raíces, como se muestra en la Figura 7.

Figura 1

Volumen radicular de las plántulas de cacao por aplicación de *Trichoderma* spp.



Nota: En la figura 7, Las letras indican grupos estadísticos significativos donde tratamientos que comparten letras no difieren significativamente entre sí según la prueba de comparación múltiple ($p > 0.05$).

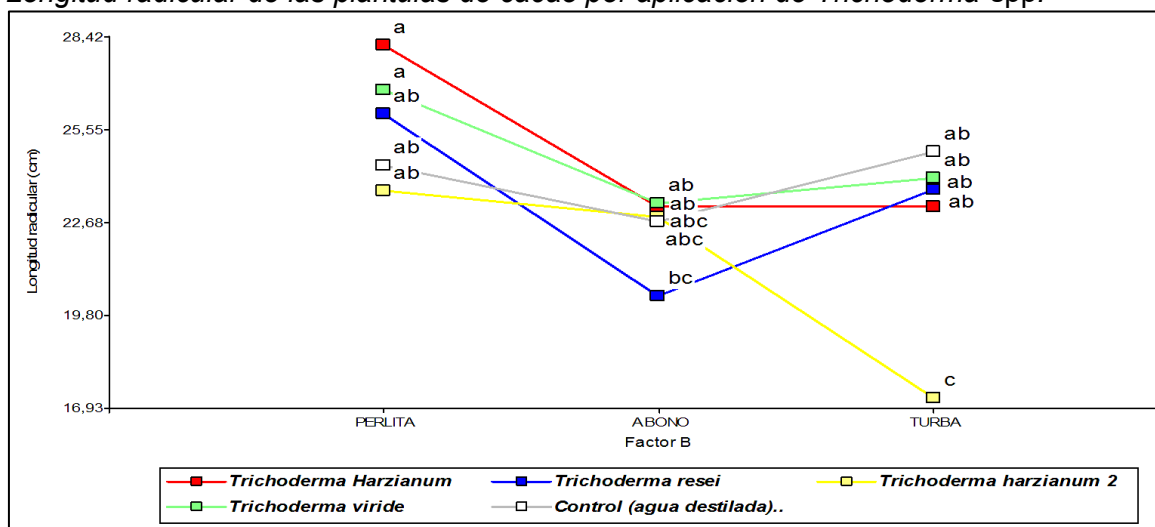
3.5.2. Longitud radicular

En relación con la longitud radicular, *Trichoderma harzianum 1* en perlita obtuvo una longitud promedio de 28,17 cm, seguido de *Trichoderma viride* en el mismo sustrato con 26,80 cm. En contraste, *Trichoderma resei* en perlita también mostró una longitud radicular considerable de 26,03 cm lo que indica una eficiencia comparable con las otras cepas en este sustrato.

Mientras que, el control con agua destilada reflejó longitudes radiculares de 24,88 cm en turba y 24,43 cm en perlita, lo que demuestra que los sustratos, en ausencia de *Trichoderma*, desempeñan un papel sustancial en el crecimiento radicular. No obstante, *Trichoderma harzianum* cepa 2 obtuvo la menor longitud radicular en turba, con 17,25 cm, señalando una interacción potencialmente desfavorable entre esta cepa y el sustrato de turba, como se muestra en la Figura 8.

Figura 8

Longitud radicular de las plántulas de cacao por aplicación de *Trichoderma* spp.



Nota: En la figura 8, las letras indican grupos estadísticos significativos donde tratamientos que comparten letras no difieren significativamente entre sí según la prueba de comparación múltiple ($p > 0.05$).

4. Discusión

4.1. Germinación y supervivencia de plántulas

La germinación de las semillas de *Theobroma cacao* fue alta en todos los tratamientos (>95 %), lo que sugiere que la inoculación con *Trichoderma* spp. no afectó negativamente este proceso, en coincidencia con lo reportado por de Sousa et al. (2021), quienes documentaron una germinación normal tras la aplicación de cepas del hongo. Sin embargo, la supervivencia de las plántulas sí se vio influida por el tipo de sustrato. Las mezclas con turba promovieron tasas superiores al 90 %, atribuibles a su elevada retención de humedad y buena aireación (de Oliveira et al., 2024). Estas condiciones físicas crean un microambiente favorable para la colonización radicular por *Trichoderma* y reducen el estrés hídrico postgerminativo (Harni et al., 2019).

Además, la interacción simbiótica de *Trichoderma* spp. con las raíces podría haber inducido mecanismos de defensa sistémica, favoreciendo la sanidad de las plántulas (Avilés et al., 2023; Puspita et al., 2020). Este efecto protector ha sido señalado como clave para reducir la incidencia de enfermedades causadas por patógenos como *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora roreri*, que afectan la etapa de vivero y el establecimiento en campo (Chavez-Jalk et al., 2022; Morillo et al., 2023).

4.2. Crecimiento aéreo: altura, biomasa y hojas

Las plántulas tratadas con *T. viride* alcanzaron mayores alturas, número de hojas y biomasa aérea en comparación con el control, confirmando su capacidad bioestimulante. Estos resultados pueden explicarse por la producción de fitohormonas como el ácido indolacético (AIA), giberelinas y citocininas por parte de *Trichoderma* spp., que estimulan el crecimiento vegetativo a través de la elongación celular y la división de tejidos meristemáticos (Tyśkiewicz et al., 2022); Además, la mejora en la disponibilidad de nutrientes promovida por la actividad microbiana incrementa la eficiencia fotosintética, favoreciendo el desarrollo foliar (Morillo et al., 2023).

Desde una perspectiva agroecológica, este tipo de respuesta promueve un inicio de ciclo vigoroso y homogéneo, lo que contribuye a una mayor probabilidad de éxito tras el trasplante en campo ((Cahyaningrum et al., 2024).

4.3. Desarrollo radicular: volumen, longitud y biomasa

El efecto de las cepas de *Trichoderma spp.* fue especialmente notable en el sistema radicular. *T. harzianum* presentó mayor volumen radicular en sustratos con abono orgánico, mientras que *T. viride* sobresalió en perlita, lo que confirma la interacción específica entre cepa y medio de cultivo. Estos resultados están en línea con (Cedeño Andrade & Sánchez Vásquez, 2022) y con (Erfandari et al., 2024), quienes señalan que la eficacia de *Trichoderma* está influida por las características físicas y químicas del sustrato.

Fisiológicamente, esta estimulación puede atribuirse a la producción de AIA, la solubilización de fosfatos, la liberación de sideróforos y la secreción de enzimas como celulasas y quitinasas que mineralizan la materia orgánica (Tandon et al., 2022). Estos procesos incrementan la superficie de absorción de las raíces y la captación de nutrientes esenciales, impactando directamente en la biomasa y el vigor de las plántulas.

4.4. Influencia del tipo de sustrato

El tipo de sustrato jugó un rol determinante en la expresión de los efectos del hongo. La turba favoreció la supervivencia y el crecimiento aéreo; la perlita promovió el desarrollo radicular más vigoroso, probablemente por su elevada aireación; y el abono orgánico incrementó el volumen radicular, al aportar nutrientes y mejorar la actividad microbiana (de Oliveira et al., 2024; Hoover, 2018; Trujillo-Elisea et al., 2022). Esta variabilidad sugiere que el éxito de la inoculación depende tanto de la cepa fúngica como del medio en que se establece, lo que concuerda con hallazgos recientes sobre la necesidad de personalizar las combinaciones cepa-sustrato según los objetivos de producción (Cahyaningrum et al., 2024; Erfandari et al., 2024).

4.5. Limitaciones del estudio

Entre las principales limitaciones se encuentra la restricción del ensayo a condiciones de vivero controladas, lo que impide extrapolar los resultados directamente a campo. Además, no se evaluaron parámetros fisiológicos como el contenido de clorofila ni se realizaron análisis moleculares para confirmar la colonización radicular o la expresión de genes de defensa. Estas limitaciones deben abordarse en estudios futuros que consideren la persistencia de los efectos bajo estrés abiótico o biótico real.

4.6. Implicaciones en sostenibilidad y agroecología

El uso de *Trichoderma spp.* se alinea con los principios de agricultura regenerativa y bioeconomía circular, al reducir la dependencia de insumos sintéticos sin comprometer la productividad (Altieri & Nicholls, 2017; Kusnezowa & Vang, 2021). Además, su inclusión en protocolos de vivero permite cumplir con los requisitos de sostenibilidad de certificaciones internacionales como Comercio Justo o Rainforest Alliance ((Osinowo & Oseni, 2024).

En el contexto del cacao Nacional Fino de Aroma, esta estrategia contribuye a consolidar un sistema productivo diferenciado por su calidad, trazabilidad y bajo impacto ambiental (Guevara-viej et al., 2024; Morillo et al., 2023).

4.7. Proyecciones y futuras líneas de investigación

Futuras investigaciones deberían enfocarse en ensayos de campo para validar la efectividad de *Trichoderma* en condiciones edafoclimáticas variables y evaluar su impacto en el rendimiento a largo plazo. Además, sería valioso realizar análisis de costo-beneficio para determinar la viabilidad económica de su implementación a escala comercial. Estudios moleculares que investiguen las interacciones planta-hongo a nivel génico y proteico también aportarían información valiosa sobre los mecanismos de acción de *Trichoderma* y su potencial para mejorar la tolerancia de las plantas a estreses bióticos y abióticos.

5. Conclusiones

Los hallazgos de la presente investigación demuestran que la germinación de las semillas de cacao Nacional no varía significativamente entre los sustratos evaluados. Sin embargo, la supervivencia se incrementa de forma notable en la mezcla de tierra de monte con turba, lo que sugiere que los factores que influyen en la viabilidad de las plántulas se manifiestan en etapas posteriores a la germinación. Asimismo, la combinación de *Trichoderma viride* con perlita promovió un desarrollo radicular destacado, evidenciado en un peso fresco y seco radicular superior, así como en un área radicular más extensa.

Por otra parte, el mayor volumen radicular se alcanzó con *T. harzianum* cepa 1 en la mezcla de tierra de monte y abono, lo que pone de manifiesto la importancia del contenido orgánico para estimular la actividad de ciertas cepas. En esencia, la elección tanto del sustrato como de la cepa de *Trichoderma* spp. depende de las variables que se pretenda optimizar (por ejemplo, sobrevivencia, biomasa radicular o área foliar). Por consiguiente, su uso integrado constituye una estrategia prometedora para incrementar la eficiencia y sostenibilidad en la producción de *Theobroma cacao*.

Contribución de los autores: Conceptualización, MSC-P y VCRC; metodología, AVCM; software, JATR; validación, MSC-P; análisis formal, CVMC; investigación, MSC-P y VCRC; recursos, MSC-P y VCRC; conservación de datos, JATR; redacción del borrador original, MSC-P y VCRC; redacción, revisión y edición, MSC-P y VCRC; visualización, AVCM; supervisión, CVMC; administración del proyecto, MSC-P; obtención de financiación, MSC-P. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Financiamiento: Esta investigación no ha recibido financiación externa.

Agradecimientos: A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), Facultad de Posgrados y a la Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT), programa de becas.

Declaración de disponibilidad de datos: Los datos están disponibles previa solicitud a los autores de correspondencia: mcarranza@uteq.edu.ec

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

Referencias bibliográficas

- Aguilar Jiménez, C. E., Alvarado Cruz, I., Martínez Aguilar, F. B., Galdámez Galdámez, J., Gutiérrez Martínez, A., & Morales Cabrera, J. A. (2016). Evaluación de tres abonos orgánicos en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.) en etapa de vivero. *Siembra*, 3, 11–20.
- Altieri, M. A., & Nicholls, C. I. (2017). The adaptation and mitigation potential of traditional agriculture in a changing climate. *Climatic Change*, 140, 33–45.
- Avadí, A. (2023). Environmental assessment of the Ecuadorian cocoa value chain with statistics-based LCA. *International Journal of Life Cycle Assessment*, 28(11), 1495–1515. <https://doi.org/10.1007/S11367-023-02142-4/FIGURES/11>
- Avilés, D., Espinoza, F., Villao, L., Alvarez, J., Sosa, D., Santos-Ordóñez, E., & Galarza, L. (2023). Application of microencapsulated *Trichoderma* spp. against *Moniliophthora roreri* during the vegetative development of cocoa. *Scientia Agropecuaria*, 14(4), 539–547.
- Cahyaningrum, D. G., Siwi, K. H. M., Sugiyarto, S., Harlianingtyas, I., & Dinata, G. F. (2024). Growth response of cocoa seedlings (*Theobroma cacao* L.) ICCRI 06 clone with application of manure and *Trichoderma* sp. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*, 17(2), 55–63. <https://doi.org/10.21107/AGROVIGOR.V17I2.26989>
- Carranza, M., Carriel, J. M., Rosero, N. J. C., Jiménez-Romero, E., & Flórez, J. E. M. (2022). RESCUE OF COCOA NATIONAL VARIETY: GENETIC POTENTIAL OF SELECTION. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 13(3), 615–622.
- Cedeño Andrade, D. L., & Sánchez Vásquez, K. D. (2022). *Efecto de Trichoderma spp y biochar en plántulas de cacao (Theobroma cacao)*. Calceta: ESPAM MFL.
- Chavez-Jalk, A., Leiva, S., Bobadilla, L. G., Vigo, C. N., Arce, M., & Oliva-Cruz, M. (2022). Effect of Endophytic *Trichoderma* sp. Strains on the Agronomic Characteristics of Ecotypes of *Theobroma cacao* L. under Nursery Conditions in Peru. *International Journal of Agronomy*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/5297706>
- de Oliveira, F. de A., Dos Santos, S. T., Melo, M. R. d. S., de Oliveira, M. K. T., Travassos, K. D., de Sousa, L. V., & Pinto, F. F. B. (2024). Gas exchange and growth of bell pepper grown in different substrates under salinity stress. *Horticultura Brasileira*, 42, 1–8. <https://doi.org/10.1590/s0102-0536-2024-e288866>
- de Sousa, W. N., Brito, N. F., Felseburgh, C. A., Vieira, T. A., & Lustosa, D. C. (2021a). Evaluation of *Trichoderma* spp. Isolates in Cocoa Seed Treatment and Seedling Production. *Plants*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/PLANTS10091964>
- de Sousa, W. N., Brito, N. F., Felseburgh, C. A., Vieira, T. A., & Lustosa, D. C. (2021b). Evaluation of *Trichoderma* spp. Isolates in Cocoa Seed Treatment and Seedling Production. *Plants*, 10(9), 1964. <https://doi.org/10.3390/PLANTS10091964>
- Dos Santos, A. S., Braz, M. I. G., Dos Santos de Barros, C., de Cássia Quitete Portela, R., & de Mattos, E. A. (2023). Sensitivity of seed germination to water stress in high-altitude populations of a threatened palm species. *Plant Biology*, 25(4), 593–602.
- Erfandari, O., Azis, A., Nurmayanti, S., Sudirman, A., & Sahara, E. (2024). Growth

- Response of Cocoa Seedlings (*Theobroma cacao* L.) in several Combinations of Planting Media and *Trichoderma* sp. as Biological Fertilizer. *Jurnal Biologi Tropis*, 24(3), 515–519. <https://doi.org/10.29303/JBT.V24I3.7254>
- Gómez, M. C., & Rocha, M. I. M. (2018). Turismo gastronómico del cacao y el chocolate, tendencias latinoamericanas. *Gran Tour*, 18, 58–76.
- Guevara-viej, F., Valenzuela-cobos, J. D., Noriega-verdugo, D., & Quilligana, R. B. (2024). Applied sciences Application of Biplot Techniques to Evaluate the Potential of *Trichoderma* spp. as a Biological Control of Moniliasis in Ecuadorian Cacao. *Applied Science*, 14, 5481. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/app14135481>
- Harni, R., Amaria, W., Mahsunah, A. H., & Lakani, I. (2019). Effect of *Trichoderma* spp. Secondary Metabolites and Botanical Fungicide to Control VSD Disease in Cacao. *Jurnal Tanaman Industri Dan Penyegar*, 6(3), 109–118. <https://doi.org/10.21082/JTIDP.V6N3.2019.P109-118>
- Hoover, B. K. (2018). Herbaceous perennial seed germination and seedling growth in biochar-amended propagation substrates. *HortScience*, 53(2), 236–241. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI12624-17>
- Infostat. (2020). *Infostat - Software estadístico*. Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <https://www.infostat.com.ar/>
- INIAP. (2018). *La cadena de valor del cacao en America Latina y El Caribe*.
- Kaba, J. S., Asare, A. Y., Andoh, H., Kwashie, G. K. S., & Abunyewa, A. A. (2022). Toward Sustainable Cocoa (*Theobroma Cacao* L) Production: The role of potassium fertilizer in cocoa seedlings drought recovery and survival. *International Journal of Fruit Science*, 22(1), 618–627.
- Kusnezowa, D., & Vang, J. (2021). Creating legitimacy in the ISO/CEN standard for sustainable and traceable cocoa: an exploratory case study integrating normative and empirical legitimacy. *Sustainability*, 13(22), 12907.
- Leiva, S., Oliva, M., Hernández, E., Chuquibala, B., Rubio, K., García, F., & de la Cruz, M. T. (2020). Assessment of the potential of *trichoderma* spp. strains native to bagua (Amazonas, Peru) in the biocontrol of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*). *Agronomy*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/agronomy10091376>
- Marini, M., Caro, D., & Thomsen, M. (2020). The new fertilizer regulation: a starting point for cadmium control in European arable soils? *Science of the Total Environment*, 745, 140876.
- Melo, R. C. de, Trevisani, N., Santos, M. dos, Guidolin, A. F., & Coimbra, J. L. M. (2020). Statistical model assumptions achieved by linear models: classics and generalized mixed. *Revista Ciência Agronômica*, 51, e20196716.
- Morillo, E., Buitron, J., & Quiroz-Vera, J. (2023). Genetic expression of Linalool in highly homozygotic national cocoa genotypes from the leading traditional cocoa-growing areas in Ecuador. *Bionatura*, 8(2). <https://doi.org/10.21931/RB/2023.08.02.20>
- Osinowo, O. H., & Oseni, I. O. (2024). The impact of agricultural value chains on sustainable industrial development in Sub-Saharan Africa. *Journal of Agribusiness and Rural Development*, 2 [72].
- Pérez-Martínez, S., Noceda, C., Zambrano, O., Parra, D., Cordova, L., & Sosa, D.

- (2017). Descripción de plagas en viveros de cacao en el cantón Milagro a partir de diferentes fuentes de información.// Description of pests in cacao vivarium in Milagro canton from different sources of information. *Ciencia Unemi*, 10(24), 19–38. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol10iss24.2017pp19-38p>
- Pimentel-Gomes, F., & Garcia, C. H. (2002). *Estatística aplicada a experimentos agronômicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos*.
- Puspita, F., Ali, M., Supriyadi Fakultas Pertanian, dan, Riau Jalan Soebrantas Km, U. H., & Baru, S. (2020). Kompatibilitas dan Daya Hambat Konsorsium Trichoderma spp. Endofit terhadap Penyakit Busuk Buah Kakao Phytophthora palmivora. *Agrikultura*, 31(2), 126. <https://doi.org/10.24198/AGRIKULTURA.V31I2.26063>
- Quiñones-Cabezas, J. A., Quiñones-Quiñones, J. L., & Ballesteros-Possú, W. (2024). Effect of fertilization on cocoa plants, Theobroma cacao L., in the southern Colombian region. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 41(2), e2231. <https://doi.org/10.22267/rcia.20244102.231>
- Quiroz-Vera, J., Morillo, E., Cordoba, C., & Buitron, J. (2023). Molecular characterization of national cocoa collection from the leading traditional growing areas in Ecuador. *Bionatura*, 8(1). <https://doi.org/10.21931/RB/2023.08.01.31>
- Reyes-Reyes, J., Rodríguez-Morales, A., Pimienta de la Torre, D. de J., Fuentes Pérez, M. A., Aguirre Medina, J. F., & Merino García, A. (2022). Diagnóstico de la calidad de planta en el vivero forestal El Campanario, Tuxtla Chico, Chiapas. *Ecucba*, 9(17), 29–37.
- Sáenz, T., Muñoz, J., Pérez, C., Rueda, A., & Hernández, J. (2018). Calidad de planta de tres especies de pino en el vivero “Morelia”, estado de Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 5(26), 98–111. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v5i26.293>
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* 2012 9:7, 9(7), 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Tandon, A., Anshu, A., Kumar, S., Yadav, U., Mishra, S. K., Srivastava, S., Chauhan, P. S., Srivastava, P. K., Bahadur, L., & Shirke, P. A. (2022). Trichoderma-primed rice straw alters structural and functional properties of sodic soil. *Land Degradation & Development*, 33(5), 698–709.
- Thomas, E., Loor, R., Argout, X., Fouet, O., & Zambrano, F. (2024). *Diversidad genética de cacao en el Ecuador* (R. L. Evert Thomas, Fanny Zambrano Flores (ed.); Bioversity, Issue July).
- Trujillo-Elisea, F. I., Labrín-Sotomayor, N. Y., Becerra-Lucio, P. A., Becerra-Lucio, A. A., Martínez-Heredia, J. E., Chávez-Bárceñas, A. T., & Peña-Ramírez, Y. J. (2022). Plant growth and microbiota structural effects of Rhizobacteria inoculation on mahogany (Swietenia macrophylla King [Meliaceae]) under nursery conditions. *Forests*, 13(10), 1742.
- Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., & Jaroszek-Ścisiel, J. (2022). Trichoderma : estado actual de su aplicación en la agricultura para el biocontrol de hongos fitopatógenos y la estimulación del crecimiento vegetal. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares*, 23(4), 2329. <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/4/2329/htm%0Ahttps://www.mdpi.com/1422-0067/23/4/2329>
- Valdez, F. (2021). El cacao fino de aroma, el cacao ancestral emblemático del

Ecuador. *Patrimonios Alimentarios En América Latina: Recursos Locales, Actores y Globalización*, 48, 135–159.