UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

USO DE BACTERIAS DEL GÉNERO <I>BACILLUS SPP.</I> EN EL CONTROL DE LA MONILIASIS (<I>MONILIOPHTHORA RORERI</I>) EN EL CULTIVO DE CACAO

CEVALLOS ZAMBRANO MARYURY KATHERINE
INGENIERA AGRÓNOMA

MACHALA
2018

UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

USO DE BACTERIAS DEL GÉNERO <I>BACILLUS SPP.</I> EN EL CONTROL DE LA MONILIASIS (<I>MONILIOPHTHORA RORERI</I>) EN EL CULTIVO DE CACAO

CEVALLOS ZAMBRANO MARYURY KATHERINE
INGENIERA AGRÓNOMA

MACHALA
2018

UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

EXAMEN COMPLEXIVO

USO DE BACTERIAS DEL GÉNERO <I>BACILLUS SPP.</I> EN EL CONTROL DE LA MONILIASIS (<I>MONILIOPHTHORA RORERI</I>) EN EL CULTIVO DE CACAO

CEVALLOS ZAMBRANO MARYURY KATHERINE
INGENIERA AGRÓNOMA

JARAMILLO AGUILAR EDWIN EDISON

MACHALA, 06 DE JULIO DE 2018

MACHALA
06 de julio de 2018

Nota de aceptación:

Quienes suscriben, en nuestra condición de evaluadores del trabajo de titulación denominado Uso de bacterias del género Bacillus spp. en el control de la Moniliasis (Moniliophthora roreri) en el cultivo de cacao, hacemos constar que luego de haber revisado el manuscrito del precitado trabajo, consideramos que reúne las condiciones académicas para continuar con la fase de evaluación correspondiente.

JARAMILLO AGUILAR EDWIN EDISON
0703178913
TUTOR - ESPECIALISTA 1

LUNA ROMERO ANGEL EDUARDO
0704361831
ESPECIALISTA 2

HERRERA REYES SAYDA NOEMI
0704082015
ESPECIALISTA 3

Fecha de impresión: miércoles 11 de julio de 2018 - 14:47

URKUND

Urkund Analysis Result

Analysed Document: Maryury Katherine Cevallos Zambrano.docx (D40246949)
Submitted: 6/18/2018 6:24:00 PM
Submitted By: ejaramillo@utmachala.edu.ec
Significance: 8 %

Sources included in the report:

Caso Valenzuela VALIDO (2.docx (D25376113)
http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v63n4/v63n4a11.pdf
https://www.cabi.org/isc/datasheet/34779
http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/10230/T-1563.pdf?sequence=3&isAllowed=y
http://siar.regionpiura.gob.pe/admDocumento.php?accion=bajar&docadjunto=1679
http://infocafes.com/portal/wp-content/uploads/2016/05/Cultivo-de-Cacao.pdf

Instances where selected sources appear:

17

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

La que suscribe, CEVALLOS ZAMBRANO MARYURY KATHERINE, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado Uso de bacterias del género Bacillus spp. en el control de la Moniliasis (Moniliophthora roreri) en el cultivo de cacao, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

La autora declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las dispociones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

La autora como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 06 de julio de 2018

CEVALLOS ZAMBRANO MARYURY KATHERINE
0705147122

RESUMEN

El presente trabajo se realizó mediante una investigación bibliográfica con la finalidad de conocer la efectividad de los microorganismos antagonistas pertenecientes al género *Bacillus spp*., como biocontroladores de la enfermedad Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en el cultivo de cacao. La producción de cacao juega un papel muy importante en la economía del Ecuador, la misma lleva consigo diferentes patologías generando así grandes pérdidas económicas. Esto ha permitido el uso indiscriminado de agroquímicos, dejando a su paso grandes daños al medio ambiente y creando así resistencia en los organismos patógenos que atacan al cultivo. Es por eso que en la actualidad se busca otros medios para contrarrestar a estos patógenos, siendo los microorganismos antagonistas que trabajan como biocontroladores una alternativa muy viable, uno de estos géneros es el *Bacillus spp*. el cual a través de diferentes experimentos ha demostrado ser un buen controlador de la Moniliasis una de las enfermedades que ocupa un rubro importante en el cultivo de cacao en el país. Se ha determinado una amplia participación científica e interés en el control biológico de los patógenos, centrándose en los microorganismos antagonistas del genero *Trichoderma spp*., y *Bacillus spp*., para el control de la *M. roreri*, las principales investigaciones referentes al tema se encontraron en Colombia. Los hongos y bacterias para el biocontrol fueron extraídos del suelo rizósferico, el patógeno se obtuvo de frutos esporulados o cepas. Los resultados del *Bacillus* spp., fueron bajos en los trabajos científicos.

Palabras clave: Microorganismos antagonistas, *Moniliophthota roreri*, *Bacillus* spp., cacao, control biológico.

ABSTRACT

This study was carried out by means of a bibliographical investigation in order to know the effectiveness of the antagonist microorganisms belonging to the genus *Bacillus* spp., as biocontrollers of the Moniliasis disease (*Moniliophthora Roreri*) in the crop of cocoa. Cocoa production plays a very important role in the economy of the Ecuador, it carries with it different pathologies thus generating great economic losses. This has allowed the indiscriminate use of agrochemicals, leaving great damage to the environment and thus creating resistance in pathogenic organisms that attack the crop. That is why at present we are looking for other means to counteract these pathogens, being the antagonistic microorganisms that work as biocontrollers a very viable alternative, one of these genera is *Bacillus* spp. Which through different experiments has proven to be a good controller of the Moniliasis one of the diseases that occupies an important item in the cultivation of cocoa in the country. It has been determined a wide scientific participation and interest in the biological control of pathogens, focusing on the antagonist microorganisms of the genus *Trichoderma* spp., and *Bacillus* spp., for the control of *M. roreri*, the main investigations concerning the issue met in Colombia. Fungi and bacteria for biocontrol were extracted from the rhizospheric soil, the pathogen was obtained from fruits sporulated oocysts or strains. The results of the *Bacillus* spp., were low in scientific papers.

Key words: antagonistic microorganisms, *Moniliophthota roreri*, *Bacillus* spp., cocoa, biological control.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN 4
II. MARCO TEÓRICO 6
2.1 Origen del cacao 6
2.2 Taxonomía del cultivo de cacao 7
2.3 Origen y distribución de la Moniliasis en el cultivo de cacao 8
2.4 Hongo *Moniliophthora roreri* 9
2.4.1 Ciclo de vida de *Moniliophthora roreri* 9
2.5 Control biológico de la Moniliasis 12
2.6 Género *Bacillus* spp., como controlador biológico de la Moniliasis 12
2.6.1 Estudio de casos 12
III. MATERIALES Y MÉTODOS 24
3.1 Materiales 24
3.2 Método 24
IV. RESULTADOS 25
V. CONCLUSIONES 28
VI. BIBLIOGRAFÍA 29

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) es una planta de origen tropical, latitudes comprendidas entre 10º N y 10º S del Ecuador, que requiere de temperaturas altas durante todo el año, lluvias regulares y un buen manejo agronómico para producir satisfactoriamente los granos de cacao. Su semilla es el componente principal del chocolate, apreciado mundialmente no sólo por su sabor sino también por su valor nutritivo. En el pasado hasta en la actualidad, ha llegado a convertirse en un producto de lujo debido a las diferentes presentaciones, puede estar al alcance de todo tipo de público (Arévalo, González, Maroto, Delgado, & Montoya, 2017).

Los ocho mayores productores de cacao en el mundo son Costa de Marfil (38%), Ghana (21%), Indonesia (13%), Nigeria (5%), Camerún (5%), Brasil (4%), Ecuador (3%) y Malasia (1%), estos países representan el 90% de la producción mundial (Núñez, 2010). En Latinoamérica, Brasil constituye el principal país productor de cacao seguido de Ecuador y Colombia (Núñez, 2010).

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es de gran importancia en la economía del Ecuador, por ser un rubro prometedor y que constituye una fuente de empleo para un alto porcentaje de habitantes de los sectores rurales y urbanos (Sánchez & Garcés, 2012). Por las características especiales que presenta el cacao ecuatoriano como, en el penetrante aroma floral y la calidad frutal, ha sido reconocido como cacao fino y de aroma. La mayoría de las plantaciones cacaoteras del país son manejadas de forma integral, incorporando las buenas prácticas agrícolas, que si no se realizan a tiempo, comprometen la producción hasta en un 90% por el ataque de enfermedades (Sánchez, Garcés, Vera, Ramos, Troya, & Díaz, 2011)

Entre las enfermedades más dañinas que atacan al cultivo están la moniliasis *(Moniliophthora roreri)*, escoba de bruja *(Moniliophthora perniciosa)*, fitóptora *(Phytophthora* spp.*)* y en menor porcentaje al mal de machete *(Ceratocystis cacaofunesta)* (Sánchez & Garcés, 2012). A pesar de las cantidades de fitopatógenos que le atacan al cultivo causando grandes pérdidas en las plantaciones, la moniliasis es la más peligrosa.

La *Moniliophthora roreri* es un hongo que está presente en 11 países de centro y sudamérica. Es uno de los principales causantes de pérdidas mayores al 30% (Phillips, 2006). Ha causado grandes pérdidas que a provocado el abandono de miles de productores a lo largo del continente americano, situación que a causado efectos negativos en la

comunidad de cacaocultores y en los agroecosistemas (Ramírez, 2007). El modo de control de la moniliasis puede ser químico, cultural y biológico.

Objetivo de la presente investigación:

- Explorar la información científica acerca del género *Bacillus* spp. como controlador biológico de la Moniliasis en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.).

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Origen del cacao

El cacao es una planta de ciclo perenne de tipo tropical que rinde varias cosechas al año, crece en climas cálidos y húmedos. En México ya era conocido cuando, en 1520, desembarcaron los españoles; se utilizaba en forma de chocolate. Según la tradición, el árbol tenía origen divino y las semillas cayeron del cielo (Anacafé, 2004). Recibe el nombre científico de *Theobroma cacao* L. que significa en griego "Alimento de los Dioses".

Si bien el cacao es nativo de América, no se puede indicar con precisión el lugar específico ni su distribución. Aún hoy en día continúa siendo tema de discusión. Algunos autores indican que el cultivo se inició en México y América Central y señalan al mismo tiempo que los españoles no lo vieron cultivado en América del Sur cuando arribaron este continente, lo encontraron creciendo en forma natural en muchos bosques a lo largo de los ríos Amazonas y Orinoco y sus afluentes, donde aún hoy existen tipos genéticos de un alto valor (Lépido, 2009).

La figura 1 representa, las áreas de ubicación y distribución de los países productores de cacao. La distribución mundial está entre los países de América del Sur, América Central, El Caribe, África, Asia y Oceanía; cuentan con tierras de bosques húmedos tropicales (Lépido, 2009).

Figura 1. Ubicación y distribución de los países productores de cacao (color negro).

Fuente: Lépido, (2009)

Tabla 1. Países productores de cacao (color negro)

América	África	Asia y Oceanía
Belice	Benín	Fiji
Bolivia	Camerún	India
Brasil	Congo	Indonesia
Colombia	Congo República Democrática	Malasia
Costa Rica	Costa de Marfil	Papua Nueva Guinea
Cuba	Guinea Ecuatorial	Filipinas
Dominica	Gabón	Samoa
República Dominicana	Ghanas	Islas Salomón
Ecuador	Guineas	Sri Lanka
El Salvador	Liberia	Thailandia
Granada	Madagascar	Vanuatu
Guatemala	Nigeria	Vietnam
Haití	Sao Tome y Príncipe	
Honduras	Sierra Leona	
Jamaica	Tanzania	
México	Togo	
Nicaragua	Uganda	
Panamá		
Perú		
Santa Lucía		
Trinidad and Tobago		
Venezuela		

Fuente: Lépido, (2009)

2.2 Taxonomía del cultivo de cacao

Linneo, en 1737, clasificó el cacao como *Theobroma cacao*. Luego, Benthan y Hooker, en 1862, asignaron una clasificación definitiva como especie de la familia Sterculiaceae, donde actualmente pertenece al orden de las Marvales. Las diferentes especies del género *Theobroma* han tenido muchas clasificaciones botánicas derivadas de las dificultades encontradas con el abundante polimorfismo y tipos intermedios como resultado del cruzamiento dirigido entre formas definidas, buscando fijar tipos de mayor aprovechamiento económico. Cuatrecasas, en 1964, hizo una clasificación taxonómica del género *Theobroma*, agrupado en 6 secciones y 22 especies (Lépido, 2009).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del género *Theobroma*

Sección	Especie	Distribución
1.- Theobroma	*T. cacao. L.*	Regiones Tropicales
2.- Rhytidocarpus	*T. bicolor, Humb. Et Boul*	Desde el Sur de México hasta Brasil
3.- Oreanthes	*T. silvestre Mart.*	A lo largo del río Amazonas
	T. speciosum wild	Bolivia, Brasil y Perú
	T. velutinum Benoist	Guyanas
	T. glaucam Karst	Brasil, Colombia, Ecuador y Perú
	T. Bernoulli Pieter	Panamá y Colombia
4.- Telmatocarpus	*T. gileri Cuatr.*	Colombia
	T. microcarpum, Art.	Brasil
5.- Glossopetalum	*T. angustifolia Mociño at Sesse*	México y América Central
	T. cirmolinae Cuatr.	Colombia
	T. stipulatum Cuatr.	Colombia
	T. chocohense Cuatr.	Colombia
	T. simiarum Donn Smith	Costa Rica
	T. grandiforum Schum	Brasil
	T. ovobatum Klotzch et Bernouli	Brasil
	T. subincamun Mart.	Brasil y Venezuela
	T. hylacum Cuatr.	Colombia
	T. nemorale Cuatr.	Colombia
	T. simmosun Pavon Exhuber	Perú
	T. canunanense Pires et Fraes	Brasil
6.- Andropetalum	*T. mamosum Cuatr.*	Costa Rica

Fuente: Guía Técnica del Cultivo de Cacao, (2009)

2.3 Origen y distribución de la Moniliasis en el cultivo de cacao

Durante mucho tiempo se afirmaba que la moniliasis se manifestó en 1914, en Ecuador. Pero por medio de investigaciones realizadas, manifestaron que el origen de la enfermedad apareció en Colombia en el año de 1800; donde se ha expandido a 11 diferentes países del sur y centroamericanos productores de cacao (Perú, Bolivia, Venezuela, Colombia, Ecuador, Panamá, Costa Rica, Guatemala, Honduras, Belice y México) (Ramírez, 2007).

Figura 2. Mapa de dispersión de *Moniliophthora roreri*
Fuente: Jaimes & Aranzazu, (2010)

2.4 Hongo *Moniliophthora roreri*

El patógeno causal de la Moniliasis del cacao es el hongo *Moniliophthora roreri*, aún no se conoce su estado perfecto (sexual), por lo que se deduce que su reproducción se da sólo asexualmente por conidios; que son las únicas estructuras que se las conocen por ser capaces de causar este tipo de infección (Evans, Holmes, & Reid, 2003).

En las plantaciones de cacao, la infección causada por este hongo se presenta en la superficie de los frutos y en cualquier fase vegetativa de la planta, pero la etapa más susceptible para el cultivo es en los primeros estados de desarrollo del fruto (Correa, Castro, & Coy, 2014). El tiempo que tarda desde que se infecta hasta la aparición del primer síntoma visible en el fruto puede ser de 3 a 8 semanas, puede llegar a variar según la severidad del ataque, la edad del fruto, la susceptibilidad del árbol, las condiciones del clima (principalmente presencias de lluvias) (FHIA, 2003).

2.4.1 Ciclo de vida de *Moniliophthora roreri*

Los factores ambientales influyen en el desarrollo de la moniliasis, el ciclo comienza cuando la humedad es baja (época seca), se producen millones de esporas. Más tarde éstas conidiosporas son esparcidas por el viento y la lluvia, y se establecen en la superficie de los frutos y hojas del hospedero. En un lapso de 6 a 8 horas, con temperaturas mayores a 24 ºC y ambientes húmedos, los conidios germinan favorablemente por la penetracion en la epidermis con el uso de las hifas infectivas (Correa, *et al.*, 2014).

Las hifas se conducen hacia los tejidos centrales como el mesodermo y semillas, para la presencia de la necrosis (muerte del tejido interno y externo) siendo parte de la enfermedad (Garcia, Macedo, Tibúrcio, & Zaparoli, 2007). A medida que transcurre el tiempo de 20 a 40 días los síntomas son más severos y favorecen el crecimiento del patógeno, que fácilmente se observa en la superficie del fruto, apreciando las anormalidades de tipo geométricas y protuberancias o tumores (Evans *et al.*, 2003). Después de 2 a 3 meses, se presentan manchas aceitosas color café oscuro en las lesiones dadas, que finalmente se forma un característico polvo blanco (micelio) con esporas o "semillas" infectivas (Ram, 1989). Este polvo le permite al hongo ser dispersado con facilidad por agua, viento, seres vivos y materiales de trabajo.

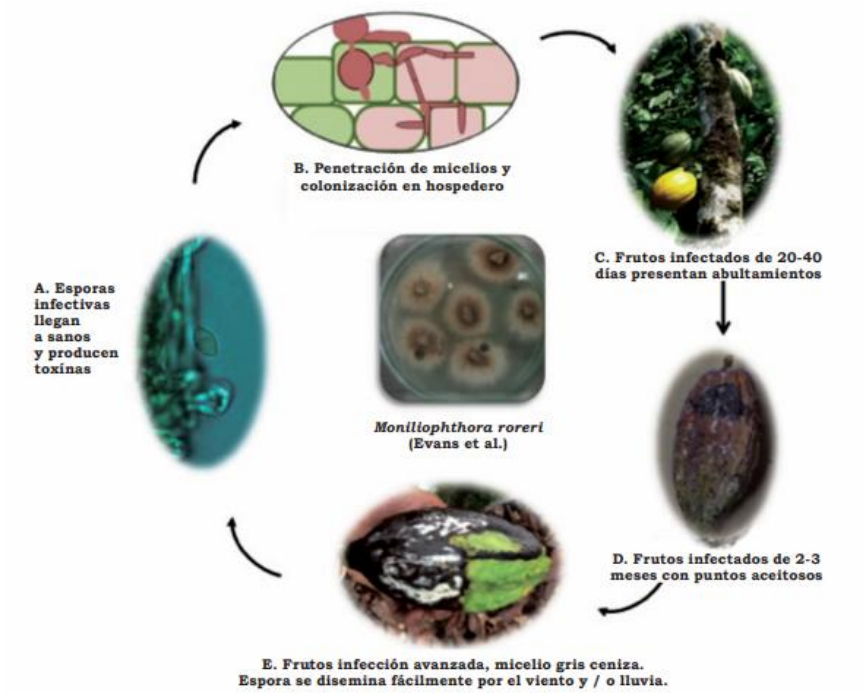

Figura 3. Ciclo de vida de *Moniliophthora roreri*. **A.** Inicio de la infección, las esporas maduras son diseminadas por el viento y agua. **B.** Penetración en la superficie del fruto, invadiendo las células paréquimas. **C.** Al primer mes pos-infección se observan abultamientos en frutos. **D.** Se generan pequeñas manchas aceitosas de colors café. **E.** Después de 3 meses se observa un micelio blanco que luego se transforma en gris-crema debido a la esporulación.
Fuente: Correa *et al.* (2014)

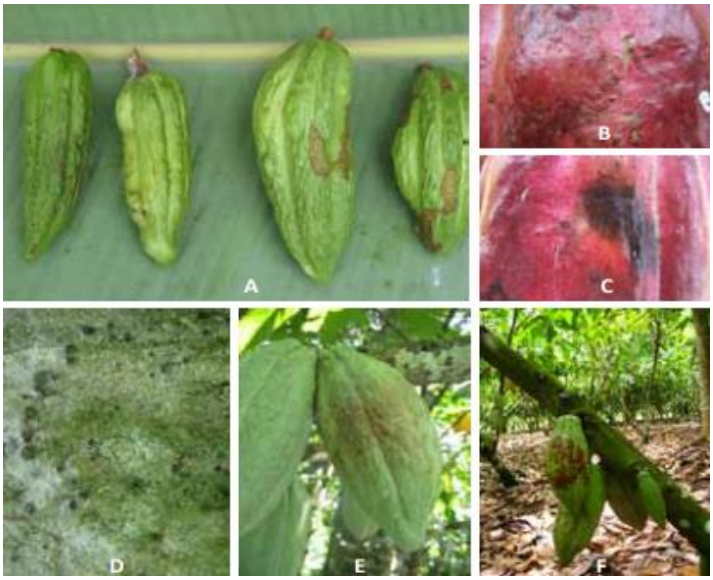

Figura 4. Evolución de síntomas de la moniliasis. (**A**) Frutos jóvenes con protuberancias o gibas; (**B**) y (**D**) Síntomas de puntos aceitosos; (**C**) y (**E**) Configuración de mancha; (**F**) Crecimiento del área necrosada o mancha.
Fuente: Jaimes & Aranzazu, (2010)

Figura 5. Infección y avance de la Moniliasis en frutos de cacao en edad avanzada.
Fuente: Jaimes & Aranzazu, (2010)

Figura 6. Inoculación natural de *Moniliophthora roreri* sobre frutos de cacao
Fuente: Jaimes & Aranzazu, (2010)

Figura 7. Síntomas internos y externos de la moniliasis: (**A**) Tejidos centrales, pulpa, almendras y cáscara fomando una sola masa producto de la pudrición; (**B**) Fruto mostrando una mancha café con borde irregular donde va avanzando la enfermedad; (**C**) Fruto donde se observa el micelio del hongo; (**D**) Mazorca con infecciones ocultas (internas), presentando hinchazones con pequeños abultamientos o gibas (protuberancias).
Fuente: Sánchez & Garcés, (2012)

2.5 Control biológico de la Moniliasis

Este método se basa en la utilización de organismos vivos (microorganismos) o virus para eliminar o disminuir la incidencia del patógeno, introduciendo microorganismos antagonistas. Para la Moniliasis, un biocontrolador eficaz en colonizar de forma rápida en toda la superficie del fruto, excluyendo el patógeno, compitiendo por nutrientes indispensables para la germinación de *M. roreri*, y a su vez reducen la esporulación del patógeno sobre las mazorcas (Jaimes & Aranzazu, 2010).

Éste tipo de control tiene que ir colectivamente con otros métodos existentes (Sánchez & Garcés, 2012).

2.6 Género *Bacillus* spp., como controlador biológico de la Moniliasis

El género *Bacillus*, pertenece a la familia *Bacillaceae*, que representa, una alta actividad bioquímica referenciada en la literatura científica en el control biológico (Layton, Maldonado, Monroy, Constanza, & Consuelo, 2011). Es un grupo de bacterias con efectos antagónicos que presenta con otros microorganismos causantes de enfermedades en plantas (Suárez & Cabrales, 2008), mediante mecanismos de competencia por nutrientes, minerales y espacio, sobre el hongo de *M. roreri* en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) (Villamil, Viteri, & Villegas, 2015).

2.6.1 Estudio de casos

1) **Aplicación de Antagonistas Microbianos para el Control Biológico de *Moniliophthora roreri* Cif & Par en *Theobroma cacao* L. Bajo Condiciones de Campo** (Villamil, Viteri, & Villegas, 2015).

   Ubicación: La presente investigación fue realizada en la finca "Corazales", occidente de Boyacá (Colombia), coordenadas 05º 28' 45,6'' N, 74º 02' 23,1'' O,

ubicada a una altura de 825 msnm, temperatura promedio de 22 a 32 ºC, precipitación pluvial acumulada de 1.557 mm y una humedad relativa de 84,12%.

Material Vegetal: Se utilizó, 4 árboles de cacao de IMC 67 con 4 frutos, para cada tratamiento (T1, *Trichoderma* spp. H5; T2, *Trichoderma* spp. H20; T3, *Bacillus* spp. B3 y T4, Testigo).

Antagonistas microbianos: Se obtuvieron de suelo rizósferico y de frutos de cacao de árboles procedentes de semilla, de diversos cruzamientos mayores a 40 años de las fincas Diamante y Resguardo del municipio de Coper (Boyacá-Colombia). El *M. roreri* se obtuvo del micelio del hongo en la finca "Corazales" de frutos de cacao de árboles procedentes de semilla.

Se multiplicaron los antagonistas y el patógeno en cajas de Petri en medio PDA (hongos) y Agar Nutriente (AN) (bacterias), los hongos fueron incubados a 25 ºC durante 8 días, la bacteria a 28 ºC en 4 días y el patógeno a 25 ºC en 25 días.

Aplicación de Tratamientos: Los cuatro árboles seleccionados para cada tratamiento, se inocularon 2,2 ml de suspensión antagonistas respectivos mediante aspersión con atomizador manual en un área de 3 cm^2 sobre los canales de la parte media del fruto, la densidad de la suspensión para cada hongo fue ajustada a $2,6x10^7$ conidios/ml y para la bacteria fue de $3,2x10^9$ células/ml, donde se protegió con una bolsa plástica de color azul (evitar el lavado por lluvia) a cada uno de las mazorcas. Cinco días atrás a la inoculación de los antagonistas se aplicó 2 ml del patógeno mediante aspersión con atomizador sobre la misma área donde se colocó el antagonista; y en el testigo se atomizó sobre el fruto seleccionado con una suspensión de 2,2 ml del patógeno así mismo a un área de 3 cm^2.

A partir de los primeros síntomas durante 6 semanas, se registró semanalmente de la incidencia y severidad externa de la enfermedad y la interna se evalúo cuando los frutos llegaron a su madurez de cosecha (48 días posteriores a la inoculación), calculando los dos mediante la fórmula de Arguello (2000) a base de las tablas 1 y 2. Se calculó el efecto de los tratamientos aplicado en las mazorcas mediante la fórmula planteada por Shaner y Finney (1997).

Tabla 2. Escala en grados y porcentajes de daño externa

Grado	Porcentaje (%)	Descripción
1	0	Fruto sano
2	1-25	Protuberancia
3	26-50	Inicio de mancha
4	51-75	Mancha
5	76-100	Esporulación

Fuente: Villamil *et al.* (2015)

Tabla 3. Escala en grados y porcentajes de daño interno

Grado	Porcentaje (%)
0	0
1	1-20
2	21-40
3	41-60
4	61-80
5	81-100

Fuente: Villamil *et al.* (2015)

Daño externo: El efecto de biocontrol en el T1 fue del 19,5%, en el T2 del 28% y en el T3 del 13,5%. En la figura 8, se puede apreciar la severidad del daño provocado por el patógeno.

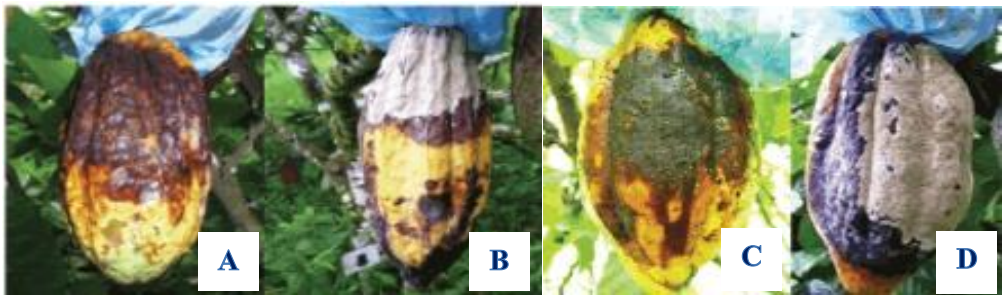

Figura 8. Daño externo de Moniliasis en frutos de cacao en condiciones de campo. (**A**) *Trichoderma* spp. H5; (**B**) *Trichoderma* spp. H20; (**C**) *Bacillus* spp.; (**D**) Testigo
Fuente: Villamil *et al.* (2015)

Tabla 4. Efecto de los antagonistas *Trichoderma* spp., y *Bacillus* spp., sobre la severidad externa de Moniliasis en frutos de cacao, bajo condiciones de campo. Municipio de Coper, Boyacá, Colombia.

Tratamientos	Severidad Externa (%) / Semanas					
	1	2	3	4	5	6
T1. *Trichoderma* spp. H5	22,8 ab	29,8 c	50,4 a	60,5 b	68,0 b	75,0 b
T2. *Trichoderma* spp. H20	**22,0 b**	**27,5 d**	**40,3 b**	**48,8 c**	**54,5 c**	**66,5 c**
T3. *Bacillus* spp. B3	24,3 ab	32,5 b	50,0 a	62,0 b	73,3 b	81,0 b
T4. Testigo (sin antagonista)	24,8 a	35,3 a	54,3 a	70,3 a	85,0 a	94,5 a

Fuente: Villamil *et al.* (2015)

Daño interno: Los frutos presentaron disminución de semillas y anormalidades. Con menor porcentaje de daño T1 H5 con (85,2%), T2 H20 (77,5%), T3 B3 (88%) y al testigo (96,5%). Los tratamientos T1 y T3 no presentaron diferencias estadísticas entre sí, pero si con el testigo. El efecto de biocontrol interno fue en el T1 H5 (11,2%), en el T2 H20 (19,5%) y en el T3 B3 (8,5%).

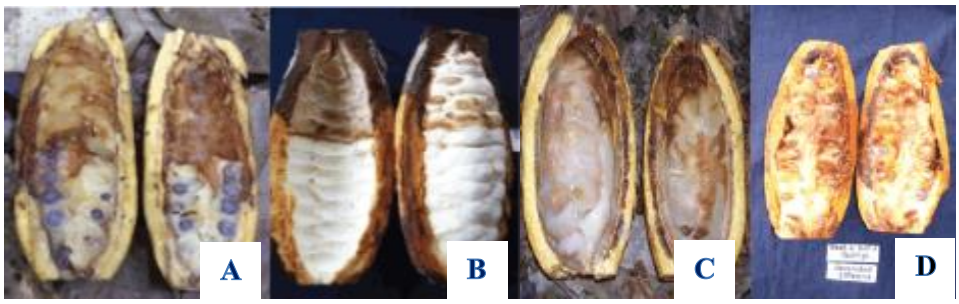

Figura 9. Daño interno de Moniliasis en frutos de cacao, en condiciones de campo. (**A**) *Trichoderma* spp. T1 H5, (**B**) *Trichoderma* spp. T2 H20, (**C**) *Bacillus* spp. T3 B3; (**D**) Testigo.
Fuente: Villamil *et al.* (2015)

2) **Identificación de especies de cepas nativas de *Trichoderma* spp., y *Bacillus* spp., y evaluación de su potencial antagonista *in vitro* frente al hongo fitopatógeno nativo *Moniliophthora roreri* en el departamento de Norte de Santander** (Suárez & Cabrales, 2008)**.**

Ubicación: El trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Genética y Biología Molecular de la Universidad Francisco de Paula Santander (Colombia).

Obtención del hongo *M. roreri*: Las cepas de éste patógeno, fue de un proyecto anterior que se habían recolectado a partir de cultivos de cacao ubicados en los municipios de Santiago, Sardinata, Tibú y Puerto Santander que ya estaban aisladas.

Obtención de Microorganismos antagonistas: De las seis cepas de *Trichoderma* spp se seleccionaron las mejores, identificadas como, T1 (*T. asperellum*), T3 (*T. longibrachiatum*), T5 (*T. asperellum*), fueron extraídos de suelos en cultivos de cacao en los municipios: El Zulia, El Tarra, Bucarasica y el corregimiento de Agua Clara en Norte de Santander, reactivadas y purificadas, las cepas fueron identificadas molecularmente por ITS. La cepa de *Bacillus* spp., se identificó mediante un sistema de diagnóstico BBL CRYSTAL Gram Positivo/GP (Becton Dickinson) dando como resultado *Bacillus brevis*.

Cultivo del antagonista y patógeno: Mediante la Técnica del Plato Dual, en cajas Petri fueron marcadas dos puntos a 4 cm, con medio de cultivo PDA, donde se tomó una porción de la colonia esporulada del fitopatógeno en uno de los puntos se colocó el patógeno y del otro lado opuesto al antagonista, incubaron a 28 ºC durante 8 días; se realizaron pruebas como: cualitativa y cuantitativa con la técnica del plato dual.

En la cualitativa, se compararon las cepas teniendo en cuenta la capacidad antagónica, haciendo referencia a la escala de notas (tabla 5).

Tabla 5. Descripción de la clave BELL y colaboradores (1982)

Nivel de Antagonismo	Cualificación
1	El antagonista crece totalmente sobre el fitopatógeno.
2	El antagonista crece sobre las 2/3 partes de la caja de cultivo, inhibiendo el crecimiento y desarrollo del fitopatógeno.
3	El antagonista y el fitopatógeno ocupan espacios iguales en la caja de cultivo, observándose que no hay competencia entre ellos.
4	El fitopatógeno crece sobre las 2/3 partes de la caja de cultivo, inhibiendo el crecimiento y desarrollo del antagonista
5	El fitopatógeno crece totalmente sobre el antagonista.

Fuente: Suárez & Cabrales, (2008)

En la prueba cuantitativa se empleó la evaluación en porcentaje del potencial inhibitorio micelial, (PICM) según la fórmula:

$$PICM = \frac{\mathrm{Mb} - \mathrm{Ma}}{\mathrm{Mb}} * 100$$

Ma: Micelio del fitopatógeno inhibido

Mb: Micelio del fitopatógeno con crecimiento libre

Resultados: Los tratamiento con *Trichoderma* spp., dieron un 100% de antagonismo frente al patógeno en el sexto día.

Tabla 6. Nivel de antagonismo entre *Trichoderma* spp., vs *M. roreri.*

Género	**Aislamiento**	**Nivel de Antagonismo** ***Trichoderma* spp., frente a *M. roreri***				
		1	**2**	**3**	**4**	**5**
Trichoderma spp.	T1	**x**				
	T2		x			
	T3	**x**				
	T4		x			
	T5	**x**				
	T6		x			

Fuente: Suárez & Cabrales, (2008)

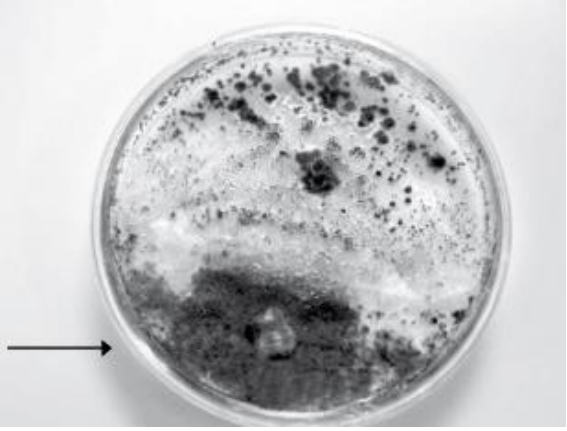

Figura 10. Antagonismo de *Trichoderma* spp., frente a *Moniliophthora roreri*. La flecha indica la colonia *M. roreri* totalmente cubierta por el hongo antagonista *Trichoderma* spp., en PDA.
Fuente: Suárez & Cabrales, (2008)

El tratamiento con *Bacillus brevis*, frente a *Moniliophthora roreri* dieron resultados negativos durante los 8 días de evaluación, junto con el testigo la cepa del fitopatógeno creció normalmente sin ningún antagonismo por parte del *Bacillus brevis.*

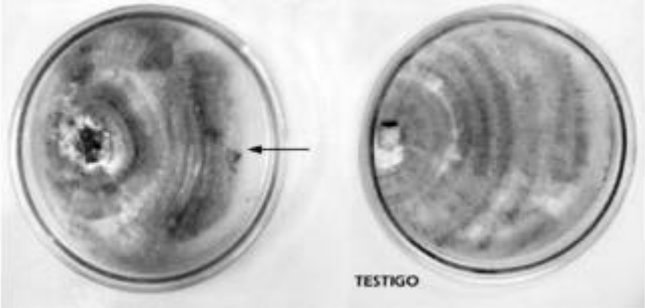

Figura 11. Antagonismo *Bacillus* spp., frente a *Moniliophthora roreri,* 8 días de incubación (*Bacillus brevis* indicado con la flecha). En PDA.
Fuente: Suárez & Cabrales, (2008)

Los resultados negativos del *Bacillus brevis* se dieron porque es una bacteria no apta para el control biológico de enfermedades de plantas.

Para un mejor rendimiento del potencial de control biológico de *M. roreri* en cacao demostrado en la práctica de campo se tiene que incluir prácticas de prevención de diseminación del fitopatógeno como cortinas rompevientos, desinfección de herramientas, traslado de material vegetal y el transporte de animales o el mismo hombre entre la plantación de cacao (Villamil *et al.*, 2015).

3) Aislamiento e Identificación de *Moniliophthora roreri*, causante de la moniliasis en Municipios del Nororiente Colombiano y ensayos preliminares para su Control Biológico (Suárez C., 2006)**.**

Ubicación: Se realizó en la Universidad Francisco de Paula Santander de Colombia.

Material: Se tomaron las muestras de *Moniliophthora roreri* en los municipios de Agua Clara, Tibú, Sardinata, El Tarra Bucarasica, El Zulia, Teorama y Cúcuta del Nororiente Colombiano. El antagonista se obtuvo de cepas de *Trichoderma* spp., de origen nativo, El Zuli e Iscalá y una cepa de origen Cubano perteneciente al cepario de la Universidad Francisco de Paula Santander de Colombia

Aislamiento e Identificación: Se aplicó tres métodos de aislamiento del fitopatógeno, el primero, la desinfección superficial de la mazorca en alcohol al 40% (un minuto) y con hipoclorito de sodio al 1% (un minuto), se lavó con alcohol y flameó, luego se cortaron en pequeños trozos, y se desinfectaron con hipoclorito al 1% y se lo llevó al medio PDA a 28 ºC. El segundo método fue similar pero se cultivó directamente sin desinfectar los trozos. El último fue una modificación de los dos anteriores tomando trozos de 2 cm x 2 cm desinfectando con el hipoclorito de sodio al 2,5 y 3% durante 2

minutos y alcohol al 60% durante 3 minutos. Una duración de 10 días de incubación; con tres tipos de medios de cultivos agar papa dextrosa, agar sabouraud y agar avena, el que resultó ser mejor para el crecimiento del hongo *M.* roreri fue el agar papa dextrosa. La identificación fue por medio del microscopio con metodología de tinción simple.

Las cepas de *Trichoderma* spp., se empleó para la siembra la técnica de Igarashi en medio nutritivo.

También se aisló el *Bacillus* spp., en agar LB que fue conservado a 32 ºC.

Resultados: De los métodos utilizados el más efectivo fue el de la desinfección superficial de la mazorca por el medio nutritivo; el agar papa dextrosa es el óptimo para el crecimiento de la *M. roreri*, en 10 días de incubación tuvo 3,5 cm de diámetro.

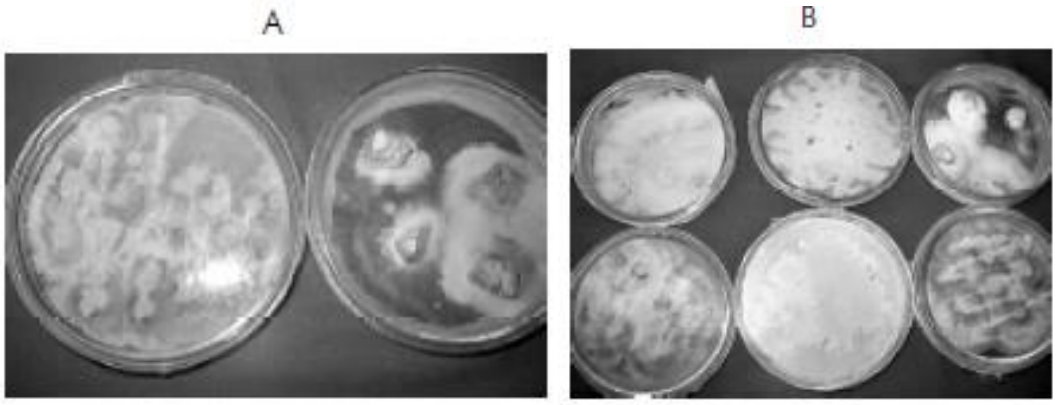

Figura 12. *Moniliophthora roreri* en medio PDA. **A**) Cepa izquierda de 15 días de crecimiento y Cepa derecha de 10 días de crecimiento. **B**) Cepas de 20 días de crecimiento.
Fuente: Suárez, (2006)

El Antagonismo de los bioensayos en las tres cepas de *Trichoderma* spp. resultaron efectivos con un porcentaje por encima del 50%, la cepa de Zulia con una inhibición de 95% frente a la *M. roreri*, de Iscalá fue de 70% y de la cepa Cubana de un 55%; indicando como posible controlador biológico para la Moniliasis.

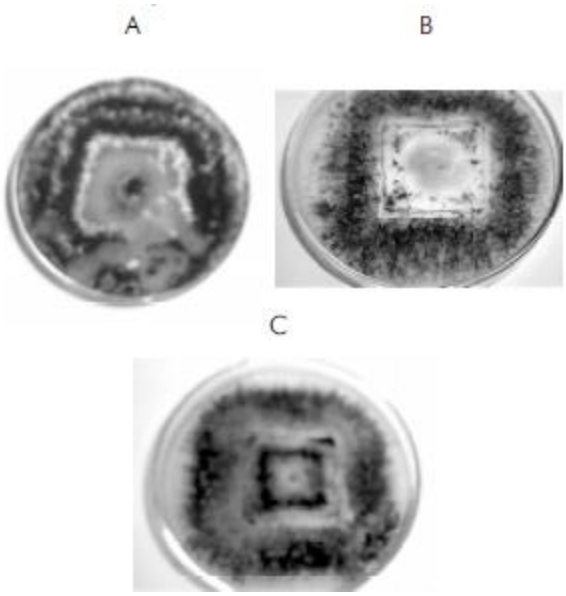

Figura 13. Pruebas de Antagonismo con cepas de *Trichoderma* spp. **A**) *Trichoderma* spp., de origen Cubano. **B**) *Trichoderma* spp., de Iscalá. **C**) *Trichoderma* spp., de El Zulia.
Fuente: Suárez, (2006)

El *Bacillus* spp., que se aisló, se realizará en otro ensayo en el laboratorio (*in vitro* e in vivo).

4) **Aislamiento de microorganismos para el control biológico de *Moniliophthora roreri*** (Suárez Contreras & Rangel Riaño, 2014)**.**

Ubicación: Norte de Santander de Colombia, en laboratorio de la Universidad Francisco de Paula Santander.

Material: El fitopatógeno se obtuvo a partir de mazorcas del cultivo (cacao), de los municipios Tibú, El Zulia, Cúcuta, El Tarra, Teorama, Sardinata, Bucarasica, Cáchira, La Esperanza y Ocaña. Los antagonistas se adquirieron de muestras de suelo de los cultivos de cacao.

Aislamiento: En la *M. roreri* se realizaron protocolos de desinfección, variando las concentraciones y los tiempos de exposición de los trozos (0.5 cm mazorca infectada) en soluciones de alcohol e hipoclorito, luego se secaron con servilletas estériles y se sembraron en medio de cultivo PDA, a una temperatura de 28 ºC durante 8 a 10 días las cuales se aislaron e identificaron las colonias de fitopatógeno *M. roreri.* En microorganismo antagónico, para hongos se sembraron en una superficie de 100 µl de la dilución 10^{-3} en agar PDA con antibiótico Gentamicina (2 ml/lt) a 28 ºC durante 5 días, para las bacterias se utilizó la dilución 10^{-4} en agar de nutritivo a 37 º C por 48 h, los hongos fueron identificados por las características morfológicas (macroscópicas y

microscópicas) y en las bacterias se realizó tinción de Gram mediante el sistema de diagnóstico BBL Crystal; y escogidas como posibles antagonistas.

Cultivo del antagonista y fitopatógeno: Por plato dual, en cajas Petri, se colocó a una distancia de 4 cm dos puntos, en medio de cultivo de PDA, en un punto se colocó una porción de la colonia esporulada del fitopatógeno y del otro punto opuesto el hongo antagonista (T1= HC002: *Paecilomyces* spp., T2= HZ002: *Paecilomyces* spp., T3= HC006: *Paecilomyces* spp. y T4= HS022: *Gliocladium* spp.), a 28 ºC en 8 días; se evaluó todos los días al igual que el testigo, hasta cuando el testigo cubriera el total de la caja petri y se calculó su Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial (PICR) con la fórmula propuesta por Meza (2008). Para las bacterias (T1= *Bacillus brevis* (BZ005), T2= *Bacillus cereus* (BS002) y T3= *Bacillus megaterium* (BTA005)) se sembraron en estrías equisdistantes y paralelas al agar nutritivo en cajas Petri donde luego de inocular el patógeno de la *M. roreri* en estrías perpendiculares las primeras, fueron incubadas a 28 ºC y las lecturas se hicieron diariamente durante el periodo que tardó el testigo; se calculó su porcentaje de PICR con la fórmula propuesta por Orberá (2009).

Resultados: Hongos antagonistas: El tratamiento T1(HC002) con un 80,72%, T2 (HZ002) con 83,33%, T3 (HC006) con un 61,81% y el T4 con 73,37% de inhibición. Bacterias antagonistas: El tratamiento T1 (*B. brevis*) con 88,90%, T2 (*B. cereus*) con 78% y el T3 (*B. megaterium*) fue el menos efectivo con 67,33 %.

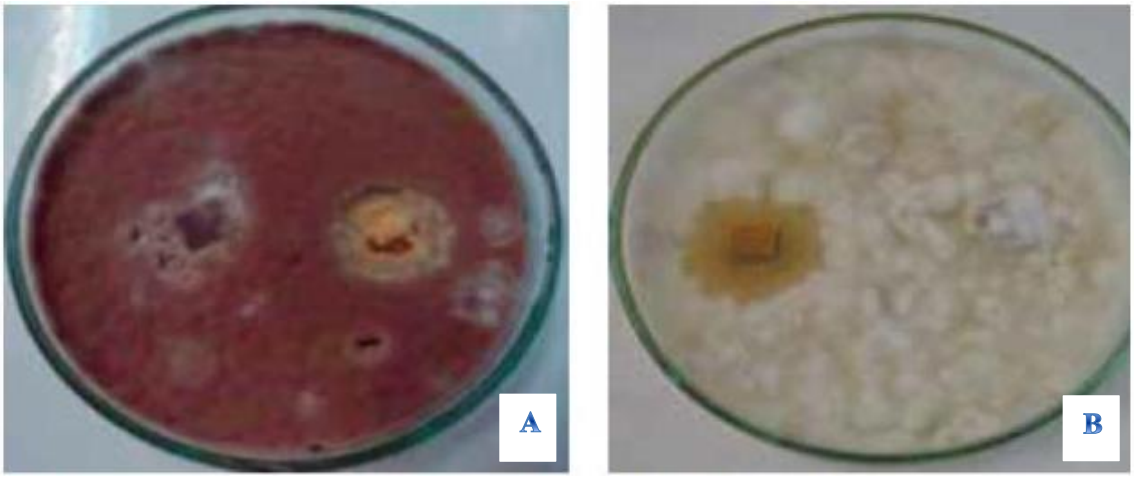

Figura 14. Antagonismo, **A**) T1 *Paecilomyces* spp. (CH002) vs *M. roreri*; **B**) T3 *Paecilomyces* spp. (HC006 vs *M. roreri*).

Fuente: Suárez & Rangel, (2014)

Figura 15. Antagonismo T4 *Gliocladium* spp., contra *M. roreri*.

Fuente: Suárez & Rangel, (2014)

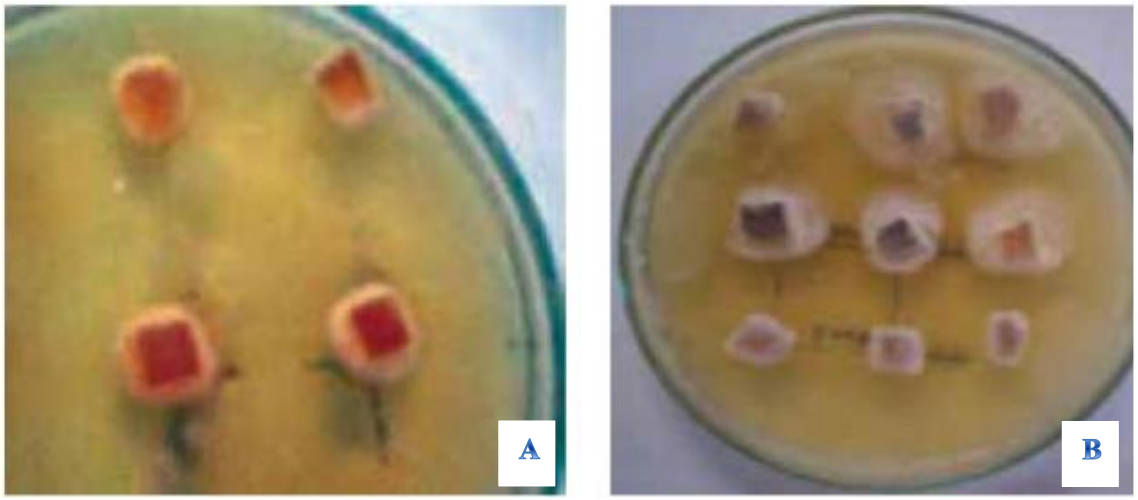

Figura 16. Antagonismo, **A**) T1 *Bacillus brevis* vs *M. roreri*; **B**) T2 *Bacillus cereus* vs *M. roreri.*

Fuente: Suárez & Rangel, (2014)

5) **Aislamiento, Selección e Identificación de Bacterias del género *Bacillus* antagonistas de *Pectobacterium carotovorum*** (Reinoso Pozo, Casadeús Romero, García Suárez, Pérez Gutiérrez, & Álvarez R., 2006)**.**

Ubicación: Se realizó en el Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal de la Provincia de La Habana, Cuba.

Material: Se utilizó las cepas de fitopatógeno *Pectobacterium carotovorum* 2a1, 2a2, 2046, 3b y 10c aisladas en laboratorio Central de Cuarentena Vegetal que se mantuvo en medio GYNA (Glucosa, extracto de levadura, carbonato de calcio, agar) a partir de tubérculos-semillas de la variedad Spunta (Holanda), perteneciente a la colección de

bacterias fitopatógenas de la Facultad de Biología. Las bacterias del género *Bacillus*, se extrajo de muestras de suelo con un peso aproximado a 100 g proveniente del municipio de Güines.

Aislamiento: El aislamiento de las bacterias se sembraron en placas con medio de agar nutriente con una dilución de 0.1 ml se sembró con espátula Drigalsky, incubadas durante 72 h a 28 ºC, para después realizar el conteo de las colonias de distintas apariencias. Para ubicarlas en el género *Bacillus* se pasaron a una subcultivación en agar nutriente durante 24 h a 28 ºC para efectuar la prueba de la catalasa.

Cultivo antagónico y fitopatógeno: Por medio del método de difusión en agar, con una suspensión del hongo *P. carotovorum* de 0,5 en la escala de Mc Farland, se vertió en placas, una vez solidificado, se colocaron ponches de agar de 7 mm de diámetro con las cepas de *Bacillus* crecidas durante 72 h se incubaron a 28 ºC.

Las cepas de *Basillus* spp., fueron identificadas según las pruebas fisiológicas y bioquímicas descritas para las especies del género *Bacillus* por Sneath (1986).

Resultados: Las pruebas de antagonismo realizadas, siete resultaron con actividad antagónica de las cuales se clasificaron como B1, B2, B4, B6, B8, B9 y B10 hasta su posterior identificación. Las cepas B1, B2, B4 y B10 inhibieron el crecimiento de todas las cepas de *P. carotovorum* utilizadas. Las B6, B8 y B9 no mostraron efecto antagónico frente a la cepa 2a1, así como tampo B6 y B9 afectaron el crecimiento de las cepas 10c y 2a2, respectivamente. La cepa antagonista B2 presentó una potente actividad antagónica frente a todas las cepas fitopatógenas.

Las cepas B1 y B9 son del *Bacillus licheniformis*, B2 al *Bacillus laterosporus*, la B4 y B10 al *Bacillus polymyxa* y las cepas B6 y B8 no fueron concluyentes y se las clasificaron como *Bacillus* spp.

Tabla 7. Antagonismo *in vitro* de cepas de *Bacillus* spp., frente a cepas de *P. carotovorum*. Halo de inhibición alrededor de los ponches (mm).

Cepas	B1(mm)	B2(mm)	B4(mm)	B6(mm)	B8(mm)	B9(mm)	B10(mm)
2a1	<10	**>15**	<10	No Inh.	No Inh.	No Inh.	<10
2a2	<10	**>15**	<10	<10	**>15**	No Inh.	10-15
2046	<10	**>15**	<10	<10	<10	<10	<10
3b	<10	**>15**	<10	10-15	10-15	<10	<10
10c	<10	**>15**	10-15	No Inh.	<10	<10	10-15

Fuente: Reinoso *et al.* (2006)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

Los datos de la presente investigación se recopilaron de artículos científicos indexados de diferentes bases de datos: scielo, ufps (Respuestas), researchGate, redalyc; libros, tesis de grado.

3.2 Método

Para facilitar la comprensión de la información se procedió a realizar un cuadro que contiene los siguientes ítems:

- Nombre del artículo
- Nombre de la revista
- Fecha de publicación
- Bacteria biocontroladora
- Hongo fitopatógeno
- Cultivo
- Respuesta (mala – regular - buena - excelente)

IV. RESULTADOS

Nombre del artículo	Lugar de estudio	Nombre de la revista	Año de publicación	Hongo/Bacteria biocontrolador	Hongo fitopatógeno	Cultivo	Respuesta	
							Externo	Interno
Aplicación de Antagonistas Microbianos para el Control Biológico de *Moniliophthora roreri* Cif & Par en *Theobroma cacao* L. Bajo Condiciones de Campo	Colombia	Scielo	2015	*Trichoderma* spp. (T1H5)	*Moniliophthora roreri*	Cacao	M	M
				Trichoderma spp. (T2 H20)	*Moniliophthora roreri*		R	M
				Bacillus spp. (T3 B3)	*Moniliophthora roreri*		M	M
Identificación de especies de cepas nativas de *Trichoderma* spp., y *Bacillus* spp., y evaluación de su potencial antagonista *in vitro* frente al hongo fitopatógeno nativo *Moniliophthora roreri* en el departamento de Norte de Santander	Colombia	ufps (Respuestas)	2008	*Bacillus brevis*	*Moniliophthora roreri*	Cacao	M	
				Trichoderma asperellum (T1),	*Moniliophthora roreri*		E	
				Trichoderma longibrachiatum (T3)			E	
				Trichoderma asperellum (T5)			E	

Respuesta	M= Mala (0-24%)	R= Regular (25-50%)	B= Buena (51-75%)	E= Excelente (76-100%)

Nombre del artículo	Lugar de estudio	Nombre de la revista	Año de publicación	Hongo/Bacteria biocontrolador	Hongo fitopatógeno	Cultivo	Respuesta
Aislamiento e Identificación de *Moniliophthora roreri*, causante de la moniliasis en Municipios del Nororiente Colombiano y ensayos preliminares para su Control Biológico	Colombia	ufps (Respuestas)	2006	*Trichoderma* spp. de El Zulia	*Moniliophthora roreri*	Cacao	E
				Trichoderma spp. de Iscalá			B
				Trichoderma spp. Cubano			B
Aislamiento de microorganismos para el control biológico de *Moniliophthora roreri*	Colombia	Revistas UNAL	2014	*Bacillus brevis* (T1)	*Moniliophthora roreri*	Cacao	E
				Bacillus cereus (T2)			E
				Bacillus megaterium (T3)			B
				Paecilomyces spp. (T1: HC002)			E
				Paecilomyces spp. (T2: HZ002)			E
				Paecilomyces spp. (T3: HC006)			B
				Paecilomyces spp. (T4: HS022)			B

Respuesta	M= Mala (0-24%)	R= Regular (25-50%)	B= Buena (51-75%)	E= Excelente (76-100%)

Nombre del artículo	Lugar de estudio	Nombre de la revista	Año de publicación	Hongo/Bacteria biocontrolador	Hongo fitopatógeno	Cultivo	Respuesta				
							2a1	**2a2**	**2046**	**3b**	**10c**
Aislamiento, Selección e Identificación de Bacterias del género *Bacillus* antagonistas de *Pectobacterium carotovorum*	Cuba	UAEM redalyc	2006	*Bacillus licheniformis*. (B1)	*Pectobacterium carotovorum*	Zanahoria Pepino Pimiento Chicoria Papa	R	R	R	R	R
				Bacillus laterosporus (B2)			E	E	E	E	E
				Bacillus polymyxa (B4)			R	R	R	R	B
				Bacillus spp. (B6)			M	R	R	B	M
				Bacillus spp. (B8)			M	E	R	B	R
				Bacillus licheniformis (B9)			M	M	R	R	R
				Bacillus polymyxa (B10)			R	B	R	R	B

Respuesta	M= Mala (No Inhibición)	R= Regular (<10 mm)	B= Buena (10-15 mm)	E= Excelente (>10 mm)

V. CONCLUSIONES

- Con la información obtenida en base a los trabajos científicos investigados podemos evidenciar que la especie *Bacillus* spp., a diferentes suspensiones concentradas puede llegar a ser efectiva en pequeños porcentajes en condiciones de campo aunque en laboratorio de igual manera demostró resultados muy variados que van de malos a excelentes tanto en los hongos de la *Moniliophthora roreri* como en la *Pectobacterium carotovorum.*
- El *Trichoderma* spp y el *Paecilomyces* spp., es un excelente biocontrolador del hongo *Moniliophthora roreri,* dando menores porcentajes de severidad externa e interna y por consecuencia la mayor disminución de daño en los frutos de cacao
- Los biocontroladores pueden reemplazar a los productos químicos, debido a los buenos resultados en las prácticas e investigaciones hechas, son realmente prometedoras ya que son enemigos naturales que combaten por completo a las plagas de una plantación determinada.

VI. BIBLIOGRAFÍA

Anacafé, A. N. (Julio de 2004). *Programa de Diversificacion de Ingresos en la Empresa Cafetelera.* Recuperado el 27 de Mayo de 2018, de Infocafés: http://infocafes.com/portal/wp-content/uploads/2016/05/Cultivo-de-Cacao.pdf

Arévalo Sánchez, M. Á., González León, D., Maroto Arce, S., Delgado López, T., & Montoya Rodríguez, P. (2017). *Manual Técnico del Cultivo de Cacao Prácticas Latinoamericanas.* Recuperado el 08 de Junio de 2018, de IICA: http://www.iica.int/es/publications/manual-t%C3%A9cnico-del-cultivo-de-cacao-pr%C3%A1cticas-latinoamericanas

Correa Álvarez, J., Castro Martínez, S., & Coy, J. (06 de Junio de 2014). *Estado de la moniliasis del cacao causada.* Recuperado el 31 de Mayo de 2018, de Scielo.org: http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v63n4/v63n4a11.pdf

Evans, H. C., Holmes, K. A., & Reid, A. P. (31 de Julio de 2003). *Phylogeny of the frosty pod rot pathogen of cocoa.* Recuperado el 31 de Mayo de 2018, de https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-3059.2003.00867.x

FHIA. (Noviembre de 2003). *IDENTIFICACIÓN Y CONTROL DE LA MONILIASIS DEL CACAO.* Recuperado el 31 de Mayo de 2018, de Fundación Hondureña de Investigación Agrícola: http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A3979e/A3979e.pdf

Garcia, O., Macedo N., J. A., Tibúrcio, R., & Zaparoli, G. (11 de Febrero de 2007). *Characterization of necrosis and ethylene-inducing proteins (NEP) in the basidiomycete Moniliophthora perniciosa, the causal agent of witches' broom in Theobroma cacao.* Recuperado el 07 de Junio de 2018, de USDA: https://pubag.nal.usda.gov/catalog/13223

Jaimes Suárez, Y., & Aranzazu Hernández, F. (Septiembre de 2010). *MANEJO DE ENFERMEDADES DE CACAO (Theobroma cacao L) EN COLOMBIA, CON ÉNFASIS EN MONILIA (Moniliophthora roreri).* Recuperado el 07 de Junio de 2018, de http://www.fedecacao.com.co/site/images/recourses/pub_doctecnicos/fedecacao-pub-doc_04A.pdf

Krauss, U., Hoopen, M., Hidalgo, E., Martínez, A., Arroyo, C., García, J., y otros. (Enero de 2003). *Manejo Integrado de la moniliasis (Moniliophthora roreri) del cacao (Theobroma cacao) en Talamanca, Costa Rica.* Recuperado el 07 de Junio de 2018, de ResearchGate: https://www.researchgate.net/publication/237357519_Manejo_Integrado_de_la_moniliasis_Moniliophthora_roreri_del_cacao_Theobroma_cacao_en_Talamanca_Costa_Rica

Layton, C., Maldonado, E., Monroy, L., Constanza Corrales, L., & Consuelo Sánchez, L. (10 de Noviembre de 2011). *Bacillus spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos.* Recuperado el 12 de Junio de 2018, de http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA16_ARTREVIS1_BACILLUS.pdf

Lépido, B. (2009). *Guía Técnica el Cultivo de Cacao.* Recuperado el 26 de Mayo de 2018, de http://www.cedaf.org.do/publicaciones/guias/download/cacao.pdf

Núñez Pazmiño, M. (Noviembre de 2010). *La Producción de Chocolate fino a partir de cacao ecuatoriano con fines de exportgación.* Recuperado el 12 de Junio de 2018, de http://repositorio.uees.edu.ec/handle/123456789/1298

Phillips Mora, W. (Marzo de 2006). *La Moniliasis del cacao: un enemigo que podemos y debemos vencer.* Recuperado el 26 de Mayo de 2018, de http://repiica.iica.int/docs/B0255e/B0255e.pdf

Ram, A. (Marzo de 1989). *Biology, epidemiology and control of moniliasis (Moniliophthora roreri) of Cacao.* Recuperado el 07 de Junio de 2018, de https://spiral.imperial.ac.uk/handle/10044/1/47629

Ramírez González, S. I. (10 de Octubre de 2007). *La moniliasis un desafío para lograr la sostenabilidad del sistema cacao en Mexico.* Recuperado el 26 de Mayo de 2018, de Dialet: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4835688

Reinoso Pozo, Y., Casadeús Romero, L., García Suárez, A., Pérez Gutiérrez, J., & Álvarez R., V. P. (Septiembre de 2006). *Aislamiento, Selección e Identificación de Bacterias del género Bacillus antagonistas de Pectobacterium Carotovorum.* Recuperado el 14 de Junio de 2018, de UAEM redalyc.org: http://www.redalyc.org/html/2091/209116108001/

Sánchez Mora, F. D., & Garcés Fiallos, F. R. (08 de Agosto de 2012). *Moniliophthora roreri (Cif y Par) Evans et al. en el cultivo de cacao.* Recuperado el 26 de Mayo de 2018, de UAEM redalyc.org: http://www.redalyc.org/html/3576/357633703006/

Sánchez, M. F., Garcés, F. R., Vera, J. F., Ramos, R. A., Troya, F., & Díaz, T. G. (Noviembre de 2011). *Cuantificación de enfermedades de mazorcas de cacao (Theobroma cacao L.) en la zona central del Litoral Ecuatoriano.* Recuperado el 26 de Mayo de 2018, de ResearchGate: https://www.researchgate.net/publication/283711942_CUANTIFICACION_DE_ENFERMEDADES_EN_MAZORCAS_DE_CACAO_Theobroma_cacao_L_EN_LA_Z

Suárez C., L. Y. (2006). *AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE Moniliophthora roreri CAUSANTE DE LA MONILIASIS EN MUNICIPIOS DEL NORORIENTECOLOMBIANO Y ENSAYOS PRELIMINARES PARA SU CONTROL BIOLÓGICO.* Recuperado el 07 de Junio de 2018, de http://revistas.ufps.edu.co/ojs/index.php/respuestas/article/view/623/627

Suárez Contreras, L. Y., & Rangel Riaño, A. L. (2014). *Aislamiento de microorganismos para control biológico de Moniliophthora roreri.* Recuperado el 07 de Junio de 2018, de Acta Agronómica: https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/36211/45150

Suárez, L. Y., & Cabrales, C. P. (Junio de 2008). *Identificación de especies de cepas nativas de Trichoderma sp. y Bacillus sp. y evaluación de su potencial antagonista in vitro frente al hongo fitopatógeno Moniliophthora roreri en el departamento de Norte de Santander.* Recuperado el 07 de Junio de 2018, de http://revistas.ufps.edu.co/ojs/index.php/respuestas/article/view/553/561

Villamil Carvajal, J. E., Viteri Rosero, S. E., & Villegas Orozco, W. L. (Junio de 2015). *Aplicación de Antagonistas Microbianos para el Control Biológico de Moniliophthora roreri Cif & Par en Theobroma cacao L. Bajo Condiciones de Campo.* Recuperado el 07 de Junio de 2018, de Scielo: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472015000100005&lng=en&nrm=iso&tlng=es