

# Aislamiento de microorganismos para control biológico de *Moniliophthora roreri*

## Isolation of microorganisms for biological control of *Moniliophthora roreri*

Liliana Yanet Suárez Contreras\* y Alba Luz Rangel Riaño\*\*

\*Maestría en Biología, departamento del Medio Ambiente, Universidad Francisco de Paula Santander, Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente, Cúcuta. \*\*Ingeniera biotecnológica, departamento del Medio Ambiente, Universidad Francisco de Paula Santander, Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente, Cúcuta. Autora para correspondencia: lilianayanethsc@ufps.edu.co.

Rec.: 20.12.12 Acep.: 09.01.14

### Resumen

*Moniliophthora roreri* es un hongo que causa la moniliasis, una enfermedad de la mazorca en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao*), con pérdidas hasta del 60% de la cosecha. El control biológico utilizando microorganismos endófitos surge como una alternativa para el manejo de esta enfermedad. En la presente investigación se evaluaron microorganismos con potencial para control biológico de *M. roreri* en Norte de Santander, Colombia. Para el efecto, se aisló e identificó este fitopatógeno y se utilizaron protocolos de desinfección de los posibles microorganismos antagonistas con siembras por diluciones seriadas, selección de los géneros microbianos con mayor potencial antagónico y evaluación de las cepas por la prueba de plato dual para evaluar el efecto biocontrolador de los hongos y la antibiosis para bacterias. Se tomaron muestras en los municipios de Cúcuta, Sardinata, El Tarra, Tibú y El Zulia, de las cuales se aislaron 17 cepas del fitopatógeno y 20 entre hongos y bacterias. De éstas se seleccionaron cuatro cepas de hongos y tres de bacterias por su capacidad antagónica contra *M. roreri*. Los mejores porcentajes de inhibición de crecimiento radial (PICR) se alcanzaron con *Paecilomyces* sp. (HC002) vs *M. roreri*, con una media de 80.72%, seguido del tratamiento con *Paecilomyces* sp. (HZ002) vs *M. roreri* con 79.45%. Se demostró que el hongo *Paecilomyces* sp. también tiene un alto potencial antagónico in vitro frente a *M. roreri*. Al evaluar la antibiosis de las bacterias aisladas, se encontró que *Bacillus brevis* (BZ005) fue la más efectiva en todos los sitios del estudio, con porcentajes superiores a 89%.

**Palabras claves:** Antagonistas, antibiosis, cacao, control biológico, *Moniliophthora roreri*.

### Abstract

*Moniliophthora roreri* is the causal agent of cocoa Moniliasis, which produces losses of up to 60% of the crop, as it affects only its commercial product, the cob. Biological control appears as an alternative management, using endophytic microorganisms. The reason because of this research came up was that it was aimed to isolate microorganisms with antagonist potential for biological control towards the phytopathogen *M. roreri* in Norte de Santander. This is done through isolation and identification of the phytopathogen using disinfection protocols and potential antagonists to it, with serial dilutions sows, microbial genera selection with the highest antagonist potential, and the evaluation of these through a dual plate to assess the biocontrol fungi effect and antibiosis for bacteria evaluation. We took samples in the municipalities of Cucuta, Sardinata, El Tarra, Tibu and El Zulia. As a result, we succeeded in isolating 17 phytopathogen strains and 20 strains (14 fungi and 6 bacteria). Of these strains, we chose 4 fungi strains and 3 bacteria. When we assessed the fungi and bacteria's antagonistic capacity associated with cocoa against *M. roreri*, we obtained that the best PICR was T1 with an average of

80.72%, followed by T2 with 72.45%. This demonstrated that *Paecilomyces* sp. fungus presents the most inhibitory effect in vitro. Finally, we found that the *Bacillus brevis* (BZ005) strain was the most effective, with values higher than 89% for the bacterial isolates antibiosis evaluation.

**Key words:** Antagonist, antibiosis, biological control, cocoa, *Moniliophthora roreri*.

## Introducción

La moniliasis es causada por el hongo *Moniliophthora roreri* que infecta exclusivamente frutos jóvenes de cacao y de otras especies afines y destruye las semillas que son el producto comercial. Su rápida diseminación y los graves daños que ha causado en once países tropicales han incrementado la preocupación por su diseminación a otros continentes. A pesar de su importancia, hasta hace pocos años se ignoraban aspectos básicos del hongo como su sitio de origen, el nivel de distribución de la diversidad genética, la taxonomía, la forma de reproducción, entre otros, los cuales son clave para reforzar los controles cuarentenarios, dentro y entre países, para diseñar estrategias de combate más efectivas y duraderas y para afinar la búsqueda de nuevas fuentes de resistencia y organismos antagonistas para biocontrol (Philips-Mora, 2007).

En Colombia la moniliasis es considerada como el principal problema fitosanitario y la enfermedad más agresiva de la especie *cacao* y su incidencia es favorecida por el manejo deficiente de las plantaciones; actualmente se encuentra presente en todas las áreas productoras de cacao más importantes donde causa pérdidas hasta de 60% de la producción (Grisales y Afanador, 2007). Ramírez, (2011) estima que el Departamento de Norte de Santander produce al año 4500 t de cacao en 12.000 ha cultivadas, principalmente en los municipios de Tibú, El Zulia, Cúcuta, El Tarra, Teorama, Sardinata, Bucarasica, Cáchira, La Esperanza y Ocaña, donde tuvo lugar el presente trabajo.

Tradicionalmente el manejo de la enfermedad en Colombia consiste en la remoción de frutos enfermos, podas sanitarias y remplazo de árboles susceptibles por medio de injertación y clonación. En la actualidad, aunque con menor aplicación a nivel de campo, el manejo biológico surge como una alternativa promisoriosa para el control del fitopatógeno, con resultados exitosos con-

tra un amplio rango de ellos (Fravel, 2005). Estudios realizados durante los últimos años han demostrado el gran potencial de hongos (Krauss y Soberanis, 2003; Suárez y Cabrales, 2008) y bacterias endófitas para el control de la moniliasis. Entre los microorganismos más importantes se encuentran las bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* y hongos de los géneros *Gliocladium* y *Trichoderma*. Este último es el más utilizado para el control de un grupo importante de patógenos del suelo (CATIE, 2001). Dentro de los principales mecanismos de acción que poseen estos agentes de biocontrol están el micoparasitismo, la competencia por nutrientes, la antibiosis, la tolerancia a factores ambientales adversos, la resistencia a plagas y enfermedades, la promoción de crecimiento vegetal, entre otros. En pruebas in vitro microorganismos endófitos nativos aislados de cacao mostraron ser promisorios agentes antagónicos contra *M. roreri* (Jaimes et al., 2008), entre los principales antagonistas se encontraron hongos de los géneros *Trichoderma*, *Lecanicillium*, *Gliocladium* y *Paecilomyces*, bacterias de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas* y actinomicetos.

El objetivo del proyecto fue aislar microorganismos con potencial antagónico al hongo *M. roreri* para control biológico en Norte de Santander y evaluar en condiciones in vitro, la capacidad antagónica de los microorganismos nativos aislados frente al fitopatógeno.

## Materiales y métodos

### Obtención de cultivos puros de *M. roreri*

Para la obtención de estos cultivo, a partir de las muestras (mazorcas del cultivo) obtenidas en campo se cortaron trozos de epidermis del fruto de 0.5 cm en los límites del área enferma con la zona donde no existía crecimiento fúngico. A continuación se realizaron cinco protocolos de desinfección, variando las concentraciones y los tiempos de exposición de los trozos en soluciones de alcohol e hipoclori-

to. Luego se secaron con servilletas estériles y se sembraron en medio de cultivo PDA, a pH 5.5 donde se incubaron a 28 °C durante 8 a 10 días, al término de los cuales se aislaron e identificaron colonias del fitopatógeno *M. roreri*, según las características macroscópicas, microscópicas y claves taxonómicas (Barnett y Hunter, 1972). Las colonias del fitopatógeno identificadas fueron conservadas mediante dos métodos diferentes; el primero, en círculos de papel filtro colonizados con el hongo y almacenados en microtubos a 4 °C y el segundo, en viales con solución salina estéril al 0.85% de NaCl, refrigerados a 4 °C para estudios posteriores.

**Aislamiento y purificación de microorganismo con potencial antagónico.** Con muestras de suelo obtenidas de los cultivos de cacao se realizaron diluciones seriadas hasta  $10^{-4}$ . Se sembraron en superficie 100  $\mu$ l de la dilución  $10^{-3}$  para hongos en agar PDA con antibiótico (Gentamicina 2 ml/l), pH 5.5 y se incubaron a 28 °C durante 5 días; para las bacterias se utilizó la dilución  $10^{-4}$  en agar nutritivo y se incubó a 37 °C por 48 h. Luego se seleccionaron las colonias de los respectivos microorganismos aislados, tanto hongos como bacterias, que fueron identificadas y escogidas como posibles antagonistas al fitopatógeno *M. roreri*, teniendo en cuenta las características macroscópicas y microscópicas del microorganismo, antes de realizar una purificación mediante pases en medios específicos para cada especie, hasta obtener cepas puras de cada microorganismo.

**Identificación y selección de los géneros microbianos con mayor potencial antagónico.** Para la identificación de los hongos se tuvieron en cuenta características morfológicas (macroscópicas y microscópicas). Para la identificación de bacterias se realizó tinción de Gram y se tomaron aquellas de interés (bacilos Gram (+)) para realizar las pruebas bioquímicas específicas mediante el sistema de diagnóstico BBL Crystal para Gram positivos. Los aislamientos obtenidos a partir de las muestras de suelo fueron conservados en viales con solución salina estéril a 0.85% de NaCl y refrigerados a 4 °C para posteriores estudios.

**Evaluación in vitro del potencial antagónico de hongos (plato dual).** Esta prueba se realizó siguiendo la metodología descrita por Meza *et al.* (2008), con algunas modificaciones. En cajas Petri previamente marcadas con una tira de cinta de extremo a extremo, se marcaron dos puntos distantes 4 cm, en medio de cultivo PDA. Se tomó una porción de la colonia esporulada del fitopatógeno y se colocó en uno de los puntos, donde creció aproximadamente 4 cm; de forma similar se inocularon en el lado opuesto los hongos evaluados como antagonistas (Tratamientos) (T1 = HC002: *Paecilomyces* sp., T2 = HZ002: *Paecilomyces* sp., T3 = HC006: *Paecilomyces* sp. y T4 = HS022: *Gliocladium* sp.). Cada fitopatógeno fue sembrado como control en cajas separadas que se incubaron a 28 °C durante 8 días. Para la evaluación, cada día y en cada tratamiento se tomaron las medidas del diámetro de la colonia del fitopatógeno y del testigo, hasta cuando el testigo cubriera el total de la caja Petri. Para el cálculo del porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) se utilizó la fórmula propuesta por Meza *et al.* (2008). Para evaluar los efectos directos que causan los hongos antagonistas frente al fitopatógeno *M. roreri* se empleó la técnica de microcultivo de Ridell, descrita por Quiroz-Sarmiento y Ferrera (2008), con algunas modificaciones.

**Detección de antibiosis para bacterias.** Para la prueba de antibiosis de las bacterias seleccionadas se siguió el protocolo propuesto por Bittencourt y Da Silva (2000), con algunas modificaciones. Las bacterias fueron seleccionadas y sembradas en estrías equidistantes y paralelas en agar nutritivo en cajas Petri previamente marcadas y donde cada estría correspondió a una bacteria. Después de esta etapa, las cajas Petri fueron descubiertas y expuestas a radiación ultravioleta durante 20 min con el objeto de ocasionar la muerte de las colonias de bacterias, luego fueron cubiertas con una capa de agar PDA con antibiótico (Cloranfenicol 25 mg/ml), para proceder a sembrar los diferentes aislamientos de *M. roreri* en estrías perpendiculares a las primeras, de tal forma que cada aislamiento del fitopatógeno tuviera un punto de intercepción con las estrías de las bacterias

en estudio. Las cajas fueron incubadas a 28 °C. y las lecturas se hicieron diariamente durante el periodo que demoró el testigo (cepa del fitopatógeno en ausencia de la bacteria) para cubrir el total de área experimental. Para calcular los porcentajes de inhibición de crecimiento radial (PICR) se utilizó la fórmula propuesta por Orberá *et al.* (2009). Los datos fueron analizados utilizando Anova en un diseño anidado completamente al azar. Las diferencias estadísticas se discriminaron según la prueba de significancia estadística de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Los análisis estadísticos se realizaron con el software SAS (Statistical Analysis System) versión 9.1.3.2003. y las gráficas con el programa GraphPad Prism versión 2.01.1996.

## Resultados y discusión

### Obtención de cultivos puros de *M. roreri*.

En los muestreos se incluyeron doce fincas correspondientes a once veredas. En ellas se consiguieron 17 aislamientos del fitopatógeno *M. roreri* pertenecientes a los cinco municipios representativos como población (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Número de aislamientos de *M. roreri* por municipio. Norte de Santander, Colombia.

Municipio	Número de cepas
Cúcuta	3
Sardinata	4
El Tarra	4
Tibú	3
El Zulia	3
<b>Total</b>	<b>17</b>

**Características macroscópicas de *M. roreri*.** En general las colonias presentaron crecimiento radial en áreas concéntricas formando anillos con tonalidades diferentes desde el centro de la colonia hasta el borde, cada una de las cuales presentó una tonalidad variable dentro de la misma coloración general de la colonia (café oscuro, amarillento y claro, crema) en su mayoría con textura polvosa, seguida de textura afelpada, con bordes enteros y estriados. (Foto 1).

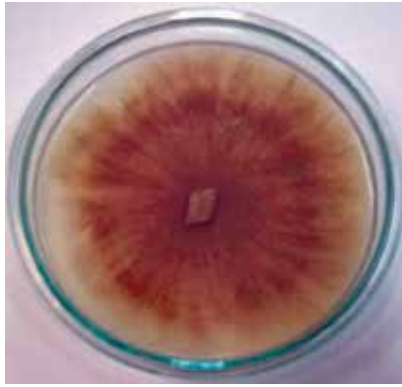
**Características microscópicas de *M. roreri*.** Las esporas se producen en cadena, son globosas, subglobosas, elípticas o cilíndricas;

conidias globosas; hifas y conidias hialinas; micelio hialino y brillante (Suárez, 2006), (ver Foto 1).

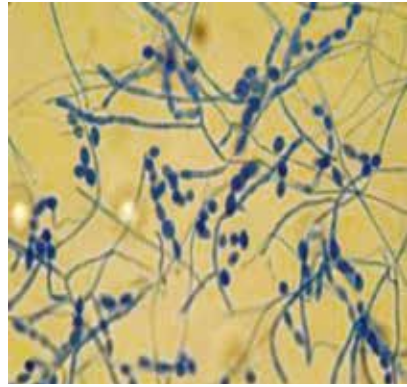
Las cepas purificadas e identificadas fueron conservadas en papel filtro; el hongo se desarrolló normalmente sobre el papel y lo cubrió totalmente en aproximadamente 15 días. Con ayuda de una pinza estéril se retiraron los papeles colonizados y se depositaron en tubos Eppendorf que fueron almacenados en sobres y guardados en bolsas Ziploc a 4°C. **Aislamiento y purificación de microorganismo con potencial antagonico para *M. roreri*.** Después de los procesos de aislamiento y purificación, se obtuvieron un total de veinte cepas, correspondientes a catorce de hongos y seis de bacterias, provenientes principalmente del municipio de Sardinata (nueve cepas de hongos y dos de bacterias), seguido del municipio de Cúcuta (cuatro cepas), El Zulia (una cepa de hongos y dos de bacterias), El Tarra (una cepa de bacterias) y Tibú (una cepa de bacterias).

**Identificación de hongos con potencial antagonico para *M. roreri*.** Se identificaron seis géneros: *Fusarium* sp.(4), *Aspergillus* sp. (1), *Geotrichum* sp. (1), *Penicillium* sp. (2), *Paecilomyces* sp. (5) y *Gliocladium* sp., de un total de 14 cepas de hongos aisladas. Una vez identificados los microorganismos aislados, se seleccionaron cinco cepas de *Paecilomyces* sp. y las cepas de *Gliocladium* sp. Estos hongos fueron utilizados en los ensayos in vitro como antagonicos al fitopatógeno *M. roreri*. Rodríguez y Osorio (2005) en ensayos de plato dual encontraron los mayores porcentajes de inhibición de crecimiento radial del fitopatógeno (entre paréntesis), con *Trichoderma* (51%), *Gliocladium* (48.2%), *Lecanicillium* (*Verticillium*) (31.42%), y *Paecilomyces* (34.28%).

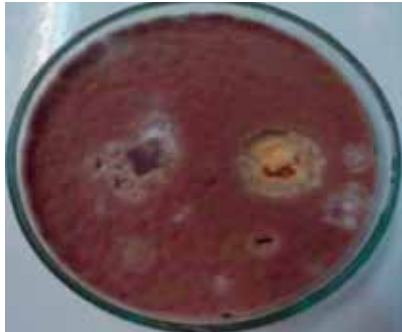
**Identificación de bacterias con potencial antagonico para *M. roreri*.** Se identificaron las bacterias: BS012: *Corynebacterium aquaticum*, BZ003: *Micrococcus luteus*, BS002: *Bacillus cereus*, BTI001: *Bacillus brevis*, BZ005: *Bacillus brevis*, y BTA005: *Bacillus megaterium*. De éstas se tomaron *B. cereus*, *B. brevis*, y *B. megaterium* para realizar las pruebas de antagonismo, ya que han sido estudiadas contra diferentes especies de fitopatógenos.



*M. roleri*



Estructuras microscópicas de *M. roleri*



Antagonismo. Izq. T1 (*Paecilomyces* sp. (HC002) vs *M. roleri*).  
Der. T3 (*Paecilomyces* sp. (HC006) vs *M. roleri*).



Antagonismo *Gliocladium* sp.  
contra *M. roleri*.



Antagonismo al microscopio.  
*Paecilomyces* sp. vs *M. roleri*.



Antibiosis durante la prueba de antagonismo.  
Izq. T1 (*Bacillus brevis* vs *M. roleri*). Der. T2 (*Bacillus cereus* vs *M. roleri*).

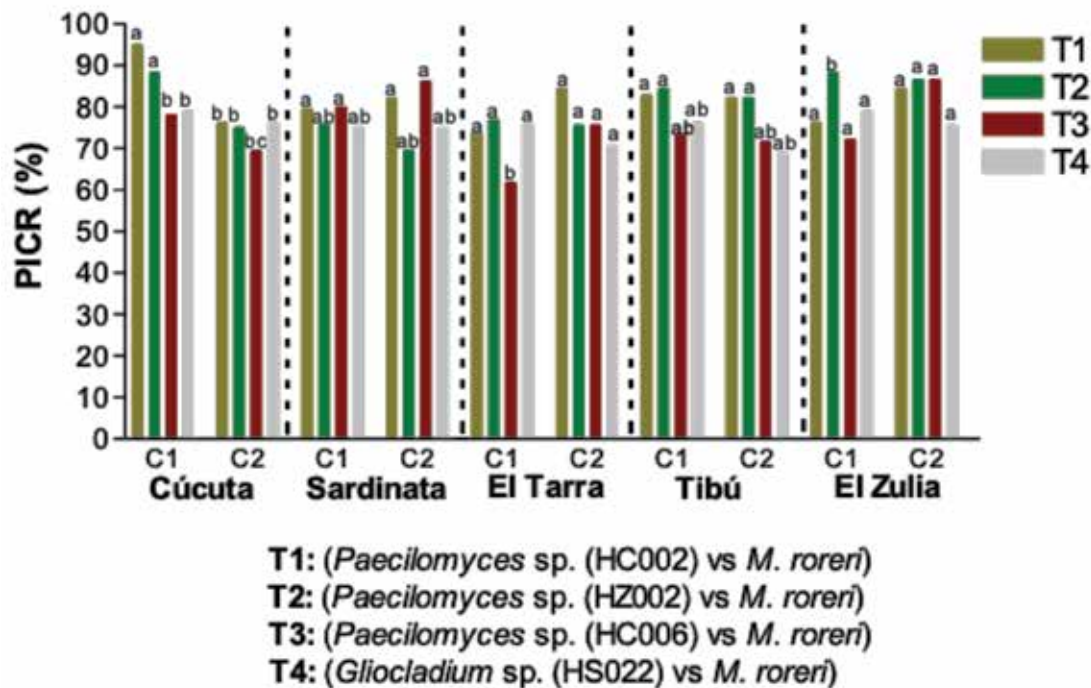
**Foto 1.** Detalles de estructuras de *M. roleri* y antagonismos con los hongos y bacterias evaluados.

**Potencial antagonístico de hongos.** La evaluación de antagonismo se realizó hasta el día 23 y los resultados del PICR por cada municipio aparecen en la Figura 1. Todos los tratamientos con hongos antagonistas presentaron porcentajes de inhibición superiores a 60% frente a los 10 aislamientos del fitopatógeno *M. roreri*. Los mejores resultados de PICR ocurrieron con el T1 con una media de 80.72%, seguido por el T2 con 79.45%. Se encontró que el hongo *Paecilomyces* sp. tiene el mayor efecto inhibitorio in vitro frente al fitopatógeno y se identificaron como mecanismos de acción el micoparasitismo y la antibiosis (ver Foto 1), según Osorio (2010) el antagonista es producto de sustancias con capacidad para interferir en procesos como la germinación, la producción de esporas y el crecimiento micelial de hongos patógenos.

Tanto en el T1 como en el T2 los mejores resultados se obtuvieron en los municipios de proveniencia de los antagonistas, como ocurrió para El Zulia donde el tratamiento que mostró el mejor potencial (83.33% de inhibición) fue el que utilizó la cepa HZ002 y en el municipio de Cúcuta (80.72%) con la

cepa HC002 nativa de la región. Rodríguez y Osorio (2005) encontraron que algunos aislamientos de *Paecilomyces* sp. en pruebas dual tienen efecto de antibiosis contra *M. roreri* y después de 3 días inhiben 34.3% del crecimiento radial del patógeno, porcentaje inferior al encontrado en el presente estudio (78.24%). Los tratamientos T3 y T4 presentaron bajos niveles de inhibición del patógeno y fueron diferentes con los demás tratamientos ( $P < 0.05$ ), siendo respectivamente de 61.81% y 73.37% y presentando como forma de acción el micoparasitismo (ver Foto 1) tal como lo citan Rodríguez y Osorio (2005).

El comportamiento de los PICR mostró que en el municipio de El Tarra los antagonistas no presentaron el mismo efecto de inhibición sobre las cepas del fitopatógeno. Las cepas aisladas en este municipio se desarrollaron y esporularon en menor tiempo que en los demás municipios, lo que coincide con los hallazgos de Rodríguez *et al.* (2007) quienes demostraron la alta diversidad morfológica de *M. roreri* y su respectiva tasa de crecimiento, lo que justifica la virulencia del fitopatógeno.



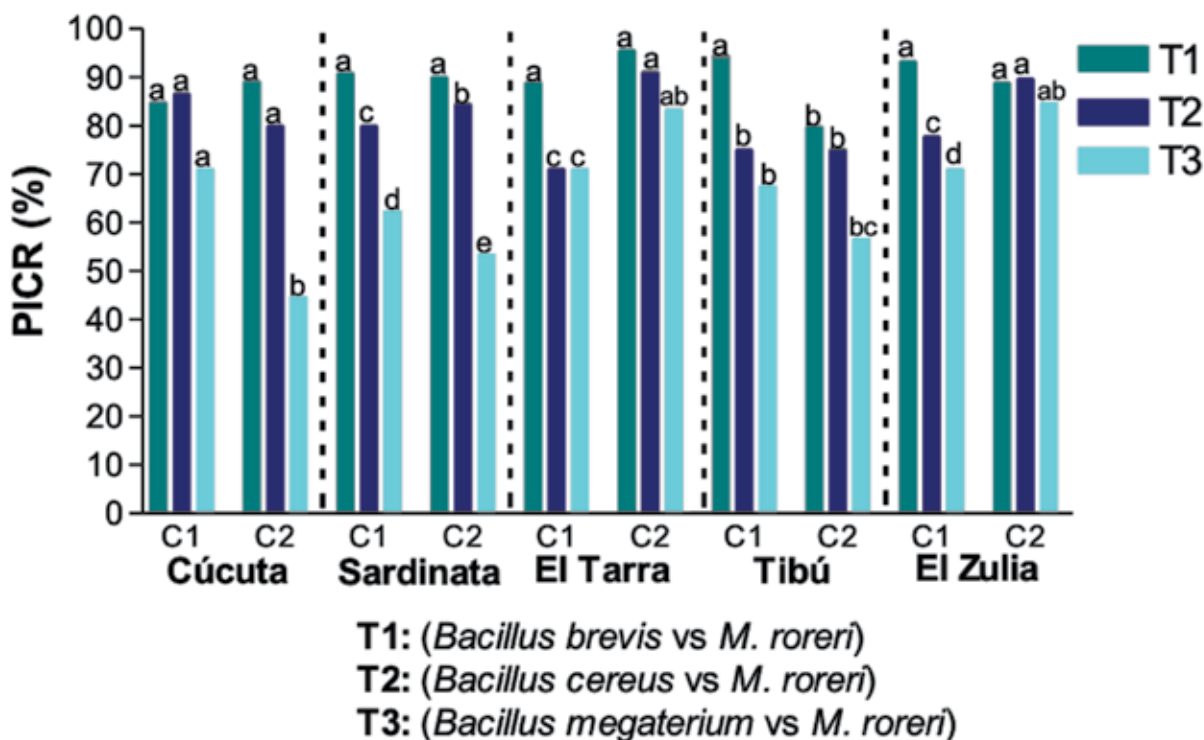
**Figura 1.** Porcentaje inhibitorio de crecimiento radial (PICR) de los diez aislamientos de *M. roreri* frente a los cuatro aislamientos de cepas de hongos antagonistas (HC002, HZ002, HC006, HS002). a, b y c : ( $P = 0.05$ )

**Efecto biocontrolador de los hongos.** En microscopio se observaron las interacciones entre antagonista y fitopatógeno en los puntos de contacto de las colonias, siendo posible distinguir las estructuras de antagonista entre ellos. En la mayoría se presentaron deformación de esporas y conidias y estrangulamiento y lisis del hifas y micelio por los tratamientos con *Paecilomyces* sp. (ver Foto 1) y con las cepas de *Gliocladium* sp.

**Detección de antibiosis para bacterias.** Las posibles bacterias antagonistas fueron identificadas con la prueba de antibiosis propuesta por Bittencourt y Da Silva (2000). Se evaluaron *B. brevis* (BZ005), *B. cereus* (BS002) y *B. megaterium* (BTA005) con los diez aislamientos del hongo fitopatógeno *M. roleri* (dos cepas por municipio), conformando así los tratamientos con tres repeticiones cada uno. Los porcentajes de inhibición de las bacterias evaluadas fueron > 40% en los cultivos de todos los municipios (Figura 2) ( $P < 0.05$ ). El tratamiento T1 presentó los mayores porcentajes inhibitorios de crecimiento

radial con la cepa *B. brevis* (88.90%), lo que confirmó la capacidad que tienen las bacterias de este género como antagonistas a diferentes fitopatógenos debido a la producción de varios antibióticos y la antibiosis como su principal mecanismo de acción. (ver Foto 1). (Corrales *et al.*, 2010) encontró que *B. brevis* produce péptidos extracelulares antagónicos que inducen a la hinchazón del citoplasma de las células que conforman las hifas, también inhibe la germinación de conidios, así como la formación del micelio vegetativo del hongo. Orberá *et al.* (2009) encontraron que *B. cereus* es potencialmente antagónico de *Fusarium* sp. con una inhibición in vitro de 52% en cultivos ornamentales debido a la excreción de iturina, que actúa como antibiótico frente a fitopatógeno. Con el tratamiento T2 en las cepas de *M. roleri* se obtuvo un PICR promedio de 78%.

El tratamiento T3 fue el menos efectivo en el control del fitopatógeno *M. roleri* con una media de 67.23%. *Bacillus megaterium*, cepa evaluada con este tratamiento, se ca-



**Figura 2.** Porcentaje inhibitorio de crecimiento radial (PICR), de diez aislamientos de *M. roleri* frente a los tres aislamientos de cepas de bacterias antagonistas (*Bacillus brevis*, *Bacillus cereus* y *Bacillus megaterium*). a, b, c y d : ( $P = 0.05$ ).

racterizó por producir amilasas, proteasas, y antibióticos como el Megacin, además de otras sustancias antagonicas que ayudan al control de patógenos de plantas. En las pruebas de antagonismo in vitro, *B. megaterium* alcanzó 69% de inhibición del micelio de *Fusarium* sp. (Corrales *et al.*, 2010).

### Conclusiones

- En este trabajo se obtuvieron 17 cultivos puros del fitopatógeno *M. roreri* en diferentes municipios de Norte de Santander, Colombia, para realizar las pruebas de antagonismo. Se aislaron y purificaron 20 cepas como antagonistas a *M. roreri*, de las cuales se identificaron morfológicamente 14 aislamientos de hongos, así: cuatro aislamientos de *Fusarium* sp., un aislamiento de *Aspergillus* sp., un aislamiento de *Geotrichum* sp., dos aislamientos de *Penicillium* sp., cinco aislamientos de *Paecilomyces* sp. y un aislamiento de *Gliocladium* sp. y se identificaron seis aislamientos de bacterias: *Corynebacterium aquaticum* (BS012), *Micrococcus luteus* (BZ003), *Bacillus cereus* (BS002), *Bacillus brevis* (BTI001), *Bacillus brevis* (BZ005), *Bacillus megaterium* (BTA005), todos ellos fueron conservados en el Banco de Cepas de la UFPS sede Los Patios, Norte de Santander.
- Después de evaluar la capacidad antagonica de estos hongos y bacterias contra *M. roreri*, se observó en la prueba de antibiosis que el aislamiento de *B. brevis* (BZ005) fue el más efectivo para todos los aislamientos del fitopatógeno de los diferentes municipios, con porcentajes > 89%. Los mejores porcentajes inhibitorios de crecimiento radial se obtuvieron con el tratamiento T1 (*Paecilomyces* sp. (HC002) vs *M. roreri*) con una media de 80.72%, seguido por el tratamiento T2 (*Paecilomyces* sp. (HZ002) vs *M. roreri*) con 79.45% de inhibición. Se demostró que el hongo *Paecilomyces* sp. tiene un alto potencial antagonico in vitro frente a *M. roreri*.

### Referencias

Barnett, H y Hunter, B. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. EE.UU. Burgess Publ. Co. 241 p.

- Bittencourt, A; y Da Silva, R. 2000. Avaliação in vitro de actinomicetos como antagonistas a *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896). Rev. Ceres. 23 (22):281 - 288.
- CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Avances en el Fomento de Productos, Fitosanitarios No sintéticos. Manejo Integrado de Plagas. CATIE, Costa Rica. No. 62:96 - 100.
- Corrales, L. C.; Sánchez, L. C.; Cuervo, J.; Bautista, D.; González, L.; y Guevara, M. 2010. Evaluación del efecto biocontrolador de *Bacillus* spp. frente a *Fusarium* spp., bajo condiciones de invernadero en *Rosmarinus officinalis* l. Ciencias Biomédicas 8 (13):71 - 72.
- Fravel, D. 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. Annu. Rev. Phytop. 43:1 - 23.
- Grisales, S.; y Afanador, L. 2007. Análisis de la variabilidad genética en *Moniliophthora roreri* con AP-PCR y RADP en Antioquia, Colombia. Rev. Col. Biotecnol. 9(2):15 - 32.
- Jaimes, A.; Coronado, R.; y Jaimes, Y. 2008. Evaluación in vitro e in vivo de cinco cepas de *Bacillus* sp. como agentes de biocontrol de *Moniliophthora roreri*. Memorias del Seminario Internacional de Cacao: Avances de Investigación. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Instituto Colombiano Agropecuario. Federación Nacional de Cacaoteros. Colombia, Bucaramanga 26 - 27 junio.
- Krauss, U.; y Soberanis, W. 2003. Control Biológico de Monilia (*Moniliophthora roreri* (Cif. & Par) Evans et al.) para la rehabilitación de cacaotales en América Latina. Biol. Control. 22(2): 149 - 158.
- Meza, C.; Fernández, R. J.; Valero, N. O.; Gámez, R. M.; y Páez, A. R. 2008. Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. Rev. Col. de Biotec. 10(2):35- 43.
- Orberá, T.; Serrat, M.; y González, Z. 2009. Potencialidades de bacterias aerobias formadoras de endosporas para el biocontrol en plantas ornamentales. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. Fitosanidad 13 (2).
- Osorio, R. 2010. Estudio del efecto de *Trichoderma harzianum* en el control de *Moniliophthora roreri* en plantas de *Theobroma cacao* en la provincia de Esmeraldas. Escuela Politécnica Nacional. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustrial. p. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/2339/1/CD-3088.pdf>. 29-01-2011.
- Philips-Mora. 2007. Jefe Programa de Mejoramiento Genético de Cacao. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) Apartado



- 7170 Turrialba, Costa Rica. [wphilip@catie.ac.cr](mailto:wphilip@catie.ac.cr). Disponible en: <http://www.fedecacao.com.co/cw/ca/doctecnicos/fedecacao-dt-manejo-enfermedades-enfasis-cacao-monilia.pdf>. 23-10-2011.
- Quiroz-Sarmiento, V. y Ferrera, C. 2008. Antagonismo in vitro de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo del ajo. *Rev. Mex. Micol.* 026:27-34.
- Ramírez, C. 2011. Federación Nacional de Cacaoteros. Disponible en: <http://www.fedecacao.com.co/cw/index.php?secinfo=18&Noticia=2281>. 04-03-2012.
- Rodríguez, E.; Guerra, B.; Aranzazu, F. y Prieto, M. 2007. Preselección in vitro de microorganismos con potencial antagonico a *Monilia* (*M. roreri* Evans et al.) principal enfermedad del cultivo de cacao en Colombia. *Fitopatología Colombiana* 30(1):9 - 14.
- Rodríguez, Y. y Osorio, J. A. 2005. Evaluación de microorganismos por su potencial antagonico para el control biológico de *Moniliophthora roreri* (Cif) Evans et al, agente causal de la Moniliasis del cacao. *Fitopatología Colombiana* 28(1):14 - 20.
- Suarez, L. 2006. Aislamiento e identificación de *Moniliophthora roreri* causante de la moniliasis en municipios del Nororiente colombiano y ensayos preliminares para su control biológico. *Respuestas* 11(1):3 - 8.
- Suárez, L. y Cabrales, C. 2008. Identificación de especies de cepas nativas de *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp. y evaluación de su potencial antagonista in vitro frente al hongo patógeno nativo *Moniliophthora roreri* de la región nororiental de Norte de Santander. *Respuestas* 13(1): 45 - 56.