



Corpoica. Ciencia y Tecnología
Agropecuaria

ISSN: 0122-8706

revista_corpoica@corpoica.org.co

Corporación Colombiana de Investigación
Agropecuaria
Colombia

Tirado-Gallego, Paola Andrea; Lopera-Álvarez, Andrea; Ríos-Osorio, Leonardo Alberto
Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa* en *Theobroma*
cacao L.: revisión sistemática

Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, vol. 17, núm. 3, septiembre-diciembre,
2016, pp. 417-430

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria
Cundinamarca, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=449946663008>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Sanidad vegetal y protección de cultivos

Artículo de revisión

Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa* en *Theobroma cacao* L.: revisión sistemática

Strategies for Control of *Moniliophthora roreri* and *Moniliophthora perniciosa* in *Theobroma cacao* L.: A Systematic Review

Estratégias de controle de *Moniliophthora roreri* e *Moniliophthora perniciosa* em *Theobroma cacao* L.: revisão sistemática

Paola Andrea Tirado-Gallego,¹ Andrea Lopera-Álvarez,² Leonardo Alberto Ríos-Osorio³

¹ Microbióloga industrial y ambiental, Universidad de Antioquia. Investigadora Grupo de Investigación Salud y Sostenibilidad, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. paola.tirado@udea.edu.co

² Microbióloga industrial y ambiental, Universidad de Antioquia. Investigadora Grupo de Investigación Salud y Sostenibilidad, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. andrea.lopera@udea.edu.co

³ PhD, Universitat Politècnica de Catalunya. Docente e investigador, Grupo de Investigación Salud y Sostenibilidad, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. leonardo.rios@udea.edu.co

Fecha de recepción: 11/09/2015

Fecha de aceptación: 12/05/2016

Para citar este artículo: Tirado-Gallego PA, Lopera-Álvarez A, Ríos-Osorio LA. Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa* en *Theobroma cacao* L.: revisión sistemática. Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria. 17(3):417-430

Resumen

Una de las limitaciones más importantes de la producción de cacao (*Theobroma cacao* L.) a nivel mundial es la presencia de enfermedades causadas principalmente por hongos fitopatógenos del género *Moniliophthora* sp., especialmente, *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa*, causantes de las enfermedades moniliasis y escoba de bruja, respectivamente. Ambas enfermedades son altamente invasivas y endémicas del cacao. El objetivo de este estudio fue describir las estrategias de control implementadas para manejar dichas enfermedades. Este sondeo se llevó a cabo en conformidad con la declaración Prisma (ítems de información con mayor reconocimiento para las revisiones sistemáticas y los metaanálisis), con base en una búsqueda sistemática de literatura

en las bases de datos ScienceDirect, Springer Link y Scopus. Se incluyeron artículos originales de investigación reportados en la literatura científica en los últimos 12 años y se aplicaron criterios de inclusión y exclusión. Se encontró que el año en que más artículos se reportaron sobre el tema fue el 2008, en países como Brasil y Costa Rica. Las estrategias más utilizadas para el control de estas enfermedades son la remoción de mazorcas con signos de enfermedad, el empleo de fungidas a base de cobre y los controladores biológicos como *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp. Una de las metodologías más recomendadas es la optimización de los tratamientos mediante la combinación de agentes químicos, físicos y biológicos.

Palabras clave: *Theobroma cacao*, control biológico, enfermedades de las plantas, *Moniliophthora*

Abstract

One of the most important limitations of cocoa production worldwide is primarily diseases caused by the pathogenic fungi of the genus *Moniliophthora* sp., especially, *Moniliophthora roreri* and *Moniliophthora perniciosa*, causing moniliasis and the witches' broom disease, respectively; both diseases are highly invasive and endemic in cocoa. The objective of this study was to describe the control strategies that can be used to handle the moniliasis and witches' broom diseases. This study was conducted in accordance with the Prisma (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) statement, for which a systematic literature search in the Scien-

ceDirect, Springer Link and Scopus databases was used. Original investigation articles over the last 12 years were included, inclusion and exclusion criteria were also applied. In countries like Brazil and Costa Rica, the year with most reports of related articles was 2008. The most used strategies for the disease control are the phytosanitation, the copper-based fungicides and biologic agents control of fungus and bacteria, specially, *Trichoderma* and *Bacillus*. One of the most recommended methodologies on the studied articles was the optimization of treatments employing the combination of physical, biological and chemical agents.

Keywords: *Theobroma cacao*, Biological control, Plant diseases, *Moniliophthora*

Resumo

Uma das limitações mais importantes da produção de cacau (*Theobroma cacao* L.) a nível mundial é a presença de doenças causadas principalmente por fungos fitopatogênicos do género *Moniliophthora* sp., especialmente, *Moniliophthora roreri* e *Moniliophthora perniciosa*, causantes das doenças monilíase e escoba de bruxa, respectivamente. Ambas as doenças são altamente invasivas e endémicas do cacau. O objetivo deste estudo foi descrever as estratégias de controle implementadas para manejar ditas doenças. Esta sondagem levou-se a cabo em conformidade com a declaração Prisma (itens de informação com maior reconhecimento para as revisões sistemáticas e as meta-análises), com base em uma procura sistemática de literatura nas bases

de dados ScienceDirect, Springer Link e Scopus. Incluíram-se artigos originais de pesquisa reportados na literatura científica nos últimos 12 anos e aplicaram-se critérios de inclusão e exclusão. Encontrou-se que o ano em que mais artigos se reportaram sobre o tema foi 2008, em países como o Brasil e a Costa Rica. As estratégias mais utilizadas para o controle destas doenças são a remoção de espigas com signos de doença, o emprego de fungicidas a base de cobre e os controladores biológicos como *Trichoderma* sp. e *Bacillus* sp. Uma das metodologias mais recomendadas é a otimização dos tratamentos mediante a combinação de agentes químicos, físicos e biológicos.

Palavras chave: *Theobroma cacao*, controle biológico, doenças das plantas, *Moniliophthora*

Introducción

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es uno de los cultivos que se produce principalmente en regiones tropicales de América Latina. La proporción de cacao producido en todo el mundo por los pequeños agricultores, que corresponde casi al 90 % de la producción total, proviene de pequeñas granjas de menos de cinco hectáreas en países como Ecuador, Colombia, Brasil y República Dominicana, en el continente americano; Costa de Marfil, Ghana, Camerún y Nigeria, en África; e Indonesia, Malasia y Papúa Nueva Guinea, en Asia y Oceanía (Franzen y Borgerhoff 2007; ICCO 2012). Es un producto que tiene gran importancia, tanto en el ámbito nacional como internacional (Suárez y Aranzazu 2010). Tradicionalmente, el cacao ha sido objeto de explotación comercial para la fabricación de chocolate, así como para su uso en las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica (Gutiérrez et al. 2011).

Brasil y Ecuador son los países de América Latina con mayor producción de cacao, sin embargo, en el continente africano, Costa de Marfil y Ghana son los dos países con mayor cantidad de tierra destinada a la producción de cacao en el mundo (Franzen y Borgerhoff 2007). En la actualidad, los cultivos de cacao en Colombia poseen una alta variabilidad genética, debido a los cruces que pueden presentarse en algunas de las variedades de cacao (Forastero/Amazónico y clones de Trinitario) (Carrillo et al. 2014). En efecto, las condiciones ecoclimáticas del territorio colombiano favorecen su expansión en el país y aumentan la capacidad de producir ecotipos de cacao con diferentes perfiles bioactivos y sabores que están catalogados como granos de alta calidad (Martínez y Ortiz 2005; Carrillo et al. 2014).

En Colombia, la explotación de cacao es realizada de forma directa por más de 25.000 familias, de las cuales el 90 % desarrolla su proceso productivo en condiciones de economía campesina. El chocolate de mesa producido por la industria nacional se destaca como un componente importante de la canasta familiar colombiana; asimismo, se destacan otros productos de confitería basados en cacao que

originan divisas para el país a través de la exportación (Suárez y Aranzazu 2010).

Una de las limitaciones más importantes de la producción de cacao en todo el mundo son las plagas y enfermedades causadas principalmente por hongos fitopatógenos del género *Moniliophthora* sp., especialmente, *Moniliophthora roreri* Cif. y Par. (Evans et al. 1978) y *Moniliophthora perniciosa* Stahel (Aime y Phillips-Mora 2005). Estos microorganismos son causantes de las enfermedades moniliasis y escoba de bruja, ambas altamente invasivas y endémicas del cacao. Estos hongos se reproducen en las mazorcas y se dispersan por esporas que entran en contacto con otras mazorcas. De tal forma, colonizan los tejidos meristemáticos del árbol, sin causar daño aparente en los granos de cacao (Mejía et al. 2008); sin embargo, al infectar el árbol intercelularmente, causan pérdida apical, hiperplasia e hipertrofia en la semilla, lo que ocasiona finalmente la necrosis de esta (Lopes et al. 2009).

A nivel mundial se estiman pérdidas de cerca del 30 % del rendimiento de cacao (Aneja et al. 2006), lo cual genera un desequilibrio económico para los países exportadores. En Centroamérica, ambas enfermedades devastan la producción de cacao y, combinadas, generan pérdidas cercanas al 80 % (Krauss et al. 2006). Entre tanto, en Colombia se calculan pérdidas del 40 % de la producción anual, equivalente a unas 28.000 toneladas de grano comercial (Correa et al. 2014).

Entre los diferentes métodos de control empleados para la disminución de estas enfermedades se encuentra la implementación de productos químicos, los cuales son eficaces en la mayoría de los casos, pero causan daños graves al entorno, al suelo y a los seres humanos (Deberdt et al. 2008).

En la literatura científica se han descrito diferentes estrategias de control para reducir los efectos de dichas enfermedades, entre las cuales se destacan la producción de enzimas líticas por hongos y bacterias y el mejoramiento genético de variedades (Cuervo-Parra et al. 2011).

El control biológico como manejo integrado de plagas (MIP) es una de las técnicas que se ha venido desarrollando satisfactoriamente; además, es una de las soluciones más sostenibles, de la cual se ha encontrado una alta eficiencia para el control de enfermedades del cacao, mediante el empleo de hongos parasíticos (Mejía et al. 2008). Uno de los géneros sobre el cual se han reportado estudios de los efectos en moniliasis y escoba de bruja es *Trichoderma* sp., del que se ha documentado su antagonismo frente a algunos hongos fitopatógenos, ya que tiene la capacidad de suprimir las enfermedades causadas por estos.

El *Trichoderma* utiliza varios mecanismos de control biológico como parasitismo, antibiosis y competencia por espacio y nutrientes; también es capaz de promover el crecimiento y desarrollo del árbol e inducir la respuesta de defensa frente a patógenos. Varias especies de *Trichoderma* han sido estudiadas ampliamente por su potencial de control biológico en enfermedades de diferentes cultivos. Sin embargo, a pesar de la importancia del *M. roreri* en el cultivo del cacao, se sabe poco sobre la interacción del *Trichoderma* con el cacao y los hongos fitopatógenos (Cuervo-Parra et al. 2011).

A pesar de los éxitos reportados sobre hongos endófitos para la supresión de enfermedades del cacao, se sabe poco acerca de la presencia o potencial de endófitos bacterianos. Algunos estudios han demostrado que los actinomicetos son habitantes comunes de la rizosfera del cacao y de la superficie de las mazorcas (Macagnan et al. 2006). Otros estudios, realizados por Melnick et al. (2011), han demostrado que los endófitos bacterianos podrían introducirse en los granos de cacao, pero la presencia de endófitos bacterianos nativos en el cacao y su potencial para la supresión de la enfermedad es desconocida.

Por lo anterior, el objetivo principal de este estudio es describir las estrategias de control implementadas para manejar las enfermedades de escoba de bruja y moniliasis en *T. cacao* L., a partir de la revisión sistemática de la literatura científica al respecto en los últimos 12 años.

Materiales y métodos

Estrategia de búsqueda

El estudio se llevó a cabo de acuerdo con la declaración Prisma (Urrútia y Bonfill 2010). En el presente año se realizó una búsqueda sistemática de literatura en las bases de datos ScienceDirect, Springer Link y Scopus, para la cual se establecieron tres criterios: a) sensibilidad, con descriptores DeCS, b) especificidad, con la combinación de operadores booleanos de términos definidos de acuerdo con la pregunta de investigación y c) exhaustividad, por medio de descriptores no DeCS, junto con la literatura gris encontrada.

Se realizó la búsqueda con la siguiente ruta general: [(*Theobroma cacao* OR *cocoa* OR *cacao*) AND ((*witches' broom disease* OR *moniliasis*) OR *Moniliophthora*) AND (*ecology* OR control)]. En las bases de datos ScienceDirect, Springer Link y Scopus, se utilizaron los límites de tiempo "2004 to present", "between 2004 and 2016" y "limit to 2004 - 2016" respectivamente, para abarcar la literatura científica publicada entre noviembre de 2004 y mayo de 2016. Las rutas específicas empleadas se presentan a continuación.

Sciencedirect

(*Theobroma cacao* OR *cocoa* OR *cacao*) AND ((*witches' broom disease* OR *moniliasis*) OR *Moniliophthora*) AND (*ecology* OR control).

Springerlink

(*Theobroma cacao* OR *cocoa* OR *cacao*) AND ((*witches' broom disease* OR *moniliasis*) OR *Moniliophthora*) AND (*ecology* OR control). Life science.

Scopus

(*Theobroma cacao* OR *cocoa* OR *cacao*) AND ((*witches' broom disease* OR *moniliasis*) OR *Moniliophthora*) AND (*ecology* OR control).

Las citas encontradas, junto con su respectivo resumen, se importaron al software de gestión de referencias EndNote Web, en el cual se eliminaron las citas duplicadas entre las bases de datos.

Criterios de inclusión y exclusión

Para el cumplimiento del objetivo planteado, se incluyeron artículos originales de investigación reportados en la literatura científica en los últimos 12 años (de noviembre 2004 a mayo de 2016) escritos en idioma inglés, en los cuales se reportó el mecanismo de acción de la estrategia de control implementada y la caracterización o clasificación taxonómica de los microorganismos involucrados en el control de la enfermedad. También se incluyeron en la selección los artículos que especificaron los valores y porcentajes de la remoción de la enfermedad según el método de control empleado, así como los artículos que demostraron evidencias de la recuperación del árbol después del tratamiento empleado.

Fueron excluidos los artículos en los cuales se describían modificaciones genéticas al microorganismo causante de la enfermedad y aquellos artículos en los cuales se estudiaba la enfermedad en el árbol causada por otros hongos patógenos. Así mismo, se excluyeron artículos centrados en describir el mecanismo de infección en el árbol por parte del

microorganismo patógeno. Los datos de cada publicación fueron extraídos y tabulados para su posterior análisis.

Resultados y discusión

Con la implementación del protocolo de búsqueda bibliográfica descrito inicialmente, se logró obtener un total de 518 artículos, publicados entre 2004 y 2016 (ScienceDirect 116, Springer Link 118 y Scopus 284). Posteriormente, mediante la herramienta “Gestor de referencias” de EndNote Web se eliminaron 117 artículos duplicados entre las bases de datos. Seguidamente, se evaluaron 401 publicaciones, con base en el título y contenido del resumen, de las cuales 366 fueron descartadas por no cumplir con los criterios de inclusión determinados de acuerdo con la pregunta de investigación. Se analizaron 35 artículos en texto completo y, como resultado, 21 fueron eliminados por cumplir con los criterios de exclusión. La implementación del protocolo de búsqueda en las tres bases de datos arrojó un total de 14 artículos seleccionados según la revisión sistemática (figura 1).

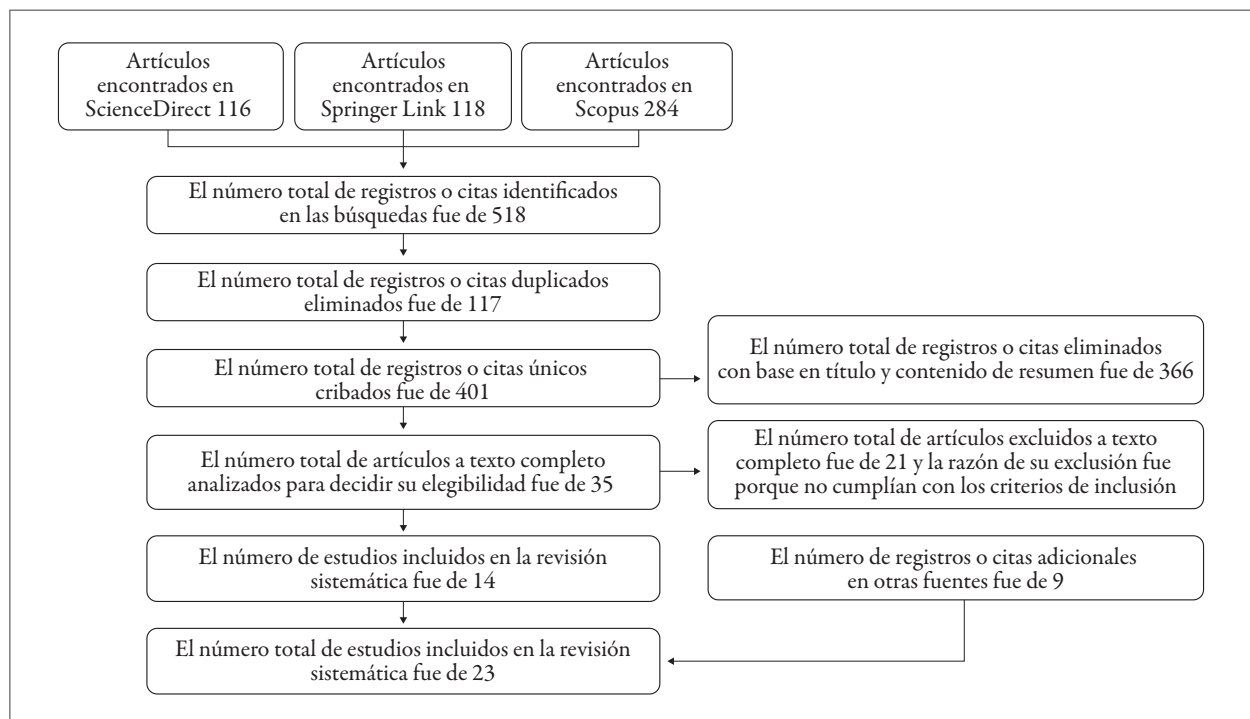


Figura 1. Diagrama de flujo de la información en las diferentes fases de la revisión sistemática.

Fuente: Elaboración propia

A estos 14 artículos obtenidos se sumaron por exhaustividad 9 artículos originales de revistas no indexadas en las bases de datos, de acuerdo con

los mismos criterios de inclusión y exclusión. Esta literatura gris fue obtenida mediante la herramienta de búsqueda Google Académico (tabla 1 y figura 1).

Tabla 1. Artículos analizados en el estudio

Autor	Año	Revista	País del estudio
Aneja et al.	2005	<i>Physiological and Molecular Plant Pathology</i>	Ecuador
Bailey et al.	2008	<i>Biological Control</i>	Brasil
Deberdt et al.	2008	<i>Biological Control</i>	Camerún
Macagnan et al.	2006	<i>Phytoparasitica</i>	Brasil
Macagnan et al.	2008	<i>Biological Control</i>	Brasil
San-Blas et al.	2012	<i>Archives of Phytopathology and Plant Protection</i>	Venezuela
Samuels et al.	2006	<i>Mycological Research</i>	Ecuador
Gutiérrez et al.	2011	<i>Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria</i>	Colombia
Cuervo-Parra et al.	2011	<i>African Journal of Biotechnology</i>	México
Suárez et al.	2010	<i>Fedecacao</i> ¹	Colombia
Mbarga et al.	2014	<i>Biological Control</i>	Camerún
Lopes et al.	2009	<i>Biological Control</i>	Brasil
Mejía et al.	2008	<i>Biological Control</i>	Panamá
Medeiros et al.	2010	<i>Crop Protection</i>	Brasil
Lopes et al.	2008	<i>Mycological Research</i>	Brasil
Rubini et al.	2005	<i>International Journal of Biological Sciences</i>	Brasil
Franzen y Borgerhoff	2007	<i>Biodiversity and Conservation</i>	EE. UU.
Martínez y Ortiz	2005	<i>Observatorio Agrociencias Colombia</i> ²	Colombia
Melnick et al.	2011	<i>Biological Control</i>	Ecuador
Melnick et al.	2008	<i>Biological Control</i>	Brasil
Krauss et al.	2006	<i>Biological Control</i>	Panamá Costa Rica
Krauss et al.	2010	<i>Biological Control</i>	Ecuador Costa Rica
Galarza et al.	2015	<i>Journal of General Plant Pathology</i>	Ecuador

¹ Esta fuente de información se considera literatura gris y corresponde a la página oficial de la Federación Nacional de Cacaoteros de Colombia.

² Esta fuente de información se considera literatura gris y corresponde a la página oficial del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.

Fuente: Elaboración propia

Estrategias de control

Durante la búsqueda de artículos relacionados con estrategias de control para la moniliasis y la escoba de bruja en cacao, se evidenció que la mayor cantidad de artículos generados sobre este tema apareció en el año 2008, en países como Costa Rica y Brasil (este último es uno de los países con mayor producción de cacao en Latinoamérica, junto con Ecuador).

El control es una medida empleada para reducir, eliminar o llevar a niveles aceptables diferentes tipos de organismos vivos que pueden causar enfermedades en cultivos, por lo tanto, una estrategia de control es una combinación de varias medidas de intervención, en la cual se desarrollan diferentes técnicas metodológicas con el fin de mantener la sanidad vegetal del cultivo y, de esta manera, evitar que se propague una enfermedad.

Una de las estrategias de control que se realiza para evitar pérdida económica en cultivos de cacao en los diferentes países de Centro y Sur América, debido a enfermedades como moniliasis y escoba de bruja, es la implementación de productos químicos como los fungicidas basados en cobre (hidróxido de cobre y el oxathiin flutolanil) y otros como el azoxystrobin y el propiconazole. Estos han demostrado ser eficientes en la remoción de la enfermedad, pues mejoran la producción de las mazorcas de cacao; sin embargo, este tipo de control puede generar altos costos y, en algunos casos, puede ser ineficaz, debido a la resistencia que pueden desarrollar los microorganismos a este tipo de compuestos, además del impacto negativo en la salud ambiental y humana (Lopes et al. 2009; Krauss et al. 2010; Medeiros et al. 2010).

Otro tipo de control que se ha desarrollado en los cultivos de cacao es la fitosanidad o control cultural, que consiste en la remoción de las escobas y mazorcas con signos de enfermedad. También se ha implementado la sustitución de árboles enfermos con variedades genéticamente resistentes, estrategia considerada viable, aunque puede generar un retraso en la producción por el largo ciclo de vida del cacao, más la posibilidad de la pérdida de resistencia contra estas enfermedades (Lopes et al. 2009; Medeiros et al. 2010).

Una última estrategia de control que se ha venido estableciendo es la utilización de agentes biológicos, como hongos y bacterias. Actualmente, se ha documentado que ciertos grupos de estos presentan efecto antagonico sobre otros microorganismos, de modo que desarrollan diferentes procesos biológicos de antagonismo, como la producción de metabolitos, actividades parasíticas y actividades de competencia por espacio y nutrientes contra microorganismos patógenos, más la inducción de resistencia en el árbol de cacao.

En la tabla 2 se muestran algunos de los microorganismos que han sido utilizados como método de control y que, según la literatura encontrada, tienen una alta eficiencia en la reducción de las dos enfermedades más devastadoras en los cultivos de cacao (moniliasis y escoba de bruja). Entre los microorganismos más empleados como agentes de biocontrol se encuentran hongos, como el *Trichoderma* sp., y bacterias, como el *Bacillus* sp., los cuales tienen la capacidad de desarrollar diferentes procesos metabólicos que les permiten ser los mejores candidatos para su empleo como agentes de control biológico.

Tabla 2. Estrategias empleadas como método de control para las enfermedades de escoba de bruja y moniliasis

Tipo de control	Mecanismo	Género	Especie	Referencia
Físico	Remoción de mazorcas enfermas	-	-	Lopes et al. 2009; Medeiros et al. 2010
	Siembra de variedades de árboles mejorados genéticamente			
Químico	Fungicidas a base de cobre y sistémicos	-	-	Lopes et al. 2009; Krauss et al. 2010; Medeiros et al. 2010

(Continúa)

(Continuación tabla 2)

Tipo de control	Mecanismo	Género	Especie	Referencia
Biológico	Hongos	<i>Trichoderma</i>	<i>T. harzianum</i>	Aneja et al. 2005; Bailey et al. 2008
			<i>T. stromaticum</i>	Bailey et al. 2008; Lopes et al. 2009; Medeiros et al. 2010
			<i>T. hamatum</i>	Bailey et al. 2008
			<i>T. asperellum</i>	Krauss et al. 2006; Bailey et al. 2008; Galarza et al. 2015
			<i>T. ovalisporum</i>	Krauss et al. 2010
		<i>Clonostachys</i>	<i>C. rosea</i>	Krauss et al. 2006; Mejía et al. 2008
			<i>C. byssicola</i>	Krauss et al. 2006
		<i>Colletotrichum</i>	<i>C. gloeosporioides</i>	Mejía et al. 2008
		<i>Botryosphaeria</i>	<i>B. ribis</i>	Mejía et al. 2008
		<i>Fusarium</i>	<i>F. solani</i>	Mejía et al. 2008
			<i>F. decemcellulare</i>	Mejía et al. 2008
	Bacterias	<i>Acremonium</i>	<i>Acremonium</i> sp.	Mejía et al. 2008
		<i>Xylaria</i>	<i>Xylaria</i> sp.	Mejía et al. 2008
		<i>Bacillus</i>	<i>B. subtilis</i>	Melnick et al. 2011
			<i>B. pumilus</i>	Melnick et al. 2011
			<i>B. cereus</i>	Melnick et al. 2011
			<i>B. thuringiensis</i>	Melnick et al. 2011
			<i>B. amyloliquefaciens</i>	Melnick et al. 2011
			<i>B. mycoides</i>	Melnick et al. 2011
		<i>Lysinibacillus</i>	<i>L. fusiformis</i>	Melnick et al. 2011
			<i>L. sphaericus</i>	Melnick et al. 2011
		<i>Solibacillus</i>	<i>S. silvestris</i>	Melnick et al. 2011
		<i>Xenorhabdus</i>	<i>X. bovienii</i>	San-Blas et al. 2012
			<i>X. nematophila</i>	San-Blas et al. 2012
			<i>X. innexi</i>	San-Blas et al. 2012
			<i>X. poinari</i>	San-Blas et al. 2012
			<i>X. cabanillasii</i>	San-Blas et al. 2012
		<i>Photorhabdus</i>	<i>P. luminescens</i>	San-Blas et al. 2012

Fuente: Elaboración propia

Microorganismos empleados como agentes de biocontrol

Entre las especies aplicadas como control biológico que han sido más ampliamente estudiadas, se encuentran las del género *Trichoderma* sp., que utiliza varios mecanismos de control biológico como parasitismo, antibiosis y competencia por espacio y nutrientes; también es capaz de promover el crecimiento y desarrollo de la planta e inducir en esta la respuesta de defensa (Cuervo-Parra et al. 2011).

Dentro de este género existen diferentes especies, que producen 40 metabolitos diferentes con propiedades antibióticas y parasíticas que presentan una actividad inhibitoria en el crecimiento de *M. perniciosa* y *M. royeri* (Aneja et al. 2005). Algunas de estas especies se mencionan a continuación.

Trichoderma harzianum. Esta especie produce antibióticos y enzimas como la β -1,3-glucanasa, quitinasa, proteasa y celulasa, que actúan como degradadores de la pared celular (Cuervo-Parra et al. 2011). Además, de acuerdo con lo reportado por Aneja et al. (2005), esta especie produce ácido nonanoico (AN), el cual tiene una actividad inhibitoria *in vitro* en el crecimiento micelial y germinación de esporas tanto para *M. perniciosa* como para *M. royeri*. Esto demuestra que el AN puede reducir en un 75 % el crecimiento de ambos patógenos hasta concentraciones extremadamente bajas (0,09 y 0,92 μ M de AN, respectivamente). Así mismo, en dicho estudio se comprobó la eficacia del AN producido por *T. harzianum* en bajas concentraciones, frente al empleo de fungicidas comerciales como azoxystrobin y propiconazole, que pueden inhibir el crecimiento en un 47 % y un 75 % en *M. royeri* y *M. perniciosa*, respectivamente, hasta concentraciones de 1 μ M.

Otros autores demuestran que el *T. harzianum* actúa de forma antagónica frente a su patógeno, mediante un enfrentamiento dual, en el cual las hifas de *T. harzianum* se desarrollan sobre las de *M. royeri* causando deformaciones morfológicas y desorganización en la estructura de su pared celular, debido

a la secreción de sustancias antifúngicas (enzimas y antibióticos). Esto evidencia una interacción parasitaria del *T. harzianum* sobre el fitopatógeno (Cuervo-Parra et al. 2011).

En un estudio desarrollado por Bailey et al. (2008), se evaluaron 50 aislados de *Trichoderma* sp., especies microbianas endófitas que habitan en diferentes tejidos del árbol de cacao, para descubrir la habilidad de estos en la producción de metabolitos antimicrobianos que actuaran tanto en *M. royeri* como en *M. perniciosa*. Después de realizados los ensayos, se evaluó la capacidad de los aislados de *Trichoderma* sp. y se estableció la relación endofítica por medio del índice de colonización (IC), lo cual permitió diferenciar cuáles de los aislados presentaban un eficiente establecimiento endófito en el cacao (Bailey et al. 2008).

Con base en lo anterior, los investigadores lograron identificar ciertos aislados con la habilidad para colonizar las semillas de cacao. De acuerdo con esto, los endófitos con gran potencial para biocontrol son los siguientes: *T. stromaticum*, *T. hamatum* y *T. asperellum*. El *T. stromaticum* presenta una actividad mico-parasítica en *M. perniciosa*, debido a que coloniza el tejido necrótico y evita la producción de basidiocarpos mediante la actividad hidrolítica de proteínas secretadas al medio, las cuales generan la ruptura de la pared celular del huésped patógeno (Lopes et al. 2009). El *T. hamatum* y el *T. asperellum* (así como otras de las especies aisladas de *Trichoderma* sp.) indican una alta efectividad, porque inducen una respuesta de resistencia en el árbol de cacao a las enfermedades (Bailey et al. 2008; Galarza et al. 2015).

En este mismo estudio se estableció que tales especies son más eficientes cuando son inoculadas en las semillas del cacao, en la superficie de los cotiledones y el tallo, debido a que se presenta una fuerte colonización del hospedero (Bailey et al. 2008). De la misma manera, la implementación de este género de hongos puede complementarse con la aplicación de medidas como la remoción de las escobas producidas por *M. perniciosa*, lo cual evita la propagación de la enfermedad en mazorcas sanas y reduce la incidencia de la infección (Medeiros et al. 2010).

Colletotrichum gloeosporioides. Es conocido como patógeno del cacao, pero ha demostrado actividad de inhibición de escoba de bruja y moniliasis por procesos de competencia. Aunque su acción no es la más eficiente, presenta una gran influencia en la interacción con el cacao (Mejía et al. 2008). También, los aislados de *Trichoderma* sp. demuestran ciertos rangos de actividad biológica importantes: una moderada a baja actividad antibiótica, una moderada a alta actividad mico-parasítica y una moderada a alta habilidad endofítica (Medeiros et al. 2010).

Trichoderma ovalisporum. Es un hongo endófito que desarrolla infecciones asintomáticas dentro del árbol sano para formar una simbiosis mutualista que puede presentar un efecto adverso sobre la esporulación de *M. roreri* y, de esta manera, proteger las semillas de cacao de la infección (Samuels et al. 2006; Krauss et al. 2010). Uno de los argumentos a favor que sostienen Krauss et al. (2010) acerca de los agentes de biocontrol endofíticos como *T. ovalisporum* es que estos se enfrentan más ampliamente al antagonismo con *M. roreri*, debido a que germinan y penetran la superficie de la mazorca, para después hacer su establecimiento sistémico en la infección de esta con la reducción en un 23,8 % de la moniliasis en los cultivos de cacao.

Algunos estudios demuestran que los tratamientos con agentes químicos (fungicidas) mejoran la producción de cacao. Los fungicidas basados en cobre, como el hidróxido de cobre y el flutolanil pueden resultar rentables al productor. Si bien la optimización y alternación de los tratamientos químicos en aplicación conjunta con los biológicos es funcional, lo que se pretende es reducir al máximo la aplicación de fungicidas a base de cobre y emplear en mayor proporción un tratamiento enteramente biológico (Deberdt et al. 2008).

Clonostachys rosea y *Clonostachys bysicola*. El empleo de estos microorganismos en combinación con *T. asperellum*, *Fusarium* sp. y la presencia de hongos competidores nativos presenta efectos positivos en el control de moniliasis (Krauss et al. 2006; Mbarga et al. 2014; Galarza et al. 2015), debido a que poseen una alta capacidad colonizadora y parasítica frente

a *M. roreri*. Adicionalmente, estudios realizados demuestran que la estimulación con sustratos para estos hongos endófitos reduce significativamente la incidencia no solo de moniliasis, sino también de otras enfermedades que afectan al cacao, como la pudrición de la mazorca ocasionada por *Phytophthora palmivora* en algunas regiones de Panamá (Krauss et al. 2006).

Según lo reportado en la literatura, la implementación de sustratos azucarados como la melaza de caña, un complejo nutricional con un alto contenido de carbohidratos, provee beneficios como enmienda de suelo para estimular el crecimiento de estos hongos endófitos. Aunque el alto contenido de carbohidratos puede generar una inhibición de germinación y crecimiento en los hongos (fungistasis) causada por estrés de nutrientes, especies de *Trichoderma* sp. responden positivamente a este tratamiento con tal tipo de sustratos (Krauss et al. 2006).

Diferentes estudios realizados con hongos endófitos de cacao demuestran que existe una gran diversidad de especies, debido a que estos se pueden acumular en el conjunto de semillas, hojas, tronco y mazorcas del cacao. Algunos de los géneros más comúnmente aislados a partir de las hojas son *Colletotrichum*, *Botryosphaeria ribis*, *Xylaria* y *Phomopsis*, mientras que los géneros encontrados en tronco y suelo son *Clonostachys* y *Trichoderma*. Así mismo, especies como *Gliocladium catenulatum*, *Fusarium solani*, *Fusarium decemcellulare* y *Acremonium* sp. pueden habitar de forma endofítica en el árbol de cacao, ya que muchas de estas presentan una relación endosimbiótica con su hospedero.

Mejía et al. (2008) determinaron que los hongos endófitos mencionados anteriormente desarrollan diferentes actividades *in vitro* tanto para *M. roreri* como para *M. perniciosa*, ya que inhiben el crecimiento de estos patógenos y reducen los síntomas de la enfermedad. Mediante antagonismo de competencia por sustrato, la disminución de ambos patógenos fue de 40 % y 27%, respectivamente. Los hongos endófitos generaron un porcentaje de inhibición del 23 % para *M. roreri* y del 27 % para *M. perniciosa*, y en cuanto a la producción de

metabolitos por antibiosis, el porcentaje de remoción para ambas enfermedades fue del 13 % y el 21 %, respectivamente. Solo uno de los aislados, el *Gliocladium catenulatum*, fue capaz de reducir en un 70,84 % los síntomas de la enfermedad de escoba de bruja, aunque el 16,22 % de los endófitos aislados fueron capaces de inhibir el crecimiento del agente causal de la enfermedad (*M. pernicioso*) (Rubini et al. 2005).

Otro de los factores importantes que influye en la reducción evidente de las dos enfermedades es la exitosa y progresiva colonización de los hongos endófitos en el árbol de cacao, característica de estos microorganismos que les permite un establecimiento eficiente en el árbol intervenido (Mejía et al. 2008).

Otros de los grupos microbianos que puede ejercer antagonismo hacia los patógenos del árbol de cacao son las bacterias. Entre ellas, se destacan las que pertenecen al grupo de los actinomicetos, debido a que estas producen sustancias que actúan directamente en una o más etapas del ciclo de vida del patógeno o indirectamente mediante la activación de los mecanismos de resistencia del huésped hacia patógenos. De esta manera, la producción de enzimas líticas, como las quitinasas y sideróforos, puede inhibir el crecimiento de *M. roreri* y *M. pernicioso* (Macagnan et al. 2006).

Streptomyces sp. Experimentos realizados por Macagnan et al. (2008) demuestran que los actinomicetos aislados de diferentes tejidos del árbol de cacao producen compuestos antimicrobianos capaces de inhibir la germinación de basidiosporas del microorganismo patógeno. Algunos de estos microorganismos pertenecen al género *Streptomyces*, de los cuales los más eficientes son *S. albobinaceus*, *S. griseus* y *S. virginiae*, ya que presentan una actividad quitinolítica sobre las basidiosporas de *M. pernicioso*. Además, por su capacidad de producción de sideróforos —que son moléculas sintetizadas y secretadas por estos microorganismos en condiciones deficientes de hierro para secuestrar el hierro de su entorno—, limitan la disponibilidad del nutriente Fe³⁺ para

el patógeno (Macagnan et al. 2006; Macagnan et al. 2008).

Bacillus sp. Según lo reportado por la literatura, otras bacterias que pueden presentar actividades antagónicas frente a microorganismos patógenos del cacao son las del género *Bacillus* sp., ya que estas pueden colonizar los tejidos del cacao por un tiempo de 60 días o más, con la consecuente reducción de enfermedades producidas por patógenos. Un alto porcentaje de estas se encuentra en diferentes partes del árbol de cacao, tanto en las hojas y cojines florales como en las semillas y el tallo, zonas de las cuales ha sido aislada e identificada una gran variedad de especies que producen sustancias antibióticas (Melnick et al. 2011).

A continuación se mencionan algunas de las bacterias aisladas que presentan mayor actividad antagónica, actividad quitinolítica *in vitro* y altos niveles de colonización frente a *M. roreri* y *M. pernicioso*: *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. pumilus* y *B. amyloliquefaciens* (Melnick et al. 2011). Este mismo autor encuentra evidencias de que la gran mayoría de las bacterias aisladas presenta un porcentaje mínimo de inhibición de crecimiento contra *M. roreri* y *M. pernicioso* del 28,6 % y el 38,3 %, respectivamente. A pesar de presentar estos porcentajes de inhibición, existen cepas de la misma especie, aisladas de diferentes partes del árbol de cacao, que poseen un porcentaje de inhibición diferente, ya sea mayor o menor según la zona de aislamiento. Está el caso del *B. subtilis*, por ejemplo, del cual se aislaron varias cepas: una de ellas fue aislada de la mazorca de cacao y presentó una inhibición del 40,4 % en *M. roreri* y del 60,4 % en *M. pernicioso*; una segunda cepa fue aislada de las hojas de cacao, con la cual se obtuvo una inhibición del 100 % y del 67,5 % en ambas enfermedades respectivamente, aislado que presenta una de las tasas más altas de supresión de la enfermedad (Melnick et al. 2011).

La combinación de estos consorcios microbianos puede emplearse como control biológico para reducir ambas enfermedades de forma eficiente (Melnick et al. 2008; Melnick et al. 2011).

Xenorhabdus sp. y *Photorhabdus* sp. Otro tipo de bacterias que puede ser empleado para el control de enfermedades en el cacao son el *Xenorhabdus* y *Photorhabdus*, bacterias simbióticas de nematodos entomopatógenos que producen metabolitos con propiedades biocidas. En experimentos desarrollados por San-Blas et al. (2012) se demostró que bacterias aisladas de estos géneros tienen un efecto inhibitorio sobre *M. roreri*. Algunas de las especies reportadas son *X. bovienii*, *X. nematophila*, *X. innexi*, *X. poinari*, *X. cabanillasii*, *P. luminiscens* y otras especies de *Photorhabdus* sp.

El efecto inhibitorio de estos géneros se asocia con los exudados que producen, con los cuales se reduce la esporulación de *M. roreri* entre un 70 % y un 80%; sin embargo, la combinación de este grupo de bacterias con endófitos, como *C. rosea*, *Trichoderma* sp. o *Bacillus* sp., presenta una mejor acción contra *M. roreri* que cuando se realiza la aplicación de compuestos fungicidas para controlar ambas enfermedades (San-Blas et al. 2012).

Conclusiones

Existe una gran diversidad de hongos y bacterias endófitas en el cacao que tiene actividad antifúngica contra los principales patógenos que atacan el cultivo y que pueden emplearse como controladores biológicos de estas enfermedades. Sin embargo, muchos de ellos no han sido ampliamente estudiados, lo que evidencia la necesidad de realizar investigaciones que permitan caracterizar aquellos microorganismos nativos con potencial biocontrolador de la moniliasis y la escoba de bruja, y así generar alternativas de control de estas enfermedades.

Dentro del conjunto de los agentes biocontroladores descritos en esta investigación, uno de los más importantes fue el *Trichoderma* sp., que presenta altos porcentajes de inhibición en el crecimiento tanto de *M. roreri* como de *M. perniciosa*. Este hongo es un simbionte natural del cacao que desarrolla actividad mico-parasítica mediante la producción de diversos metabolitos. Tiene la capacidad de competir con el

patógeno por espacio y nutrientes, de forma tal que le induce un cierto nivel de resistencia a la planta.

Por otro lado, se describieron bacterias pertenecientes al género *Bacillus* sp., entre otras, que coexisten como comunidad microbiana asociada al cultivo de cacao, y que pueden actuar como antagonistas naturales. Estas bacterias son formadoras de endosporas, pueden producir enzimas líticas que degradan la pared celular e inhiben el crecimiento de patógenos de cacao, y tienen la habilidad de colonizar los cultivos y persistir en ellos mientras suprimen la enfermedad.

En esencia se logró establecer, a través de la revisión, que la gran biodiversidad asociada al cultivo de cacao participa en procesos de interés y gran potencial para el control biológico de las enfermedades que lo afectan. Sin embargo, se requiere mayor investigación sobre estos agentes y sus relaciones ecológicas con el cultivo de cacao, para identificar aquellas intervenciones recomendables para fitopatógenos asociados a este cultivo y ofrecer alternativas amigables con el ecosistema y eficientes en su acción.

Igualmente, se puede concluir que las metodologías empleadas para el control de moniliasis y escoba de bruja se centran en la optimización de los tratamientos químico-biológicos y siguen un protocolo específico en su aplicación: a) aplicación de fungicidas a base de cobre, como el hidróxido de cobre y el oxathiin flutolanil, u otros como el azoxystrobin y el propiconazole, que han demostrado ser eficientes en la reducción de ambas enfermedades; b) aplicación de un agente biológico, ya sea hongos o bacterias o la combinación de ambos, debido a que tienen un alto grado de colonización; y c) remoción de las escobas y mazorcas enfermas, lo cual evita la propagación de la enfermedad a mazorcas sanas y reduce la incidencia de la infección.

En otro sentido, el mejoramiento genético del árbol de cacao se vislumbra como una alternativa para enfrentar estos patógenos al conferir niveles crecientes de resistencia. No obstante, es necesario conocer en

mayor profundidad los impactos asociados a esta estrategia en relación con la productividad y los efectos en la calidad de los frutos.

Por último, es importante destacar que las revisiones sistemáticas, como propuesta de investigación teórica, son una estrategia adecuada para incorporar conocimientos científicos de investigaciones originales a nivel mundial. En efecto, estas constituyen un primer paso para proponer nuevas líneas de investigación en diferentes campos de las ciencias. En este caso, por ejemplo, la optimización de las estrategias de control de algunos fitopatógenos del cacao

estará determinada por el reconocimiento sistemático de lo ya existente.

Agradecimientos

A la Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia por el apoyo financiero para la realización de esta investigación.

Descargos de responsabilidad

No existieron conflictos de intereses en los autores de la investigación.

Referencias

- Aime MC, Phillips-Mora W. 2005. The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. *Mycologia*. 97(5):1012-1022.
- Aneja M, Gianfana TJ, Hebbar PK. 2005. *Trichoderma harzianum* produces nonanoic acid, an inhibitor of spore germination and mycelial growth of two cacao pathogens. *Physiol Mol Plant Pathol*. 67(6):304-307.
- Bailey BA, Bae H, Strem MD, Crozier J, Thomas SE, Samuels GJ, Vinyard BT, Holmes KA. 2008. Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control*. 46(1):24-35.
- Carrillo LC, Londoño-Londoño J, Gil A. 2014. Comparison of polyphenol, methylxanthines and antioxidant activity in *Theobroma cacao* beans from different cocoa-growing areas in Colombia. *Food Res Int*. 60:273-280.
- Correa J, Castro S, Coy J. 2014. Estado de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* en Colombia. *Acta Agron*. 63(4):388-399.
- Cuervo-Parra JA, Ramírez-Suero M, Sánchez-López V, Ramírez-Lepe M. 2011. Antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* VSL291 on phytopathogenic fungi isolated from cocoa (*Theobroma cacao* L.) fruits. *Afr J Biotechnol*. 10(52):10657-10663.
- Deberdt P, Mfegue CV, Tondje PR, Bon MC, Ducamp M, Hurard C, Begoude D, Ndoumbé Nkeng M, Hebbar PK, Cilas C. 2008. Impact of environmental factors, chemical fungicide and biological control on cacao pod production dynamics and black pod disease (*Phytophthora megakarya*) in Cameroon. *Biological Control*. 44(2):149-159.
- Evans HC, Stalpers JA, Samson RA, Benny GL. 1978. On the taxonomy of *Monilia roreri*, an important pathogen of *Theobroma cacao* in South America. *Can J Bot*. 56(20):2528-2532.
- Franzen M, Borgerhoff M. 2007. Ecological, economic and social perspectives on cocoa production worldwide. *Biodivers Conserv*. 16:3835-3849.
- Galarza L, Akagi Y, Takao K, Sun Kim C, Maekawa N, Itai A, Peralta E, Santos E, Kodama M. 2015. Characterization of *Trichoderma* species isolated in Ecuador and their antagonistic activities against phytopathogenic fungi from Ecuador and Japan. *J Gen Plant Pathol*. 81(3):201-210.
- Gutiérrez M, Gómez R, Rodríguez N. 2011. Comportamiento del crecimiento de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.), en vivero, sembradas en diferentes volúmenes de sustrato. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*. 12(1):33-42.
- [ICCO] International Cocoa Organization. 2012. How many smallholders are there worldwide producing cocoa? What proportion of cocoa worldwide is produced by smallholders?; [consultado 2016 abr]. <http://www.icco.org/faq/57-cocoa-production/123-how-many-smallholders-are-there-worldwide-producing-cocoa-what-proportion-of-cocoa-worldwide-is-produced-by-smallholders.html>.
- Jaimes Y, Aranzazu F. 2010. Manejo de las enfermedades del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia, con énfasis en monilia (*Moniliophthora roreri*). Bogotá, Colombia: Corpoica.
- Krauss U, Hidalgo E, Bateman R, Adonijah V, Arroyo C, García J, Crozier J, Brown N, Ten Hoopen GM, Holmes KA. 2010. Improving the formulation and timing of application of endophytic biocontrol and chemical agents against frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) in cocoa (*Theobroma cacao*). *Biological Control*. 54(3):230-240.

- Krauss U, Ten Hoopen GM, Hidalgo E, Martínez A, Stirrup T, Arroyo C, García J, Palacios M. 2006. The effect of cane molasses amendment on biocontrol of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) and black pod (*Phytophthora* spp.) of cocoa (*Theobroma cacao*) in Panama. *Biological Control*. 39(2):232-239.
- Lopes L, Carvalho A, Teodoro J, Rocha G, Villela A. 2009. Selection of *Trichoderma stromaticum* isolates for efficient biological control of witches' broom disease in cacao. *Biological Control*. 51(1):130-139.
- Lopes MA, Gomes DS, Koblitiz MG, Pirovani CP, Cascardo JC, Góes-Neto A, Micheli F. 2008. Use of response surface methodology to examine chitinase regulation in the basidiomycete *Moniliophthora perniciosa*. *Mycol Res*. 112(3):399-406.
- Macagnan D, Romeiro R, De Souza JT, Pomella A. 2006. Isolation of actinomycetes and endospore-forming bacteria from the cacao pod surface and their antagonistic activity against the witches' broom and black pod pathogens. *Phytoparasitica*. 34(2):122-132.
- Macagnan D, Romeiro R, Pomella A, De Souza JT. 2008. Production of lytic enzymes and siderophores, and inhibition of germination of basidiospores of *Moniliophthora* (ex *Crinipellis*) *perniciosa* by phylloplane actinomycetes. *Biol Control*. 47(3):309-314.
- Martínez H, Ortiz L. 2005. La cadena del cacao en Colombia una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005. Documento de trabajo N.º 58. Bogotá, Colombia: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural - Observatorio Agrociencias Colombia.
- Mbarga JB, Begoude BAD, Ambang Z, Meboma M, Kuate J, Schiffers B, Ewbank W, Dedieu L, Ten Hoopen GM. 2014. A new oil-based formulation of *Trichoderma asperellum* for the biological control of cacao black pod disease caused by *Phytophthora megakarya*. *Biol Control*. 77:15-22.
- Medeiros FHV, Pomella AWW, De Souza JT, Niella GR, Valler RP, Bateman R, Fravel D, Vinyard B, Hebbar PK. 2010. A novel, integrated method for management of witches' broom disease in Cacao in Bahia, Brazil. *Crop Prot*. 29(7):704-711.
- Mejía LC, Rojas EI, Maynard Z, Van Bael S, Arnold AE, Hebbar P, Samuels GJ, Robbins N, Herre EA. 2008. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biol Control*. 46(1):4-14.
- Melnick RL, Suárez C, Bailey BA, Backman PA. 2011. Isolation of endophytic endospore-forming bacteria from *Theobroma cacao* as potential biological control agents of cacao diseases. *Biol Control*. 57(3):236-245.
- Melnick RL, Zidack NK, Bailey BA, Maximova SN, Guiltinan M, Backman PA. 2008. Bacterial endophytes: *Bacillus* spp. from annual crops as potential biological control agents of black pod rot of cacao. *Biol Control*. 46(1):46-56.
- Rubini MR, Silva-Ribeiro RT, Pomella AWW, Maki CS, Araújo WL, Dos Santos DR, Azevedo JL. 2005. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis perniciosa*, causal agent of Witches' Broom Disease. *Int J Biol Sci*. 1(1):24-33.
- Samuels GJ, Suárez C, Solis K, Holmes KA, Thomas SE, Ismaiel A, Evans HC. 2006. *Trichoderma theobromicola* and *T. paucisporum*: two new species isolated from cacao in South America. *Mycol Res*. 110:381-392.
- San-Blas E, Carrillo Z, Parra Y. 2012. Effect of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* bacteria and their exudates on *Moniliophthora roreri*. *Arch Phytopathol Plant Protect*. 45(16):1950-1967.
- Urrútia G, Bonfill X. 2010. Declaración PRISMA: una propuesta para mejorar las revisiones sistemáticas y meta-análisis. *Med Clin (Bar)*. 135(11):507-511.