



El potencial del uso de microorganismos endofíticos como agentes de control de enfermedades en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*)

The potential of the use of endophytic microorganisms as disease control agents in cocoa (*Theobroma cacao L.*)

**Artículo resultado de proyecto de investigación financiado por
La Universidad Técnica Estatal de Quevedo**

Raquel Guerrero

Magister de Ciencias Pecuarias y Facultad de Ciencias Ambientales. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Los Ríos – Ecuador.
rguerrero@uteq.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-7609-3480>

<http://centrosuragraria.com/index.php/revista>
Publicada por: Instituto Edwards Deming
Quito - Ecuador
Octubre - Diciembre vol. 1. Num. 7 2020
Pag. 1-18

Orly Cevallos

Magister de Ciencias Pecuarias y Facultad de Ciencias Ambientales. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Los Ríos – Ecuador.
ocevallos@uteq.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-4137-7133>

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.

Erick Eguez

Magister de Ciencias Pecuarias y Facultad de Ciencias Ambientales. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Los Ríos – Ecuador.
eeeguez@uteq.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-7071-4645>

RECIBIDO: 18 DE NOVIEMBRE 2019
ACEPTADO: 12 DE MARZO 2020
PUBLICADO: 4 DE OCTUBRE 2020

Sofía Peñaherrera

Magister, Estación Experimental Tropical Pichilingue Instituto Nacional de

Investigaciones Agropecuarias. Los Ríos –
Ecuador
spenaherrera@uteq.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-5055-4798>

RESUMEN

Millones de microorganismos se asocian de manera positiva y negativa a las plantas. Los árboles de cacao (*Theobroma cacao L.*) no son la excepción. Algunos patógenos de importancia económica disminuyen anualmente su producción tales como: *Moniliophthora roreri* y *M. perniciosa*, mientras que otros tantos están asociados a las plantas sin causar perjuicios e inclusive algunos de ellos asociados positivamente como los endofíticos, que son aquellos microorganismos que pueden habitar los tejidos de las plantas tomando nutrientes elaborados por ellas y a su vez contribuyendo con el desarrollo de la planta proveyendo protección a enfermedades, estimulando el desarrollo y el incremento en la producción. La primera ventaja de ellos es de vital importancia cuando se buscan alternativas amigables con el medio ambiente para controlar enfermedades del cultivo, permitiendo obtener mejores cosechan sin afectar el entorno, agricultores o consumidores.

Palabras clave: enfermedad, cacao, endofíticos, microorganismos

ABSTRACT

Millions of microorganisms are positively and negatively associated with plants. Cacao trees (*Theobroma cacao L.*) are no exception. Some economically important pathogens decrease their production annually, such as: *Moniliophthora roreri* and *M. perniciosa*, while many others are associated with plants without causing harm and even some of them positively associated such as endophytic, which are those microorganisms that can inhabit the plant tissues taking nutrients made by them and in turn contributing to the development of the plant, providing protection against diseases, stimulating development and increasing production. The first advantage of them is of vital importance when looking for environmentally friendly alternatives to control crop diseases, allowing better harvests without affecting the environment, farmers or consumers.

Key words: Entrepreneurship, Agrotourism, Tourism, Entrepreneur, Star-up

INTRODUCCIÓN

El cacao, *Theobroma cacao L.* (Malvaceae), es una especie tropical de gran importancia para la economía de muchos países de Sudamérica, América Central, Caribe, África y Asia. Esta especie produce mazorcas que contienen entre 30 - 40 semillas y que requieren de aproximadamente seis meses para alcanzar la madurez y ser cosechadas (Meinhardt *et al.*, 2008). Del procesamiento de estas semillas se obtiene el chocolate, uno de sus derivados más conocidos y populares.

Dentro del mercado internacional del cacao, el Ecuador es un actor importante que según datos de la Organización Internacional del Cacao, entre el 2016 y 2017 se produjeron

alrededor de 270.000 TM de granos de cacao, lo que representa el 35,66% de la producción de cacao en el continente americano (ICCO, 2019). A nivel mundial se comercializan dos categorías de cacao en grano: “cacao fino” o “de aroma” y “cacao común” o “al granel”. El Ecuador es considerado como el primer productor mundial de cacao fino debido a que concentra más del 70% de las plantaciones; adicionalmente, el cacao es el tercer producto agrícola exportado generando importantes ingresos para el país (PROECUADOR, 2019).

Sin embargo, a pesar del protagonismo en el mercado internacional y de la importancia en la economía nacional, el sector cacaotero ecuatoriano enfrenta problemas productivos debido a varios factores, tales como: altos costos de producción, alta incidencia de enfermedades, manejo inadecuado de las plantaciones, baja productividad y presencia de fenómenos naturales (sequías, inundaciones, entre otras).

A nivel mundial, las enfermedades que atacan al cultivo de cacao disminuyen alrededor del 40% de la producción anual (ten Hoopen & Krauss, 2016) y en algunos casos la combinación de dos o más de estas enfermedades pueden llegar a provocar la pérdida del 100% de la producción (Ploetz, 2016). Esta pérdida está principalmente dada por cinco enfermedades, dos de las cuales están presentes en Ecuador: Moniliasis (causada por *Moniliophthora roreri*) y Escoba de Bruja (causada por *Moniliophthora perniciosa*).

La Moniliasis (causada por *M. roreri*) puede causar pérdidas del 10 al 100% de la producción, junto con la Escoba de Bruja apareció a inicios del siglo pasado y desde entonces ha causado graves pérdidas económicas al país. *M. roreri* es un patógeno perteneciente al Phylum Basidiomycota, Orden Agaricales y Familia Marasmiaceae (Bailey et al., 2018); es un hongo hemibiotrofo que infecta mazorcas que son especialmente susceptibles dentro de sus primeros tres meses de desarrollo, con dos fases: una fase inicial de tipo biotrófica con micelio monocariótico, lenta, asintomática en la mayoría de los casos, que ocurre mientras el patógeno tiene disponibilidad de nutrientes en los tejidos huésped; y, una segunda fase saprofítica, extremadamente rápida que inicia cuando disminuye la disponibilidad de nutrientes y el hongo entra en una etapa dicariótica en la que degrada el tejido (se observa como manchas café en la parte externa) y provoca la muerte de las mazorcas (Evans, 2016). Los primeros síntomas son las manchas café que se esparcen sobre las mazorcas, seguidas de la formación de un pseudoestroma, esporóforos y esporas (Griffith et al, 2003; Evans, 2016). En algunos casos se producen protuberancias seguidas se los síntomas antes mencionados (Griffith et al., 2003), deformaciones que se dan principalmente en frutos de menos de un mes de edad (Bailey et al., 2018).

El ciclo de la enfermedad se inicia cuando las esporas se desprenden de las mazorcas infectadas ya sea por acción del viento, agua o del hombre y entran en contacto con la superficie de las mazorcas susceptibles. Las esporas germinan en presencia de una película de agua en la superficie de las mazorcas. Las esporas germinadas ingresan a los tejidos internos y los parasitan cambiando la permeabilidad de las paredes celulares lo que facilita el

movimiento de los nutrientes hacia los espacios intercelulares colonizados por el patógeno (Evans, 2016). Esta fase biotrófica es seguida de una necrotrófica en donde las mazorcas se momifican y se cubren de millones de esporas (alrededor de 44 millones por centímetro cuadrado). La presión de inóculo del patógeno en las plantaciones es muy fuerte, sumado al hecho de que las esporas pueden vivir hasta nueve meses en las mazorcas momificadas colgando en la copa de los árboles.

MATERIALES Y MÉTODOS

La segunda enfermedad de importancia económica en el cultivo de cacao en el Ecuador es la Escoba de Bruja, causada por *M. perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora, hongo que comparte la taxonomía con su pariente cercano *M. roreri*. Se ha estimado que este patógeno por sí solo puede llegar a causar pérdidas de más del 90% de pérdidas (Griffith et al., 2003); y, como se mencionó anteriormente, combinado con *M. roreri* puede eliminar completamente la producción plantaciones afectadas, lo que en muchos casos ha llevado al abandono de las fincas.

M. perniciosa al igual que *M. roreri* posee dos fases: una biotrófica y una necrotrófica. Durante la primera, produce hiperplasia e hipertrofia de tejidos, pérdida de la dominancia apical, proliferación de brotes axilares y la formación de ramas anormales llamadas escobas. En la segunda fase, los tejidos infectados mueren dando lugar a ramas deformes que son conocidas como escobas de bruja. Adicionalmente, produce necrosis en frutos, pérdida de la viabilidad y calidad de las semillas (Meinhardt et al., 2008; Teixeira et al., 2015; Evans, 2016).

RESULTADOS

El ciclo de la enfermedad inicia cuando las escobas de bruja secas se activan gracias a la alternancia de periodos de lluvia con periodos de sequía (frecuentes en la estación lluviosa de la costa ecuatoriana), esta activación consiste en la emisión de basidiocarpos en los cuales produce basidioesporas que son liberadas por la noche. Las basidioesporas pueden infectar cualquier tipo de tejido meristemático, incluyendo flores, brotes y frutos en crecimiento. Luego de uno a dos meses de desarrollo el hongo produce necrosis y muerte de los tejidos. Con la llegada de la estación seca, el hongo se inactiva hasta cuando inicia la estación lluviosa, temporada en la que reinicia el ciclo con la producción de los primeros basidiocarpos (Teixeira et al., 2015).

Las principales herramientas que se han investigado y realizado para controlar tanto *Monilia* como Escoba de bruja son: control cultural, control químico, resistencia genética y control biológico.

El control cultural es la columna vertebral de todas las medidas de control de enfermedades en cacao (ten Hoopen & Krauss, 2016), consiste en la remoción de frutos enfermos, la implementación de podas fitosanitarias y de mantenimiento de la plantación. Estas podas incluyen el manejo de sombra y la remoción de ramas y frutos enfermos que son dejados en

el suelo en donde por acción de los microorganismos saprofitos los tejidos infectados son descompuestos (ten Hoopen & Krauss, 2016; Zhang & Motilal, 2016). Las podas fitosanitarias son una opción recomendable cuando una o dos de las principales enfermedades están presentes en un cultivo (Evans, 2016), sin embargo, a pesar de que los datos demuestran que esta medida puede llegar a reducir el impacto de las enfermedades (hasta en un 50%) e incrementar las cosechas (Rudgard & Butler, 1987; Maddison et al., 1993) su implementación está limitada por los altos costos de la mano de obra, la altura de los árboles que en muchos casos supera los tres metros y la falta de aplicación de estas medidas en las plantaciones vecinas, condiciones que impiden aprovechar al máximo el potencial de alternativa de control (ten Hoopen & Krauss, 2016).

El control químico de *M. roreri* y *M. perniciosa* es considerado poco efectivo, aun cuando se han hecho muchas investigaciones para determinar su efecto los niveles de infección de estos patógenos (Bateman, 2015). En la actualidad, no existe una molécula química cuya eficacia en el control de las enfermedades se haya mantenido en el tiempo. Adicionalmente, esta medida se vuelve cada vez menos adecuada debido a los costos (Bateman, 2015), los mercados internacionales presionan constantemente a los productores cacaoteros del mundo por la presencia de contaminantes químicos en semillas de cacao, sin mencionar, la reducción de poblaciones de benéficos, el desarrollo de resistencia y la contaminación del entorno (Afrane & Ntiamoah, 2011).

En cuanto a desarrollo de materiales genéticos resistentes a las principales enfermedades de cacao, hasta el momento no se ha logrado obtener un híbrido o clon resistente (Phillips-Mora et al., 2005), algunos materiales han mostrado poseer tolerancia a *Monilia* y Escoba de bruja, sin embargo, bajo las condiciones de alta presión de inóculo presentes en el litoral ecuatoriano los niveles de tolerancia pueden descender fácilmente.

El control biológico de enfermedades en cacao es una alternativa que desde los últimos quince años ha venido tomado auge. Algunos géneros de hongos y bacterias han sido investigado, a nivel in vitro e in vivo, con la finalidad de encontrar una herramienta efectiva para disminuir los índices de las principales enfermedades del cultivo. Las enfermedades que han recibido mayor atención en la búsqueda de organismos biocontroladores son: Escoba de bruja, *Monilia* y Mazorca negra (*Phytophthora* spp.). En los primeros estudios realizados la mayoría de los antagonistas investigados pertenecían a *Clonostachys* spp. o *Trichoderma* spp. (ten Hoopen & Krauss, 2016). Estudios llevados a cabo con dichos géneros en Perú, Panamá y Costa Rica mostraron tener resultados variables (Krauss & Soberanis, 2001; Hidalgo et al., 2003; Krauss et al., 2003).

En la misma época, Evans y colaboradores (2003) colectaron hongos micoparásitos en Ecuador que en su mayoría también pertenecían a los géneros *Clonostachys* spp. y *Trichoderma* spp., en bioensayos llevados a cabo por los mismos investigadores, dichos aislamientos mostraron suprimir parcialmente la esporulación de *M. roreri*.

Dentro de los microorganismos endofíticos se han investigado varios géneros de hongos y bacterias para el control de las principales enfermedades, tales como: *Clonostachys* spp., *Bacillus* spp., *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp., *Pseudomonas* spp., entre otros. De ellos *Trichoderma* spp. ha recibido mayor atención tanto por sus mecanismos de acción (parasitismo, competencia, antibiosis, inducción de resistencia a enfermedades, promoción del crecimiento, resistencia a sequía) como por su estrecha relación con el cultivo de cacao (Krauss & Soberanis, 2001; Holmes et al., 2004; Tondje et al., 2007; Bateman, 2015; ten Hoopen & Krauss, 2016).

CONCLUSIONES

Como producto de las investigaciones llevadas a cabo por varios grupos, se han descubierto nuevas especies de *Trichoderma* spp. tales como: *T. stromaticum*, *T. koningiopsis*, *T. theobromicola*, *T. paucysporum*, *T. martiale* y *T. evansii* (Samuels, 2006; Hanada et al., 2010; Chaverri et al., 2011). Hasta el momento las investigaciones en este ámbito han mostrado que aislamientos este género puede llegar a controlar las principales enfermedades del cacao, por ejemplo: en Brasil *T. stromaticum* está siendo usada con excelentes resultados como una herramienta de manejo integrado para el control de Escoba de Bruja (de Souza et al., 2006; Loguerio et al., 2009); en Perú y Costa Rica, *T. ovalisporum* demostró tener efecto significativo en el control de la Monilia (Krauss & Soberanis, 2001; Krauss et al., 2003). En Ecuador, también existen reportes sobre el aislamiento y uso de cepas locales de *Trichoderma* spp. para el control fitosanitario de la Monilia y Escoba de Bruja, reportándose una reducción de la enfermedad en hasta un 40% (Evans et al., 2003; Arias & Guerrero, 2006; Díaz & Pucha, 2007).

En la actualidad, la mayoría de las publicaciones sobre el control biológico de las enfermedades de cacao están dirigidas hacia la búsqueda de hongos o bacterias endofíticas con la capacidad de colonizar los tejidos de las plantas, esto es debido a que la colonización de las mazorcas por aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp. pueden protegerlos de la posterior colonización de los patógenos (ten Hoopen & Krauss, 2016). Algunos autores como Evans et al. (2003) encontraron que a nivel de laboratorio y en ensayos de campo algunos aislamientos de *Trichoderma* spp. ejercían un control efectivo sobre *M. roreri* (Evans et al., 2003). Estudios llevados a cabo por De Souza et al. (2006) demostraron que los aislamientos de la especie *T. stromaticum* con capacidad endofítica fueron más efectivos al momento de controlar la Escoba de Bruja (de Souza et al., 2006).

La cuenca alta del Río Guayas (principalmente la Provincia de Los Ríos) es reconocida como una región tradicionalmente dedicada al cultivo de cacao en donde tanto el cultivo como la Monilia y la Escoba de Bruja están presentes desde fines del siglo IXX (Evans, 2016). En estas condiciones los patógenos y las comunidades de biocontroladores han co-evolucionado y convivido por décadas formándose relaciones estrechas que pueden ser explotadas para el control biológico de las enfermedades. Los esfuerzos locales por encontrar una herramienta

de control efectiva son casi nulos; mientras el problema fitosanitario persiste en las huertas de cacao muchos agricultores abandonan sus cultivos o cambian de actividad productiva.

REFERENCIAS

- Afrane, G., & Ntiamoah, A. (2011). Use of pesticides in the cocoa industry and their impact on the environment and the food chain. En M. Stoytcheva (Ed.), *Pesticides in the Modern World - Risk and Benefits* (1 ed., págs. 51-68). INTECH.
- Agrawal, K., Sharma, D., & Jain, V. (2012). Seed-borne bacterial diseases of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and their control measures: a review. *International Journal od Food, Agriculture and Veterinary Sciences*, 2(2), 173-182.
- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology* (5 ed.). London: Elsevier Academic Press.
- Alippi, H., & Mónaco, C. (1990). Antagonismo in vitro entre hongos fitopatógenos y saprobios de suelos hortícolas. *Revista Argentina de Microbiología*(22), 90-93.
- Argerich, C., Troilo, L., Rodriguez, M., Izquierdo, J., Strassca, M., Balaza, L., & Iribarren, M. (2011). *Buenas Prácticas agrícolas en la cadena de Tomate*. (A. Argerich, & L. Troilo, Edits.) Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación - FAO.
- Asociación Tomate 2000. (2014). *Programa para el aumento de la competitividad de la industria del tomate: informe 2013-2014*. La Consulta.
- Bailey, B., & Lumsden, R. (1998). Direct effects os Trichoderma and Gliocladium on plant growth ad resistance to pathogens. En C. K. G. Harman, *Trichoderma & Gliocladium* (Vol. 2, págs. 185-204). Bristol: Taylor & Francis.
- Bailey, B., Bae, H., Melnick, R., & Crozier, J. (2011). The endophytic *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b enhances seedling growth and delays the onset of drought stress in *Theobroma cacao*. En M. Pirttilä, C. Frank, M. Pirttilä, & C. Frank (Edits.), *Endophytes of Forest Trees: Biology and Applications* (págs. 157-172). Netherlands: Springer.
- Balestra, G., Heydari, A., Ceccarelli, D., Ovidi, E., & Quattrucci, A. (2009). Antibacterial effect of *Allium sativum* and *Ficus carica* extracts on tomato bacterial pathogens. *Crop Protection*, 28(10), 807-811.
- Bateman, R. (2015). *Pesticide use in cocoa* (3 ed.). Londres: ICCO.
- Borboa, F., Rueda, E., Acedo, E., Ponce, J., Cruz, M., García, J., & Ortega, M. (2010). Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales contra *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12, 539-547.
- Borboa, J., Rueda, E., Acedo, E., Ponce, J., Cruz, M., Juárez, O., & García, A. (2009). Detection of *Clavibacter michiganensis* subspecie *michiganensis* in Tomato of the state of Sonora, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32(4), 319-326.
- Brotman, Y., Landau, U., Cuadros-Inostroza, A., Tohge, T., Takayuki, T., Fernie, A., & Willmitzer, L. (2013). Trichoderma-plant root colonization: escaping early plant defense responses and

activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. *PLoS Pathogens*, 9(3), 1-15.

Burokiene, D. (2006). Early detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seedlings. . *Agronomy Research*, 151-154.

Butt, T., Jackson, C., & N, M. (2001). *Fungi as biocontrol agents*. London: CABI Publishing.

CABI; EPPO. (1999). *Data sheets on quarantine pests Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. European Union.

Chang, R., Ries, S., & Pataky, J. (1991). Dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by practices used to produce tomato transplants. *Phytopathology*, 81(10), 12716-1281.

Chaverri, P., Gazis, P., & Samuels, G. (2011). *Trichoderma amazonicum*, a new endophytic species on *Hevea brasiliensis* and *H. guianensis* from the Amazon basin. *Mycologia*, 103(1), 139-151.

Chet, I., Benhamou, N., & Haran, S. (1998). Mycoparasitism and lytic enzymes. En G. Harman, & C. Kubicek, *Trichoderma & Gliocladium* (Vol. 2, págs. 153-172). Bristol: Taylor & Francis.

Colombo, M. (2002). *Manejo de enfermedades en cultivos protegidos de tomate*.

Davis, M., Graves, A., Vidaver, A., & Harris, R. (1984). *Clavibacter*: a New Genus Containing Some Phytopathogenic Coryne form Bacteria. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 34, 107-117.

De Boer, M., Van Der Sluis, I., Van Loon, L., & Bakker, P. (1999). Combining fluorescent *Pseudomonas* spp. strains to enhance suppression of Fusarium wilt of radish. *European Journal of Plant Pathology*, 105, 201-210.

De León, L., Sivero, F., Lopez, M., & Rodriguez, A. (2011). *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, a seed born tomato pathogen: Healthy seeds are still the goal. *Plant Diseases*, 95(11), 1328-1339.

De Souza, J., Bailey, B., Pomella, A., Erbe, E., Murphy, C., Bae, H., & Hebbar, P. (2008). Colonization of cacao seedlings by *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of the witches' broom pathogen, and its influence on plant growth and resistance. *Biological Control*, 46, 36-45.

EFSA. (2014). Scientific opinion on the pest categorisation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al. *EFSA Journal*, 12(6), 1-26.

Eichenlaub, R., & Burger, A. (2006). *Clavibacter michiganensis*, a group of Gram-positive phytopathogenic bacteria. En G. S., & S. Gnanamanickam (Ed.), *Plant-Associated Bacteria*. Springer.

Elad, Y., Chet, I., & Henis, Y. (1981). A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil. *Phytoparasitica*, 9(1), 59-67.

Elad, Y., Zimand, G., Zaqs, Y., Zuriel, S., & Chet, I. (1993). Use of *Trichoderma harzianum* in combination or alternation with fungicides to control cucumber grey mould. *Plant Pathology*, 42, 324-332.

- Evans, H., Holmes, K., & Thomas, S. (2003). Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa disease. *Mycological Progress*, 2, 149-160.
- Eziashi, E., Uma, N., Adekunle, A., & Airede, C. (2006). Effect of metabolites produced by *Trichoderma* species against *Ceratocystis paradoxa* in culture medium. *African Journal od Biotechnology*, 5(9), 703-706.
- Ezziyyani, M., Sánchez, C., Ahmed, A., Requena, M., & Candela, M. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum L.*). *Anales de Biología*, 26, 35-45.
- Flores, C. (2012). *Enfermedades de tomate: guía de consulta*. INTA.
- Flores, F. (2004). *Evaluación in vitro del control de Bacillus sp. sobre Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*. Talca: Universidad de Talca.
- Gartemann, K., Kirchner, O., Engemann, J., Grafen, I., Eichenlaub, R., & Burger, A. (2003). *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: First steps in the understanding of virulence of a Gram-positive phytopathogenic bacterium. *Journal of Biotechnology*, 106, 179-191.
- González, J., Maruri, J., & González, A. (2005). Evaluación de diferentes concentraciones de *Trichoderma* spp. contra *Fusarium oxysporum* agente causal de la pudrición de plántulas en papaya (*Carica papaya L.*) en Tuxpan, Veracruz, México. *Revista Científica UDO Agrícola*, 5(1), 45-47.
- Harman, G. (2006). Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96, 190-194.
- Harman, G., Howell, C., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species--opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews. Microbiology*, 2(1), 43–56. *Microbiology*, 2(1), 43-56.
- Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., & Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 158(1), 17-25.
- Hjerljord, L., & Tronsmo, A. (1998). *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. En G. Harman, & C. Kubicek, *Trichoderma & Gliocladium* (Vol. 2, págs. 131-154). Bristol: Francis & Taylor.
- Hoitink, H., Madden, L., & Dorrance, A. (2006). Systemic resistance induced by *Trichoderma* spp.: interactions between the host, the pathogen, the biocontrol agent, and soil organic matter quality. *Phytopathology*, 96(2), 186-189.
- Howell, C. (1998). The role of antibiosis in biocontrol. En G. Harman, & C. Kubicek, *Trichoderma & Biocontrol* (Vol. 2, págs. 173-184). Bristol: Taylor & Francis.
- Howell, C. (2006). The nature and application of biocontrol microbes II : *Trichoderma* spp. understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. *Phytopathology*, 96(2), 178-180.
- ICCO. (2019). Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. XLIII(1), 12-35. Abidjan, Costa de Marfil: ICCO.

- Jash, S., & Pan, S. (2007). Variability in antagonistic activity and root colonizing behaviour of Trichoderma isolates. *Journal of Tropical Agriculture*, 45(1), 29-35.
- Joshi, B., Bhatt, R., & Bahukhandi, D. (2010). Antagonistic and plant growth activity of Trichoderma isolates of Western Himalayas. *Journal of Environmentak Biology*, 31(6), 921-928.
- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., & Nagy, E. (2003). Influence of environmental parameters on Trichoderma strains with biocontrol potential. *Foof Technology and Biotechnology*, 41(1), 37-42.
- Leelavathi, M., Vani, L., & Reena, P. (2014). Antimicrobial activity of Trichoderma harzianum against bacteria and fungi. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(1), 96-103.
- Liu, B., Glenn, D., & Buckley, K. (2008). Trichoderma communities in soils from organic, sustainable, and conventional farms, and their relation with Southern blight of tomato. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(5), 1124-1136.
- Lo, C., & Lin, C. (2002). Screening Strains of Trichoderma spp for plant growth enhancement in Taiwan. *Plant Pathology*, 11, 215-220.
- Lozano, J. (12 de Marzo de 2012). *Mercado Central de Buenos Aires*. Recuperado el 13 de Noviembre de 2015, de http://www.mercadocentral.gob.ar/ziptecnicas/la_produccion_de_hortalizas_en_argentina.pdf
- Milijasevic, S., Todorovic, B., Potocnik, I., Rekanovic, E., & Stepanovic, M. (2009). Effects of copper-based compounds, antibiotics and a plant activator on population sizes and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in greenhouse tomato seedlings. *Pesticide and Phytomedicine*, 24, 19-27.
- Mónaco, C. (1990). Evaluación de la eficiencia de micoparásitos sobre esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* "in vitro". *Revista de la Facultad de Agronomía UNLP*, 65(1), 67-73.
- Mpika, J., Kebe, I., Issali, A., N'Guessan, F., Druzhinina, S., Komon-Zelaaowska, M., & Ake, S. (2009). Antagonist potential of Trichoderma indigenous isolates for biological control of *Phytophthora palmivora* the causative agent of black pod disease on cocoa (*Theobroma cacao* L.) in Cote d'Ivoire. *African Journal of Biotechnology*, 8(20), 5280-5293.
- Naseby, D., Pascual, J., & Lynch, J. (2000). Effect of biocontrol strains of Trichoderma on plant growth, *Pythium ultimum* populations, soil microbial communities and soil enzyme activities. *Journal of Applied Microbiology*, 88(1), 161-169.
- Nawrocka, J., & Malolepsza, U. (2013). Diversity in plant systemic resistance induced by Trichoderma. *Biological Control*, 67, 149-156.
- OEPP/EPPO. (2013). PM 7/42 (2) *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. European and Mediterranean Plant Protection Organization/EPPO. *Bulletin EPPO*, 43.
- Papavizas, G. (1981). Survival of Trichoderma harzianum in soil and in pea and bean rhizospheres. *Phytopathology*, 71, 121-125.

- Patil, A., Laddha, A., Lunge, A., Paikrao, H., & Mahure, S. (2012). In vitro antagonistic properties of selected *Trichoderma* species against tomato root rot causing *Pythium* species. *International Journal of Science Environment and Technology*, 1(4), 302-315.
- Ploetz, R. (2016). The impact of diseases on cacao production: a global overview. En B. Bailey, & L. Meinhardt (Edits.), *Cacao Diseases: A history of old enemies and new encounters* (1 ed., págs. 33-59). London: Springer.
- Polack, A., & Mitidieri, M. (2005). Producción de tomate diferenciado: Protocolo preliminar de manejo integrado de plagas y enfermedades. *INTA Documento Divulgativo*, 13.
- Pouvova, D., Kokoskova, B., Pavela, R., & Rysanek, P. (s.f.). Effectivity of plant essential oils against *Clavibacter michiganensis*, in vitro. *Zemdirbyste-agriculture*, 95(3), 440-446.
- PROECUADOR. (2019). Análisis del sector cacao y elaborados. 1(1), 5-7. PROECUADOR.
- Ratnadass, A., Fernandez, P., Avelino, J., & Habib, R. (2012). Plant species diversity for sustainable management of crop pests and diseases in agroecosystems: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 273-303.
- Samuels, G. (2006). *Trichoderma: systematics, the sexual state, and ecology*. *Phytopathology*, 96(2), 195-206.
- Samuels, G., Chaverri, P., Farr, D., & McCray, E. (2014). Obtido de *Trichoderma* Online, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA: <http://taxadescrptions/keys/TrichodermalIndex.cfm>
- Sandoval, C. (2004). *Manual técnico de manejo integrado de enfermedades en cultivos hidropónicos* (1 ed.). FAO; Universidad de Talca.
- Shaad, N., Jones, J., & Chun, W. (2001). *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria* (3 ed.). APS Press.
- Sharabani, G., Shtienberg, D., Borenstein, M., Shulhani, R., Lofthouse, M., Sofer, M., & Manulis-Sasson, S. (2013). Effects of plant age on disease development and virulence of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on tomato. *Plant Pathology*, 62(5), 1114-1122.
- Sivan, A., & Chet, I. (1989). The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on ryzosphere colonization. *Phytopathology*, 79(2), 198-203.
- Slusarski, C. (2009). Attempts at biological control of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on rockwool-grown greenhouse tomatoes. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 69, 125-134.
- Smith, E. (1910). A new tomato disease of economic importance. *Science*, 31, 794-796.
- Stirling, G. (s.f.). Biological control of plant-parasitic nematodes: an ecological perspective, a review of progress and opportunities for further research. En K. Davies, & Y. Spiegel (Edits.), *Biological control of plant-parasitic nematodes: building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms* (1 ed., págs. 1-38). Springer.
- Stocco, M., Mónaco, C., & Cordo, C. (2010). A comparision of preservation method for *Trichoderma harzianum* cultures. *Revista Iberoamericana de Micología*, 27(4), 2013-2015.

- Talibi, I., Amkraz, N., Askarne, L., Msanda, F., Saadi, B., Boudyach, E., & Ait Ben Aoumar, A. (2011). Antibacterial activity of moroccan plants extracts against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, the causal agent of tomatoes bacterial canker. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4332-4338.
- Tancos, M., Chalupowicz, L., Barash, I., Manulis-Sasson, S., & Smart, C. (2013). Tomato fruit and seed colonization by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* through external and internal routes. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(22), 6948-6957.
- ten Hoopen, M., & Krauss, U. (2016). Biological Control of Cacao Diseases. En B. Bailey, & L. Meinhardt (Edits.), *Cacao Diseases: A history of old enemies and new encounters* (1 ed., págs. 511-566). London: Springer.
- Tlatilpa, M. (2010). *Estrategias de manejo de Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis en jitomate*. Colegio de Posgraduados.
- Torres, A., & Rodriguez, R. (2006). *Hongos en suelos dedicados al monocultivo del Tomate*. Raihuén: INIA.
- Tucci, M., Roucco, M., De Masi, L., De Palma, M., & Lorito, M. (2010). The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. *Molecular Plant Pathology*, 1-14.
- UNLP. (2016). *Boletín Estación Experimental JH*. Obtenido de <http://www.agro.unlp.edu.ar/institucional/boletin-estacion-experimental-jh>
- Utkhede, R., & Koch, C. (2004). Biological treatments to control bacterial canker of greenhouse tomatoes. *Biocontrol*, 49, 305-313.
- Vargas, S., Pastor, S., & March, G. (2009). Quantitative isolation of biocontrol agents *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp. and actinomycetes from soil with culture media. *Microbiological Research*, 164, 196-205.
- Verma, M., Brar, S., Tyagi, R., Surampalli, R., & Valero, J. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*, 37(1), 1-20.
- Vey, A., Hoagland, R., & Butt, T. (2001). Toxic Metabolites of fungal biocontrol agents. En G. Harman, & C. Kubicek, *Fungi as biocontrol agents* (págs. 311-346). London: CABI Publishing.
- Vieira, F. (2013). *Colonização de sementes e plantas de tomate cultivadas in vitro por Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis transformadas com gfp*. Universidade Federal de Lavras.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E., Marra, R., Woo, S., & Lorito, M. (2008). Trichoderma-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 1-10.
- Viteri, M., Ghezán, G., & Iglesias, D. (2013). Tomate y Lechuga: producción. comercialización y consumo.
- Windham, M., Elad, Y., & Baker, R. (1986). A mechanism of increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 76(5), 518-521.

- Xu, X. (2010). *Seed transmission of Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis and development of strategies to control the pathogen in seed*. The Ohio State University.
- Xu, X., Miller, F., Baysal-Gurel, K., Gartemann, R., Eichenlaub, K., & Rajashekara, G. (2010). Bioluminescence imaging of Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis infection in tomato seeds and plants. *Applied Environmental Microbiology*, 76, 3978-3988.
- Zanin, A. (2004). *Cancro bacteriano do tomateiro: metodologia de inoculação, reação de genótipos do hospedeiro e eficiência de químicos sobre o controle*. Universidade de São Paulo.
- Zanón, M. (2009). *Efecto de la biofumigación y biosolarización en el control de agentes fitopatógenos*. Universidad Politécnica de Valencia.