

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTAD DE POSGRADO

INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

TEMA:

Evaluación del potencial patogénico y endofítico de hongos asociados a síntomas en plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.) de la comunidad Nueva Providencia, Parque Nacional Yasuní

Autores:

Pablo Danilo Carrera Oscullo
Jhosselyn Andrea Peñafiel Romero

Director:

Simón Pérez Martínez

Milagro, 2024

Derechos de Autor

Sr. Dr.

Fabricio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **Pablo Danilo Carrera Oscullo**, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Biotecnología**, como aporte a la Línea de Investigación **Gestión y manejo sustentable de los recursos naturales** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, **10 de noviembre del 2024**

Pablo Danilo Carrera Oscullo

C.I.: 1718555236

Derechos de Autor

Sr. Dr.

Fabricio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **Jhosselyn Andrea Peñafiel Romero**, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Biotecnología**, como aporte a la Línea de Investigación **Gestión y manejo sustentable de los recursos naturales** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, **10 de noviembre del 2024**

Jhosselyn Andrea Peñafiel Romero

C.I.: 2150142822

Aprobación del Tutor del Trabajo de Titulación

Yo, **Simón Pérez Martínez**, en mi calidad de tutor del trabajo de titulación, elaborado por **Pablo Danilo Carrera Oscullo** y **Jhosselyn Andrea Peñafiel Romero**, cuyo tema es **Evaluación del potencial patogénico y endofítico de hongos asociados a síntomas en plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.) de la comunidad Nueva Providencia, Parque Nacional Yasuní**, que aporta a la Línea de Investigación **Gestión y manejo sustentable de los recursos naturales**, previo a la obtención del Grado **Magíster en Biotecnología**. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 10 de noviembre del 2024

Simón Pérez Martínez

C.I.: 0960298784

Aprobación del tribunal calificador



VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO FACULTAD DE POSGRADO CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, presentado por **BQF. CARRERA OSCULLO PABLO DANILO**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "EVALUACIÓN DEL POTENCIAL PATOGENICO Y ENDOFITICO DE HONGOS ASOCIADOS A SÍNTOMAS EN PLANTAS DE CACAO (THEOBROMA CACAO L.) DE LA COMUNIDAD NUEVA PROVIDENCIA, PARQUE NACIONAL YASUNÍ", las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	59.87
SUSTENTACIÓN	39.22
PROMEDIO	99.08
EQUIVALENTE	Excelente



Mgtr. FIALLOS CARDENAS MANUEL ALEJANDRO
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



Msc GARCÉS MONCAYO MARÍA FERNANDA
VOCAL



Mgs GAVIN MOYANO CESAR STALIN
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

Aprobación del tribunal calificador



VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO FACULTAD DE POSGRADO CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, presentado por **BIOL. PEÑAFIEL ROMERO JHOSELYN ANDREA**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "EVALUACIÓN DEL POTENCIAL PATOGENICO Y ENDOFITICO DE HONGOS ASOCIADOS A SINTOMAS EN PLANTAS DE CACAO (THEOBROMA CACAO L.) DE LA COMUNIDAD NUEVA PROVIDENCIA, PARQUE NACIONAL YASUNÍ", las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	59.87
SUSTENTACIÓN	38.85
PROMEDIO	98.72
EQUIVALENTE	Excelente



FIRMA AUTOGRAFADA DEL:
MANUEL ALEJANDRO
FIALLOS CARDENAS

Mgtr. FIALLOS CARDENAS MANUEL ALEJANDRO
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



FIRMA AUTOGRAFADA DEL:
MARÍA FERNANDA
GARCÉS MONCAYO

Msc GARCÉS MONCAYO MARÍA FERNANDA
VOCAL



FIRMA AUTOGRAFADA DEL:
CESAR STALIN GAVIN
MOYANO

Mgs GAVIN MOYANO CESAR STALIN
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

Dedicatoria

A nuestros padres, por enseñarnos el valor del esfuerzo, la perseverancia y el amor por el conocimiento. A nuestros hermanos y hermanas, por su apoyo constante y por recordarnos siempre la importancia de perseguir nuestros sueños. A nuestra familia en general, por ser el pilar de nuestras vidas y brindarnos el respaldo incondicional en cada paso de este camino. Este logro también es de ustedes.

Jhosselyn y Pablo

Agradecimientos

A Dios, por darnos salud y sabiduría para enfrentar cada paso en este camino.

A nuestras familias, que han sido nuestra mayor inspiración y motivación para alcanzar cada meta.

A la Universidad Estatal de Milagro (UNEMI), por ofrecernos un espacio enriquecedor que nos ha permitido crecer a nivel profesional y personal.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), por apoyar el proyecto de investigación "*Monitoreo de enfermedades y parásitos emergentes y reemergentes en relación con los cambios medioambientales de ecosistemas en las áreas protegidas de la Cuenca del Río Napo-Orellana*", liderado por el Dr. Denis Barbarú.

A los ingenieros Sandra Suárez y Hamilton Intriago, docentes y responsables del Laboratorio de Microbiología de la ESPOCH-Sede Orellana, por todo su apoyo y asesoramiento e igualmente a las señoritas ayudantes del laboratorio Joselyn, Sileny y Lucero, su apoyo fue esencial en este proceso.

A los biólogos Roly Ramírez, Paola Pantoja, Moisés Quizpilema y Jairo Vivas por el asesoramiento y apoyo en la visita a la comunidad Nueva Providencia del Parque Nacional Yasuní y en el establecimiento de los ensayos realizados.

A nuestro tutor Simón Pérez, por su guía, paciencia y valiosos aportes a lo largo de este proceso. Su experiencia ha sido esencial para el desarrollo de este trabajo.

Jhosselyn y Pablo

Resumen

El cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) es fundamental para la economía de los habitantes de la zona de amortiguamiento del Parque Nacional Yasuní, sin embargo, la producción se ve afectada por la presencia de hongos patógenos, que pueden causar daños de hasta el 100 %. En consecuencia, el objetivo de este estudio es evaluar la capacidad patogénica y endofítica de aislados fúngicos asociados a síntomas en plantas de cacao de la comunidad Nueva Providencia, que se ubica en esta zona de amortiguamiento.

Para cumplir con este objetivo, primero se determinó la incidencia de enfermedades en las plantaciones de cacao. Luego, se identificaron los géneros de los hongos presentes en las plantas con síntomas mediante caracterización macroscópica y microscópica. Finalmente, se evaluó la capacidad infectiva de los aislados fúngicos, analizando su patogenicidad y endofitismo.

Los resultados revelaron una alta incidencia de enfermedades fúngicas, destacándose la pudrición helada del fruto (*Moniliophthora roreri*), pudrición general y antracnosis. Se obtuvieron 22 aislados, de los cuales se identificaron 14, siendo *Colletotrichum* el más abundante. Ocho aislados no pudieron identificarse debido a la falta de esporulación. En cuanto a la capacidad infectiva, se observó que los frutos de cacao son más susceptibles a las infecciones fúngicas, mostrando una mayor severidad en comparación con las hojas y tallos. Los géneros *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Phytophthora* y *Lasiodiplodia* presentaron altos niveles de daño en los frutos. Por otro lado, *Trichoderma* mostró un bajo nivel de patogenicidad y endofitismo, confirmando su potencial como agente biocontrolador.

Palabras clave: cacao, hongos, fitopatología

Abstract

The cultivation of cacao (*Theobroma cacao* L.) is essential for the economy of the inhabitants in the buffer zone of Yasuní National Park; however, production is impacted by the presence of pathogenic fungi, which can cause up to 100% damage. Consequently, the objective of this study is to evaluate the pathogenic and endophytic capacity of fungal isolates associated with symptoms in cacao plants from the Nueva Providencia community, located in this buffer zone.

To achieve this objective, we first assessed the incidence of diseases in cacao plantations. Subsequently, we identified the genera of fungi present on symptomatic plants through macroscopic and microscopic characterization. Finally, we evaluated the infective capacity of the fungal isolates, analyzing their pathogenicity and endophytism.

The results revealed a high incidence of fungal diseases, particularly frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*), general rot, and anthracnose. A total of 22 isolates were obtained, of which 14 were identified, with *Colletotrichum* being the most abundant. Eight isolates could not be identified due to a lack of sporulation. In terms of infective capacity, cacao fruits were found to be more susceptible to fungal infections, showing a significantly higher incidence and severity compared to leaves and stems. The genera *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Phytophthora*, and *Lasiodiplodia* exhibited high levels of damage in fruits. Conversely, *Trichoderma* showed low levels of pathogenicity and endophytism, confirming its potential as a biocontrol agent.

Keywords: cacao, fungi, phytopathology

Lista de Figuras

Figura 1 Ubicación relativa de la comunidad Nueva Providencia respecto al Parque Nacional Yasuní y al Ecuador.	25
Figura 2 Establecimiento del ensayo de patogenicidad en a) plántulas y b) frutos	30
Figura 3 Establecimiento del ensayo de endofitismo.....	32
Figura 4 Sintomatologías y enfermedades evidenciadas en campo. (a) Fruto con pudrición helada, (b) Fruto con pudrición general, (c y d) Hojas con antracnosis	35
Figura 5 Sintomatología no evidente en tallos a los 15 días de evaluación.....	40
Figura 6 Sintomatologías en hojas de cacao: a) M6_A3 (No identificado), b) M3_A3(Xylaria) c) M6_A4 (No identificado) d) M5_A3 (Phomopsis).....	42
Figura 7 Sintomatologías de cepas: a) M1_A1 (Fusarium), b) M5_A2 (Phytophthora), c) M5_A1 (Lasiodiplodia) d) M2_A1 (Colletotrichum), e) M3_A4 (Colletotrichum), f) M6_A1 (Colletotrichum), g) M8_A2 (Colletotrichum) y h) Control (agua destilada estéril).	44
Figura 8 Dinámica de crecimiento de semillas inoculadas con el aislados M1_A2 (Trichoderma sp.): a) a los 5 días; b) y c) a los 30 días. Parte inferior con el control sin inocular: d) a los 5 días; e y f) plántulas a los 30 días	47
Figura 9 Dendrograma de los aislados fúngicos.....	48
Figura 10. Gráfico biplot de los aislados fúngicos.....	49

Lista de Tablas

Tabla 1 Operacionalización de variables	8
Tabla 2 Escala de severidad en hojas y frutos de cacao (Villamil et al., 2015)	31
Tabla 3 Resumen de los aislados fúngicos analizados	37
Tabla 4 Severidad del daño en hojas en plántulas de cacao a 10 días de inoculación en umbráculo (ver Figura 6).	41
Tabla 5 Severidad del daño en frutos a 10 días de inoculación en laboratorio (Ver Figura 7)	43
Tabla 6. Resultados de pruebas de endofitismo en semillas de cacao a los 21 días postinoculación.	46

Índice / Sumario

Contenido

Derechos de Autor	ii
Derechos de Autor	iii
Aprobación del Tutor del Trabajo de Titulación	iv
Aprobación del Tutor del Trabajo de Titulación	v
Certificación de Defensa	vi
Dedicatoria.....	vii
Agradecimientos.....	viii
Resumen.....	ix
Abstract.....	xx
Introducción.....	1
CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación	4
1.1. Planteamiento del problema.....	4
1.2. Delimitación del problema	5
1.3. Formulación del problema.....	5
1.4. Preguntas de investigación	5
1.5. Objetivos.....	6
Objetivo general.....	6
Objetivos específicos.....	6
1.6. Justificación	6
1.7. Coherencia entre los objetivos, variables e indicadores (Operacionalización)	7
CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial.....	9
2.1. Antecedentes Referenciales.....	9
2.2. Marco Teórico.....	12
2.2.1. Importancia de las zonas de amortiguamiento	12
2.2.2. El cacao y sus variedades en la Amazonía.....	14
2.2.3. Enfermedades del cacao más importantes en la Amazonía.....	18
2.2.4. Importancia de los hongos endofíticos en el control biológico de enfermedades del cacao	22
CAPÍTULO III: Diseño Metodológico	24
3.1. Descripción del sitio de estudio	24
3.2. Incidencia de enfermedades de las plantaciones de cacao	26
3.3. Identificación de aislados microbianos asociados con plantas enfermas	26
3.4. Capacidad infectiva de los aislados.....	28
3.4.1. Capacidad patogénica en frutos y plantas de cacao	28

3.4.2. Capacidad endofítica en semillas de cacao	32
CAPÍTULO IV: Resultados y Discusión	34
4.1. Incidencia de enfermedades de las plantaciones de cacao	34
4.2. Identificación de aislados microbianos asociados con plantas enfermas	37
4.3. Capacidad infectiva de los aislados	39
CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones	51
5.1. Conclusiones	51
5.2. Recomendaciones	52
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
ANEXOS	59

Introducción

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un cultivo de alto valor cuya demanda está en constante aumento en el mercado global (Septiani et al., 2024). En los últimos años, su precio ha sufrido un incremento importante, debido a factores climáticos extremos que han afectado las cosechas de los principales países productores como Ghana y Costa de Marfil (Cabrera et al., 2024). Además, el cambio climático, con sus variaciones en temperatura y precipitación, han alterado los ecosistemas terrestres, modificando el comportamiento de las plagas y afectando la producción agrícola y la seguridad alimentaria (Barahona et al., 2022). Esto ha incrementado la relevancia de las investigaciones sobre el cacao.

El cultivo de cacao desempeña un rol importante en la economía del Ecuador, involucrando a muchos actores en las etapas de siembra, cuidado de la planta, cosecha y producción de productos procesados (Morante et al., 2017). Sin embargo, el rendimiento de la producción se ve afectado por la presencia de insectos, aves y roedores (A. González et al., 2019), así como por enfermedades causadas por hongos patógenos como la pudrición helada del fruto (*Moniliophthora roreri*), la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) y la mazorca negra (*Phytophthora* spp.) (Anzules et al., 2021; Villavicencio et al., 2020).

La producción de cacao destaca en las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos en la Costa ecuatoriana, así como en la provincia de Sucumbíos en la región Amazónica (W. Jiménez et al., 2022). En esta última se localiza el Parque Nacional Yasuní, un área natural protegida que alberga varias comunidades indígenas como los kichwa, waorani, shuar, tagaeri y taromenane (Dominguez et al., 2023). Esta región enfrenta diversos problemas como la extracción de petróleo, la degradación forestal y el

turismo creciente, lo que requiere un equilibrio entre actividades humanas y la conservación de los recursos naturales (Mestanza-Ramón et al., 2019).

Para las comunidades indígenas que habitan en la zona de amortiguamiento del Yasuní, el cultivo de cacao es una fuente esencial de ingresos. Sin embargo, las enfermedades causadas por hongos son responsables de grandes pérdidas de la producción, alcanzando hasta el 100% en algunos casos (Guerrero et al., 2020). En consecuencia, la investigación sobre la patogenicidad y endofitismo de los hongos en plantas de cacao es crucial para mitigar su impacto en la producción agrícola.

Las enfermedades causadas por hongos en el cacao provocan síntomas en hojas, brotes, flores, ramas y frutos (Villavicencio et al., 2018), Estos pueden deberse a varios factores, como: la presencia de vectores que facilitan la dispersión de esporas, cambios bruscos de temperatura que favorecen la germinación de esporas, y condiciones del suelo que incrementan la susceptibilidad de las plantas al ataque de patógenos (R. Villamizar et al., 2019). Por lo tanto, la evaluación de la capacidad patogénica y endofítica de los hongos presentes en las plantas de cacao es esencial para el desarrollo de estrategias fitosanitarias en futuras investigaciones.

Actualmente, la mayoría de las investigaciones sobre el control biológico de las enfermedades del cacao, se centran en la búsqueda de hongos o bacterias endofíticas capaces de colonizar los tejidos vegetales. Se ha demostrado que los aislados de *Trichoderma* pueden colonizar las plantas de cacao, ofreciendo una protección contra la invasión de patógenos. Esto destaca la importancia de estudiar los hongos endofíticos para desarrollar estrategias de manejo fitosanitario más eficaces (Ten Hoopen & Krauss, 2016).

En consecuencia, el objetivo de este estudio es evaluar la capacidad patogénica y endofítica de aislados microbianos de hongos asociados a síntomas en plantas de cacao de la comunidad Nueva Providencia, ubicada en la zona de amortiguación del Parque Nacional Yasuní. La identificación de estos hongos permitirá desarrollar estrategias eficaces de manejo fitosanitario en futuras investigaciones. El diseño metodológico incluye técnicas de aislamiento de hongos, identificación hasta el nivel de género mediante caracterización macroscópica y microscópica, y pruebas de patogenicidad y endofitismo.

Para abordar el problema en estudio, la investigación se estructura en cinco capítulos, cuya organización se detalla a continuación.

Capítulo I: El problema de la investigación aborda el contexto del problema, incluyendo su planteamiento, delimitación, formulación, preguntas, objetivos, justificación y variables.

Capítulo II: El marco teórico referencial proporciona la base teórica de la investigación, incluyendo antecedentes.

Capítulo III: El diseño metodológico describe la metodología empleada, abordando el tipo de investigación y métodos.

Capítulo IV: El análisis de resultados y discusiones, presenta y analiza los resultados obtenidos.

Capítulo V: Las conclusiones y recomendaciones resume los hallazgos y ofrece recomendaciones basadas en los resultados.

CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación

1.1. Planteamiento del problema

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un cultivo importante en la economía de los países tropicales, especialmente por su uso en la producción de chocolate (Takata et al., 2024). En América Latina, los países productores de cacao son Brasil, Ecuador, Perú y Colombia. Estos países comparten la característica de contar con territorios amazónicos, donde la coexistencia de actividades agrícolas y la preservación de los ecosistemas requieren una comprensión de los factores que afectan la producción agrícola (Cabrera et al., 2024).

En Ecuador, el Parque Nacional Yasuní, ubicado en la región Amazónica, es reconocido como uno de los ecosistemas más biodiversos del mundo (Bass et al., 2010). En este entorno, los desafíos relacionados con la gestión agrícola y la conservación de la diversidad son relevantes. En la zona de amortiguamiento del Yasuní, la comunidad kichwa, la más numerosa, se dedica principalmente a la agricultura de subsistencia, enfocándose en el cultivo de cacao, café, yuca, plátano y maíz, los cuales se comercializan en las ciudades cercanas (Dominguez et al., 2023). Por lo tanto, la gestión adecuada de esta zona es crucial para garantizar la conservación a largo plazo y el bienestar de las comunidades que dependen de sus recursos.

El cultivo de cacao en el Yasuní representa una actividad económica importante que depende en gran parte de la salud de las plantas. Sin embargo, la creciente incidencia de hongos patógenos ha generado que el rendimiento de la producción sea bajo (Morante et al., 2017), poniendo en riesgo la subsistencia de las comunidades locales. Además, la complejidad del ecosistema en el Yasuní, dada su alta biodiversidad,

facilita que la virulencia de los hongos patógenos pueda variar de condiciones normales a epidemias (Aruna et al., 2022).

En consecuencia, para asegurar la sostenibilidad de la actividad agrícola y la preservación de la biodiversidad en el Yasuní, es necesario evaluar la capacidad patogénica y endofítica de los hongos presentes en las plantaciones de cacao. Esta evaluación permitirá una mejor comprensión de las enfermedades que afectan al cacao y facilitará el desarrollo de estrategias de manejo fitosanitario eficaces.

1.2. Delimitación del problema

La investigación se centrará en determinar el estado fitosanitario de las plantaciones de cacao en la comunidad Nueva Providencia, ubicada en la zona de amortiguamiento del Parque Nacional Yasuní. A continuación, se identificarán los aislados microbianos hasta el nivel de género mediante técnicas de caracterización macroscópica y microscópica. Finalmente, se estudiará la capacidad infectiva de los hongos aislados mediante pruebas de patogenicidad y endofitismo. Este estudio se desarrollará entre marzo y octubre de 2024.

1.3. Formulación del problema

¿Cuál es el potencial patogénico y endofítico de los hongos asociados a síntomas en plantas de cacao de la comunidad Nueva Providencia, área de amortiguación del Parque Nacional Yasuní?

1.4. Preguntas de investigación

¿Cuáles son las enfermedades de las plantaciones de cacao en la comunidad Nueva Providencia con mayor incidencia?

¿Qué géneros de hongos están presentes en las plantas de cacao que presentan síntomas?

¿Cuál es la capacidad patogénica y endofítica de los hongos aislados de las plantas de cacao con síntomas?

1.5. Objetivos

Objetivo general

Evaluar el potencial patogénico y endofítico de los aislados microbianos de hongos asociados a síntomas en plantas de cacao de la comunidad Nueva Providencia, área de amortiguación del Parque Nacional Yasuní.

Objetivos específicos

1. Determinar la incidencia de enfermedades de las plantaciones de cacao en la comunidad Nueva Providencia y los síntomas más frecuentes en las plantas.
2. Identificar los géneros de hongos presentes en las plantas de cacao que presentan síntomas mediante una caracterización macroscópica y microscópica.
3. Establecer la capacidad infectiva de los aislados microbianos, evaluando su patogenicidad y endofitismo.

1.6. Justificación

El cultivo de cacao es una actividad económica vital para las comunidades indígenas que habitan en la zona de amortiguamiento del Parque Nacional Yasuní. Sin embargo, la incidencia de enfermedades fúngicas puede reducir drásticamente la producción de cacao, afectando la economía local y la seguridad alimentaria de estas comunidades. Dada, la importancia del Yasuní como uno de los ecosistemas con mayor biodiversidad del planeta, la pérdida de plantas de cacao debido a enfermedades no sólo afecta la economía local, sino también su biodiversidad.

En este contexto, esta investigación es importante porque busca identificar los hongos patógenos y endofíticos presentes en las plantas de cacao. Los hongos endofíticos son microorganismos que viven dentro de los tejidos de las plantas sin causar daño visible, brindando protección frente a patógenos y ayudando a la mejora del crecimiento vegetal. En consecuencia, los hongos endofíticos pueden ser una fuente valiosa de control biológico, ya que compiten con los patógenos por espacio y nutrientes.

Los conocimientos generados en este estudio servirán de base para futuras investigaciones que desarrollen estrategias de manejo más sostenibles, con base en el uso de hongos endofíticos como agentes de control biológico, lo que permitirá reducir el uso de productos químicos y preservar la biodiversidad de Yasuní.

1.7. Coherencia entre los objetivos, variables e indicadores (Operacionalización)

En la Tabla 1 se muestra la operacionalización de variables de esta investigación.

Tabla 1.
Operacionalización de variables

Objetivos	Variables	Dimensiones	Indicadores
1	Incidencia de la enfermedad		<ul style="list-style-type: none"> -Síntomas de enfermedad. -Signos del patógeno -Número de plantas enfermas -Número de plantas sanas
2	Géneros de hongos		<ul style="list-style-type: none"> -Características macroscópicas de la colonia (forma, color, textura, tamaño) -Estructuras microscópicas (esporas, hifas, conidios, tipo de micelio, etc.)
3	Capacidad infectiva	<p>Patogénica</p> <p>Crecimiento vegetativo de la planta</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Presencia de síntomas macroscópicos de daño (necrosis, clorosis) -Grado de severidad de daño en hojas y frutos -Altura de la planta -Diámetro del tallo -Longitud de las raíces -% de germinación

CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial

2.1. Antecedentes Referenciales

En Ecuador, las enfermedades más comunes que afectan al cultivo del cacao son la pudrición helada del fruto (*Moniliophthora roreri*), la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) y la mazorca negra (*Phytophthora* spp.) (Anzules et al., 2021). Para su manejo, se utilizan diversas estrategias como el control cultural, químico y biológico (Guerrero et al., 2020).

El control cultural consiste en prácticas como la remoción semanal de brotes, frutos y ramas infectadas, lo que disminuye las fuentes de esporas. Sin embargo, la implementación de este método está limitada por factores como los altos costos de mano de obra, la altura de los árboles y la falta de adopción de estas prácticas en plantaciones cercanas, lo que reduce su eficacia (Ten Hoopen & Krauss, 2016).

El control químico utiliza compuestos como hidróxido de cobre, clorotalonil, flutolanil, azoxistrobina, propiconazol y difenoconazol (Anzules et al., 2021). Sin embargo, hasta la fecha no se ha identificado una sustancia capaz de mantener su eficacia a largo plazo (Bateman & Crozler, 2023). Además, los mercados internacionales imponen restricciones a los productores que presenten residuos de productos químicos en los granos de cacao, lo que limita el uso de estos productos (Guerrero et al., 2020).

El control biológico ha cobrado relevancia en los últimos años, favoreciendo la investigación de diversos géneros de hongos y bacterias como *Clonostachys*, *Trichoderma*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, y *Gliocladium*. Estos microorganismos han captado interés por sus diversos mecanismos de acción como: competencia por sustrato, antibiosis, parasitismo e inducción de resistencia a enfermedades (Ten

Hoopen & Krauss, 2016). A continuación, se presentan algunos estudios que se han desarrollado en el control biológico.

En Ecuador, Evans *et al.* (2003) aislaron más de 40 géneros de hongos endófitos de troncos y vainas de árboles sanos de *Theobroma gileri*. Estos endófitos pertenecían a anamorfos de Hypocreales, como *Acremonium*, *Clonostachys*, *Trichoderma* y *Verticillium*, además de basidiomicetos de los órdenes Agaricales y Polyporales. Se observó que los endófitos de los géneros *Clonostachys* y *Trichoderma* lograron una supresión parcial de la esporulación de *Moniliophthora roreri* mediante micoparasitismo.

En Panamá, Mejía *et al.* (2008) estudiaron la actividad antagónica de hongos endófitos aislados de tejidos sanos de cacao. Encontraron que el 40 %, 65 % y 27 % de las morfoespecies endófitas mostraron antagonismo *in vitro* contra *Moniliophthora roreri*, *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora perniciosa*, respectivamente. El principal mecanismo de acción identificado fue la competencia por el sustrato, seguido en menor medida por la antibiosis, con la excepción de *M. perniciosa*, para la cual no se observó antibiosis. Además, un aislado de *Trichoderma* mostró micoparasitismo contra *M. roreri*. En pruebas de campo, los endófitos *Colletotrichum gloeosporioides*, *Clonostachys rosea* y *Botryosphaeria ribis* también redujeron la pérdida de vainas.

En Colombia, Villamil *et al.* (2015) evaluaron la actividad antagónica de dos aislados autóctonos de *Trichoderma* y uno de *Bacillus* contra *Moniliophthora roreri*. Los resultados mostraron que uno de los aislados de *Trichoderma* presentó la mayor capacidad antagónica, al reducir significativamente los porcentajes de severidad externa e interna bajo de los frutos de cacao.

En Colombia, Villamizar *et al.* (2017) evaluaron el efecto de control de *Trichoderma viride* y *Botryosphaeria quercum* sobre fitopatógenos como *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora roreri*. También, se enfrentaron a hongos micotoxigénicos como *Aspergillus flavus* y *Fusarium solani*. Los resultados mostraron que *Botryosphaeria quercum* fue el agente de control más eficaz, siendo la competencia por el sustrato la principal estrategia de control.

En Indonesia, Asman *et al.* (2018) evaluaron el efecto de hongos endofíticos en enfermedades vasculares del cacao y encontraron que algunos géneros, como *Fusarium* y *Colletotrichum*, presentaron una baja incidencia a los 60 días de inoculación, sin embargo, esta aumentó a los 90 días. Además, se observó que los hongos endofitos pudieron aislarse sólo a partir de hojas y no de tallos ni raíces, excepto el género *Colletotrichum*, que tampoco pudo aislarse de las hojas.

En Ecuador, Villavicencio *et al.* (2020) estudiaron el efecto de 126 hongos endofíticos en el crecimiento de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa*, observando que 30 aislados inhibieron el desarrollo de *M. roreri* y cinco inhibieron el de *M. perniciosa*. Sin embargo, 91 de los aislados favorecieron el crecimiento de ambos patógenos.

En Ecuador, Martínez (2022) estudió el comportamiento de hongos del género *Colletotrichum* en frutos de cacao. Los aislamientos se realizaron a partir de frutos de aguacate y banano que presentaban síntomas de antracnosis. El estudio reveló que el hongo afectó hasta el 90 % de la superficie de los frutos de la variedad de cacao Nacional, mientras que en los frutos de la variedad CCN-51 la incidencia fue menor.

2.2. Marco Teórico

2.2.1. Importancia de las zonas de amortiguamiento

Las zonas de amortiguamiento son espacios adyacentes a las áreas protegidas cuya función es garantizar la conservación e integridad de los ecosistemas, al tiempo que promueven un desarrollo sostenible (Moscoso, 2003). Estas zonas fomentan el aprovechamiento racional de los recursos naturales, regulando las actividades humanas y los impactos ambientales negativos, de manera que se mantenga un equilibrio entre la preservación de la biodiversidad y el bienestar de las comunidades locales (Blanes et al., 2003; Kirchmeir et al., 2023).

En el Parque Nacional Yasuní, las zonas de amortiguamiento son importantes debido a varios factores importantes:

- **Protección de biodiversidad:** El Parque Nacional Yasuní alberga una alta riqueza biológica y se destaca como una de las áreas más diversas en especies de aves, mamíferos, peces, anfibios, reptiles y plantas vasculares, algunas de las son endémicas (Bass et al., 2010). Esta zona de amortiguamiento proporciona espacios seguros que promueven la protección de las especies y de sus hábitats frente a actividades humanas como la deforestación, colonización, cacería y tala ilegal (Zapata et al., 2006).
- **Manejo sostenible:** Estas zonas promueven actividades de manejo sostenible de los recursos naturales en las comunidades locales a través de actividades productivas socioeconómicas como la domesticación de plantas nativas, el incremento de sistemas agroforestales, la caza y la pesca controladas (Blanes et al., 2003).

- Conservación de culturas indígenas: Las zonas de amortiguamiento protegen territorios y modos de vida de grupos nativos, generando espacios restringidos para practicar sus tradiciones y costumbres (Fontaine & Narváez, 2007). Además, Castillo (2020) menciona que la delimitación de este tipo de zonas genera beneficios viables y directos en estas poblaciones impulsando la aplicación de diversas formas de producción.
- **Agricultura en zonas de amortiguamiento**

Los sistemas agrícolas en las zonas de amortiguamiento funcionan como una opción productiva y compatible con los intereses de conservación, donde las comunidades locales responden a la acción de conservar produciendo y producir conservando (Jiménez et al., 2001).

Las poblaciones indígenas de áreas protegidas practican agricultura itinerante que es un modelo típico de roza y quema en los territorios, adicional complementan el sistema de cultivo con modelos agroforestales que permiten el respeto mutuo entre las necesidades de flora, fauna y del ser humano y (Jiménez et al., 2001; Navarro & Muñoz, 2003). La implementación de la agroforestería en las zonas de amortiguamiento tiene un rol importante, ya que la combinación de los cultivos principalmente de cacao y café con árboles maderables ayudan a reducir la presión en las áreas naturales y aportan en la seguridad alimentaria de los habitantes, generando ingresos con la venta de los productos (Castillo, 2020).

En el Parque Nacional Yasuní, los grupos indígenas se dedican al cultivo de yuca, maní, chonta, papaya, café, cacao y otros, cuya actividad agrícola resulta importante en aspectos económicos y de autoconsumo (Montilla & Guzmán, 2018).

2.2.2. El cacao y sus variedades en la Amazonía

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un árbol perenne tropical originario de la cuenca del río Amazonas, que posteriormente fue introducido por el ser humano en América Central (Winters et al., 2024). En Ecuador, el cacao se cultiva principalmente en las regiones de la Costa y de la Amazonía, y en menor medida en las estribaciones de la cordillera de los Andes, lo que le otorga una gran importancia económica en las zonas donde se adapta (N. Paredes et al., 2022).

El cacao puede alcanzar una altura de 8 a 15 m de altura y requiere condiciones cálidas y húmedas para crecer. Los frutos son ovalados y tienen una longitud entre 12 y 30 cm. Generalmente, el fruto inmaduro es verde y se torna amarillo cuando madura, aunque algunos son púrpuras durante el desarrollo y anaranjados durante la maduración. Los frutos contienen entre 30 y 40 semillas ovoides de 2 a 3 cm de longitud, cubiertas por una pulpa mucilaginoso blanca (De Souza et al., 2018; Kongor et al., 2016).

Las semillas se someten a procesos de fermentación y secado para convertirse en cacao (Winters et al., 2024). El número de frutos necesarios para obtener 1 kg de cacao comercial es generalmente de 15 a 30 frutos (De Souza et al., 2018). El cacao, cuyos principales productores son Ghana y Costa de Marfil, constituye la base de la industria del chocolate y la confitería, la cual tiene un impacto considerable en la economía mundial, generando aproximadamente 110 billones de dólares anuales (R. Vera et al., 2024).

A nivel mundial, se comercializan dos tipos de cacao, el cacao fino o de aroma y el cacao ordinario o convencional, destacando Ecuador como el mayor productor de cacao fino en el mundo (Anecacao, 2023; L. L. González et al., 2022). Sin embargo,

el sector cacaotero ecuatoriano enfrenta varios desafíos, tales como elevados costos de producción y una baja productividad debido a la alta prevalencia de enfermedades como la pudrición helada del fruto (*Moniliophthora roreri*) y la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) (Guerrero et al., 2020).

- **Variedades del cacao**

Paredes *et al.* (2022) mencionan que tradicionalmente se reconocen tres tipos de cacao: Criollo, Forastero y Trinitario. Sin embargo, otras investigaciones realizadas por Motamayor *et al.* (2008), identificaron diez grupos genéticos diferentes de cacao. Además, estudios realizados por Lanaud *et al.* (2016), describen la presencia de la variedad Nacional en la provincia de Zamora Chinchipe, en la Amazonía ecuatoriana, desde hace más de 5000 años.

El cacao Criollo se cultiva en la región norte de Ecuador, Colombia, Venezuela y Centroamérica. Esta variedad se caracteriza porque sus frutos son alargados, puntiagudos y rugosos, con surcos pronunciados. En estado inmaduro, los frutos son de color verde o rojizo, que se torna amarillo o anaranjado al madurar. El mucílago tiene un sabor dulce y después del proceso de fermentación, su aroma se vuelve penetrante. El chocolate que se obtiene de esta variedad es muy apreciado por sus notas de frutas y nuez (Durán & Dubón, 2016).

El cacao Forastero o Amazónico es originario de la cuenca alta del río Amazonas y crece de manera silvestre en la Amazonía de Ecuador, Perú, Colombia, Venezuela y Brasil. Sus frutos son redondeados, con una cáscara dura y relativamente lisa. En estado inmaduro, los frutos tienen un color que varía de verde claro a rosa pálido, que se torna amarillo al madurar. Las almendras pueden ser de color blanco o morado y poseen un sabor amargo (N. Paredes et al., 2022).

El cacao Trinitario, originario de Trinidad y Tobago, se caracteriza porque morfológica y genéticamente es heterogéneo, lo que se debe a un proceso de cruzamiento espontáneo. Sus frutos son de color verde, mientras que sus semillas varían de un tono violeta oscuro a rosa pálido. El sabor de esta variedad se clasifica de medio a alto, con notas de frutas y nueces (Mora et al., 2013). Dentro de esta categoría se encuentra el cacao Súper Árbol, originario de la Amazonía Norte del Ecuador que presenta una gran resistencia a enfermedades, un alto rendimiento y buena calidad (Calva & Ramírez, 2016).

El cacao Nacional, conocido como “fino de aroma”, se distingue por sus sabores y fragancias florales y frutales, lo que le otorga un valor agregado en la industria de la confitería (Anecacao, 2023). El fruto de este cacao es de tamaño mediano, con una punta curvada, semillas grandes y jugosas, y un aroma delicioso. La cáscara es ligeramente rugosa, delgada y presenta surcos superficiales; en estado inmaduro, tiene un color verde claro o rosado pálido, que se torna amarillo al madurar (L. L. González et al., 2022). Aunque esta variedad sólo representa el 12 % de la producción mundial de cacao, Ecuador se ha consolidado como el principal productor durante siglos, debido a sus condiciones geográficas únicas (Anecacao, 2023)

Por otro lado, el cacao CCN-51, que significa Colección Castro Naranjal #51, es un clon desarrollado a partir del cruce de varias variedades como parte de un programa de mejoramiento genético, con el objetivo de obtener resistencia a enfermedades. Este híbrido fue creado por el investigador Homero Castro Zurita, quien inició sus estudios en 1952. Este cacao se exporta a países que buscan cacao aromático con notas de diversos sabores, pero que no requieren la calidad de otras variedades más exclusivas (Anecacao, 2023).

En Ecuador, el cacao CCN-51 ocupa aproximadamente el 70 % del área cultivada y se considera un genotipo autocompatible. Este cacao se destaca por su alta productividad, calidad aceptable y tolerancia a enfermedades (Moreira et al., 2021). Sin embargo, a pesar de su resistencia moderada a enfermedades como la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) y a la pudrición helada del fruto (*Moniliophthora roreri*), es vulnerable a la mazorca negra (*Phytophthora palmivora*) (Anzules et al., 2021; Carriel, 2013).

- **Cacao como cultivo en zonas de amortiguamiento**

El cultivo de cacao en zonas de amortiguamiento es visto como un medio de subsistencia mediante un proceso productivo y sostenible. Por otro lado, su cultivo mediante un sistema agroforestal permite mantener la diversidad de algunas especies de aves e invertebrados, y puede funcionar como un medio de intercambio y manejo de la biodiversidad, siempre y cuando se mantenga un manejo integral que incluya algunas actividades como: no cultivar en zonas de bosque intacto, usar fertilizantes orgánicos y control biológico, combinar árboles de sombra de al menos cuatro especies y conservar especies epífitas que refugian una gran diversidad de fauna (Parrish et al., 1999; Paredes y Borja, 2017).

- **Fitotecnia del cacao**

Un estudio fitotécnico en el cacao es esencial debido a su sensibilidad a los cambios ambientales y a su vulnerabilidad a plagas y enfermedades (Anzules et al., 2021). Es fundamental considerar el manejo de factores como sombra, la poda, el suelo y el riego (Villalobos & Fereres, 2017).

El manejo de la sombra es esencial en la producción de cacao, especialmente en las primeras etapas, ya que reduce la evapotranspiración y las protege a las plantas

jóvenes de la radiación solar directa. Es fundamental sembrar especies que proporcionen sombra temporal antes de plantar el cacao, como el guineo (*Musa spp.*) o la papaya (*Carica papaya*). Para la sombra permanente, se deben seleccionar especies que simulen un bosque primario, como el cedro (*Cedrus spp.*) y la capirona (*Capirona decorticans*) (N. Paredes et al., 2022).

La poda es otro aspecto esencial en el manejo del cacao, ya controla la altura de los árboles, mejora la ventilación y permite el ingreso de la luz solar. Incluye podas sanitarias para eliminar ramas defectuosas y prevenir enfermedades con la remoción de frutos enfermos. También se realizan podas de formación para orientar el crecimiento del árbol. No se aconseja mantener plantas que superen los tres metros de altura, para facilitar la cosecha de los frutos (N. Paredes et al., 2022).

El manejo del suelo es otro factor clave en la fitotecnia del cacao, en la Amazonía ecuatoriana, donde el clima tropical lluvioso contribuye a la deficiencia de nutrientes debido a la lixiviación. Por esta razón, se debe realizar un análisis de los suelos antes de implementar un plan de fertilización e implementar compost (Solís et al., 2021).

Finalmente, el riego en las plantaciones de cacao es un aspecto importante, especialmente en la Amazonía, donde se han registrado períodos de sequía a pesar de ser una región lluviosa, por lo que se recomienda la implementación de sistemas de riego por goteo, ya que asegura una provisión constante de agua sin generar encharcamientos, los cuales podrían favorecer enfermedades de las raíces (N. Paredes et al., 2022).

2.2.3. Enfermedades del cacao más importantes en la Amazonía

En Ecuador, las principales enfermedades que afectan al cultivo de cacao son la pudrición helada del fruto (*Moniliophthora roreri*) y la escoba de bruja (*Moniliophthora*

perniciosa), las cuales pueden causar pérdidas de hasta el 100 %. Sin embargo, en la última década se ha observado un aumento en la incidencia de otras enfermedades como la mazorca negra (*Phytophthora palmivora*) y la muerte regresiva (*Lasiodiplodia theobromae*) (Anzules et al., 2021). A continuación, se presenta una descripción breve de cada una.

- **Pudrición helada del fruto**

La pudrición helada del fruto, anteriormente llamada moniliasis, es causada por el hongo *Moniliophthora roreri*, y constituye la principal enfermedad en términos de impacto económico para el cultivo de cacao en Ecuador y en Sudamérica (Tamayo et al., 2016). Se registró por primera vez en Colombia en 1817, y en Ecuador se reportó en 1916 (Solís et al., 2021). Este hongo ataca los frutos principalmente durante sus primeros tres meses de desarrollo, provocando pérdidas entre el 10 y el 100 % (Guerrero et al., 2020; Villavicencio et al., 2018). Este hongo provoca maduración prematura, marchitamiento y momificación de los frutos (Morante et al., 2017).

El ciclo de la enfermedad inicia cuando las esporas se desprenden de los frutos infectados y se transportan por el viento o agua o hacia los frutos sanos. Luego, las esporas germinan en presencia de agua y penetran los tejidos, alterando la permeabilidad celular y permitiendo el movimiento de nutrientes hacia las áreas colonizadas por el hongo. Posteriormente, las mazorcas se momifican y se cubren con millones de esporas, asemejando a la escarcha (Guerrero et al., 2020).

La infección progresa de adentro hacia afuera, ya que en las fases iniciales el hongo invade el fruto de manera intercelular. Una vez dentro, sus hifas rompen las paredes celulares, lo que provoca la destrucción de los tejidos internos. Posteriormente, los

síntomas externos se hacen visibles; por esta razón, muchas veces, al abrir frutos que parecen sanos por fuera, se encuentran podridos por dentro. En términos generales, la incidencia de esta enfermedad aumenta cuando la humedad relativa supera el 80 % y la temperatura sobrepasa los 24 °C durante un período prolongado de 6 a 8 horas. Esto suele ocurrir en cultivos con exceso de sombra, mala ventilación y encharcamiento por falta de drenajes (Leandro-Muñoz & Cerda, 2021).

- **Escoba de bruja**

La escoba de bruja es provocada por el hongo *Moniliophthora perniciosa* y constituye la segunda enfermedad más importante en el cultivo de cacao en Ecuador. Se registró por primera vez en Surinam en 1895, y en Ecuador se reportó en 1918 (Solís et al., 2021). Afecta a las hojas, ramas, brotes, flores y frutos en desarrollo, causando pérdidas alrededor del 70 % (Villavicencio et al., 2018). Este patógeno provoca hiperplasia e hipertrofia en los tejidos, así como la pérdida de la dominancia apical, lo que genera una proliferación de brotes axilares. Como resultado, los árboles de cacao desarrollan una ramificación excesiva, formando estructuras anormales conocidas como "escobas", que luego se secan (Guerrero et al., 2020; R. Vera et al., 2024).

Las manchas pardas y deformaciones de los frutos pueden confundirse fácilmente con los síntomas de la pudrición helada; sin embargo, el acortamiento de los entrenudos en las ramillas y la aparición de basidiocarpos o cuerpos fructíferos que contienen esporas, son características distintivas de la escoba de bruja. Su ciclo de vida puede durar seis meses en completarse (Leandro-Muñoz & Cerda, 2021). Dado que su periodo de latencia es prolongado, se puede aplicar medidas de control antes de la esporulación, momento en donde las esporas infectan los tejidos del huésped,

causando su muerte. Luego, el hongo se nutre del material en descomposición, lo que le permite propagarse rápidamente (Guerrero et al., 2020; R. Vera et al., 2024).

- **Mazorca negra o pudrición parda**

La mazorca negra o pudrición parda es causada por varias especies del género *Phytophthora*, como *P. palmivora*, *P. megakarya*, *P. capsici* y *P. citrophthora*, siendo *P. palmivora* la más importante (Septiani et al., 2024). Esta enfermedad ataca todas las partes del cacao, incluidas los frutos, hojas, tallos y ramas, pero es más dañina en los frutos. Se estima que provoca pérdidas del 30% en la producción, además causa la muerte del 10% de las plantas debido a la aparición de cánceres en el tallo (Baruah et al., 2024).

El ciclo de vida del hongo es rápido en condiciones de alta humedad y lluvia, con una duración de dos semanas. La infección ocurre en cualquier fase de desarrollo del fruto y afecta a cualquier parte de la planta. En las hojas, los primeros síntomas se manifiestan como manchas necróticas que comienzan en los bordes. Por otro lado, en los frutos, los síntomas aparecen aproximadamente 30 horas después de la infección, con la formación de pequeñas manchas acuosas en su superficie, que luego se oscurecen. Cinco días después, los frutos afectados se vuelven blandos, y su interior necrosado emite un olor característico a mariscos (Solís et al., 2021).

El daño causado por este hongo avanza de afuera hacia adentro, a diferencia de la pudrición helada. Esto puede provocar frutos enfermos en su exterior, que conservan su mucílago y semillas en buen estado en la parte interna. Sin embargo, no se recomienda recolectar estas semillas, ya que, aunque parezcan sanas, pueden estar infectadas, lo que afecta su calidad (Leandro-Muñoz & Cerda, 2021).

Las lluvias intensas y el encharcamiento favorecen el desarrollo de este hongo, ya que su dispersión ocurre principalmente a través del agua, ya sea por escorrentía o salpicaduras. Sus zoosporas, al ser flageladas, se desplazan nadando en el agua. Además, el aumento de la temperatura también incrementa las probabilidades de infección, ya que estimula la germinación de las zoosporas, las cuales se liberan de los esporangios cuando la temperatura sube entre 7 y 10 °C durante el día (Leandro-Muñoz & Cerda, 2021).

- **Muerte regresiva**

La muerte regresiva es causada por el hongo *Lasiodiplodia theobromae* que infecta al cacao a través de heridas o tejidos en descomposición, causando necrosis y marchitamiento en los brotes y ramas terminales. Además, el primer síntoma en los frutos es la aparición de una mancha negra que se expande rápidamente, cubriéndolos con conidios negros, lo cual se acelera si los frutos presentan heridas. En etapas avanzadas de la infección, ocurre la muerte de la planta. Se ha observado que los daños causados por insectos, la falta de sombra y la desnutrición crean un ambiente propicio para el desarrollo de la enfermedad (Solís et al., 2021).

2.2.4. Importancia de los hongos endofíticos en el control biológico de enfermedades del cacao

Los hongos endofíticos son microorganismos que habitan en el interior de los tejidos vegetales sin causar ninguna consecuencia visible de infección (Stępniewska & Kuźniar, 2013). Estos hongos colonizan diferentes partes de las plantas y juegan un papel crucial en la ecología vegetal al inducir el crecimiento de las plantas y la mejora de la capacidad de defensa ante agentes bióticos y abióticos desfavorables, por ello, se los denomina agentes de control biológico, colonizan las plantas sin causar daño

aparente y generan una interacción beneficiosa planta-hongo, neutra o antagonista (Delgado et al., 2021).

En cultivos como el cacao, los hongos endofíticos han demostrado ser eficaces en contra de enfermedades fúngicas graves como la pudrición helada del fruto y la escoba de bruja. Especies de géneros como *Trichoderma*, *Paecilomyces*. y *Verticillium*, son capaces de parasitar hongos patógenos y plagas mediante micoparasitismo produciendo enzimas que inhiben el crecimiento de patógenos y reducen el estrés oxidativo, mejorando la resistencia del cacao a las enfermedades (Viera et al., 2020).

En Ecuador se han realizado diversos estudios de controladores biológicos, obteniendo resultados favorables permitiendo que los productores obtengan mayores beneficios económicos. El agente de control que ha presentado mejores resultados es *Trichoderma harzianum*, mostrando tanto inhibición en el crecimiento de fitopatógenos como *Moniliophthora roreri* y *Botryodiplodia theobromae*, así como una mejora de la calidad del cultivo (El Salous et al., 2020; Anzules et al. 2021).

Además, su aplicación en la agricultura tiene un gran potencial, ya que reduce la dependencia de agroquímicos, lo que es fundamental en regiones como la Amazonía, donde es crucial mantener el equilibrio ecológico mientras se promueve una producción agrícola sostenible y se preserva la biodiversidad (Méndez et al., 2024).

CAPÍTULO III: Diseño Metodológico

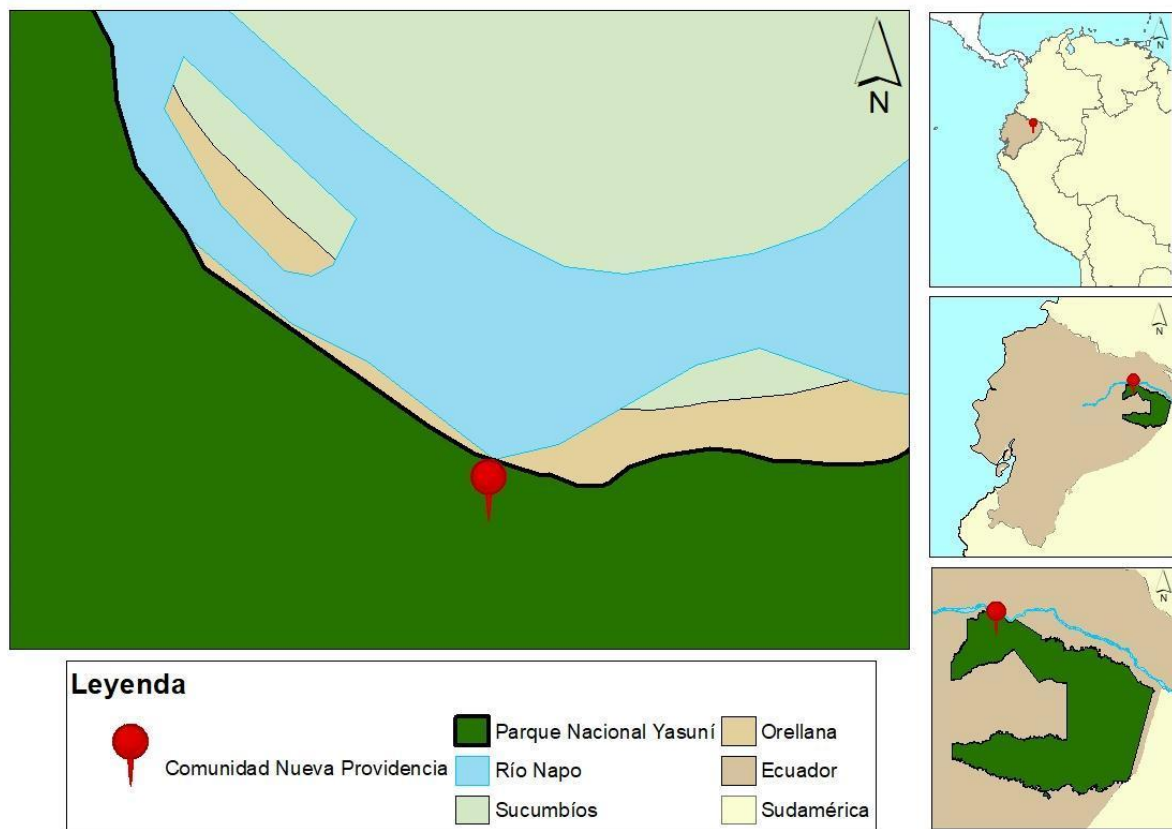
En esta investigación se combinaron los enfoques cuantitativos y cualitativos en un diseño que incluyó elementos de campo y experimental in vitro. Todos los objetivos alcanzan un nivel descriptivo del área de estudio.

3.1. Descripción del sitio de estudio

El estudio se llevó a cabo en la comunidad de Nueva Providencia, ubicada en la zona de amortiguamiento del Parque Nacional Yasuní, en la ribera sur del río Napo, con coordenadas geográficas 0°29'39,3133" S y 76°28'16,8492" W (Figura 1). El Yasuní se encuentra a una altitud promedio de 200 msnm y abarca una extensión de 9820 km²; además, está rodeado por una zona de amortiguamiento de 10 km en todas las direcciones, excepto al este, donde se encuentra el límite entre Ecuador y Perú. El Yasuní presenta un clima cálido y húmedo, con una temperatura promedio de 24,9 °C, una precipitación anual de 3200 mm y una humedad relativa que varía entre el 80 y el 94 % (Bass et al., 2010; Climate-data, 2024).

Figura 1.

Ubicación relativa de la comunidad Nueva Providencia respecto al Parque Nacional Yasuní y al Ecuador.



La población está constituida por todas las plantaciones de cacao presentes en la comunidad Nueva Providencia. Dado que esta comunidad es extensa, la investigación se delimita a aquellas parcelas de cacao que están ubicadas en áreas accesibles para la recolección de muestras. Además, se consideraron las plantas con una edad de cinco años, lo que garantiza que los árboles hayan alcanzado un desarrollo suficiente para evaluar su estado fitosanitario de manera adecuada.

La muestra fue no probabilística e intencional y se seleccionó en dos etapas. En la primera, se identificaron parcelas con plantas de cacao que presentaban síntomas de enfermedades, y se analizaron 300 plantas en total. En la segunda etapa, se eligió una de estas parcelas, seleccionando ocho plantas con síntomas evidentes de infección en hojas y frutos, las cuales se analizaron en el laboratorio.

3.2. Incidencia de enfermedades de las plantaciones de cacao

El estado fitosanitario de las plantaciones de cacao se evaluó mediante un método directo que consiste en la inspección de la enfermedad tanto en la superficie como en el interior del material vegetal. Se realizaron recorridos de campo y una evaluación visual minuciosa de la anatomía de las plantas, con el fin de detectar síntomas y signos causados por organismos fúngicos, tales como necrosis, pudrición, manchas y presencia de cuerpos fructíferos (Cooke, 2006; Hernández, 2014).

Se recopilaron datos del cultivo en campo, incluyendo el número de plantas, la variedad, los cultivos circundantes, la edad del cultivo y los síntomas de enfermedades. Además, se determinó la incidencia de las enfermedades, clasificando las plantas como sanas o enfermas, utilizando la Ecuación 1 (Freile et al., 2018).

$$\text{Incidencia (\%)} = \frac{\text{número de plantas enfermas}}{\text{número total de plantas evaluadas}} * 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Las enfermedades se identificaron con base en los síntomas descritos en estudios previos de Leandro-Muñoz & Cerda (2021) y Solís Hidalgo *et al.* (2021). Se tomaron ocho muestras de hojas y frutos que presentaban los síntomas más evidentes. Las muestras se colocaron en bolsas Ziploc, se etiquetaron, almacenaron y transportaron en un cooler a 4 °C hasta el Laboratorio de Microbiología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo - Sede Orellana, para su posterior procesamiento.

3.3. Identificación de aislados microbianos asociados con plantas enfermas

- Aislamiento

El aislamiento de los hongos se realizó por el método indirecto propuesto por Alfenas & Mafia (2016). Las muestras de hojas y frutos se lavaron con agua corriente, luego

se realizaron cortes de 6 mm con un bisturí estéril, asegurando que cada fragmento incluyera una proporción equitativa de tejido sano y tejido afectado.

La desinfección de cada fragmento se realizó mediante una serie de lavados, primero con alcohol etílico al 70 % por un minuto, seguido de hipoclorito de sodio al 2 % por otro minuto. Posteriormente, se realizaron tres enjuagues con agua destilada estéril, cada uno de 30 segundos. Las muestras se secaron con papel toalla estéril. Luego, se transfirieron cuatro fragmentos a cajas Petri con medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) más ampicilina y se incubaron a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante cuatro a siete días en condiciones de oscuridad. Todo el proceso de desinfección y transferencia de las muestras se realizó bajo condiciones asépticas en cabina de flujo laminar.

La obtención de cultivos puros se realizó mediante un protocolo de reaislamientos sucesivos en medio de cultivo PDA más ampicilina, siguiendo la metodología descrita por Mata & Salmones (2021). La técnica consistió en tomar una porción de micelio emergido de las muestras vegetales y transferirlo a una caja Petri con el mismo medio de cultivo, incubándolo a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$. El proceso de reaislamiento se repitió de forma sucesiva, tomando muestras del margen de la colonia y transfiriéndolas a nuevas cajas Petri, hasta obtener una colonia homogénea y sin contaminantes.

- **Caracterización morfológica**

Se describieron parámetros macroscópicos en medio de cultivo PDA, incluyendo color, textura y tasa de crecimiento de cada aislado. Para medir el crecimiento micelial de cada aislado se transfirió un disco de micelio de 6 mm al centro de una caja Petri con medio de cultivo PDA, se selló la caja con papel film y se incubó a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$, en oscuridad y se registró el diámetro cada 24 horas por siete días (Corral et al., 2024).

La caracterización microscópica se realizó por medio de dos técnicas microbiológicas en cabina de flujo laminar:

1) Los micelios de los aislados se recogieron con agujas y se colocaron en un portaobjetos estéril, añadiendo una gota de colorante lactofenol (Urdaneta & Delgado, 2007).

2) Siguiendo la técnica propuesta por Ali-Shtayeh *et al.* (1998), se establecieron microcultivos. Estos consistieron en colocar papel toalla humedecido con agua destilada estéril dentro de una caja Petri, junto con un soporte en forma de "V" hecho de un sorbete estéril, y un portaobjetos esterilizado, previamente sumergido en medio de cultivo Agar Extracto de Malta (MEA). Sobre el portaobjetos se colocaron dos porciones de micelio de manera equidistante. Los microcultivos se incubaron durante cinco días a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ en condiciones de oscuridad. En ambos casos, los portaobjetos se observaron bajo un microscopio binocular marca Euromex, utilizando lentes de 40X y 100X. Las imágenes fueron capturadas con una cámara AmScope MU1000 adaptada al microscopio. La identificación se realizó a nivel de género utilizando claves taxonómicas y literatura especializada como la de Barnett & Hunter (1999), Cepero *et al.* (2012), Hassan & Chang (2022), Triana *et al.* (2021), y Weir *et al.* (2012).

3.4. Capacidad infectiva de los aislados

3.4.1. Capacidad patogénica en frutos y plantas de cacao

Las pruebas de patogenicidad se realizaron inoculando tres frutos maduros (cuatro a cinco meses) y dos grupos de plántulas de vivero (tres meses) sanas de la variedad CCN-51. Cada grupo estaba formado de dos plantas. En ambos casos, se incluyó un grupo control, el cual fue inoculado con agua destilada estéril.

El inóculo se preparó a partir de colonias con siete a 15 días de crecimiento, siguiendo la metodología propuesta por Villamil *et al.* (2015). Para cada aislado, se añadió agua estéril a la caja Petri y se raspó el micelio con una espátula esterilizada al fuego. Luego, la suspensión resultante se filtró utilizando una gasa estéril, obteniendo una mezcla de conidios y, en algunos casos, fragmentos de micelio. A partir de esta suspensión, se realizó el recuento en una cámara de Neubauer, ajustando la concentración a 1×10^6 conidios o fragmentos de micelio/mL. Para lograr este ajuste, se realizaron diluciones seriadas o se añadió más suspensión de conidios o fragmentos de micelio según fuera necesario.

La inoculación de las hojas y frutos se realizó según la metodología propuesta por Hernández (2015). Antes de la inoculación, las hojas y frutos se desinfectaron con alcohol etílico al 70 % y se secaron con toallas estériles. En las hojas, se hicieron cuatro punciones con una aguja estéril y se inocularon 100 μ L de inóculo en cada punción utilizando una micropipeta. Posteriormente, se creó una cámara húmeda en cada hoja mediante la colocación de una funda plástica estéril durante 24 horas. Las plantas se mantuvieron en un ambiente controlado para su evaluación (Figura 2a).

En el caso de los frutos, se retiró una porción de cáscara utilizando un sacabocados de 6 mm, y se inocularon con 100 μ L de inóculo. Los frutos se colocaron en fundas plásticas estériles durante 24 horas, después de lo cual se retiraron las fundas. Finalmente, los frutos se mantuvieron en condiciones de laboratorio a una temperatura de 24°C (Figura 2b).

Figura 2.

Establecimiento del ensayo de patogenicidad en a) plántulas y b) frutos



La evaluación de las hojas se realizó diariamente durante 10 días, registrando la incidencia de lesiones desde la aparición de los primeros síntomas; en el caso de los frutos, las lesiones se evaluaron al décimo día.

Posteriormente, se determinó la severidad externa en hojas y frutos calculando la proporción de tejido afectado, utilizando la Ecuación 2 (Bock et al., 2020). Luego, el grado de daño se convirtió a una escala cualitativa de acuerdo con la metodología de Villamil *et al.* (2015) que se muestra en la Tabla 2. Finalmente, los patógenos se reislaron en medio PDA para verificar los postulados de Koch.

$$\text{Grado daño (\%)} = \frac{\sum(\text{Área afectada en cada hoja})}{\sum(\text{Área total de cada hoja})} * 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

Tabla 2.*Escala de severidad en hojas y frutos de cacao (Villamil et al., 2015)*

Severidad	Grado daño (%)	Descripción
1	0	Sin síntomas: no hay signos de afectación.
2	1-25	Leve a Moderada: afectación ligera, con algunos síntomas visibles, pero no graves.
3	26-50	Moderada: daño evidente, con una parte significativa del tejido afectado.
4	51-75	Alta: afectación considerable, con síntomas marcados en la mayoría del tejido.
5	76-100	Muy alta: daño severo, donde casi todo el tejido está afectado

Para la evaluación de la severidad de los aislados microbianos se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), donde la variable independiente fue el tipo de aislado, con 23 niveles, incluyendo un testigo, mientras que la variable dependiente fue el grado de daño en porcentaje.

Cada nivel fue evaluado por duplicado, utilizando un total de 46 unidades experimentales de dos plantas cada una. Luego, los aislados se inocularon en las experimentales de manera aleatoria. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de rango múltiple de Duncan a un nivel de confianza del 95 % ($\alpha = 0,05$).

Las hipótesis del ANOVA que se probaron fueron:

- Hipótesis nula (H0): Todas las medias del grado de daño son iguales
- Hipótesis alternativa (H1): Al menos una media del grado de daño es diferente de las demás.

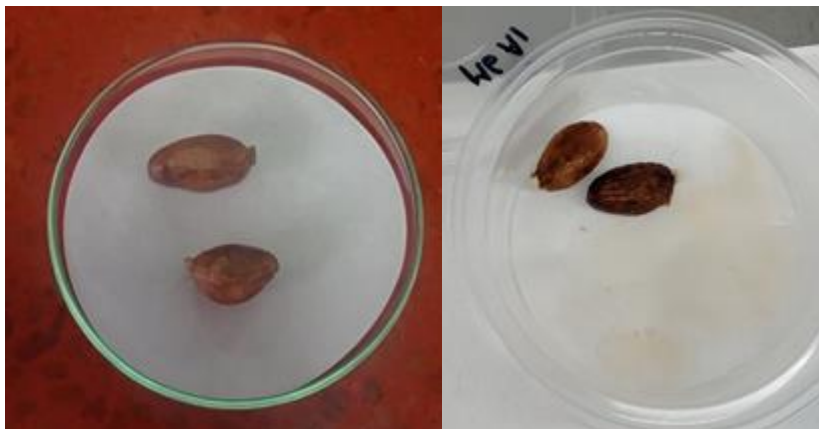
El análisis estadístico se realizó con los programas InfoStat versión 2020e y Minitab 19. Para determinar si se rechaza o no la hipótesis nula (H0), se aplicó la regla del valor p, que establece lo siguiente: si el valor p es menor o igual al nivel de

significancia (α), se rechaza H_0 . En cambio, si el valor p es mayor que el nivel de significancia (α), no se rechaza H_0 (Gutiérrez Pulido & De la Vara Salazar, 2012).

3.4.2. Capacidad endofítica en semillas de cacao

Se utilizaron dos semillas de frutos sanos y maduros (5-6 meses) para cada aislado fúngico (Figura 3). La preparación de los frutos se realizó siguiendo el protocolo de Falcão *et al.* (2014). Los frutos se desinfectaron con jabón líquido y agua corriente, se extrajeron las semillas y se retiró el mucílago usando un bisturí y papel toalla, todo en condiciones estériles dentro de una cabina de flujo laminar. Las semillas se sumergieron en alcohol etílico al 70 % durante dos minutos, luego en hipoclorito al 2 % por tres minutos, y finalmente se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. Posteriormente, las semillas se colocaron en cámaras húmedas con papel filtro humedecido para su germinación, manteniéndolas a temperatura ambiente con un fotoperiodo de 12 horas luz/oscuridad durante cuatro días.

Figura 3.
Establecimiento del ensayo de endofitismo



La inoculación se llevó a cabo sumergiendo las semillas germinadas en una suspensión de 1×10^6 conidios o fragmentos de micelio/mL durante 30 minutos. Luego, se retornaron a las cámaras húmedas para su evaluación. Las semillas del grupo control se trataron de manera similar, pero se sumergieron en agua destilada estéril. Siguiendo las metodologías de Hanada *et al.* (2010) y Falcão *et al.* (2014), se evaluaron el crecimiento de las radículas y las plúmulas.

Con los datos de las longitudes de las radículas y las plúmulas, el diámetro de las colonias en PDA y la severidad en hojas y frutos, se realizó un análisis de conglomerados jerárquico con el método de Ward, con el objetivo de clasificar a los aislados en grupos con características homogéneas. Finalmente, para entender la formación de los grupos con base a las características de las variables, se realizó un análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) y se elaboró un gráfico biplot (Hair, 1999).

CAPÍTULO IV: Resultados y Discusión

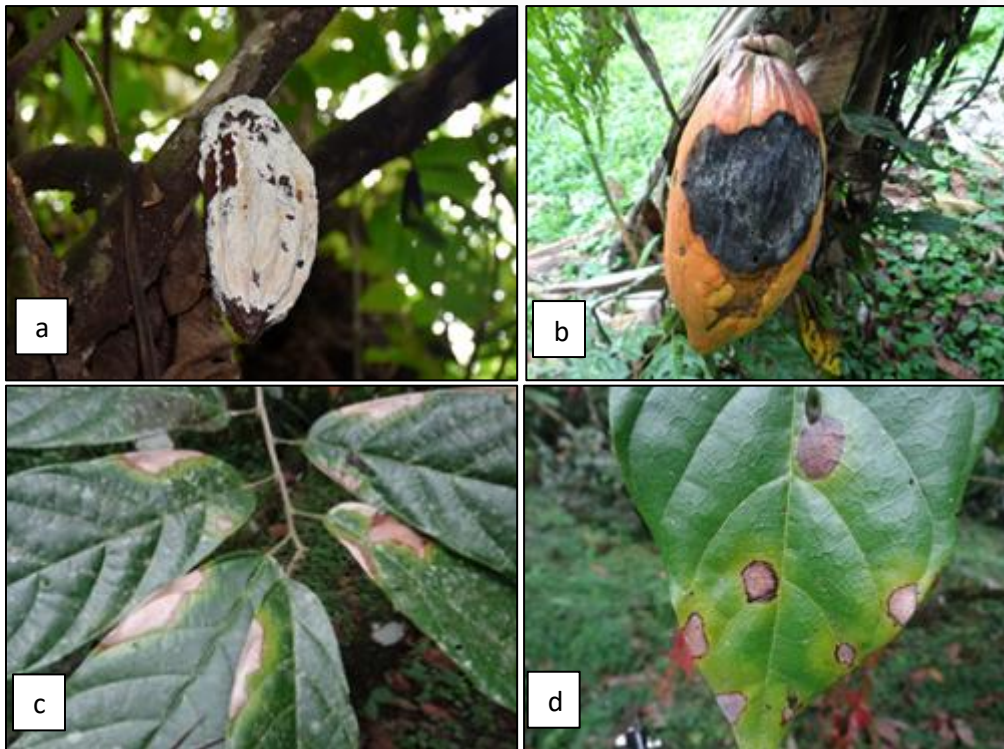
4.1. Incidencia de enfermedades de las plantaciones de cacao

La zona de las plantaciones de cacao presentó un suelo arcilloso con mucha materia orgánica, debido a su cercanía a las riberas del río Napo. Anteriormente, esta área formaba parte de un bosque primario y actualmente cuenta con cultivos circundantes de plátano, café y árboles de capirona. En total, se evaluaron 300 plantas de cacao de la variedad CCN-51, con una edad de cinco años según los propietarios. Los árboles presentaban una altura aproximada de 3 m y la distancia de siembra entre ellos era de 3 m.

Durante la inspección, se identificaron varios síntomas en las plantas de cacao como necrosis, antracnosis y pudrición general, los cuales afectaban a las hojas y los frutos. Además, se detectó la presencia de pudrición helada (*Moniliophthora roreri*) en los frutos como se muestra en la Figura 4. En cuanto a la incidencia de los síntomas de enfermedades, se observó que *Moniliophthora roreri* afectó al 93,3 % de las plantas, la pudrición general presentó una incidencia del 83,3 %, la antracnosis afectó al 69,3 % de las plantas evaluadas y la necrosis tuvo una incidencia del 33,3 %. Estos valores altos de incidencia indican un elevado nivel de afectación en las plantaciones.

Figura 4.

Sintomatologías y enfermedades evidenciadas en campo. (a) Fruto con pudrición helada, (b) Fruto con pudrición general, (c y d) Hojas con antracnosis



La alta incidencia de la pudrición helada del fruto (*Moniliophthora roreri*) (93,3%), es coherente con lo señalado por Villavicencio *et al.* (2020), Solís *et al.* (2021) y Anzules *et al.* (2021), quienes la destacan como la principal amenaza para las plantaciones de cacao en el Ecuador. Esta incidencia alta es preocupante, ya que *M.* reduce la producción de cacao y deteriora la calidad de los frutos, generando pérdidas económicas importantes.

La pudrición general fue la segunda enfermedad con más incidencia (83,3%), seguida por la antracnosis (69,3%) y la necrosis (33,3%). Estos resultados son consistentes con lo señalado por Martínez de la Parte & Pérez (2015), quienes identificaron a la pudrición y la antracnosis como enfermedades importantes que limitan la producción de las plantaciones de cacao. Sin embargo, los niveles de incidencia observados superan lo reportado en otras investigaciones, lo que podría estar relacionado con

factores ambientales como la proximidad al río Napo que podría crear condiciones favorables para el desarrollo de estos patógenos. Además, en zonas tropicales existe una mayor diversidad de hongos (Hanada et al., 2010).

La alta incidencia de pudrición general podría explicarse por la susceptibilidad del cacao CCN51 a la mazorca negra o pudrición parda (*Phytophthora palmivora*), a diferencia del cacao Nacional que muestra resistencia a este hongo (Carriel, 2013). Se debe destacar que *P. palmivora* tiene un ciclo de vida rápido en condiciones de alta humedad (Solís et al., 2021). Además, la pudrición podría deberse a hongos del género *Lasiodiplodia* que se hallaron en esta investigación, los cuales se han convertido en una amenaza importante para los cultivos de cacao en Ecuador (W. Jiménez et al., 2022). Los hongos del género *Lasiodiplodia* se encuentran en regiones tropicales y se desarrollan en suelos arcillosos con alta humedad, siendo favorecidos por los periodos lluviosos que estimulan la máxima producción de esporas y su diseminación (Moreira et al., 2021).

Otro factor relevante es la influencia de los cultivos circundantes como el plátano y el café, los cuales, pueden influir negativamente en el estado fitosanitario del cacao, ya que ambos cultivos actúan como reservorios potenciales de patógenos que pueden trasladarse a las plantaciones de cacao, lo que puede aumentar la incidencia de las enfermedades. Se debe destacar lo señalado por Hanada et al. (2010), quienes mencionan que algunos hongos de los géneros *Colletotrichum* y *Fusarium* son endófitos en plantaciones de plátano

Además, autores como Leandro-Muñoz & Cerda (2021), mencionan que la interacción entre diferentes cultivos en una misma zona puede modificar la dinámica epidemiológica, incrementando el riesgo de infecciones cruzadas; además, la

proximidad de los árboles de capirona, aunque proporciona sombra, podría crear un ambiente más propicio para el crecimiento de hongos patógenos, debido a la alta humedad en la zona.

4.2. Identificación de aislados microbianos asociados con plantas enfermas

En la investigación se obtuvieron 22 aislados (Tabla 3), los cuales se caracterizaron en los aspectos macroscópicos y microscópicos. Para la identificación de los aislados hasta el nivel de género, se observaron diversas características morfológicas distintivas, como el color, la textura y la forma de las colonias. Además, se analizaron estructuras de esporas, hifas y estructuras reproductivas.

Tabla 3.
Resumen de los aislados fúngicos analizados

Género	Síntomas de origen	Número de aislados
<i>Fusarium</i>	Necrosis	2
<i>Trichoderma</i>	Necrosis	1
<i>Colletotrichum</i>	Podredumbre, antracnosis y necrosis	7
<i>Xylaria</i>	Necrosis	1
<i>Lasiodiplodia</i>	Mancha negra y pudrición del fruto	1
<i>Phytophthora</i>	Mancha negra y pudrición del fruto	1
<i>Phomopsis</i>	Mancha negra y pudrición del fruto	1
No identificados	Antracnosis, necrosis	8

Se determinó que los aislados pertenecían al género *Colletotrichum* debido a la observación de conidios con características distintivas, como su forma cilíndrica, hifas con vacuolas internas, así como la presencia de esporoquios de color naranja. En el caso de *Trichoderma*, se identificó por el color de la colonia, que presentaba un tono verde característico, y por las esporas que exhibían una morfología globosa. Para los géneros *Xylaria* y *Lasiodiplodia*, la forma y textura de las colonias fueron

determinantes, mostrando colonias oscuras y fibrosas en el primero y un aspecto más denso, viscoso de color gris oscuro en el segundo. En los aislados de *Fusarium*, la presencia de macroconidios en forma de media luna y estructuras reproductivas como polifiálides y conidióforos fueron clave para su identificación.

Por otra parte, los géneros *Phomopsis* y *Phytophthora* se identificaron a partir de la forma y textura de las colonias, junto con estructuras microscópicas, como hifas y conidióforos; además de considerar su origen de aislamiento a partir del fruto, que aportó información adicional para su clasificación precisa. En algunos hongos la identificación basada en la morfología fue suficiente para determinar el género; sin embargo, en ocho de los aislados, la identificación fue limitada debido a la similitud y variabilidad de características observadas. Los detalles específicos de estas características se presentan en el Anexo 2.

En la Tabla 3 se observa que el género *Colletotrichum* fue el más abundante, lo que es coherente con estudios previos como el de Villavicencio *et al.* (2020), quienes reportaron una alta abundancia de este género en plantaciones de cacao en Ecuador. Además, tanto Villavicencio *et al.* (2020) como Martínez (2022), identificaron el rol predominante de *Colletotrichum* en la antracnosis del cacao. Este hongo, conocido por su capacidad de transmisión horizontal, representa una seria amenaza para la producción de cacao, especialmente bajo condiciones de alta humedad, que favorecen su dispersión y ciclo de vida.

Además, los resultados de la investigación concuerdan con la investigación de Martínez de la Parte & Pérez (2015), quienes estudiaron la incidencia de enfermedades fúngicas en plantaciones de cacao y encontraron que la pudrición del fruto del cacao se debía a especies de los géneros *Lasiodiplodia* y *Phytophthora*,

mientras que la antracnosis se debía a hongos del género *Colletotrichum*, La identificación de *Lasiodiplodia* en frutos afectados por pudrición también refuerza los estudios de Jiménez *et al.* (2022) y Moreira *et al.* (2021), quienes señalaron a este género como un agente causante de la pudrición del fruto en plantaciones de cacao de Ecuador. Asimismo, la presencia de *Fusarium* y su impacto en la salud del cultivo resalta la necesidad de monitoreo constante, dado que este género ha sido reportado como un patógeno de importancia en diversos sistemas agrícolas.

El hecho de que ocho aislados no se identificaron, se debe en gran parte a la ausencia de esporulación, lo que concuerda con lo mencionado por Villavicencio *et al.* (2020), quienes observaron que varios hongos aislados de hojas de cacao no esporulan en medios como Agar de Papa y Dextrosa (PDA) o Agar de Extracto de Malta (MEA). Además, Hanada *et al.* (2010), en otro estudio sobre hongos asociados al cacao, señalaron que de 147 aislados, cinco mostraron una esporulación insuficiente para una identificación adecuada y 35 no esporularon. Esto evidencia la dificultad en la identificación de ciertos hongos que no producen estructuras reproductivas visibles en medios de cultivo convencionales como PDA o MEA, lo que sugiere la necesidad de utilizar métodos complementarios como el análisis molecular.

4.3. Capacidad infectiva de los aislados

- Capacidad patogénica en frutos y plantas de cacao

Los resultados indican que todos los aislados fueron patogénicos en los frutos, con la mayoría presentando una incidencia del 100 %, excepto *Trichoderma* que mostró una incidencia del 25 %. Esto indica un alto nivel de susceptibilidad de los frutos a las infecciones por hongos. Además, en los tallos no se observó incidencia de

enfermedades (Figura 5), lo que indica que esta parte de la planta es menos vulnerable a las infecciones por hongos.

Figura 5.

Sintomatología no evidente en tallos a los 15 días de evaluación



Por otra parte, en hojas se observó que 14 de los aislados fueron patogénicos, aunque la incidencia fue más variable, destacando el aislado de *Xylaria* que presenta una incidencia del 75 %.

A continuación, se analizó la severidad del daño causado por los distintos aislados en hojas y frutos mediante un análisis de varianza (ANOVA), para evaluar su efecto en la severidad del daño. Los resultados mostraron que el tipo de aislado tiene un efecto significativo tanto en hojas como en frutos ($p < 0,05$), lo que indica que al menos una media de la severidad es diferente de las demás (Gutiérrez Pulido & De la Vara Salazar, 2012). En consecuencia, se aplicó la prueba de rango múltiple de Duncan para identificar las medias específicas que presentan diferencias significativas (Tablas 4 y 5).

Tabla 4.
Severidad del daño en hojas en plántulas de cacao a 10 días de inoculación en umbráculo (ver Figura 6).

Género	Código aislado	\bar{X} Severidad (%)
No identificado	M6_A3	3,19 ± 2,33 a*
<i>Xylaria</i>	M3_A3	1,86 ± 0,49 b
No identificado	M6_A4	1,79 ± 0,27 b
<i>Phomopsis</i>	M5_A3	1,10 ± 1,26 bc
No identificado	M3_A1	0,16 ± 0,23 c
<i>Colletotrichum</i>	M8_A2	0,14 ± 0,12 c
<i>Colletotrichum</i>	M8_A1	0,13 ± 0,09 c
No identificado	M3_A5	0,12 ± 0,18 c
<i>Fusarium</i>	M1_A1	0,10 ± 0,14 c
No identificado	M8_A3	0,09 ± 0,13 c
<i>Colletotrichum</i>	M7_A1	0,09 ± 0,12 c
<i>Colletotrichum</i>	M2_A1	0,08 ± 0,11 c
No identificado	M7_A2	0,07 ± 0,10 c
<i>Colletotrichum</i>	M7_A3	0,02 ± 0,03 c
No identificado	M6_A5	0,00 ± 0,00 c
No identificado	M6_A2	0,00 ± 0,00 c
<i>Colletotrichum</i>	M6_A1	0,00 ± 0,00 c
<i>Phytophthora</i>	M5_A2	0,00 ± 0,00 c
<i>Lasiodiplodia</i>	M5_A1	0,00 ± 0,00 c
<i>Colletotrichum</i>	M3_A4	0,00 ± 0,00 c
<i>Fusarium</i>	M3_A2	0,00 ± 0,00 c
<i>Trichoderma</i>	M1_A2	0,00 ± 0,00 c
	Control	0,00 ± 0,00 c

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, réplicas=2

En la Tabla 4 se observa que el aislado M6_A3 (No identificado) presentó la mayor severidad, seguido de los aislados M3_A3 (*Xylaria*), M6_A4 (No identificado) y M5_A3 (*Phomopsis*). Estos fueron los únicos que alcanzaron una severidad nivel dos (Leve

a Moderada, 1-25 %) de acuerdo a la escala de Villamil *et al.* (2015) (Figura 6). Además, se observaron otros 10 aislados, la mayoría de los géneros *Colletotrichum* y *Fusarium*, que también fueron patogénicos; sin embargo, mostraron una severidad nivel uno (Sin síntomas, 0 %), lo que indica que, el daño en las hojas fue mínimo.

Figura 6.

Sintomatologías en hojas de cacao: a) M6_A3 (No identificado), b) M3_A3(*Xylaria*) c) M6_A4 (No identificado) d) M5_A3 (*Phomopsis*).

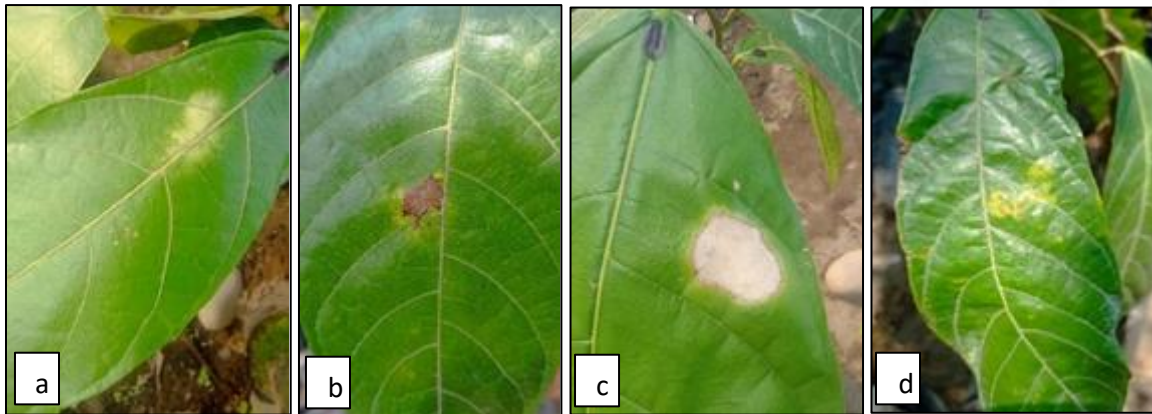


Tabla 5.

Severidad del daño en frutos a 10 días de inoculación en laboratorio (Ver Figura 7)

Género	Código aislado	\bar{X} Severidad %
<i>Fusarium</i>	M1_A1	80,03 ± 4,14 a*
<i>Colletotrichum</i>	M3_A4	78,93 ± 1,40 a
No identificado	M6_A3	78,59 ± 5,67 a
<i>Colletotrichum</i>	M2_A1	78,09 ± 1,46 a
<i>Phytophthora</i>	M5_A2	75,93 ± 5,82 ab
<i>Lasiodiplodia</i>	M5_A1	72,00 ± 5,72 abc
<i>Colletotrichum</i>	M8_A2	65,04 ± 16,02 abcd
<i>Colletotrichum</i>	M6_A1	61,85 ± 19,40 abcde
<i>Colletotrichum</i>	M7_A1	55,40 ± 26,70 bcde
No identificado	M3_A5	53,71 ± 8,53 cde
<i>Phomopsis</i>	M5_A3	46,40 ± 17,60 de
No identificado	M8_A3	46,18 ± 16,06 de
<i>Fusarium</i>	M3_A2	41,43 ± 17,89 ef
<i>Xylaria</i>	M3_A3	23,44 ± 8,19 fg
No identificado	M6_A5	23,37 ± 2,52 fg
<i>Colletotrichum</i>	M7_A3	20,33 ± 5,00 g
<i>Colletotrichum</i>	M8_A1	18,62 ± 2,69 g
No identificado	M3_A1	18,30 ± 3,43 g
No identificado	M6_A4	13,56 ± 4,52 g
No identificado	M6_A2	10,83 ± 1,64 g
No identificado	M7_A2	9,24 ± 0,87 g
<i>Trichoderma</i>	M1_A2	2,17 ± 4,35 g
	Control	0,00 ± 0,00 g

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, réplicas=4

En la Tabla 5 se observa que los aislados M1_A1 (*Fusarium*), M5_A2 (*Phytophthora*), M5_A1 (*Lasiodiplodia*) y algunos del género *Colletotrichum* como M2_A1, M3_A4, M6_A1 y M8_A2, mostraron la mayor severidad con valores entre 61,85 y 80,03 % de daño. Este nivel de daño corresponde a severidades de nivel cuatro (Alta, 51-75 %) y

de nivel cinco (Muy alta, 76-100 %) de acuerdo a la escala de Villamil *et al.* (2015) (Figura7).

Figura 7.

Sintomatologías de cepas: a) M1_A1 (*Fusarium*), b) M5_A2 (*Phytophthora*), c) M5_A1 (*Lasiodiplodia*) d) M2_A1 (*Colletotrichum*), e) M3_A4 (*Colletotrichum*), f) M6_A1 (*Colletotrichum*), g) M8_A2 (*Colletotrichum*) y h) Control (agua destilada estéril).



Estos resultados coinciden con estudios previos como los de Moreira *et al.* (2021) y Baruah *et al.* (2024), quienes reportaron que los frutos son más susceptibles a infecciones severas por hongos de los géneros *Lasiodiplodia* y *Phytophthora*, los cuales son responsables de la pudrición del fruto. Además, Carriel (2013), señala que el cacao CCN-51 es vulnerable a la mazorca negra.

Se debe destacar el comportamiento de *Trichoderma*, que mostró una baja incidencia y severidad en hojas y frutos, confirmando su papel como un agente biocontrolador

que inhibe el crecimiento de otros patógenos y estimula las defensas de la planta (Ten Hoopen & Krauss, 2016).

Estos resultados subrayan la importancia de dirigir las estrategias de manejo fitosanitario hacia los frutos, donde la incidencia y severidad de las infecciones son mayores. Además, el uso de agentes biocontroladores como *Trichoderma* podría ser una herramienta clave para reducir la severidad de las infecciones en el cacao, minimizando así las pérdidas en la producción y mejorando la sostenibilidad del cultivo.

- **Capacidad endofítica**

Los resultados de las pruebas de endofitismo se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6.

Resultados de pruebas de endofitismo en semillas de cacao a los 21 días postinoculación.

Aislado	Género	Longitud *		Diámetro *	Reaislamiento		
		Plúmula	Radícula		Hojas	Raíz	Tallo
M1_A1	<i>Fusarium</i>	0	12,1	2,5	-	-	-
M1_A2	<i>Trichoderma</i>	10,0	51,0	3,8	-	-	+
M2_A1	<i>Colletotrichum</i>	0	30,6	5,0	-	-	-
M3_A1	No identificado	0	0	0	-	-	-
M3_A2	<i>Fusarium</i>	2,6	28,1	1,8	-	-	-
M3_A3	<i>Xylaria</i>	0	0	0	-	-	-
M3_A4	<i>Colletotrichum</i>	0	0	0	-	-	-
M3_A5	No identificado	8,5	33,0	3,3	-	-	-
M5_A1	<i>Lasiodiplodia</i>	0	0	0	-	-	-
M5_A2	<i>Phytophthora</i>	9,8	50,5	2,0	-	-	-
M5_A3	<i>Phomopsis</i>	0	41,0	3,7	-	-	-
M6_A1	<i>Colletotrichum</i>	12,3	80,5	5,6	-	-	-
M6_A2	No identificado	0	20,3	2,8	-	-	-
M6_A3	No identificado	0	15,9	2,3	-	-	-
M6_A4	No identificado	0	64,5	2,7	-	-	-
M6_A5	No identificado	0	0	0	-	-	-
M7_A1	<i>Colletotrichum</i>	0	11,7	2,4	-	-	-
M7_A2	No identificado	8,4	76,1	3,6	-	-	-
M7_A3	<i>Colletotrichum</i>	8,1	18,3	2,1	-	-	-
M8_A1	<i>Colletotrichum</i>	0	0	0	-	-	-
M8_A2	<i>Colletotrichum</i>	12,3	57,0	3,7	-	-	-
M8_A3	No identificado	0	22,9	2,6	-	-	-
Control		11,2	78,8	3,4	-	-	-

*Medida en milímetros (mm)

En la Tabla 6 se observa que el aislado M1_A2 (*Trichoderma*) no causó síntomas de enfermedades en las plántulas (Figura 8) y pudo ser reaislado en el tallo, pero no en las hojas. Esta observación concuerda con el estudio de Villavicencio *et al.* (2020), quienes tampoco lograron un reaislamiento en las hojas, y con lo reportado por Mejía *et al.* (2008), quienes mencionan que algunos hongos de este género tienden a predominar en los tallos, actuando endófitos y desempeñado un rol importante en el control biológico de enfermedades.

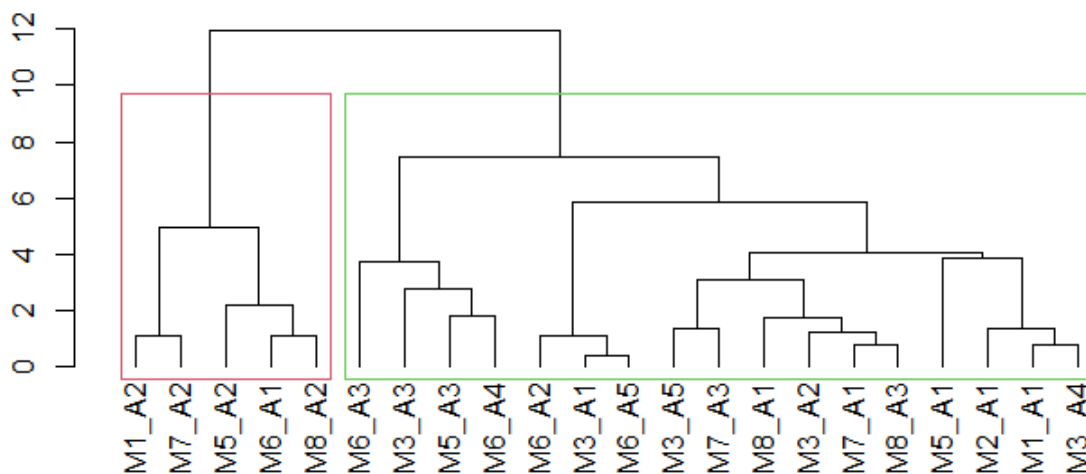
Figura 8.

Dinámica de crecimiento de semillas inoculadas con el aislados M1_A2 (Trichoderma sp.): a) a los 5 días; b) y c) a los 30 días. Parte inferior con el control sin inocular: d) a los 5 días; e y f) plántulas a los 30 días



A continuación, se realizó un análisis de conglomerados y un análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) con los datos del diámetro de cada colonia, de los datos de la severidad en hojas y frutos, y con la longitud de la radícula y la plúmula. Los resultados se observan en las Figuras 9 y 10.

Figura 9.
Dendrograma de los aislados fúngicos

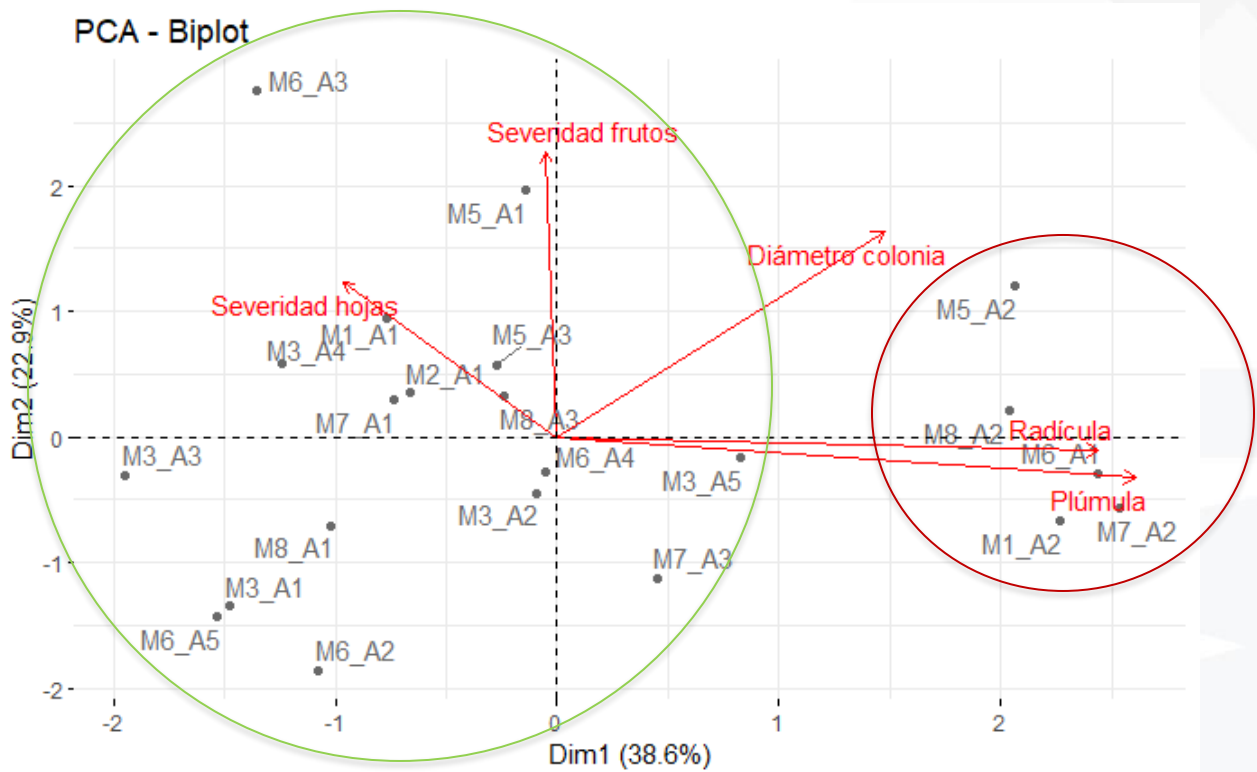


En el dendrograma de la Figura 9 se observa que se formaron dos grupos. El primer grupo está formado por los aislados M1_A2 (*Trichoderma*), M7_A2 (No identificado), M5_A2 (*Phytophthora*), M6_A1 (*Colletotrichum*) y M8_A2 (*Colletotrichum*). Por otra parte, el segundo grupo está formado por el resto de aislados.

Para entender la formación de los grupos, se analizó el gráfico biplot de la Figura 10, en donde se observa que el primer grupo de aislados (M1_A2, M7_A, M5_A2, M6_A1 y M8_A2) se caracteriza porque tiene valores altos de la longitud de la radícula y la plúmula, además de valores bajos de severidad en hojas. Esto se debe a que las flechas de la longitud de la radícula y la plúmula están juntas, por lo que están correlacionadas positivamente, mientras que la flecha de la severidad en hojas se encuentra del lado contrario de las variables anteriores, por lo que están correlacionadas negativamente. Por otra parte, las flechas de la longitud de la radícula

y la plúmula forman un ángulo de 90 % con la flecha de la severidad en frutos, por lo que no están relacionadas (Hair, 1999).

Figura 10.
Gráfico biplot de los aislados fúngicos



En el Tabla 6 se observa que los aislados del primer grupo (M1_A2, M7_A2, M5_A2, M6_A1, M8_A2) permitieron el crecimiento de las plántulas, lo que sugiere un rol potencialmente benéfico. Sin embargo, sólo M1_A2 (*Trichoderma*) pudo ser reaislado, lo que confirma sus propiedades endofíticas (Mejía et al., 2008).

En el caso del aislado M5_A2 (*Phytophthora*), el hecho de que permite el crecimiento de las plántulas sin ser reaislado, coincide con lo reportado por Vera et al. (2018) y Baruah et al. (2024), quienes señalan que *Phytophthora* puede infectar tejidos de plantas maduras, afectando especialmente los frutos y causando necrosis de afuera hacia adentro.

Finalmente, en el caso de los aislados M6_A1 y M8_A2 (ambos del género *Colletotrichum*), el hecho de no ser reaislados, coincide con lo reportado por Asman *et al.* (2018), quienes tampoco lograron reaislar estos hongos en hojas, tallos, ni raíces. Sin embargo, estos resultados difieren de los estudios de Mejía *et al.* (2008) y Hanada *et al.* (2010), quienes señalan que los hongos del género *Colletotrichum* pueden presentar propiedades endofíticas.

CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

1. El diagnóstico fitosanitario realizado en las plantaciones de cacao de la variedad CCN-51 de la comunidad Nueva Providencia muestra una alta incidencia de enfermedades fúngicas, como la pudrición helada del fruto (93,3 %), pudrición (83,3 %) y antracnosis (69,3 %), lo que evidencia un estado fitosanitario crítico en la plantación. Además, la presencia de cultivos circundantes como el plátano y el café, pueden contribuir a la propagación de estas enfermedades, ya que estos cultivos pueden actuar como reservorios de patógenos.
2. El género de hongo más abundante fue *Colletotrichum*, seguido por *Fusarium*, *Lasiodiplodia*, *Xylaria*, *Phytophthora*. y *Phomopsis*. *Colletotrichum* es el *principal* causante de la antracnosis, mientras que la alta incidencia de pudrición se atribuyó a *Lasiodiplodia* y *Phytophthora*. En ocho aislados se presentaron dificultades para su identificación, por lo que es necesario aplicar técnicas complementarias, como el análisis molecular.
3. Los resultados de la investigación muestran que los frutos de cacao son más susceptibles a las infecciones fúngicas, presentando una severidad significativamente mayor en comparación con las hojas y tallos. Aislados de los géneros *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Phytophthora* y *Lasiodiplodia* destacan por causar altos niveles de daño en los frutos, lo que resalta la necesidad de priorizar estrategias de manejo fitosanitario dirigidas a esta parte del cultivo. Por otro lado, *Trichoderma* mostró un bajo nivel de patogenicidad y endofitismo, confirmando su potencial como agente biocontrolador

5.2. Recomendaciones

1. Implementar un plan de manejo fitosanitario integrado, que combine prácticas culturales, control biológico y uso racional de fungicidas, para reducir la incidencia de las principales enfermedades observadas, como la pudrición helada, la pudrición y la antracnosis. Se puede promover una mayor distancia de siembra y mejorar la ventilación entre las plantas para minimizar la propagación de patógenos. Además, se recomienda llevar a cabo un monitoreo continuo de los cultivos circundantes, como el plátano y el café, para evitar la transferencia de enfermedades.
2. Se recomienda utilizar técnicas moleculares, como la secuenciación de ADN y la PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), para identificar los aislados que presentaron dificultades debido a la falta de esporulación. El empleo de bases de datos genéticos de hongos permitirá una comparación y clasificación más precisa de los aislados.
3. Se recomienda implementar un manejo integrado de enfermedades en las plantaciones de cacao, enfocando las estrategias en la protección de los frutos, que son la parte de la planta más susceptible a las infecciones fúngicas. Se sugiere el uso de agentes biocontroladores como *Trichoderma*, debido a su bajo nivel de patogenicidad y su capacidad para inhibir otros patógenos. Además, es esencial tomar medidas para reducir la incidencia de patógenos como *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Phytophthora* y *Lasiodiplodia*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfenas, A. C., & Mafia, R. G. (2016). *Métodos em Fitopatologia* (2.ª ed.). Universidad Federal de Vicosa (UFV).
- Ali-Shtayeh, M., Jamous, R., & Yaghmour, R. (1998). *Mycology Manual*. Nablus University, Department of Biology.
- Anecacao. (2023). *Tipos de cacao*. <https://anecacao.com/cacao-en-el-ecuador/tipos-de-cacao/>
- Anzules, V., Pazmiño, E., Alvarado, L., Borjas, R., Castro, V., & Julca, A. (2021). Control of cacao (*Theobroma cacao*) diseases in Santo Domingo de los Tsachilas, Ecuador. *Agronomía Mesoamericana*, 31(1). <https://doi.org/10.15517/am.v33i1.45939>
- Arias, F. G. (2012). *El proyecto de investigación. Introducción a la metodología científica* (6.ª ed.). Episteme. <https://abacoenred.org/wp-content/uploads/2019/02/El-proyecto-de-investigaci%C3%B3n-F.G.-Arias-2012-pdf-1.pdf>
- Aruna, U. M., Cooray, P. L. V. N., Ambanpola, N., & Thiruchchelvan, N. (2022). 23—Plant-pathogen interaction: Mechanisms and evolution. En R. Soni, D. C. Suyal, A. N. Yadav, & R. Goel (Eds.), *Trends of Applied Microbiology for Sustainable Economy* (pp. 655-687). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91595-3.00025-2>
- Asman, A., Amin, N., Rosmana, A., & Abdullah, T. (2018). Endophytic fungi associated with cacao branch and their potential for biocontrol vascular streak dieback disease on cacao seedling. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 157(1), 012039. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/157/1/012039>
- Barahona, V. D., Garmendia, Y. Y., Villalta, K. G., & Aguilar, J. A. (2022). Efectos del Cambio Climático en Centroamérica. *Rev. iberoam. bioecon. cambio clim.*, 8(16), 2018-2028. <https://doi.org/10.5377/ribcc.v8i16.15227>
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1999). *Illustrated genera of imperfect fungi* (4th ed., 2nd printing). APS Press.
- Baruah, I. K., Shao, J., Ali, S. S., Schmidt, M. E., Meinhardt, L. W., Bailey, B. A., & Cohen, S. P. (2024). Cacao pod transcriptome profiling of seven genotypes identifies features associated with post-penetration resistance to *Phytophthora palmivora*. *Scientific Reports*, 14(1), 4175. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54355-8>
- Bass, M. S., Finer, M., Jenkins, C. N., Kreft, H., Cisneros-Heredia, D. F., McCracken, S. F., Pitman, N. C. A., English, P. H., Swing, K., Villa, G., Di Fiore, A., Voigt, C. C., & Kunz, T. H. (2010). Global Conservation Significance of Ecuador's Yasuní National Park. *PLoS ONE*, 5(1), e8767. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008767>
- Bateman, R., & Crozler, J. (2023). *Pesticide use in cocoa* (4.ª ed.). Organisation internationale du cacao (ICCO). <https://www.eurococoa.com/wp-content/uploads/Manual-of-Pesticide-Use-in-Cocoa-2023.pdf>
- Blanes, J., Navarro, R. M., Drehwald, U., Bustamante, T., Moscoso, A., Muñoz, F., & Torres, A. (2003). *Las zonas de amortiguamiento: Un instrumento para el manejo de la biodiversidad*. 319.
- Bock, C. H., Barbedo, J. G. A., Del Ponte, E. M., Bohnenkamp, D., & Mahlein, A.-K. (2020). From visual estimates to fully automated sensor-based measurements of plant disease severity: Status and challenges for improving accuracy. *Phytopathology Research*, 2(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s42483-020-00049-8>
- Cabrera, Lady, Cabrera, A., & Vidaurte, J. (2024). Comunicación breve: Oportunidades y retos para el cacao fino de aroma peruano. *Revista Científica Pakamuros*, 12(1), 128-135. <https://doi.org/10.37787/c3ne4926>
- Calva, A., & Ramírez, P. (2016). *Guía técnica para el establecimiento y manejo del cacao Súper Árbol*. Brandipity. https://www.bivica.org/files/6054_Cacao_Guia_tecnica_final_18_10_16.pdf
- Carriel, D. (2013). *Evaluación temprana de resistencia a *Phytophthora* spp. En clones de cacao Nacional y Amazónico*. Universidad Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias [Tesis de grado].

- Castillo, M. (2020). Agroforestería como alternativa de desarrollo sostenible en el territorio indígena de Salitre, zona de amortiguamiento del Parque Internacional la Amistad. *Revista Espiga*, 19(39). <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=467862244005>
- Cepero, M., Restrepo, S., Franco, A., Cárdenas, M., & Vargas, N. (2012). *Biología de hongos* (Uniandes). Uniandes.
- Climate-data. (2024). *Datos climáticos mundiales*. <https://es.climate-data.org/>
- Cooke, B. (2006). Disease assessment and yield loss. En B. Cooke, G. Jones, & B. Kaye (Eds.), *The Epidemiology of Plant Diseases* (pp. 43-80). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/1-4020-4581-6_2
- Corral, J. J., García, P. A., Aguirre, S., Vargas, M., Guzmán, A., & Ávila, T. del C. (2024). Microorganismos antagonistas como manejo del marchitamiento de la zarzamora por *Fusarium oxysporum*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 15(3), e3655. <https://doi.org/10.29312/remexca.v15i3.3655>
- De Souza, P. A., Moreira, L. F., Sarmento, D. H. A., & Da Costa, F. B. (2018). Cacao—*Theobroma cacao*. En *Exotic Fruits* (pp. 69-76). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00010-1>
- Delgado, B. P., Ortega, J. A., Martínez, D. Y., & Martínez, B. M. (2021). Los hongos endófitos y sus aplicaciones potenciales en la agricultura. *Revista de Protección Vegetal*, 36(3), Article 3. <https://censa.edicionescervantes.com/index.php/RPV/article/view/1167>
- Dominguez, I., Talpă, N., Bularca, M. C., Hălălișan, A. F., Coman, C., & Popa, B. (2023). Socioecological Dynamics and Forest-Dependent Communities' Wellbeing: The Case of Yasuní National Park, Ecuador. *Land*, 12(12), 2141. <https://doi.org/10.3390/land12122141>
- Durán, E., & Dubón, A. (2016). *Tipos genéticos de cacao y su distribución geográfica en Honduras*. Fundación Hondureña de Investigación Agrícola [FHIA]. http://www.fhia.org.hn/descargas/Proyecto_de_Cacao_SECO/guia_tipos_geneticos_de_cacao_y_distribucion_geografica_en_honduras.pdf
- El Salous, A., Martillo, J., Gómez, J., & Martínez, F. (2020). Mejoramiento de la calidad del cultivo de cacao en Ecuador. *Revista Venezolana de Gerencia*, 25(3), 368-380.
- Evans, H. C., Holmes, K. A., & Thomas, S. E. (2003). Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. *Mycological Progress*, 2(2), 149-160. <https://doi.org/10.1007/s11557-006-0053-4>
- Falcão, L. L., Silva, J. O., Vilarinho, B. R., da Silva, J. P., Pomella, A. W. V., & Marcellino, L. H. (2014). Antimicrobial and plant growth-promoting properties of the cacao endophyte *Bacillus subtilis* ALB629. *Journal of Applied Microbiology*, 116(6), 1584-1592. <https://doi.org/10.1111/jam.12485>
- Fontaine, G., & Narváez, I. (2007). *Yasuní en el siglo XXI El Estado ecuatoriano y la conservación de la Amazonía*.
- Freile, J. A., Morgado, M., Pérez, G. A., Alemán, R. D., & Domínguez, J. (2018). Soil microorganisms and plant diseases associated to cocoa (*Theobroma cacao* L.) genotypes in the Ecuadorian Amazon. *Acta Agronómica*, 67(1), 23-29. <https://doi.org/10.15446/acag.v67n1.60828>
- González, A., Sánchez, A., Ochoa, Y. M., Galindo, Ma. E., Rodríguez, R., & Flores, L. M. (2019). Primer informe de *Nodulosporium* (Xylariaceae) en *Theobroma cacao* L. en Chiapas, México y pruebas de patogenicidad. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(4), 779-788. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i4.1657>
- González, L. L., Moreira, W. G., & Dueñas, A. A. (2022). La cadena de comercialización del cacao fino de aroma, cantón Pichincha, Ecuador. *ECA Sinergia*, 13(3), 86-95. <https://doi.org/10.33936/ecasinergia.v13i3.4689>
- Guerrero, R., Cevallos, O., & Eguez, E. (2020). El potencial del uso de microorganismos endófitos como agentes de control de enfermedades en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Centrosur*, 1(7), 1-18.

- Gutiérrez Pulido, H., & De la Vara Salazar, R. (2012). *Análisis y diseño de experimentos* (3.^a ed.). Mc Graw Hill.
https://www.academia.edu/32094439/An%C3%A1lisis_y_dise%C3%B1os_de_experimentos_3ra_edici%C3%B3n_Gutierrez_Pulido_pdf
- Hair, J. (1999). *Análisis multivariante*. Prentice Hall
- Hanada, R. E., Pomella, A. W. V., Costa, H. S., Bezerra, J. L., Loguercio, L. L., & Pereira, J. O. (2010). Endophytic fungal diversity in *Theobroma cacao* (cacao) and *T. grandiflorum* (cupuaçu) trees and their potential for growth promotion and biocontrol of black-pod disease. *Fungal Biology*, *114*(11), 901-910.
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2010.08.006>
- Hassan, O., & Chang, T. (2022). Morphological and molecular characteristics of fungal species associated with crown rot of strawberry in South Korea. *Molecular Biology Reports*, *49*(1), 51-62. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06841-9>
- Hernández, E. (2014). *Diagnóstico fitosanitario de cacao (Theobroma cacao L) en Chiapas*. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas [Tesis de maestría].
<http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/handle/10521/2517>
- Hernández Sampieri, R., Fernández, C., & Baptista, P. (2014). *Metodología de la investigación* (6.^a ed.). Mc Graw Hill Education.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=775008>
- Jiménez, F., Amend, T., & Kopsell, E. (2001). Agroforestería, zonas de amortiguamiento y áreas protegidas. En *Funciones y aplicaciones de sistemas agroforestales*.
- Jiménez, W., Ramírez, A., López, J., & Alvarez, A. (2022). Análisis filogenético de aislamientos patogénicos de la familia botryosphaeriaceae en cacao (*Theobroma cacao* L.) en la zona de Los Ríos. *Ciencia y Tecnología*, *15*(2), 45-54.
<https://doi.org/10.18779/cyt.v15i2.583>
- Kirchmeir, H., Celis, C., Desloover, D., & Kovarovics, A. (2023). *Guidance document on buffer zone management and buffer zone zonation for the UNESCO World Heritage Site «Ancient and Primeval Beech Forests of the Carpathians and Other Regions of Europe»*. 39. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.35883.00801>
- Kongor, J. E., Hinneh, M., De Walle, D. V., Afoakwa, E. O., Boeckx, P., & Dewettinck, K. (2016). Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile—A review. *Food Research International*, *82*, 44-52.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.012>
- Lanaud, C., Loor, R., Zarrillo, S., & Valdez, F. (2016). Origen de la domesticación del cacao y su uso temprano en Ecuador. *Yaguarzongo*, *55*, 12-14.
- Leandro-Muñoz, M. E., & Cerda, R. (2021). Guía para el manejo integrado de enfermedades en el cultivo de cacao. *Serie Técnica. Manual Técnico-Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza [CATIE]*.
<https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/10918>
- Martínez de la Parte, E., & Pérez, L. (2015). Incidencia de enfermedades fúngicas en plantaciones de cacao de las provincias orientales de Cuba. *Revista de Protección Vegetal*, *30*, 87-96.
- Martínez, K. (2022). *Comportamiento de Colletotrichum spp. En la mazorca de cacao (Theobroma cacao L.) bajo condiciones de laboratorio, en Milagro, Ecuador* [Universidad Agraria del Ecuador [Tesis de grado]].
<https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/MART%C3%8DNEZ%20VACA%20KAREN%20KATIUSCA.pdf>
- Mata, G., & Salmones, D. (2021). *Técnicas de aislamiento, cultivo y conservación de cepas de hongos en el laboratorio*. Instituto de Ecología [Inecol].
<https://www.uv.mx/personal/elsanmartin/files/2022/06/Hongos-Endofitos-Tecnicas-de-Aislamiento-Cultivos-y-Conservacion-de-Cepas-de-Hongos.pdf>
- Mejía, L. C., Rojas, E. I., Maynard, Z., Bael, S. V., Arnold, A. E., Hebbar, P., Samuels, G. J., Robbins, N., & Herre, E. A. (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Special Issue: Endophytes*, *46*(1), 4-14.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.012>

- Méndez, M., Maldonado, Y., & Cuevas, P. (2024). Hongos endófitos, aliados ocultos de las plantas. *Revista C+Tec*, 2, 52-57.
- Mestanza-Ramón, C., Sánchez, M., Cunalata, Á., Jiménez, M., & Toledo, M. (2019). Community Tourism In Ecuador: A Special Case In The Rio Indillama Community, Yasuní National Park. *International Journal of Engineering Research And*, V8(06), IJERTV8IS060413. <https://doi.org/10.17577/IJERTV8IS060413>
- Montilla, A., & Guzmán, D. (2018). *Parque Nacional Yasuní. Ecología y ecoturismo*.
- Mora, P., Arciniegas, W., Mata, A., Motamayor, A., & Arias, J. (2013). *Catálogo de clones de cacao seleccionados por el CATIE para siembras comerciales*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza [CATIE]. https://repositorio.catie.ac.cr/discover?filtertype_1=author&filter_relational_operator_1=contains&filter_1=Mata%20Quir%C3%B3s,%20Allan
- Morante, J., Acosta, M., Huebla, V., Agnieszka, A., Bru, R., & Cadme, M. L. (2017). Identificación de un gen codificante de polifenol oxidasa (PPO) en *Theobroma cacao* L. (cacao) de Ecuador. *Ciencia y Tecnología*.
- Moreira, A. A., Cedeño, Á. V., Canchignia, F., & Garcés, F. R. (2021). *Lasiodiplodiatheobromae*(Pat.) Griffon & Maubl [(syn.) *Botryodiplodia theobromae* Pat] in the cocoa crop: Symptoms, biological cycle, and strategies management. *Scientia Agropecuaria*, 12(4), 653-662. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.068>
- Moscoso, A. (2003). Desarrollos legales e institucionales sobre áreas protegidas y zonas de amortiguamiento en Bolivia, Ecuador y Perú. En *Las zonas de amortiguamiento: Un instrumento para el manejo de la biodiversidad. El caso de Ecuador, Perú y Bolivia* (pp. 35-105).
- Motamayor, J. C., Lachenaud, P., da Silva E Mota, J. W., Loor, R., Kuhn, D. N., Brown, J. S., & Schnell, R. J. (2008). Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L). *PloS One*, 3(10), e3311. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003311>
- Navarro, R., & Muñoz, F. (2003). Metodología para el estudio de sistemas agroforestales en zonas de amortiguamiento de áreas protegidas de bosque tropical en la vertiente oriental andina. En *Las zonas de amortiguamiento: Un instrumento para el manejo de la biodiversidad. El caso de Ecuador, Perú y Bolivia* (pp. 153-214).
- Paredes, M., & Borja, D. (2017). *Evaluación de la política pública de fomento productivo en el cultivo de cacao en chakra en la Reserva de Biósfera Sumaco* [Tesis maestría, Flacso]. <http://8.242.217.84:8080/xmlui/handle/123456789/3715>
- Paredes, N., Monteros, Á., Lima, L., Caicedo, C., Tinoco, L., Fernández, F., Vargas, Y., Pico, J., Subía, C., Burbano, A., Chanaluiza, A., Sotomayor, D., Díaz, A., Intriago, J., Chancosa, C., Andrade, A., & Enríquez, G. (2022). *Manual del cultivo de cacao sostenible para la Amazonía ecuatoriana*. N° 125 (1.ª ed.). Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias [INIAP]. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5833>
- Parrish, J., Reitma, R., Greenberg, R., McLarney, W., Mack, R., & Lynch, J. (1999). Los cacaotales como herramienta para la conservación de la biodiversidad en corredores biológicos y zonas de amortiguamiento. *Agroforestería en las Américas*, 6(22).
- Septiani, P., Pramesti, Y., Ningsih, D. U., Pancaningtyas, S., & Meitha, K. (2024). Identification of self- and pathogen-targeted miRNAs from resistant and susceptible *Theobroma cacao* variety to black pod disease. *Scientific Reports*, 14(1), 3272. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-53685-x>
- Solís, Z. K., Peñaherrera, S. L., & Vera, D. I. (2021). Las enfermedades del cacao y las buenas prácticas agronómicas para su manejo. *Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias [INIAP]*. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5747>
- Stępniewska, Z., & Kuźniar, A. (2013). Endophytic microorganisms promising applications in bioremediation of greenhouse gases. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(22), 9589-9596. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5235-9>

- Takata, Y., Ocampo, C., Malonzo, M. A. C., Pangilinan, D. C. J. C., Nozawa, S., & Watanabe, K. (2024). Description and Pathogenicity of *Colletotrichum kapreanum* sp. Nov, a Cherelle Wilt Pathogen Belonging to the *Gigasporum* Species Complex. *Journal of Fungi*, 10(3), 204. <https://doi.org/10.3390/jof10030204>
- Tamayo, L. E., Ramírez, S. I., López, O., Quiroga, R. R., & Espinoza, S. (2016). Extractos por destilación de *Origanum vulgare*, *Tradescantia spathacea* y *Zingiber officinale* para el manejo de *Moniliophthora roreri* de *Theobroma cacao*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(5), 1065-1076.
- Ten Hoopen, G. M., & Krauss, U. (2016). Biological control of cacao diseases. En M. L. W. (ed.) Bailey Bryan A. (ed.) (Ed.), *Cacao diseases: A history of old enemies and new encounters* (Agritrop : 579870; pp. 511-566). Springer International Publishing; Agritrop 6-sept-2024. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24789-2_17
- Triana, A., Jiménez, L., & Osorio, A. (2021). *Identificación de hongos endófitos presentes en mazorcas de Theobroma cacao de los municipios de Maceo y San Pedro de Urabá, Antioquia*. Universidad de Antioquia [Tesis de Pregrado]. <https://hdl.handle.net/10495/23969>
- Urdaneta, L., & Delgado, A. (2007). Identificación de la micobiota del filopiano del cacaotero (*Theobroma cacao* L.), en el municipio Carraciolo Parra Olmedo, estado Mérida, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 24(1), 47-68.
- Vera, M., Bernal, A., Leiva, M., Vera, A., Vera, D., Peñaherrera, S., Solís, K., Terrero, P., & Jiménez, V. (2018). Microorganismos endófitos asociados a *Theobroma cacao* como agentes de control biológico de *Moniliophthora roreri*. *Centro Agrícola*, 45(3), 81-87.
- Vera, R., Ramos, R., & Grijalva, J. (2024). Optimizing Pathogen Control through Mixed Cocoa–Plantain Agroecosystems in the Ecuadorian Coastal Region. *Agronomy*, 14(6), 1107. <https://doi.org/10.3390/agronomy14061107>
- Viera, W., Tello, C., Martínez, A., Navia, D., Medina, L., Delgado, A., Perdomo, C., Pincay, A., Baez, F., & Vasquez, W. (2020). *Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador*. 8(2), 128-149.
- Villalobos, F., & Fereres, E. (2017). *Fitotecnia. Principios de agronomía para una agricultura sostenible*. Ediciones Mundi-Prensa.
- Villamil, J. E., Viteri, S. E., & Villegas, W. L. (2015). Aplicación de Antagonistas Microbianos para el Control Biológico de *Moniliophthora roreri* Cif & Par en *Theobroma cacao* L. Bajo Condiciones de Campo. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 68, 7441-7450.
- Villamizar, R. A., Ortíz, O. O., & Escobar, J. W. (2017). Symbiotic and endophytic fungi as biocontrols against cocoa (*Theobroma cacao* L.) phytopathogens. *Summa Phytopathologica*, 43(2), 87-93. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2175>
- Villamizar, R., Osma, J. F., & Ortíz-Rodríguez, O. O. (2019). Regional Evaluation of Fungal Pathogen Incidence in Colombian Cocoa Crops. *Agriculture*, 9(3), 44. <https://doi.org/10.3390/agriculture9030044>
- Villavicencio, M., Espinoza, R., Sosa, D., & Pérez, S. (2018). Foliar endophyte fungi as candidate for biocontrol against *Moniliophthora* spp. Of *Theobroma cacao* (Malvaceae) in Ecuador. *Acta Biológica Colombiana*, 23(3), 235-241. <https://doi.org/10.15446/abc.v23n3.69455>
- Villavicencio, M., Schuler, L., Espinosa, F., Noceda, C., Sosa, D., & Pérez-Martínez, S. (2020). Foliar endophytic fungi of *Theobroma cacao* stimulate more than inhibit *Moniliophthora* spp. Growth and behave more as an endophytes than pathogens. *agriRxiv*, 2020. <https://doi.org/10.31220/agriRxiv.2020.00019>
- Weir, B. S., Johnston, P. R., & Damm, U. (2012). The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *complex species or species complexes?*, 73, 115-180. <https://doi.org/10.3114/sim0011>
- Winters, N. P., Wafula, E. K., Knollenberg, B. J., Hämälä, T., Timilsena, P. R., Perryman, M., Zhang, D., Sheaffer, L. L., Praul, C. A., Ralph, P. E., Prewitt, S., Leandro-Muñoz, M. E., Delgadillo-Duran, D. A., & Altman, N. S. (2024). A combination of conserved and

diverged responses underlies *Theobroma cacao*'s defense response to *Phytophthora palmivora*. *BMC Biology*, 22(1), 38. <https://doi.org/10.1186/s12915-024-01831-2>

Zapata, G., Suárez, E., Utreras, V., & Vargas, J. (2006). *Evaluation of anthropogenic threats in Yasuní National Park and its implications for wild mammal conservation*. 10(1), 31-41.

ANEXOS

Anexo 1

Actividades realizadas en campo y laboratorio.



Figura a. *Plantación de cacao Comunidad Nueva Providencia "PNY".*



Figura b. *Cultivo diversificado: cacao, plátano y café.*



Figura c. *Toma de muestras en campo.*



Figura d. *Antracnosis en hoja.*



Figura e. *Procesamiento de muestras en laboratorio.*

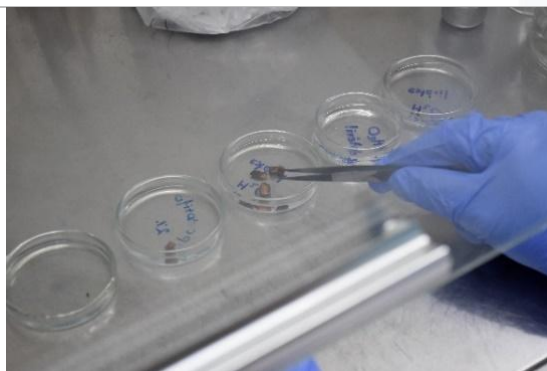


Figura f. *Desinfección de muestras (Alcohol 70%, Hipoclorito 2% y agua destilada estéril).*

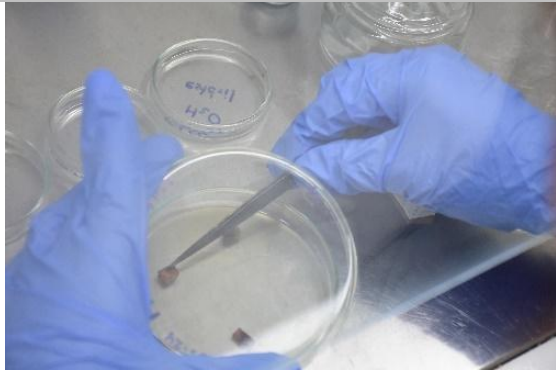


Figura g. Siembra de muestras en PDA.

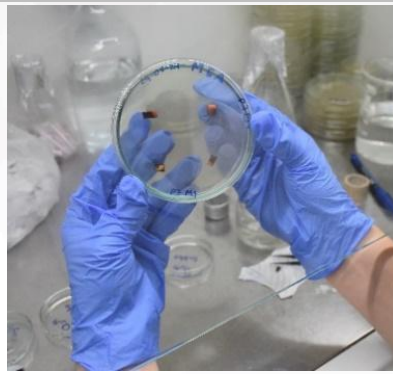


Figura h. Etiquetado y sellado de cajas Petri.



Figura i. Ejemplo de microcultivo.



Figura j. Ensayo de patogenicidad en hojas

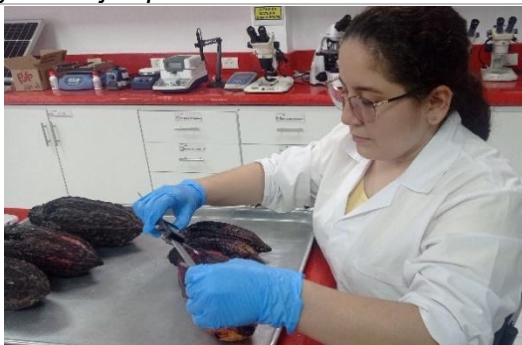
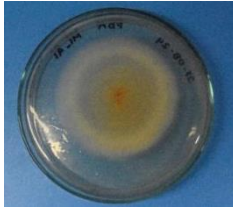

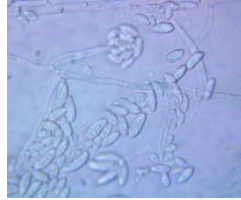


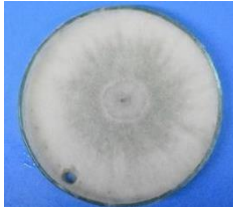
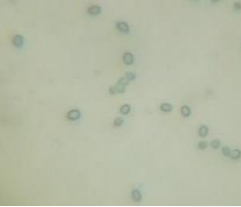
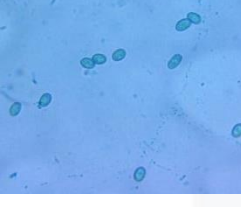



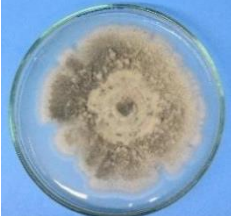
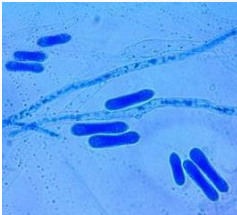

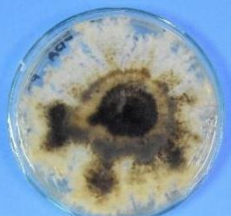


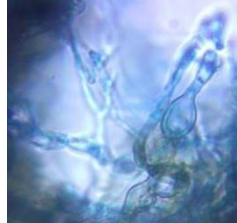
Figura k. Evaluación de sintomatologías en frutos

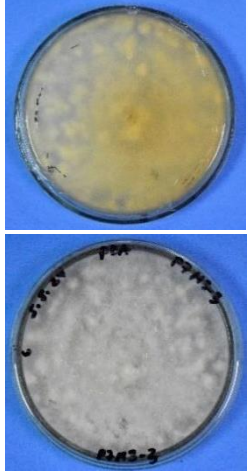
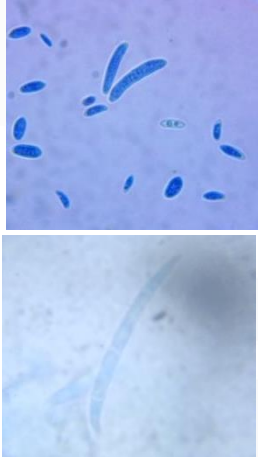
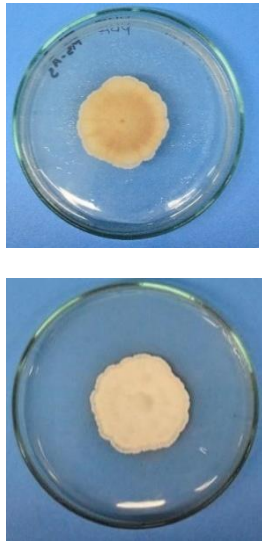
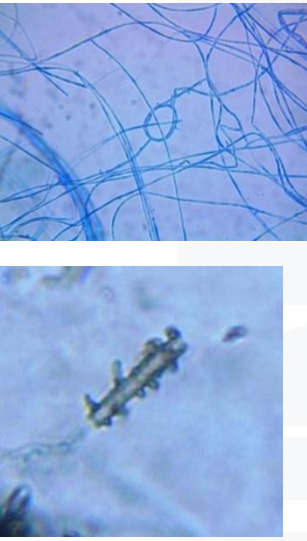


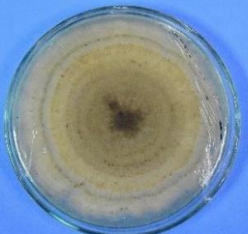
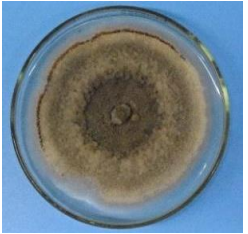
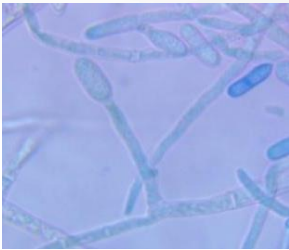
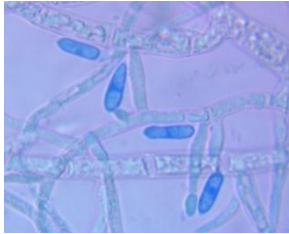
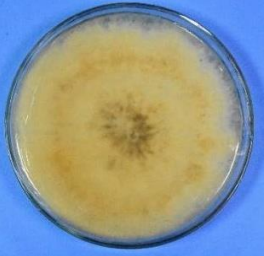
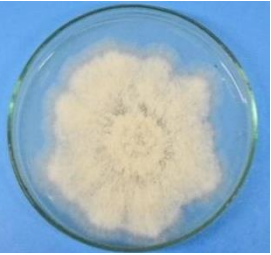
Figura l. Evaluación de sintomatologías en hojas


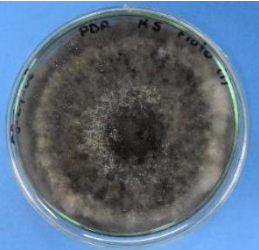

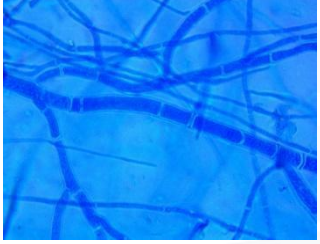
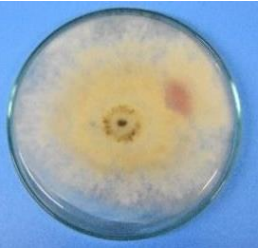

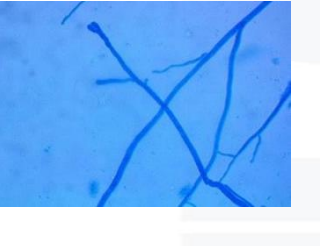
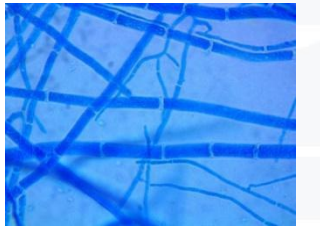
Anexo 2


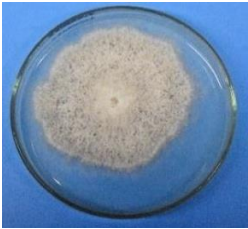

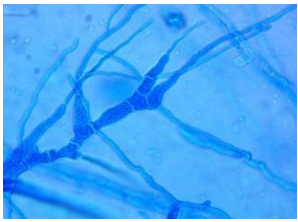
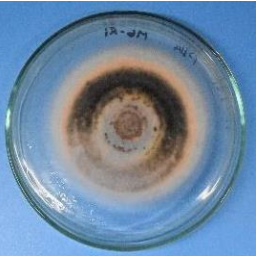
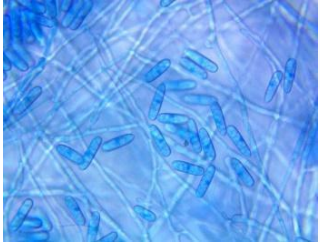

Número	Código aislado	Parte planta	Género	Síntomas	Características	Fotos de caracterización macroscópica	Fotos de caracterización microscópica
1	M1_A1	Fruto	<i>Fusarium</i>	Necrosis	Colonia de forma circular, textura algodonosa, superficie concéntrica plana, color anverso blanco hueso y reverso blanco a amarillo. Microconidios elipsoidales agrupados en falsas cabezas, polifiálide en botella y clamidosporas en cadena.	 	 
2	M1_A2	Fruto	<i>Trichoderma</i>	Necrosis	Colonia de forma irregular, superficie concéntrica elevada, color reverso amarillo-verde limón con pústula (conidios color verde) y color reverso blanco. Esporas globosas color verde.	 	 

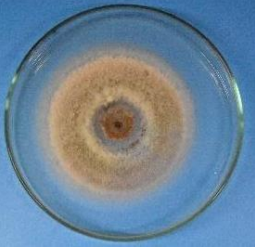

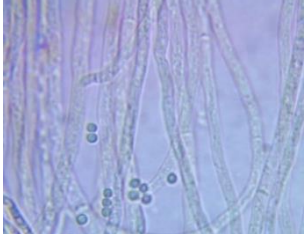
Número	Código aislado	Parte planta	Género	Síntomas	Características	Fotos de caracterización macroscópica	Fotos de caracterización microscópica
3	M2_A1	Fruto	<i>Colletotrichum</i>	Podredumbre	Colonia de forma irregular, superficie concéntrica, textura algodonosa, color anverso beige a gris y color reverso gris pálido. Conidios cilíndricos, conidióforo simple. Micelio hialino.	 	 
4	M3_A1	Hoja	No identificado	Necrosis	Colonia de forma irregular, superficie concéntrica y textura algodonosa plana. Color anverso marrón oscuro y color reverso beige. Clamidosporas intercaladas, hifas sin septos, célula conidiógena percurrente.	 	 





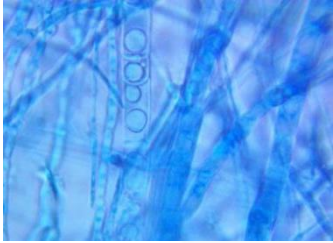
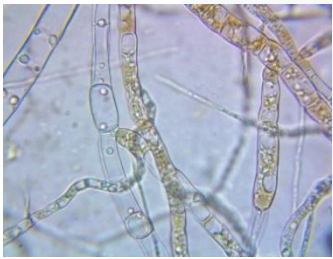
Número	Código aislado	Parte planta	Género	Síntomas	Características	Fotos de caracterización macroscópica	Fotos de caracterización microscópica
5	M3_A2	Hoja	<i>Fusarium</i>	Necrosis	<p>Colonia de forma circular, superficie rugosa, textura algodonosa. Color anverso amarillo pálido y reverso blanco. Microconidios elipsoidales y macroconidios en medialuna y septados. Polifialide. Clamidospora terminal y esporodoquia.</p>		
6	M3_A3	Hoja	<i>Xylaria</i>	Necrosis	<p>Colonia irregular, superficie concéntrica y textura aterciopelada. Color anverso beige y color reverso blanco. Hifas sin septos hialinas, brotación múltiple del conidióforo.</p>		


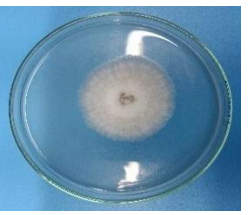
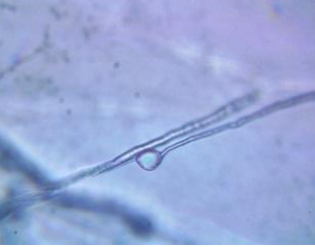
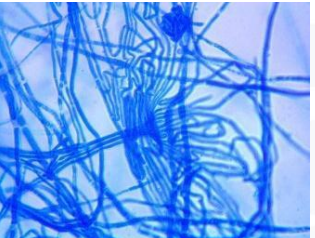
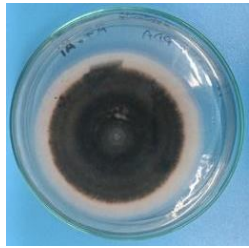
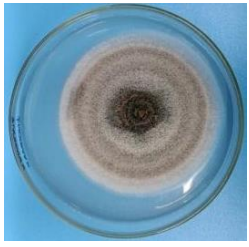
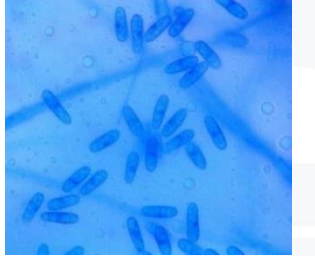
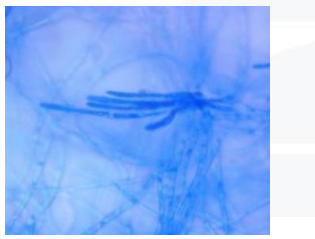
Número	Código aislado	Parte planta	Género	Síntomas	Características	Fotos de caracterización macroscópica	Fotos de caracterización microscópica
7	M3_A4	Hoja	<i>Colletotric hum</i>	Necrosis	Colonia de forma circular, superficie concéntrica y textura algodonosa plana. Color anverso gris pálido y color reverso gris oscuro con esporodoquios tono naranja. Didimoconidios cilíndricos. Fiálide en botella con cuello corto.	 	 
8	M3_A5	Hoja	No identificado	Necrosis	Colonia de forma irregular, superficie concéntrica y textura algodonosa plana. Color anverso beige y color reverso blanco.	 	

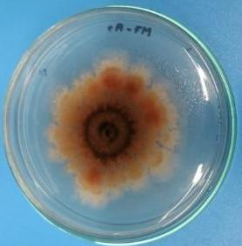



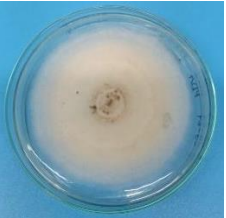
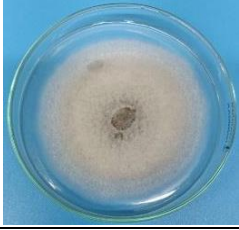

Número	Código aislado	Parte planta	Género	Síntomas	Características	Fotos de caracterización macroscópica	Fotos de caracterización microscópica
9	M5_A1	Fruto	<i>Lasiodiplodia</i>	Mancha negra y pudrición del fruto	Colonia irregular, superficie concéntrica y textura algodonosa elevada. Color anverso gris oscuro y color gris. Hifas septadas.	 	 
10	M5_A2	Fruto	<i>Phytophthora</i>	Mancha negra y pudrición del fruto	Colonia de forma irregular, superficie concéntrica y textura algodonosa plana. Color anverso beige y color reverso blanco. Hifas con septos.	 	 

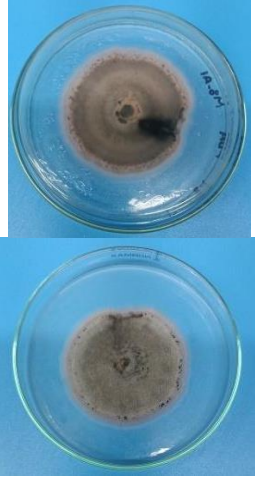
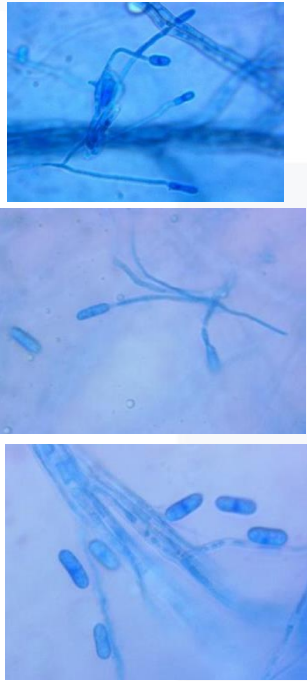
Número	Código aislado	Parte planta	Género	Síntomas	Características	Fotos de caracterización macroscópica	Fotos de caracterización microscópica
11	M5_A3	Fruto	<i>Phomopsis</i>	Mancha negra y pudrición del fruto	Colonia irregular, superficie concéntrica y textura algodonosa plana. Color anverso en el centro marrón oscuro a pálido color reverso blanco. Esporangio globoso. Hifas septadas. Beta conidios filiformes.	 	 
12	M6_A1	Hoja	<i>Colletotrichum</i>	Antracnosis	Colonia de forma circular, superficie concéntrica y textura algodonosa plana. Color anverso gris y naranja pálido, color reverso gris pálido. Didimoconidios cilíndricos, hifas hialinas septadas.		 

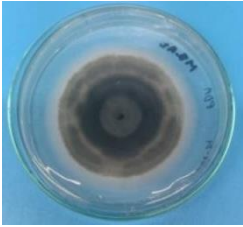

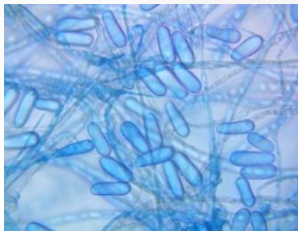
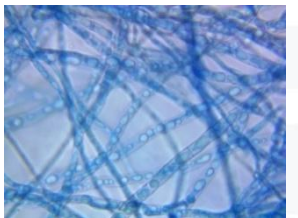
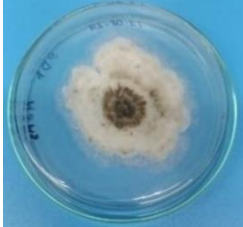


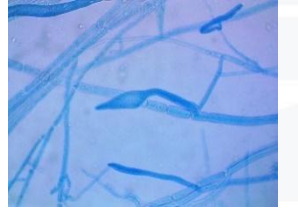
Número	Código aislado	Parte planta	Género	Síntomas	Características	Fotos de caracterización macroscópica	Fotos de caracterización microscópica
13	M6_A2	Hoja	No identificado	Antracnosis	Colonia circular, superficie concéntrica y textura algodonosa plana. Color anverso beige y color reverso blanco. Hifas hialinas septadas. Conidios globosos, clamidosporas en cadenas.		 

Número	Código aislado	Parte planta	Género	Síntomas	Características	Fotos de caracterización macroscópica	Fotos de caracterización microscópica
14	M6_A3	Hoja	No identificado	Antracnosis	Colonia de forma irregular, superficie radial y textura algodonosa. Color anverso y reverso beige	 	
15	M6_A4	Hoja	No identificado	Antracnosis	Colonia de crecimiento radial, superficie rugosa y textura algodonosa. Color anverso marrón oscuro a grisáceo y borde beige y color reverso marrón pálido. Hifas hialinas septadas con vacuolas esféricas.	 	 

Número	Código aislado	Parte planta	Género	Síntomas	Características	Fotos de caracterización macroscópica	Fotos de caracterización microscópica
16	M6_A5	Hoja	No identificado	Antracnosis	Colonia de forma circular, superficie radial y textura algodonosa. Color anverso marrón y blanco al borde y color reverso blanco.	 	 
17	M7_A1	Hoja	<i>Colletotrichum</i>	Antracnosis	Colonia de forma circular, superficie concéntrica y textura algodonosa. Color anverso gris oscuro y color reverso gris pálido. Didimoconidios cilíndricos. Hifas hialinas. Conidióforo ramificado.	 	 

Número	Código aislado	Parte planta	Género	Síntomas	Características	Fotos de caracterización macroscópica	Fotos de caracterización microscópica
18	M7_A2	Hoja	No identificado	Antracnosis	Colonia de crecimiento irregular, superficie radial y textura algodonosa. Color anverso marrón pálido y color reverso marrón pálido a beige. Hifas hialinas septadas	 	 
19	M7_A3	Hoja	<i>Colletotrichum</i>	Antracnosis	Colonia de forma circular, superficie concéntrica y textura algodonosa. Color anverso y reverso beige. Didimoconidios cilíndricos. Hifas hialinas con vacuolas esféricas. Conidióforo ramificado.	 	

Número	Código aislado	Parte planta	Género	Síntomas	Características	Fotos de caracterización macroscópica	Fotos de caracterización microscópica
20	M8_A1	Hoja	<i>Colletotric hum</i>	Antracnosis	Colonia de forma circular, superficie concéntrica y textura algodonosa. Color anverso y reverso blanco hueso. Didimoconidios cilíndricos. Hifas hialinas. Conidióforo ramificado. Esporodoquios color naranja		

Número	Código aislado	Parte planta	Género	Síntomas	Características	Fotos de caracterización macroscópica	Fotos de caracterización microscópica
21	M8_A2	Hoja	<i>Colletotrichum</i>	Antracnosis	Colonia de forma circular, superficie concéntrica y textura algodonosa. Color anverso gris oscuro y color reverso gris pálido. Didimoconidios cilíndricos. Hifas hialinas con vacuolas esféricas. Conidióforo ramificado.	 	 
22	M8_A3	Hoja	No identificado	Antracnosis	Colonia de forma circular, superficie concéntrica y textura algodonosa. Color anverso y reverso blanco hueso. Didimoconidios cilíndricos. Hifas hialinas. Conidióforo ramificado. Esporodocios color naranja	 	 



epoch | Decanato de Investigaciones

Oficio Nro. 1510.DLESPOCH.2024

Riobamba, 05 de abril de 2024

Asunto: Registro DDI ingreso al proyecto de la estudiante Jhosselyn Andrea Peñafiel Romero

Señor Licenciado
Asterio Denis Barbaru Grajales PhD
Director Proyecto de Investigación
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

Señor Ingeniero
Fredy Patricio Erazo Rodriguez
Profesor Ocasional
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
En su Despacho

De mi consideración:

Luego de hacerle llegar un cordial saludo, en respuesta al documento No. ESPOCH-IDIFI-329-2024-0033-O, y de acuerdo a la normativa de investigación vigente se procede a registrar y legalizar el ingreso de la señorita **Jhosselyn Andrea Peñafiel Romero CI: 21501428222**, en calidad de investigadora tesista de posgrado, de la maestría en Biotecnología de la Universidad de Milagro, quien se integra desde el 05 de marzo 2024, con una participación de 16 horas semanales en el proyecto de investigación "Monitoreo de enfermedades y parásitos emergentes y reemergentes en relación con los cambios medioambientales de ecosistemas en las áreas protegidas de la Cuenca del Río Napo-Orellana". Fecha de Inicio 02 de enero 2023 y fecha fin 31 de diciembre 2024.

Las actividades registradas de responsabilidad de la investigadora son:

- 1. Identificación de Plantas Susceptibles:** Investigar y hacer una lista de plantas conocidas por ser susceptibles a ciertos patógenos. Clasificar las plantas en categorías según su susceptibilidad.
- 2. Preparación de Materiales de Muestreo:** Aprender a esterilizar herramientas de muestreo, como tijeras, cuchillas, y bolsas de recolección. Preparar medios de cultivo y soluciones para el transporte de muestras.
- 3. Diseño de Muestreo:** Planificar un diseño de muestreo que sea representativo y abarque diversas áreas. Establecer un protocolo para la recolección sistemática de muestras.
- 4. Recolección de Muestras:** Realizar salidas de campo para recolectar muestras de plantas sospechosas de estar infectadas. Etiquetar adecuadamente cada muestra con información relevante.
- 5. Procesamiento de Muestras:** Aprender técnicas de procesamiento de muestras, como



Riobamba-Ecuador
Panamericana Sur km 1 1/2
Código Postal: EC060155

Teléfono: 593 (03) 2598-200
Telefax: (03) 2 317-001

epoch.edu.ec



Oficio Nro. 1510.DLESPOCH.2024

Riobamba, 05 de abril de 2024

la extracción de ADN o ARN. Realizar pruebas de laboratorio para detectar la presencia de patógenos.

6. Análisis de Datos: Analizar los resultados de las pruebas y registrar la presencia o ausencia de patógenos en cada muestra. Interpretar los datos para identificar patrones o tendencias.

7. Informe y Comunicación: Crear informes detallados que documenten el proceso de muestreo, los métodos utilizados y los resultados obtenidos. Presentar los hallazgos en presentaciones para compartir con otros estudiantes o profesionales.

8. Discusión y Mejora: Participar en discusiones sobre los resultados y posibles medidas de control. Proponer mejoras en los procedimientos de muestreo y detección.

Con sentimientos de distinguida consideración. Suscribo.

Atentamente,
SABER PARA SER

Documento firmado electrónicamente

Dra. Yolanda Dolores Díaz Heredia, MsC
DECANA DE INVESTIGACIONES

Referencias:

- ESPOCH-IDIPI-329-2024-0033-O

Anexos:

- Solicitud de ingreso-signed Joselyn.pdf
- Hoja de Vida Joselyn.pdf

mb



Verificación electrónica de:
**YOLANDA DOLORES
DÍAZ HEREDIA**



Riobamba-Ecuador
Panamericana Sur km 1 1/2
Código Postal: EC060155

Teléfono: 593 (03) 2598-200
Teléfono: (03) 2 317-001

epoch.edu.ec

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

¡Evolución académica!

@UNEMIEcuador

