

Reducción de poblaciones de *Ralstonia solanacearum* raza 2 (Smith) en plátano (*Musa* AAB Simmonds) con aplicación de extractos de *Trichoderma* sp. (Alexopoulos y Mims) y bacterias antagonistas

Reduction in populations of *Ralstonia solanacearum* race 2 in plantain (*Musa* AAB Simmonds) with extracts from *Trichoderma* sp. and antagonistic bacteria,

Germán Ceballos^{1*}, Elizabeth Álvarez¹ y Martha M. Bolaños²

¹ Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira, Colombia. ² Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Centro de Investigación Tibaitatá, Mosquera Cundinamarca. Autor para correspondencia: gceballos@cgiar.org

Rec.:07.09.2011 Acep.:01.23.2014

Resumen

El moko, enfermedad causada por *Ralstonia solanacearum* raza 2, afecta la producción de plátano (*Musa* AAB Simmonds) en Colombia, ocasionando pérdidas hasta de 100%. *In vitro*, se evaluó el efecto de filtrados crudos de cepas de *Trichoderma* sp. y dos productos comerciales como posibles reductores de poblaciones de *R. solanacearum*. Para cada cepa de *Trichoderma* spp., se empleó filtrado (40% en solución acuosa) y para *R. solanacearum* se utilizó una dilución de 10^{-4} por caja de Petri, en un diseño completamente al azar con tres repeticiones para determinar el número de unidades formadoras de colonia de *R. solanacearum*. En invernadero, se aplicaron suspensiones de *T. harzianum* (Agroguard®), *T. viride* 14PDA3A y Ecoterra® en plantas de plátano Dominico Hartón y 30 días después se inoculó *R. solanacearum* en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. La severidad del ataque de *R. solanacearum* se evaluó utilizando una escala de síntomas foliares de 0 a 6. *In vitro*, los extractos crudos de dos cepas y dos productos comerciales de *Trichoderma* spp. inhibieron el 100% de *R. solanacearum*. Los tratamientos con *T. viride* y Ecoterra® mostraron bajos niveles de control de *R. solanacearum* en plantas (0.63 y 1.88, respectivamente).

Palabras clave: Antagonismo, moko, plátano Dominico Hartón, *Trichoderma* spp.

Abstract

Moko, bacterial disease caused by *Ralstonia solanacearum* race 2, affects plantain production in Colombia, with losses up to 100%. The *in vitro* effect of crude filtrates of strains of *Trichoderma* spp. and two commercial products were evaluated versus *R. solanacearum*. *In vitro*, filtrate was used (40% in aqueous solution) for each strain of *Trichoderma* spp.; from *R. solanacearum* a dilution of 10^{-4} per Petri dish was used, in a completely random design with three replications. For *Ralstonia solanacearum*, the number of colony forming units was determined. In greenhouse, the suspensions of *Trichoderma harzianum* (Agroguard®), *T. viride* 14PDA3A, and Ecoterra® were applied to Dominico harton plantain plants, and 30 days later plants were inoculated with *R. solanacearum*, a randomized complete blocks design with four blocks was used. *R. solanacearum* severity was evaluated by leaf symptoms scale, of 0 to 6. *In vitro*, crude extracts of two strains and two commercial products of *Trichoderma* spp. inhibited 100% of *R. solanacearum*. *T. viride* and Ecoterra® treatments showed low levels of disease severity by *R. solanacearum* in plants (0.63 and 1.88 respectively).

Keywords: Antagonism, Dominico Harton plantain, moko disease, *Trichoderma* spp.

Introducción

En musáceas, la marchitez bacteriana o moko es el nombre de la enfermedad causada por *Ralstonia solanacearum* (Smith) raza 2 (Yabuuchi *et al.*, 1995) Biovar 1 y 3, Filotipo 2, Sequevar 4 y 6 (Genin y Denny, 2012). Debido a la diversidad genética de este fitopatógeno, al grupo de microorganismos se le denomina como complejo de especies de *R. solanacearum* (RSSC, por sus siglas en inglés) (Fegan y Prior, 2006).

Este complejo induce un marchitamiento que se inicia con el amarillamiento y el colapso de las hojas más jóvenes, así como la necrosis de la hoja bandera, síntomas que progresan hacia las hojas maduras, e internamente los tejidos vasculares se tornan necróticos, especialmente los localizados cerca de la zona central del pseudotallo. Los frutos inmaduros de las plantas afectadas muestran color amarillo y pudrición seca de la pulpa formando una cavidad; cuando se presentan infecciones tempranas, o antes de floración, se produce un desarrollo anormal del racimo y en algunos casos la planta no alcanza a generarlos (De Oliveira e Silva *et al.*, 2000).

El moko ha reducido seriamente la producción de plátano en las principales áreas sembradas en Colombia, generando pérdidas hasta de 100% en algunas plantaciones donde se presenta. El patógeno se ha difundido en los departamentos del Tolima, Valle del Cauca, Huila, Caquetá, Amazonas, Putumayo y de la Costa Atlántica (Belalcázar *et al.*, 2003). Las áreas más afectadas por la enfermedad en Colombia se presentan en la región de Urabá, departamento de Antioquia, donde se han erradicado áreas extensas de cultivos de plátano infestados (Castañeda y Espinosa, 2005; Londoño, 2012). En Meta y Caquetá la enfermedad arrasó 20,000 ha entre 1970 y 1980 y en el Quindío entre 1999 y 2000, lo que generó pérdidas por US\$73,000, aproximadamente (Obregón, 2007).

Debido a que el control químico de esta enfermedad no ha sido exitoso, actualmente se trabaja en el desarrollo de estrategias de manejo tendientes a evitar el ingreso del agente causal a las plantaciones o evitar su diseminación a nuevas áreas, tratando los focos para reducir la población bacteriana y

su diseminación a nuevas áreas (Álvarez *et al.*, 2013).

Los hongos del género *Trichoderma* son utilizados ampliamente en el control biológico como antagonistas de fitopatógenos que se presentan en suelos y semillas (Alexopoulos y Mims, 1979). Este biocontrolador produce antibióticos y otros metabolitos secundarios, con diferentes mecanismos de acción sobre los microorganismos fitopatógenos, algunos de ellos son: Pachibasin, que pertenece al grupo de los octacetidos; Trichodermin, del grupo de monoterpenos o trichothecanos; Trichorzianinas, metabolitos antifúngicos de alta solubilidad que una vez se localizan sobre las esporas pueden mantener su actividad fúngica por períodos prolongados (3 - 4 meses); y Gliotoxin, que presenta actividad antibiótica contra bacterias y hongos (Howell *et al.*, 2000).

El efecto de *Trichoderma* spp., en la inhibición de fitopatógenos y en el mejoramiento de la nutrición de plantas ocurre en forma diferencial dependiendo de la especie empleada; por ejemplo, el efecto significativo del crecimiento de plantas de *Tagetes erecta* inoculadas con *T. aureoviride* y *T. harzianum* fue reportado por Calvet *et al.* (1993), en contraste con el efecto inhibitorio de cepas de *T. pseudokoningii* sobre el crecimiento de plantas de soya (Martínez *et al.*, 2004).

Por otra parte, algunas bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* son eficientes en el control de enfermedades foliares y radicales, debido a su rápida colonización (Fernández Larrea, 2001). Las cepas de *Pseudomonas* tienen propiedades contra fitopatógenos ya que mejoran la absorción de minerales por la planta, como es el caso del hierro, el cual una vez convertido en sideróforos (moléculas de bajo peso con afinidad al hierro (III) quelatado) se hace más disponible para la planta (Sharma y Johri, 2003) y poco disponible para los fitopatógenos; como se sabe los fitopatógenos no producen sideróforos y no pueden tomarlo de los antagonistas en su medio ambiente (Weller, 1988). Korsten *et al.* (1997) encontraron que *B. subtilis* en aplicaciones en pre- y poscosecha presentó un efecto similar al de fungicidas comerciales en el control de enfermedades fungosas en agua-

cate. El empleo de *Trichoderma* spp., bacterias antagonistas y bioproductos permite recuperar el equilibrio biológico en el suelo, ya que reduce notoriamente las poblaciones de organismos patógenos como *R. solanacearum* o compiten con ellas. El objetivo de este trabajo fue evaluar en laboratorio e invernadero el efecto de extractos crudos de *Trichoderma* spp. y dos productos comerciales a base de este hongo sobre las poblaciones de *R. solanacearum*.

Materiales y métodos

Localización

El ensayo se realizó en el laboratorio y en el invernadero del Programa de Fitopatología de Yuca del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), localizado en Palmira, Valle del Cauca (Colombia), a 3° 50' N y 76° 35' O, a 980 m.s.n.m, con una precipitación anual de 1100 mm, humedad relativa de 78% y temperatura promedio de 24.5 °C.

Prueba en laboratorio

En condiciones *in vitro* se evaluaron extractos crudos procedentes de aislamientos de *Trichoderma*. Para evaluar el efecto se emplearon las cepas 41TSM1, 19TSM3A (*T. virens*), 47PDA3A (*T. virens*) y CIAT 14PDA4 (*T. viride*) y los productos comerciales Agroguard® (*T. harzianum*), y Trichoplant® (mezcla de cepas de *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii* y *T. lignorum*). Las cepas de la colección fueron caracterizadas por Arango (2009), con la amplificación de la región ITS del ADN ribosomal (ADNr) mediante PCR con los cebadores universales ITS1-4 e ITS4-5.

Las muestras de las cepas y de cada producto comercial fueron cultivadas en medio líquido estéril —PD: Papa (200 g/L) y Dextrosa® (17 g/L) durante 15 días. Los extractos crudos fueron esterilizados por filtración mediante membrana de nitrocelulosa con tamaño de poro de 0.22 µm. La evaluación de los extractos se hizo a 40% de concentración; para lo cual se emplearon 48 mL de filtrado libre de estructuras que fueron mezclados con 72 mL de PDA (39 g/L) estéril para obtener un volumen final de 120 mL, que fue depositado en seis cajas Petri (adaptado de Bedoya *et al.*, 2000).

Sobre la superficie del medio de cultivo solidificado, que contenía los extractos crudos de *Trichoderma* spp., utilizando asa bacteriológica se distribuyó una muestra de 100 µL de la dilución 10⁻⁴ de *R. solanacearum* (cepa 78). Esta dilución se obtuvo a partir de una suspensión bacteriana de 0.2 de absorbancia (600 nm), correspondiente a una concentración de aproximadamente 1 x 10⁸ UFC/mL (He *et al.*, 1983). Los controles negativos y positivos fueron preparados con PDA estéril con y sin *R. solanacearum*, respectivamente. En el Cuadro 1 se incluye un resumen de los tratamientos.

Cuadro 1. Tratamientos empleados en laboratorio

No.	Tratamientos
1	41TSM1 + <i>R. solanacearum</i>
2	19TSM3A <i>T. virens</i> + <i>R. solanacearum</i>
3	47PDA3A <i>T. virens</i> + <i>R. solanacearum</i>
4	14PDA3A <i>T. viride</i> + <i>R. solanacearum</i>
5	Agroguard® + <i>R. solanacearum</i>
6	Trichoplant® + <i>R. solanacearum</i>
7	Control negativo: <i>R. solanacearum</i>
8	Control positivo: PDA

El conteo de unidades formadoras de colonia (UFC) de *R. solanacearum* por caja se hizo diariamente, los valores obtenidos en los conteos se calcularon en UFC por microlitro (UFC/µL) y los resultados finales se expresaron en UFC/mL de la suspensión bacteriana. Se usó un diseño completamente al azar con tres repeticiones, donde la unidad experimental estuvo conformada por una caja Petri.

Prueba en invernadero

Para esta prueba se utilizaron plántulas de plátano Dominico Hartón de dos meses de edad, sembradas en bolsas con 5 kg de una mezcla esterilizada a vapor en proporción 2:1 de suelo Oxisol de la estación experimental CIAT-Quilichao y arena. Para estudiar el efecto de inhibición sobre *R. solanacearum* se eligieron los tratamientos con Agroguard® y 14PDA3A *T. viride* que mostraron resultados consistentes en la prueba de laboratorio; además se incluyó el producto Ecoterra® (mezcla de *Azotobacter chroococcum*, *Pseudomonas aeureofaciens*, *Bacillus licheniformis*, *B. megaterium* y *B. subtilis*) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tratamientos empleados en invernadero

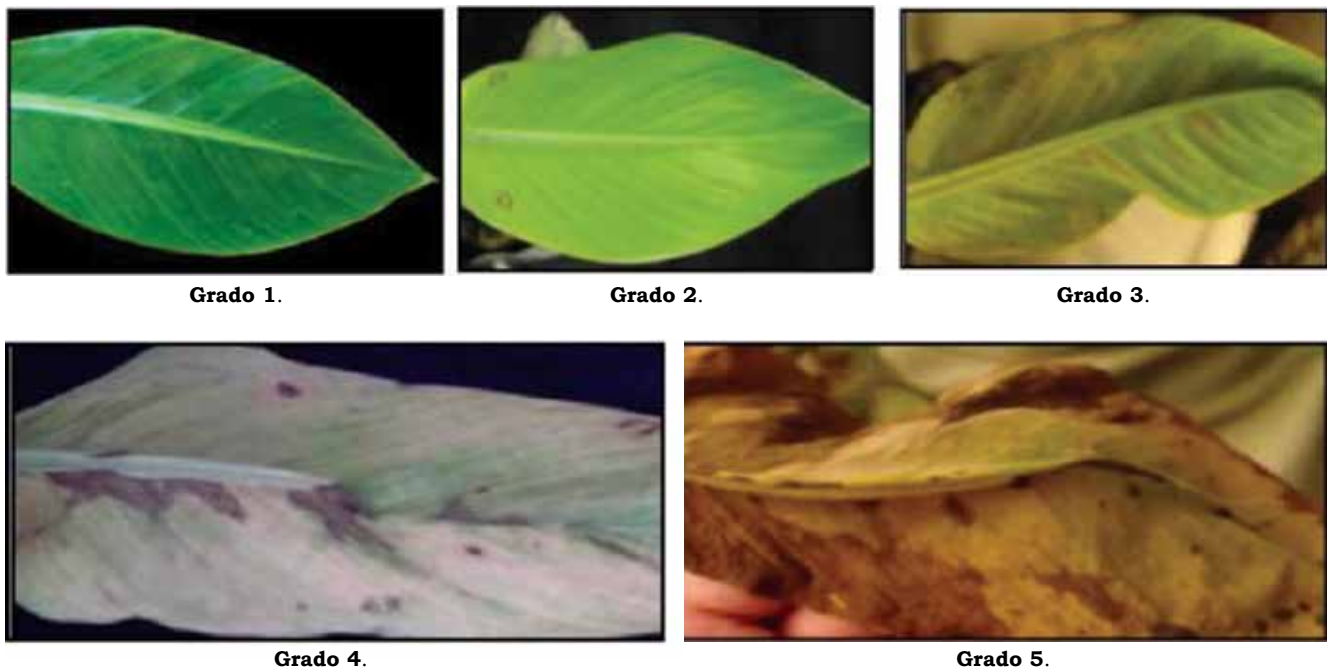
No.	Tratamientos
1	Agroguard®+ <i>R. solanacearum</i>
2	Ecoterra®+ <i>R. solanacearum</i>
3	14PDA3A <i>Trichoderma viride</i> + <i>R. solanacearum</i>
4	Control negativo: <i>R. solanacearum</i>
5	Control positivo: Agua estéril sin <i>R. solanacearum</i>

Inicialmente, se aplicaron los microorganismos antagonistas *T. viride* y los productos comerciales Agroguard® y Ecoterra®, con el fin de favorecer el establecimiento y colonización de los microorganismos en el suelo y el sistema radical de las plántulas de plátano. Por cada tratamiento se aplicaron 50 mL/planta utilizando concentraciones de Agroguard® y 14PDA3A *T. viride* de 1×10^8 conidias/mL y 0.5 g de Ecoterra®, equivalente a una concentración de 1×10^8 UFC.

Como inóculo se empleó *R. solanacearum* (cepa 78) aplicado un mes después

de los tratamientos antes mencionados; para ello, se hizo una herida en la raíz de la planta y sobre ella se aplicaron 50 mL de una suspensión bacteriana de 0.1 de absorbancia (600 nm de longitud de onda), equivalente a 1×10^5 UFC/mL, siguiendo la metodología utilizada en tomate por Hernández *et al.* (2005) y Deberdt *et al.* (1999). Para medir el grado de la enfermedad se utilizó la escala 0 (ausencia) – 6 (muerte de la planta) de evolución de síntomas foliares, propuesta por Mesa y Triviño (2007) (Figura 1). Adicionalmente se midió la concentración foliar de nutrientes.

Se empleó un diseño de bloques completos al azar con cuatro bloques y ocho repeticiones con una unidad experimental de dos plantas. Los datos se analizaron por Anova y pruebas comparativas de medias, mediante el paquete estadístico SAS® Statistical Analysis System Versión 9.4.



Grado	Síntomas
1	Flacidez al tacto.
2	Marchitez notable, pérdida color verde intenso.
3	Flacidez muy notable, en algunos casos se presenta amarillamiento.
4	Amarillamiento con necrosis en algunos puntos, flacidez muy avanzada, pérdida de forma.
5	Necrosis avanzada muestra la gravedad de la enfermedad, se pierde la forma de la hoja.

Figura 1. Escala de síntomas de daños foliares ocasionados por *R. solanacearum* en plantas de plátano. Fuente: Mesa y Triviño, 2007.

Resultados y discusión

Prueba en laboratorio

Se presentó un efecto altamente significativo ($P < 0,001$) de los extractos crudos de *Trichoderma* sp., en la inhibición *in vitro* de *R. solanacearum* (Cuadro 3). Los tratamientos que más inhibieron la bacteria fueron 41TSM1, 14PDA3A, Agroguard® y Trichoplant®, ya que no permitieron el crecimiento de colonias de *R. solanacearum*, en comparación con el control negativo (2.920 UFC/mL).

Cuadro 3. Análisis de varianza para medias del efecto de los extractos crudos de *Trichoderma* sp. en la inhibición *in vitro* de *R. solanacearum*.

Tratamiento	UFCa
41TSM1 + Rs ^b	0 c*
19TSM3A <i>T. virens</i> + Rs	5.720 ab
47PDA3A <i>T. virens</i> + Rs	8.853 a
14PDA3A <i>T. viride</i> + Rs	0 c
Agroguard® + Rs	0 c
Trichoplant® + Rs	0 c
Rs	2.920 bc
PDA	0 c

a. UFC: Promedio de unidades formadoras de colonia de *R. solanacearum* por mililitro.

b. Rs/: *Ralstonia solanacearum*.

* Promedios con letras iguales no difieren en forma significativa ($P > 0.05$), según la prueba de Tukey.

Las diferencias halladas en el efecto de las cepas de *Trichoderma* sp., corresponden a la gran especificidad de este hongo antagonico de fitopatógenos, ya que unas cepas permitieron inhibir completamente el crecimiento *in vitro* de *R. solanacearum*, como por ejemplo, 41TSM1, 14PDA3A, Agroguard® y Trichoplant®; mientras que otras como *T.*

virens (cepas 19TSM3A y 47PDA3A) indujeron su crecimiento.

El anterior resultado coincide con los obtenidos por Asmaja (2005), quien reportó actividad antibacteriana de filtrados libres de células de *T. viride* contra *R. solanacearum* causante de marchitez en jengibre.

Prueba en invernadero

En esta prueba se presentaron diferencias entre tratamientos sobre el desarrollo de síntomas foliares de moko en plátano. Las diferencias se presentaron el día 34 ($P < 0.0385$) y el 40 ($P < 0.0134$) después de la inoculación con *R. solanacearum* (Cuadro 4). Al finalizar la evaluación, las diferencias entre tratamientos fueron altamente significativas ($P < 0.0084$) siendo Agroguard® y *T. viride* (14PDA3A) los más contrastantes, ya que presentaron el máximo (3.63) y el mínimo (0.63) grado de enfermedad, en comparación con el control negativo *R. solanacearum* (2.87). El resultado obtenido con *T. viride* confirma su capacidad antagonica para contrarrestar el efecto de *R. solanacearum*, lo que se evidenció en la menor severidad de la enfermedad. Esto coincide con los resultados de Asmaja (2005).

Ecoterra® también fue antagonico para *R. solanacearum* ya que retardó la aparición de síntomas y severidad de la enfermedad (1.88). Con este producto se presentó menor evolución de los síntomas de la enfermedad y un mayor desarrollo de las raíces (Foto 1). Esto es debido a que las cepas de *Pseudomonas* que contiene, pertenecen a las llamadas bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB, por sus siglas en inglés) las cuales

Cuadro 4. Análisis de varianza para el efecto de los tratamientos con Agroguard®, Ecoterra® y *Trichoderma viride* (14PDA3A) sobre el desarrollo de síntomas foliares de moko causado por *R. solanacearum*. Escala 0 (ausencia) – 6 (muerte de planta).

Tratamiento	Días después de inoculación									
	16	19	22	25	28	31	34 *	37 *	40 *	43 **
Agro® + Rs ^a	0.13 a ^b	0.25 ab	0.88 ab	1.25 a	2.75 a	3.00 a	3.25 a	3.38 a	3.50 a	3.63 a
Ecot® + Rs	0.00 b	0.00 b	0.13 ab	0.13 ab	0.75 ab	1.00 abc	1.38 abc	1.38 abc	1.75 abc	1.88
14PDA3A	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.13 b	0.13 bc	0.375 bc	0.5 ab	0.63 bc	0.63 bc
Rs										
Rs	0.13 a	0.50 ab	1.00 ab	1.38 a	1.50 ab	1.50 abc	2.25 ab	2.38 ab	2.62 ab	2.87 ab
Testigo	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c

a *Ralstonia solanacearum* cepa 78.

b Promedios con letras iguales no difieren en forma significativa ($P > 0.05$), según la prueba de Tukey.

* Diferencias significativas.

** Diferencias altamente significativas

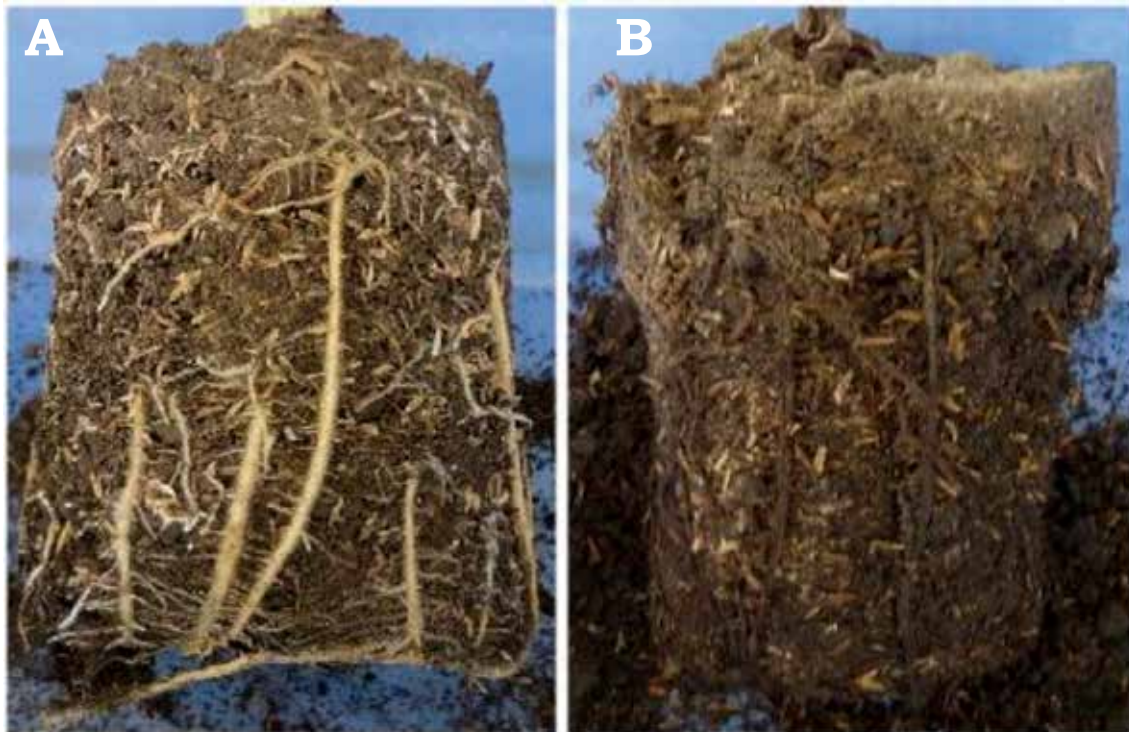


Foto 1. Desarrollo de raíces en plántulas de Dominico hartón tratadas con Ecoterra® (A) y sin tratar (B).

estimulan la producción de hormonas como auxinas, giberelinas y citoquininas, que inducen la iniciación radical e incrementan la formación de raíces y pelos absorbentes, característica que permite a la planta mayor área para absorción de nutrientes y tolerancia a la infección por *R. solanacearum* (Cuadro 5).

Aunque el Anova no mostró diferencias entre tratamiento para la concentración foliar de nutrientes, sí se observó que la concentración de potasio fue más alta en el tratamiento *T. viride* (60.1 g/Kg) vs. el testigo (47.6 g/Kg), lo cual coincide con una menor severidad de la enfermedad en las plantas tratadas con

esta cepa, esto demuestra que este nutriente favorece la tolerancia de la planta al ataque de fitopatógenos (Álvarez *et al.*, 2002).

No obstante, la capacidad de *Bacillus* spp., y *Pseudomonas* spp., presentes en Ecoterra® para solubilizar nutrientes como fósforo, mediante la producción de ácidos orgánicos o a través de fosfatasas (Kloepper *et al.*, 1989), este efecto no se presentó en este suelo ya que de acuerdo con el resultado del análisis químico, la concentración de este elemento fue muy baja (13.72 mg/Kg). Por otra parte, el mayor contenido de hierro en los tratamientos con Ecoterra® coincide con los hallazgos de

Cuadro 5. Concentración foliar de nutrientes en plántulas de Dominico hartón inoculadas con Agroguard® (*T. harzia num*), Ecoterra®, y *T. viride* (14PDA3A).

Tratamiento	N ¹	P	K	Ca	Mg	S total	B total	Fe	mg/k			Na
									g/k			
Agro + Rs ^a	36.4	3.0	55.3	9.4	4.2	4.8	22.2	223.0	1.792.9	9.1	22.9	1.782.0
Ecot + Rs	37.3	1.9	51.3	11.5	2.9	3.1	17.1	230.9	3.565.0	9.9	27.3	1.574.8
<i>T. viride</i> + Rs	35.0	2.3	60.1	12.2	4.1	3.3	23.7	208.3	2.104.8	10.4	29.4	1.260.4
Rs	36.4	3.0	55.3	9.4	4.2	4.8	21.3	223.0	1.792.9	9.1	22.9	1506.0
Testigo	31.6	2.4	47.6	10.9	3.8	3.9	16.9	222.7	2.094.1	10.7	32.6	3.593.3

a. Rs: *Ralstonia solanacearum* cepa 78

Sharma y Johri (2003) quienes encontraron que las bacterias antagonistas del género *Pseudomonas* mejoran la absorción de este elemento, lo que pudo influir en la reducción de la cantidad de inóculo y actividad patogénica de *R. solanacearum*.

Con excepción de zinc, todos los nutrientes presentaron mayor concentración en los tratamientos que recibieron Ecoterra[®], esto debido principalmente a que los géneros *Bacillus*, *Azotobacter* y *Pseudomonas* presentes en este producto son los más importantes en agricultura por la transformación de compuestos orgánicos e inorgánicos que favorecen la nutrición de las plantas (Higuera, 2008).

La búsqueda de opciones que permitan el tratamiento de suelos contaminados con altas poblaciones de *R. solanacearum*, como consecuencia de la devastación de hospederos altamente susceptibles, exige la exploración de nuevas estrategias, entre ellas el uso combinado de *T. viride* y Ecoterra[®], para evaluaciones en campo con poblaciones naturales de la bacteria.

Conclusiones

- *Trichoderma viride* y Ecoterra[®] son alternativas diferentes a los agroquímicos usados convencionalmente para reducir las poblaciones de *R. solanacearum* en el suelo.
- *Trichoderma viride* fue el mejor tratamiento para inhibir *R. solanacearum* *in vitro* y contrarrestar la enfermedad de moko en plántulas de plátano en condiciones de invernadero, no obstante en condiciones de campo los resultados aún deben ser evaluados durante periodos más largos.
- Ecoterra[®] permite mejorar el desarrollo radical de plántulas de plátano, lo que se traduce en un mejor desarrollo de las plantas y en tolerancia a factores bióticos, entre ellos la enfermedad del moko.
- Reducción de poblaciones de *Ralstonia solanacearum* raza 2 (Smith) en plátano (*Musa* AAB Simmonds) con aplicación de extractos de *Trichoderma* sp. (Alexopoulos y Mims) y bacterias antagonistas

Agradecimientos

El presente trabajo fue posible gracias al apoyo del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural MADR, el Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria FONTAGRO, el Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT y la Federación de Plataneros de Colombia Fedeplátano. Un agradecimiento especial a los jurados de revisión por sus valiosos aportes al documento.

Referencias

- Alexopoulos, C. J. y Mims C. W. 1979. Introductory mycology. 3^a ed. Nueva York, Willey.
- Álvarez, E.; Bellotti, A.; Calvert, L.; Arias, B.; Cadavid, L. F.; Pineda, B.; Llano, G.; y Cuervo, M. 2002. Guía práctica para el manejo de las enfermedades, las plagas y las deficiencias nutricionales de la yuca. 120 p.
- Álvarez, E.; Pantoja, A.; Gañan, L.; y Ceballos, G. 2013. Estado del arte y opciones de manejo del Moko y la Sigatoka negra en América Latina y el Caribe. Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT. Publicación no. 387. 40 p.
- Arango, L. M. 2009. Alternativas de control de *Botrytis cinerea* y *Colletotrichum* spp. mediante el uso de antagonistas y extractos vegetales. Tesis pregrado. Universidad del Valle. Santiago de Cali, Valle, Colombia. 101p.
- Asmaja, A. K. 2005. Investigations on antibacterial metabolite production by *Trichoderma viride* against *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt of ginger (PR123). University of Calicut. Technical Bulletin No.8. Indian Institute of Spices Research. Abstracts of M.Sc. and Ph.D. Dissertations on spice crops, Calicut. Kerala. (Disponible en <http://www.spices.res.in/downloads/abstract.pdf>).
- Bedoya, F. A.; Álvarez, E.; y Loke, J. B. 2000. Selección *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma* spp. para el control biológico de la pudrición radical en yuca. Fitop. Col. 23(2):65 - 67.
- Belalcázar, S.; Rosales, F. E.; y Pocasangre, L. E. 2003. El Moko del plátano y banano y el rol de las plantas hospederas en su epidemiología En: Galileo Rivas y Franklin Rosales (eds.). Manejo convencional y alternativo de la sigatoka negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de musáceas en los trópicos. Taller realizado en Guayaquil, Ecuador, 11 - 13 de agosto, 2003. p. 159 - 179
- Calvet, C.; Barea, J.; y Pera, J. 1993. Growth response of marigold (*Tagetes erecta*) to inoculation

- with *Glomus mossae*, *Trichoderma aureoviride* and *Pythium ultimum* in a peat-perlite mixture. *Plant Soil*. 148:1 - 6.
- Castañeda, D. A. y Espinosa, J. 2005. Comportamiento e impacto de la enfermedad de moko en la zona de Urabá (Colombia) en las últimas tres décadas y media propuesta de un índice de riesgo de enfermedad. *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín* 58(1):2587 - 2599.
- De Oliveira Silva S.; de Mello Veras S.; Gasparotto, L.; Pires de Matos A.; Maciel-Cordeiro, Z. J.; y Boher, B. 2000. Evaluación de *Musa* spp. para la resistencia a la enfermedad de Moko (*Ralstonia solanacearum*, raza 2). *Infomusa* 9(1):19 - 20.
- Deberdt, P.; Quénéhervé, P.; Darrasse, A.; y Prior, P. 1999. Increased susceptibility to bacterial wilt in tomatoes by nematode galling and the role of the Mi gene in resistance to nematodes and bacterial wilt. *Plant Pathol.* 48:408 - 414.
- Fernández-Larrea V. O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas* 62(96 - 100).
- Fegan, M; Prior, P. 2006. Diverse members of the *Ralstonia solanacearum* species complex cause bacterial wilts of banana. *Australian Plant Pathology*. 35:93-101.
- Genin, S; Denny T. P. 2012. Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Ann. Rev. Phytopath.* 50:67 - 89.
- He, L. Y.; Sequeira, L.; y Kelman, A. 1983. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. *Plant Disease* 67(12):1357 - 1361.
- Hernández, Y.; Mariño, N.; Trujillo, G.; y De Navarro, C.U. 2005. Invasión de *Ralstonia solanacearum* en tejidos de tallos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Rev. Fac. Agron.* 22(2):185 - 194.
- Higuera, M. D. 2008. Los microorganismos del suelo en la nutrición vegetal. Investigación aplicada y Desarrollo. Orius Biotecnología. Villavicencio, Colombia. (Disponible en <http://www.oriusbiotecnologia.com>).
- Howell, C. R.; Hanson, L. E.; Stipanovic, R. D.; y Puckhaber, L. S. 2000. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. *Phytopath.* 90(3):248 - 252.
- Kloepper, J.; Lifshitz, R.; y Zablutowicz, R. 1989. Free-living bacteria inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol* 7(2):39 - 44.
- Korsten, L; De Villiers, E. E; Wehner, R. C.; y Kotzet, J. M. 1997. Field spray of *Bacillus subtilis* and fungicides for control of preharvest fruit diseases of avocado in South Africa. *Plant Disease* 81(5):455 - 459.
- Londoño, R. H. 2012. Caracterización de síntomas de la enfermedad de Moko en invernadero y campo cuando se simulan labores que causen heridas en plantas de banano y plátano. *Cenibanano*. Asociación de Bananeros de Colombia (Augura). Bol. Téc. no. 4. 13 p.
- Martínez, A.; Obertello, M.; Pardo, A.; Ocampo, J.; y Godeas, A. 2004. Interactions between *Trichoderma pseudokoningiis* strains and the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae* and *Gigaspora rosea*. *Mycorrhiza* 14(2):79 - 84.
- Mesa, L. A. y Triviño, V. H. 2007. Evaluación microbiológica y físico-química de fuentes de lixiviados de compost de raquis de plátano y su efecto en el manejo de Moko. Tesis pregrado. Universidad del Quindío, Armenia, Quindío, Colombia. 125 p.
- Obregón, M. 2007. Diagnóstico, hospederos y sobrevivencia de la bacteria *Ralstonia solanacearum* en banano y aplicaciones al control integrado de la enfermedad en la zona de Urabá. Tesis Maestría. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Medellín, Antioquia, Colombia.
- Sharma, A. y Johri, B. N. 2003. Growth promoting influence of siderophore-producing *Pseudomonas* strains GRP3A and PRS9 in maize (*Zea mays* L.) under iron limiting conditions. *Microbiol. Res.* 158(3):243 - 248.
- Weller, M. W. 1988. Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann. Rev. Phytopath.* 26:379 - 407.
- Yabuuchi, E.; Kosako, Y.; Yano, I.; Hotta, H.; y Nishiuchi, Y. 1995. Transfer of two Burkholderia and an alkali genes species to *Ralstonia* gen. nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1986) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. *Microbiol. Immunol.* 39(11):897 - 904.