

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTAGÓNICO DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS
FRENTE A DOS PATÓGENOS AISLADOS DE CULTIVOS DE CACAO (*Theobroma cacao*
L.) EN CONDICIONES *in vitro*.**

ANDREA CAROLINA LÓPEZ CONEJO

LAURA VALENTINA VEGA PEÑA

DIRECTORA

JENNY PAOLA MORENO LÓPEZ

I.A M.sc Ciencias Agrarias-Fitopatología

UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

INGENIERÍA AGRONÓMICA

FUSAGASUGÁ, CUNDINAMARCA

2022

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ANTAGÓNICO DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS
FRENTE A DOS PATÓGENOS AISLADOS DE CULTIVOS DE CACAO (*Theobroma cacao*
L.) EN CONDICIONES *in vitro*.**

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO

DIRECTORA:

JENNY PAOLA MORENO LÓPEZ

I.A M.sc Ciencias Agrarias-Fitopatología

UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

INGENIERÍA AGRONÓMICA

FUSAGASUGÁ, CUNDINAMARCA.

2022

Tabla De Contenido

Dedicatoria.....	8
Agradecimientos	9
Resumen	10
Abstract.....	11
Introducción	12
Planteamiento del problema.....	14
Justificación	16
Objetivos.....	18
Objetivo General	18
Objetivos Específicos	18
Marco Referencial.....	19
Marco Conceptual	19
Metodología	28
Ubicación y Características agroclimatológicas	28
Universo, población y muestra	28
Ensayos de antagonismo	29
Evaluación de la capacidad antagónica.....	30
Análisis de resultados.....	30
Resultados Y Discusión.....	31
Comportamiento del crecimiento radial de <i>Phytophthora</i> sp. y <i>Moniliophthora roreri</i> . frente a los antagonistas <i>Trichoderma</i> sp. y <i>Clonostachys</i> sp.....	31

Grado de antagonismo de agentes de control biológico respecto a la competencia por sustrato frente a <i>Phytophthora</i> sp. y <i>Moniliophthora roreri</i>	34
Porcentaje de inhibición del crecimiento de <i>Phytophthora</i> sp. y <i>Moniliophthora roreri</i> . frente a los antagonistas <i>Trichoderma</i> sp. y <i>Clonostachys</i> sp.	36
Conclusiones	38
Recomendaciones	38
Referencias bibliografías.....	39
Anexos.....	48
Análisis de Varianza para el crecimiento radial de <i>Phytophthora</i> sp. frente a los antagonistas <i>Trichoderma</i> sp. y <i>Clonostachys</i> sp.....	48
Análisis de Varianza para el crecimiento radial de <i>Moniliophthora roreri</i> frente a los antagonistas <i>Trichoderma</i> sp. y <i>Clonostachys</i> sp.....	48

Tabla De Tablas

Tabla 1. Taxonomía del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	19
Tabla 2. Taxonomía de <i>Monilliophthora roerei</i>	21
Tabla 3. Taxonomía de <i>Phytophthora</i> sp.	23
Tabla 4. Taxonomía de <i>Trichoderma</i> sp. (CABI, 2022)	26
Tabla 5. Taxonomía de <i>Clonostachys</i> sp. (CABI, 2022)	27
Tabla 6. Distribución de los tratamientos.....	28
Tabla 7. Grado de antagonismo de agentes de control biológico respecto a la competencia	29
Tabla 10. Grado de antagonismo de agentes de control biológico respecto a la competencia por sustrato frente a <i>Phytophthora</i> sp.	34
Tabla 11. Grado de antagonismo de agentes de control biológico respecto a la competencia por sustrato frente a <i>Monilliophthora roerei</i>	34
Tabla 12. Análisis de Varianza para el crecimiento radial de <i>Phytophthora</i> sp. en presencia de microorganismos antagonicos.....	48
Tabla 13. Cuadro de análisis de varianza SC tipo (III) para el crecimiento radial de <i>Phytophthora</i> sp. en presencia de microorganismos antagonicos.....	48
Tabla 14. Análisis de Varianza para el crecimiento radial de <i>Monilliophthora roerei</i> en presencia de microorganismos antagonicos.....	48
Tabla 15. Cuadro de análisis de varianza SC tipo (III) para el crecimiento radial de <i>Monilliophthora roerei</i> en presencia de microorganismos antagonicos	49

Tabla De Figuras

Figura 1. Árbol de cacao (Moreno Paola, 2021).....	19
Figura 2. Fruto de cacao con síntomas de moniliasis (Moreno Paola, 2021).....	21
Figura 3. Esporóforos de <i>Moniliophthora roreri</i> aislado de Viotá – Cundinamarca (Moreno Paola, 2021).	22
Figura 4. Fruto de cacao con síntomas de mazorca negra (Moreno Paola, 2021).....	23
Figura 5. Esporangios y oosporas de <i>Phytophthora</i> sp. aislado de Anapoima - Cundinamarca (Moreno Paola, 2021).	24
Figura 6. Conidias de <i>Trichoderma</i> sp. aislado de Viotá – Cundinamarca (Moreno, Paola, 2021)	26
Figura 7. Conidios de <i>Clonostachys</i> sp. aislado de Anapoima (Moreno Paola, 2021).	27
Figura 8. Comportamiento del crecimiento radial de <i>Phytophthora</i> sp. en presencia de microorganismos antagónicos.....	32
Figura 9. Comportamiento del crecimiento radial de <i>Moniliophthora roreri</i> en presencia de microorganismos antagónicos.....	32
Figura 10. Porcentaje de crecimiento radial de <i>Phytophthora</i> sp. frente a los antagonistas.	32
Figura 11. Porcentaje de crecimiento radial de <i>Moniliophthora roreri</i> . frente a los antagonistas.	32
Figura 12. Crecimiento de cultivos duales entre los antagonistas <i>Trichoderma</i> sp, y <i>Clonostachys</i> sp y el patógeno <i>Phytophthora</i> sp A: <i>Trichoderma</i> sp. Tocaima (TT); B: <i>Trichoderma</i> sp. Viotá (TV); C: <i>Clonostachys</i> sp. Anapoima (Can); D: <i>Phytophthora</i> sp. (P1); E: TT x P1; F: TV x P1; Can x P1	34
Figura 13. Crecimiento de cultivos duales entre los antagonistas <i>Trichoderma</i> sp, y <i>Clonostachys</i> sp y el patógeno <i>Moniliophthora roreri</i> . A: <i>Trichoderma</i> sp. Tocaima (TT); B: <i>Trichoderma</i> sp. Viotá (TV); C: <i>Clonostachys</i> sp. Anapoima (Can); D: <i>Moniliophthora roreri</i> (M2); E: TT x M2; F: TV x M2; Can x M2	34

Figura 14. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *Phytophthora* sp.....36

Figura 15. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *Moniliophthora roreri*.36

Dedicatoria

Agradezco a Dios por haberme otorgado la oportunidad de estudiar y cumplir sueños a través de esta etapa de mi vida; por tener una maravillosa familia quienes han creído firmemente en mí siempre, dándome ejemplo de superación, humildad y sacrificio; enseñándome a trabajar por mi futuro. A todos ellos y a mí misma dedico este trabajo, porque sin su apoyo y mi perseverancia, no hubiese sido posible concluir con esta etapa de mi vida; a mi compañera y equipo de trabajo durante toda nuestra carrera, por su apoyo, y trabajo continuo en este proyecto.

Valentina Vega P

Este trabajo es dedicado primeramente a Dios, quien me ha permitido llegar hasta este punto, a mis padres quienes me han acompañado a lo largo de este proceso académico, apoyándome para alcanzar mis metas y logros, agradezco la formación de buenos valores que tuve en mi hogar que me hacen la persona que soy ahora, y en general a toda mi familia que me ha apoyado, mi compañera y colega que ha sido de una gran ayuda para elaborar este proyecto con sus ideas y opiniones que permitieron la realización de este.

Andrea C. López C.

Agradecimientos

Agradecemos especialmente a nuestra tutora la profesora Paola Moreno, quien desde su profesionalismo nos brindó los conocimientos y las herramientas necesarias para la elaboración del presente proyecto, y a todas las personas que de una u otra forma nos apoyaron en la realización de este proyecto.

Resumen

El cacao (*Theobroma cacao* L) se cultiva principalmente en África, Asia, Oceanía, Indonesia, Nueva Guinea y Malasia, la actividad cacaotera presenta gran importancia económica, social y cultural en las áreas donde se produce. Dentro de las principales limitantes que se han presentado en la producción de este cultivo se destacan, dos la enfermedad conocida como la Moniliasis y la pudrición parda o negra de la mazorca, ocasionadas por *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* sp., para los cuales el uso de productos químicos como fungicidas han sido el principal mecanismo de control. Por lo anterior, se considera necesario buscar alternativas del control de estas enfermedades, más amigables con el ambiente. De otro lado, es necesario generar estrategias que minimizan costos en la producción para lo cual el empleo de microorganismos antagonistas se ha propuesto como una estrategia segura y económicamente viable.

En el presente estudio se evaluó el efecto antagónico de cepas de *Trichoderma* sp. y *Clonostachys* sp. frente a *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* sp., se realizó una medición de porcentaje de inhibición y grado de inhibición del crecimiento radial del patógeno, este ensayo se distribuyó en un diseño completamente al azar (DCA), utilizando tres aislamientos de hongos benéficos (dos cepas de *Trichoderma* sp. y una *Clonostachys* sp.) frente a dos patógenos: (*Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* sp.) realizando cinco repeticiones por cada tratamiento. Como resultado se obtuvo un grado de antagonismo 2 de las cepas de los antagonistas en la escala de valoración de antagonismo. El porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) del patógeno ejercida por aislados del antagonista *Trichoderma* sp. del aislamiento Viotá, fue el que mayor porcentaje de inhibición obtuvo con 46% frente al patógeno *Phytophthora* sp. y 95% en *Moniliophthora roreri* Los resultados de este estudio evidencian que en el sistema de cacao existen microorganismos nativos que pueden tener potencial para ser utilizados como agentes de control biológico de los fitopatógenos *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* sp.

Abstract

Cocoa (*Theobroma cacao* L) is cultivated mainly in Africa, Asia, Oceania, Indonesia, New Guinea and Malaysia, the cocoa activity has great economic, social, and cultural importance in the areas where it is produced. Among the main limitations that have arisen in the production of this crop, two stand out, the disease known as Moniliasis and the brown or black rot of the ear, caused by *Moniliophthora roreri* and *Phytophthora* sp., for which the use of Chemicals such as fungicides have been the main control mechanism. Therefore, it is considered necessary to seek alternatives to control these diseases, more friendly to the environment. On the other hand, it is necessary to generate strategies that minimize production costs, for which the use of antagonistic microorganisms has been proposed as a safe and economically viable strategy.

In the present study, the antagonistic effect of *Trichoderma* sp. and *Clonostachys* sp. against *Moniliophthora roreri* and *Phytophthora* sp., a measurement of the percentage inhibition and degree of inhibition of the pathogen's radial growth was performed. This assay was distributed in a completely randomized design (DCA), using three isolates of beneficial fungi (two strains of *Trichoderma* sp. and a *Clonostachys* sp.) against two pathogens: (*Moniliophthora roreri* and *Phytophthora* sp.) performing five repetitions for each treatment. As a result, an antagonism grade 2 of the antagonist strains was obtained on the antagonism rating scale. The percentage of radial growth inhibition (PICR) of the pathogen exerted by isolates of the antagonist *Trichoderma* sp. of the Viotá isolate, was the one that obtained the highest percentage of inhibition with 46% against the pathogen *Phytophthora* sp. and 95% in *Moniliophthora roreri*. The results of this study show that in the cacao system there are native microorganisms that may have the potential to be used as biological control agents of the phytopathogens *Moniliophthora roreri* and *Phytophthora* sp.

Introducción

El cacao (*Theobroma cacao* L.) se cultiva en más de 50 países que se encuentran en regiones cálidas y húmedas, la actividad cacaotera presenta gran importancia económica, social y cultural en las áreas donde se produce (Lachenaud & Motamayor, 2017). El cacao en Colombia en los últimos años se ha posicionado en el mercado internacional, principalmente como materia prima para la producción de chocolate y sus derivados, beneficiando de esta manera a más de 35 mil familias productoras (Cruz & Cañas, 2018). Dentro de las principales limitantes que se han presentado en la producción de este cultivo se destacan dos las enfermedades conocidas como la Moniliasis y la pudrición parda o negra de la mazorca ocasionadas por *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* sp., respectivamente (Phillips & Cerda, 2011).

De forma general, la Moniliasis, causada por el hongo *Moniliophthora roreri*, puede ocasionar pérdidas de hasta de un 40 a 100% de la producción, convirtiéndose en el factor más limitante para la producción de cacao en el país. Esto se debe principalmente a que este patógeno solo infecta al fruto, su inoculación y colonización puede ocurrir en cualquier etapa de desarrollo de la planta (Bailey et al., 2018; Enrique et al., 2012). Por otra parte, se reporta que la pudrición parda de la mazorca cuyo agente causal es *Phytophthora* sp. genera pérdidas de hasta un 30% de la producción mundial, este el patógeno puede atacar a las plantas en sus primeros estadios de desarrollo en diferentes partes, como cojines florales, hojas, brotes, ramas y raíces. Sin embargo, el principal daño lo sufren las mazorcas ya que estas contienen la parte de interés económico y comercial (Guillermo & Gil, 2016).

Los métodos de control para estas enfermedades se basan principalmente en el uso de fungicidas sistémicos y de contacto, los cuales tiene un alto costo en el mercado dificultando su accesibilidad por parte de los pequeños agricultores, y la problemática ambiental que generan (Villamil Carvajal et al., 2015). Otras estrategias de control se basan en la implementación de prácticas culturales como, por ejemplo, la remoción de frutos enfermos, que, aunque ha

demostrado ser relativamente eficiente para reducción del inóculo, consume mucho tiempo y la Universidad de Cundinamarca, Sede Fusagasugá, Facultad de Ciencias Agropecuarias proporciona un control insuficiente (Rodríguez Polanco et al., 2021). Basando en lo anterior, el control biológico para las enfermedades causadas por *M. roleri* y *Phytophthora* sp., se basa en estudio de hongos antagonistas, los cuales demuestran tener efectos sobre el desarrollo del patógeno y en algunos casos estos microorganismos tienen habilidad para inducir resistencia sistémica en la planta (Abbott et al., 2019).

En este trabajo se evaluó el efecto de las condiciones *in vitro* el potencial antagónico de microorganismos benéficos frente a dos patógenos aislados de cultivos de cacao (*Theobroma cacao* L.). Los resultados muestran que los microorganismos benéficos aislados del cacao tienen potencial para futuras evaluaciones en campo frente a patógenos de cacao.

Planteamiento del problema

En el año 2021 Colombia registró 70.205 toneladas de grano de cacao (FEDECACAO, 2021). Aunque la producción de cacao ha aumentado, las enfermedades siguen siendo una limitante en la producción. Para el control de Moniliasis y pudrición negra del fruto en cacao, *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* sp. respectivamente. El manejo cultural de estas enfermedades se basa en cosecha oportuna de los frutos, la remoción semanal de frutos enfermos, el control de malezas, el mejoramiento del drenaje, la poda del árbol de cacao y de los árboles de sombra (Torres de la Cruz et al., 2019), pero aún con este escenario, el uso de productos químicos como fungicidas ha tomado fuerza posicionándose como el principal mecanismo de control. Actualmente, en el mercado existen diversos fungicidas con acción protectante, fundamentados en la aplicación de diferentes sales de cobre, los cuales, por su eficiencia, se muestran una opción viable para ser implementada. Así también, se pueden encontrar fungicidas sistémicos con capacidad de translocación y con efecto erradicante sobre infecciones recién establecidas (Bateman et al., 2005), Pero el mal manejo de productos químicos altera la producción en el cultivo de cacao, generando de esta manera contaminación de los agroecosistemas, tanto en el medio ambiente, como en la población (Krauss et al., 2006), es el caso de las aplicaciones continuas de fungicidas a base de sulfato de cobre contribuyen a la contaminación ambiental tanto en suelo, como en agua de riego (Cornu et al., 2017). Así mismo, las poblaciones del patógeno generan resistencia a los productos, la aplicación de estos compuestos crea variabilidad en su efectividad durante la alta presión, como consecuencia a la alta capacidad que estos tienen de evolucionar. Finalmente, la incidencia de estas enfermedades se ve potenciada por las condiciones medioambientales; con una alta humedad relativa de las zonas de producción de cacao en Colombia que favorecen las características climáticas principales para el desarrollo de la epidemia de Moniliasis y pudrición negra del fruto (Cárdenas Pardo et al., 2017; Efombagn et al., 2007).

Por lo anterior, surge la pregunta de investigación ¿existen microorganismos benéficos en plantas enfermas de cacao que puedan tener un efecto biocontrolador, frente a los fitopatógenos *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* spp.?

Justificación

A pesar que se tienen diferentes métodos para el manejo de enfermedades en cacao, la aplicación de productos químicos sigue siendo la más común entre los productores; lo anterior se relaciona con la pérdida de producción y productividad en el cultivo, generadas por la presencia e incidencia de enfermedades como; moniliasis, pudrición del fruto, mancha negra, antracnosis, mal del machete. Para las cuales comúnmente los planes de manejo se basan en la aplicación de una serie de productos fungicidas de síntesis química, que representa una herramienta rápida para el control, pero en esta no se contemplan los efectos negativos que causan sobre la salud humana y el medio ambiente en general.

Debido al efecto negativo que genera el uso indiscriminado de fungicidas de origen sintético en el ambiente y la salud humana, se hace necesario explorar alternativas que mitiguen el efecto de los fungicidas, así como minimizar costos en la producción. En relación a esto, múltiples investigaciones que se han realizado, han demostrado que el control biológico representa una herramienta para manejo de enfermedades, basándose en el uso de hongos y bacterias antagónicas, los cuales por medio de sus mecanismos de colonización representan estrategias para el control de enfermedades ocasionadas por patógenos (INTAGRI, 2020).

El uso de microorganismos antagonistas supone ser una estrategia segura y económicamente viable, que, aunque requiere aun una amplia investigación, genera altas expectativas en su efectividad. Dentro de las especies de hongos biocontroladores más estudiados se destacan las especies de los géneros *Trichoderma* y *Clonostachys*, los cuales han sido ampliamente calificadas como agentes eficaces en el control de enfermedades como como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium ultimum* y *Fusarium oxysporum*, causantes de enfermedades importantes, en diversos cultivos de importancia agronómica en diferentes áreas geográficas de Perú, Colombia, Costa rica y Ecuador (Villamil C. et al., 2015).

Para el año 2021 Colombia registró una cifra de producción de 70.205 toneladas de grano, con respecto al año cacaotero inmediatamente anterior, de esta manera se registró un incremento en la producción de 9,2% (FEDECACAO, 2021). Teniendo siempre como objetivos principales la mejora de la productividad y la rentabilidad del cultivo, uno de los mecanismos más efectivos, es el manejo fitosanitario que este exige, de allí la gran importancia de evaluar los diferentes factores que contribuyen al control de enfermedades, Existe evidencia de que el empleo de microorganismos antagonistas como el hongo *Trichoderma* inhibe el crecimiento de *Phytophthora*, tanto en condiciones *in vitro* como *in vivo* (Vélez Cárdenas, 2021). De igual *Clonostachys rosea* y *Clonostachys byssicola*, han demostrado efectos positivos en el control de *Moniliophthora* (Tirado-Gallego et al., 2016).

Objetivos

Objetivo General

- Evaluar en condiciones *in vitro* el potencial antagónico de microorganismos benéficos frente a dos patógenos aislados de cultivos de cacao (*Theobroma cacao* L.)

Objetivos Específicos

- Determinar el grado de antagonismo de a *Trichoderma* sp. y *Clonostachys* sp. enfrentados con *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* sp. respecto a la competencia por sustrato en condiciones *in vitro*.
- Calcular el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* sp. frente a *Trichoderma* sp. y *Clonostachys* sp. en condiciones *in vitro*.
- Comparar la eficiencia de los microorganismos antagonistas frente al control de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* sp.

Marco Referencial

Marco Conceptual

Tabla 1. Taxonomía del cacao (*Theobroma cacao* L.)

Taxonomía Cacao (<i>Theobroma cacao</i> L)	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Familia	Malvaceae
Género	<i>Theobroma</i>
Especie	<i>T. cacao</i> L.



Figura 1. Árbol de cacao (Moreno Paola, 2021).

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es originario de América, pero se cultiva principalmente en África, Asia, Oceanía, Indonesia, Nueva Guinea y Malasia. En América del Sur lo producen principalmente Brasil, Ecuador, México y Colombia. En nuestro país este cultivo ha adquirido gran importancia en los últimos años, debido al incremento de las áreas cultivadas (Antolínez Sandoval et al., 2020). El cultivo de cacao se establece entre un rango de altura sobre el nivel del mar de 0 a 1.200 metros, principalmente en climas cálidos, húmedos y con temperaturas promedio de 30°C (Pérez et al., 2021). Los problemas fitosanitarios son los principales factores que generan pérdidas en la producción de cacao, esta problemática se ha incrementado debido a la falta de manejo adecuado del cultivo y por los cambios ambientales provocados por acciones antrópicas (Rosas-Patiño et al., 2019).

La producción de cacao a nivel mundial se ve afectada por diversos factores, entre los cuales se destacan las enfermedades, plagas y el inadecuado manejo del cultivo; siendo el factor

fitosanitario, el principal limitante (Huaman-Pampañaupa et al., 2021). La incidencia de las enfermedades en el cultivo de cacao se relaciona directamente con factores como la ubicación, el tipo de material, capacidad productiva de los clones e híbridos, la densidad de siembra, presencia excesiva de maleza y la cantidad de agentes patógenos presentes en el suelo (Sanchez F. et al., 2003). Algunas de las enfermedades presentes en este cultivo son; la Moniliasis, Pudrición negra de la mazorca y escoba de bruja.

La Moniliasis causada por *Moniliophthora roreri* (Cif. & Par), y es considerada la principal enfermedad que afecta los cultivos de cacao en Colombia y otros países de América central y Suramérica. Los daños ocasionados por esta enfermedad en Colombia alcanzan más del 40 % de la producción anual del país (Cárdenas Pardo et al., 2017). Por lado, otra enfermedad que ataca el cultivo de cacao en la cual su agente causal es *Moniliophthora perniciosa* o más conocida como escoba de bruja, esta afecta los tejidos en crecimiento de la planta y es capaz de ocasionar pérdidas en la producción de cacao con reducciones en el rendimiento de hasta 50 a 90 % (Kilaru et al., 2007), *Rosellinia* sp. causa una enfermedad conocida como llaga estrellada o podredumbre negra de la raíz la cual afecta, inicialmente, todo el sistema radical de la planta, y posteriormente, el cuello del tallo, hasta causar la muerte (Gutiérrez et al., 2009). Dentro de las enfermedades más limitante también se encuentra la Mazorca negra, enfermedad causada por el oomycete *Phytophthora* sp. El cual puede alcanzar perdidas entre el 30 y 60% de la producción (Rodriguez Polanco et al., 2021).

A continuación se describen a detalle las enfermedades que afectan el cacao a nivel mundial como lo son la Moniliasis y la pudrición parda o negra de la mazorca

Moniliasis

Tabla 2. Taxonomía de *Moniliophthora roreri*.

Taxonomía <i>Moniliophthora roreri</i>	
Reino	Fungi
Filo	Basidiomycota
Clase	Agaricomycetes
Subclase	Agaricomycetidae
Orden	Agaricales
Familia	Marasmiaceae
Género	<i>Moniliophthora</i>
Especie	<i>M. roreri</i>



Figura 2. Fruto de cacao con síntomas de moniliasis (Moreno Paola, 2021).

El primer síntoma de infección en el fruto se presenta al mes de la inoculación, presentándose puntos pequeños de apariencia aceitosa en la epidermis, los cuales con el tiempo coalescente formando una mancha café con bordes bien definidos, sobre la cual aparece más tarde el micelio y las esporas del hongo. Otros síntomas típicos de la enfermedad en el fruto es la deformación o la aparición de protuberancias en forma de Giba típico de mazorcas jóvenes, y maduración prematura (Toala et al., 2019).

Moniliophthora roreri es un microorganismo hemibiótrofo conocido como un ascomicete anamórfico, perteneciente a la familia *Marasmiaceae*, el cual ataca el fruto en cualquier edad de desarrollo, lo cual genera una reducción en su valor comercial, ocasionando pérdidas económicas de aproximadamente el 60% de la producción nacional (Arbeláez, 2010). Para la colonización y dispersión, no requiere de alta humedad, entre los mecanismos de dispersión se

encuentra el viento, el cual transporta libremente las esporas del hongo, de igual forma las actividades realizadas por el hombre permiten la diseminación de la enfermedad a grandes distancias infectando frutos sanos a lo largo del cultivo, lo cual supera las barreras geográficas. Por otra parte, este patógeno se puede dispersar mediante insectos de dos formas, como esporas adheridas en las partes del cuerpo del insecto o en el tracto digestivo de éste llevándolas de un fruto a otro (Toala et al., 2019).

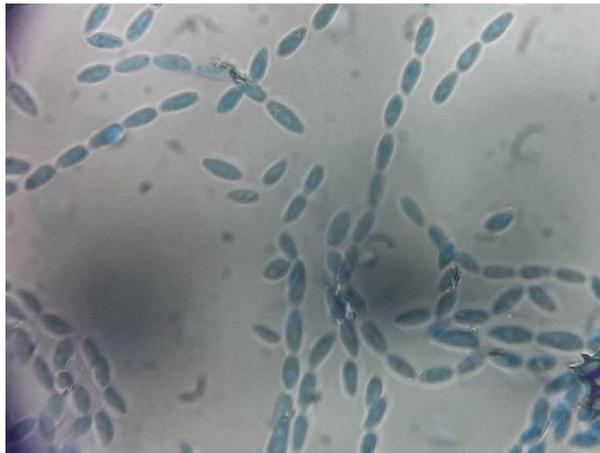


Figura 3. Esporóforos de Moniliophthora roreri aislado de Viotá – Cundinamarca (Moreno Paola, 2021).

Pudrición parda o negra de la mazorca

Tabla 3. Taxonomía de *Phytophthora* sp

Taxonomía <i>Phytophthora</i> sp.	
Reino	Protista
Superfilo	Heterokonta
Filo	Pseudofungi
Clase	Oomycetes
Orden	Peronosporales
Familia	Peronosporaceae
Género	<i>Phytophthora</i>



Figura 4. Fruto de cacao con síntomas de mazorca negra (Moreno Paola, 2021).

Esta enfermedad es causada por organismos del género *Phytophthora*, en cacao se han reportado siete especies patógenas: *P. palmivora*, *P. megakarya*, *P. capsici*, *P. citrophthora*, *P. nicotianae* var. *Parasitica*, *P. megasperma* y *P. arecae*. La pudrición negra de la mazorca causa pérdidas grandes anuales las cuales se incrementan dependiendo las condiciones ambientales, siendo más severa en la época invernal; alcanzando perdidas entre el 30 y 60% de la producción (Rodríguez-Lozano, 2020). Este patógeno tiene la particularidad de diseminarse en el suelo afectando diferentes partes del árbol de cacao, incluyendo las mazorcas bajas, la sintomatología en los frutos se presenta en la superficie como una mancha incolora en estado inicial, la cual posteriormente se desarrolla en forma de lesión de color marrón o negro con un límite bien definido, extendiéndose por todo el fruto en un transcurso de tiempo dos semanas aproximadamente (Palacios Bejarano et al., 2021). Este oomycete se puede reproducir de forma asexual mediante clamidosporas y esporangios que contienen las zoosporas y de forma sexual mediante la formación de oósporas (Fernández Maura et al., 2018).



Figura 5. Esporangios y oosporas de Phytophthora sp. aislado de Anapoima - Cundinamarca (Moreno Paola, 2021).

Biocontrol en fitopatógenos

El biocontrol es una alternativa que consiste en utilizar componentes de origen biológico, como hongo, bacterias, o insectos que tienen la capacidad de antagonizar o influir sobre el crecimiento de otros insectos, hongos y bacterias que afectan los cultivos (Maldonado Mendoza & Morales Ruiz, 2021). Esta estrategia es empleada para disminuir pérdidas en los cultivos provenientes del ataque de plagas y enfermedades, con el fin de asegurar una producción agrícola sostenible desde un enfoque agroecológico, es decir, que sea amigable con el ambiente (Cruz -Trujillo et al., 2021).

En general los métodos empleados para el biocontrol se relacionan con el uso de aceites esenciales, metabolitos microbianos y herramientas moleculares (Rodríguez et al., 2021). Con relación a esto, existen microorganismos que pueden actuar como posibles biocontroladores de patógenos, mediante mecanismo como antagonismo, competencia, parasitismo e inducción a la resistencia. El antagonismo se basa en la interacción entre microorganismos o sustancias que provocan la pérdida de actividad de uno de ellos, los géneros antagonistas más utilizados son *Trichoderma*, *Penicillium*, *Gliocladium*, *Rhodotorula*, *Candida* *Pseudomonas* y *Bacillus* (Méndez-

Úbeda et al., 2018). Otro mecanismo es la competencia, esta consiste en la disputa de dos o más organismos por un recurso cuando este se encuentra en cantidad insuficiente para todos ellos, como es el caso la de competencia por nutrientes, agua, oxígeno, o por espacio (Acosta et al., 2021). El parasitismo también hace parte de los mecanismos de biocontrol en este debido a que se basa en una estrecha relación biológica entre dos organismos de diferentes especies, en la que el parásito vive a expensas de su huésped, es decir, que utiliza al organismo que lo hospeda para cubrir sus necesidades básicas, lo que le permite ampliar su propia capacidad de sobrevivencia (Saldaña, 2019). Por otra parte, la inducción de resistencia también hace parte de estos mecanismos ya que se ha demostrado mediante el uso de hongos, bacterias, y diferentes compuestos químicos no patógenos o patógenos inactivos son capaces de estimular la producción o activación de la resistencia en muchas especies de plantas (Gómez & Reis, 2011).

Microorganismos antagonistas

Dentro del control biológico de patógenos vegetales se encuentra un grupo importante de hongos y bacterias que presentan efectos antagónicos con otros microorganismos que generan afectaciones en cultivos comerciales, entre los microorganismos más importantes se encuentran las bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* y hongos de los géneros *Gliocladium*, *Fusarium*, y *Trichoderma* (Robles, 2010). *Trichoderma* es el más utilizado para el control de un grupo importante de patógenos del suelo debido a que presenta como efecto principal el hiperparasitismo sobre otras especies patogénicas, por otra parte, algunas especies y cepas pueden producir metabolitos bioactivos que incrementan su acción (Fernández-Larrea, 2001). En condiciones *in vitro*, ha sido posible identificar microorganismos con potencial para el biocontrol de las enfermedades en el cultivo del cacao, dando así un ideal para realizar investigaciones que permitan encontrar agentes efectivos para el control de *M. royeri*, y *Phytophthora* (Enrique et al., 2012).

Trichoderma sp.

Tabla 4. Taxonomía de *Trichoderma* sp.
(CABI, 2022)

Taxonomía <i>Trichoderma</i> sp.	
Dominio	Eucariota
Reino	Hongos
Filo	Ascomycota
Subfilo	Pezizomycotina
Clase	sordariomicetos
Subclase	Hypocreomycetidae
Orden	Hipocreales
Familia	Hypocreaceae
Género	<i>Trichoderma</i>

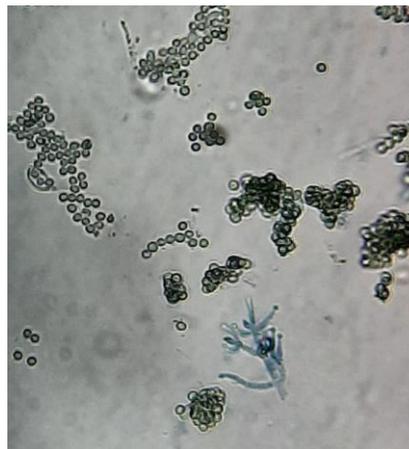


Figura 6. Conidias de *Trichoderma* sp. aislado de Viotá – Cundinamarca (Moreno, Paola, 2021)

Este hongo habita de forma natural del suelo, caracterizado por un comportamiento saprófito o parásito. Entre las especies más destacadas están *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, y *T. hamatum*. El éxito de las cepas de *Trichoderma* como agentes de control biológico se debe a su alta capacidad reproductiva, a su habilidad para sobrevivir bajo condiciones ambientales desfavorables, su gran eficiencia en la utilización de nutrientes, agresividad contra hongos fitopatógenos y su gran eficiencia en promoción del crecimiento en plantas e inducción de mecanismos de defensa (Martínez *et al.*, 2013).

Las diferentes especies se caracterizan por tener un crecimiento micelial rápido y una abundante producción de esporas, que ayuda a la colonización de diversos sustratos y algunos otros hongos fitopatógenos (Martínez *et al.*, 2013). Su principal mecanismo de acción se basa en la competencia directa por nutrientes y por espacio utilizando sustratos como fuente de carbono y nitrógeno, lo que permite colonizar un medio rápidamente, evitando la proliferación de otros microorganismos en el mismo hábitat.

***Clonostachys* sp.**

Tabla 5. Taxonomía de *Clonostachys* sp.

(CABI, 2022)

Taxonomía <i>Clonostachys</i> sp.	
Dominio	Eucariota
Reino	Hongos
Filo	Ascomycota
Subfilo	Pezizomycotina
Clase	sordariomicetos
Subclase	Hypocreomycetidae
Orden	Hipocreales
Familia	Bionectriaceae
Género	<i>Clonostachys</i>

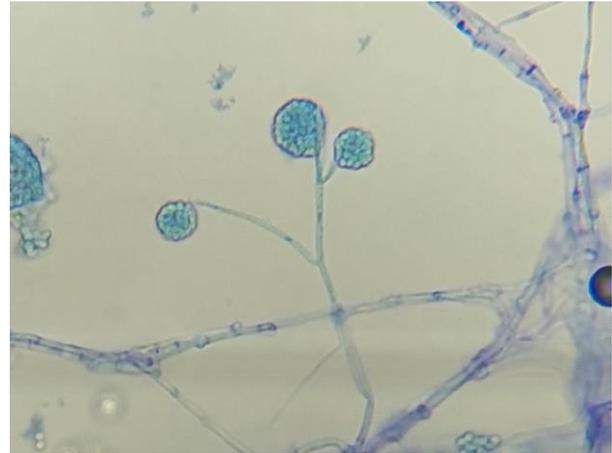


Figura 7. Conidios de *Clonostachys* sp. aislado de Anapoima (Moreno Paola, 2021).

Clonostachys es un micro hongo beneficioso encontrándose dentro de los tejidos de una diversidad de especies de plantas de cultivo. Este hongo es común en raíces, hojas, tallos, flores y frutos sanos de plantas. A diferencia de los organismos patógenos asociados con enfermedades, *Clonostachys* no causa lesiones, manchas, marchitamiento u otros síntomas en las plantas. También se sabe que *Clonostachys rosea* f. *rosea* es un agente de control biológico beneficioso para el tratamiento de las plantas y ayuda a proteger las plantas contra las enfermedades y el estrés ambiental, y promueve el crecimiento y la productividad de las plantas. (Sutton *et al*, 2019)

Clonostachys también tiene la capacidad de crecer en las hifas y micelios de otros hongos (es decir, es un micoparásito). *Clonostachys* usualmente ataca a otro hongo solo después de hacer un contacto muy cercano con las hifas, esclerocios u otra parte del hongo (es decir, contacto absoluto o a una distancia de quizás 1-5 μm). Al hacerlo, las hifas de *Clonostachys* a veces se enrollan alrededor del hongo que está siendo parasitado y el "hongo huésped" esencialmente muere (Sutton *et al*, 2019).

Metodología

Ubicación y Características agroclimatológicas

Los ensayos se realizaron en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Cundinamarca sede Fusagasugá.

Universo, población y muestra

Microorganismos Antagonistas: Se evaluó la capacidad antagónica de *Trichoderma* sp. y *Clonostachys* sp. aislados de muestras de tejido vegetal enfermo de cacao en la región del Tequendama (Cundinamarca).

Microorganismos patogénicos: Aislados de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* sp. los cuales fueron aislados de frutos contaminados de una plantación de cacao y posteriormente mantenidos en el cepario del grupo prosafis, en condiciones de laboratorio.

La multiplicación de los antagonistas y los patógenos se realizó en cajas de Petri en medio Agar papa Dextrosa (PDA por sus siglas en inglés).

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar (DCA), como se observa en la Tabla 6. Distribución de los tratamientos Tabla 6, donde evaluó el efecto antagónico de tres aislamientos de hongos benéficos (dos cepas de *Trichoderma* sp., y una *Clonostachys* sp.) frente a dos patógenos: (*Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* sp.) con cinco repeticiones por cada tratamiento.

Tabla 6. Distribución de los tratamientos

HONGO FITOPATÓGENO		HONGO BENÉFICO	
P1	<i>Phytophthora</i> sp.	TT	<i>Trichoderma</i> sp. (Tocaima)
M2	<i>Monilliophthora roreri</i>	TV	<i>Trichoderma</i> sp. (Viota)
		Can	<i>Clonostachys</i> sp.

Ensayos de antagonismo

Para la realización de los bioensayos se empleó la técnica de enfrentamiento por medio del cultivo dual en la cual se sembraron trozos de 6 mm de diámetro de las colonias fúngicas (benéficos y fitopatógeno) y se co-cultivaron en extremos equidistantes de una caja de Petri con agar papa dextrosa, luego se llevaron a incubación a 28°C. Se cultivaron microorganismos solos (sin enfrentamiento) como controles (Agamez et al., 2009).

Se evaluaron los hongos patógenos *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* sp. frente a los hongos antagonistas *Trichoderma* sp, y *Clonostachys* sp. Se determinó el grado de antagonismo de microorganismos benéficos, respecto a la competencia por sustrato sobre las colonias de fitopatógenos, teniendo como base un periodo de evaluación de 10 días. Para determinar el grado de antagonismo de agentes de control biológico respecto a la competencia por sustrato, se empleó una escala propuesta por Bell et al, 1982. Tabla 7 en la cual se determina el espacio que ocupa en el sustrato el hongo antagonista y/o patógeno en enfrentamiento dual.

Tabla 7. Grado de antagonismo de agentes de control biológico respecto a la competencia por sustrato, propuesta por Bell et al., (1982).

Grado antagónico	Capacidad antagónica (antagonista-patógeno)
1	Antagonista ocupa completamente la superficie del medio de cultivo cubriendo totalmente al patógeno
2	Antagonista llega a sobrepasar las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo
3	Antagonista y el patógeno colonizan cada uno aproximadamente la mitad de la superficie del medio y ninguno parece dominar al otro
4	Patógeno sobrepasa al crecimiento del antagonista colonizando dos terceras partes de la caja Petri
5	Patógeno llega a cubrir totalmente el plato Petri

Evaluación de la capacidad antagónica

Se evaluó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (% MI) usando la fórmula

$$\% MI = ((DC - DT) / DC) \times 100$$

Donde:

DC Corresponde al crecimiento en cm del hongo benéfico.

DT corresponde al crecimiento en cm de hongo patógeno.

Análisis de resultados

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y prueba de comparación de medias Tukey, utilizando el software estadístico Infostat versión libre.

Resultados Y Discusión

Comportamiento del crecimiento radial de *Phytophthora* sp. y *Moniliophthora roreri*. frente a los antagonistas *Trichoderma* sp. y *Clonostachys* sp.

Según los ensayos realizados en condiciones *in vitro* se obtuvo que las cepas de *Trichoderma* sp. Procedentes de los municipios de Viotá y Tocaima, y la cepa de *Clonostachys* sp. procedente del municipio de Anapoima, mostraron tener influencia sobre el crecimiento radial de *Phytophthora* sp. esto en comparación con los tratamientos control, donde se observa que entre los tratamientos de enfrentamiento no existen diferencias estadísticas significativas, pero que estos si son estadísticamente diferentes con respecto al tratamiento control que contenía únicamente la cepa de *Phytophthora* sp.

Así mismo el análisis de varianza arrojado por Infostat, demostró que el modelo se ajustó a los datos obtenidos, ya que se obtuvo un R^2 de 0,97 es decir, se tiene un 97% de confiabilidad, adicional a esto el coeficiente de variación fue de 7.44, indicando que los datos son homogéneos, al realizar la prueba con ANOVA ($< 0,05$).

Por otra parte, el análisis de varianza realizado para el crecimiento radial de *Moniliophthora roreri* en presencia de microorganismos antagónicos arrojó que el modelo se ajustó a los datos obtenidos, ya que se obtuvo un R^2 de 1,00 es decir, se tiene un 100% de confiabilidad, adicional a esto el cv fue bajo, indicando que los datos son homogéneos, al realizar la prueba con ANOVA ($< 0,05$) (Tabla 14). De acuerdo con los resultados obtenidos en la Figura 9 y Figura 11 **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se evidencia que estadísticamente no se obtuvieron diferencias significativas con respecto al crecimiento radial de *Moniliophthora roreri* en presencia de los de microorganismos antagónicos, esto con respecto al testigo de este fitopatógeno.

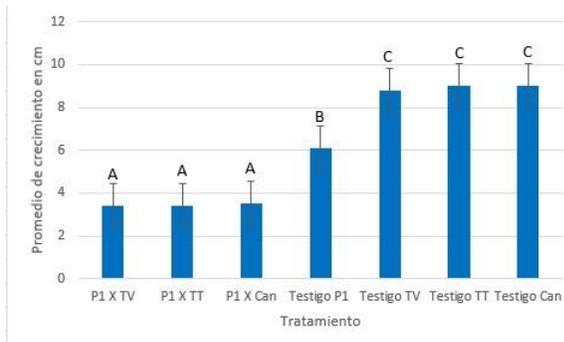


Figura 8. Comportamiento del crecimiento radial de *Phytophthora* sp. en presencia de microorganismos antagonicos

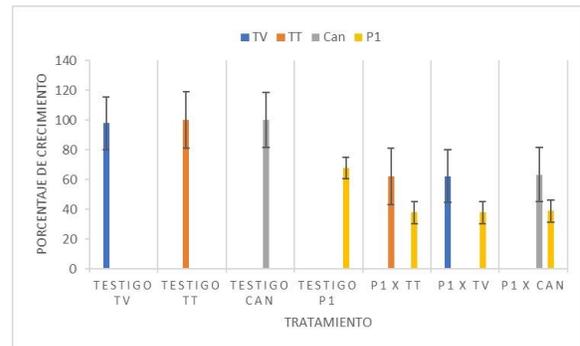


Figura 10. Porcentaje de crecimiento radial de *Phytophthora* sp. frente a los antagonistas.

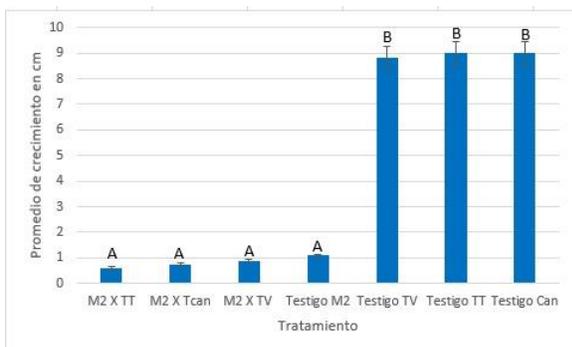


Figura 9. Comportamiento del crecimiento radial de *Moniliophthora roreri* en presencia de microorganismos antagonicos.

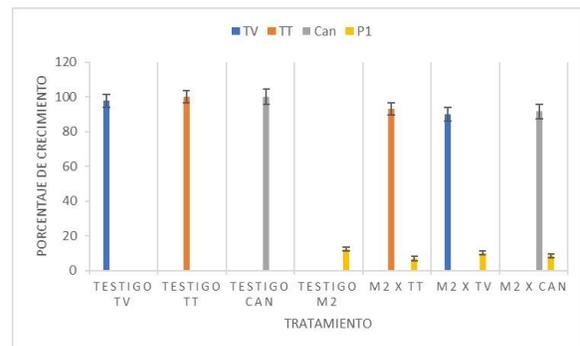


Figura 11. Porcentaje de crecimiento radial de *Moniliophthora roreri*. frente a los antagonistas.

En la última década, ha aumentado el interés por la implementación del control biológico en los cultivos de cacao, esto con el objetivo de mitigar el impacto que los patógenos generan sobre este (Suárez & Cabrales, 2016). Harris *et al*, 2020 en ensayos *in vitro* lograron determinar mediante pruebas duales que *Trichoderma* sp. inhibe el crecimiento de *P. infestans* más de 70% después de 250 horas. Por otra parte, en otras pruebas realizadas en patógenos del orden *Botryosphaerales* se encontró que *Trichoderma* sp. fue capaz de inhibir el crecimiento de los patógenos cinco días después del enfrentamiento (Karličić et al., 2021). Así mismo, *Clonostachys* sp. en aislamientos analizados ha demostrado una inhibición significativa del crecimiento de patógenos. En un estudio realizado en uva, *Clonostachys rosea* mostró una inhibición del 98,2% de los patógenos *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum* y *Pa. chlamydospora*. en presencia de extracto de madera de uva (Silva-Valderrama et al., 2021).

Se corroboran con lo obtenido por Mejía & Alvarado (2016) quienes obtuvieron que el aislado *Clonostachys* sp. frente a los cuatro aislados de *M. roseri* creció más de la mitad del espacio entre inóculos establecido a 4 cm.

A pesar de esto se ha observado en diferentes estudios que *Trichoderma* sp. presenta una gran capacidad de colonización micelial y capacidad de inhibir mediante el mecanismo de antibiosis sobre el fitopatógeno (Mesa-Vanegas et al., 2019). Adicionalmente se menciona que *Trichoderma* sp. tiene una alta capacidad de competencia por el sustrato, induciendo al organismo afectado en un estado de latencia, esto podría estar relacionado con la deficiencia de nutrientes o con la presencia de cierto nivel de sustancias inhibitorias, que dan como resultado la imposibilidad para que *M. roseri* llegue a esporular, caso similar sucede con *Clonostachys* sp. el cual, según (Mejía et al., 2008) mencionan que el principal mecanismo que *C. rosea* utiliza contra patógenos como *Botrytis cinerea* es la competencia por sustrato.

Grado de antagonismo de agentes de control biológico respecto a la competencia por sustrato frente a *Phytophthora* sp. y *Moniliophthora roreri*

Figura 12. Crecimiento de cultivos duales entre los antagonistas *Trichoderma* sp, y *Clonostachys* sp y el patógeno *Phytophthora* sp A: *Trichoderma* sp. Tocaima (TT); B: *Trichoderma* sp. Viotá (TV); C: *Clonostachys* sp. Anapoima (Can); D: *Phytophthora* sp. (P1); E: TT x P1; F: TV x P1; Can x P1

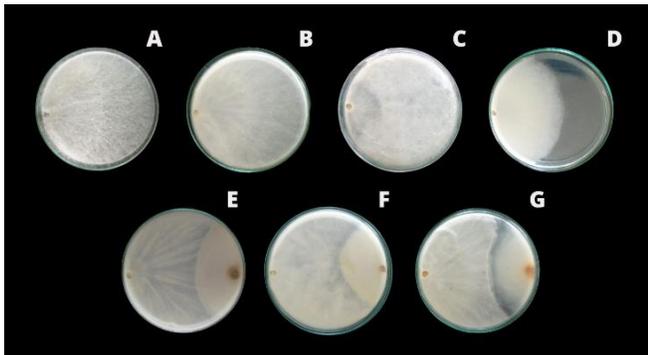
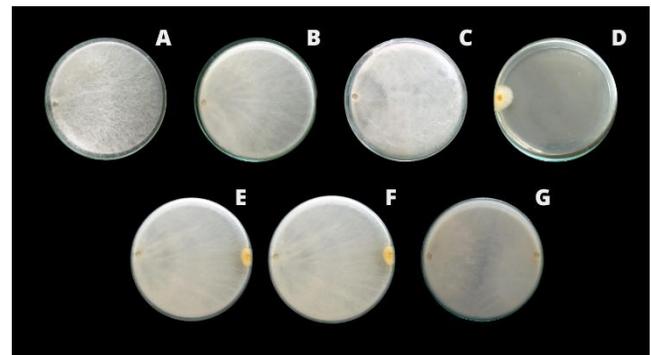


Figura 13. Crecimiento de cultivos duales entre los antagonistas *Trichoderma* sp, y *Clonostachys* sp y el patógeno *Moniliophthora roreri*. A: *Trichoderma* sp. Tocaima (TT); B: *Trichoderma* sp. Viotá (TV); C: *Clonostachys* sp. Anapoima (Can); D: *Moniliophthora roreri* (M2); E: TT x M2; F: TV x M2; Can x M2



Tratamiento	Índice antagonismo
Testigo TV	1
Testigo TT	1
Testigo Can	1
P1 X TT	2
P1 X TV	2
P1 X Can	2

Tabla 8. Grado de antagonismo de agentes de control biológico respecto a la competencia por sustrato frente a *Phytophthora* sp.

Tratamiento	Índice antagonismo
Testigo TV	1
Testigo TT	1
Testigo Can	1
M2 X TT	1
M2 X TV	1
M2 X Can	1

Tabla 9. Grado de antagonismo de agentes de control biológico respecto a la competencia por sustrato frente a *Moniliophthora roreri*.

Según los datos obtenidos por parte del crecimiento radial de los hongos antagonistas frente a los aislamientos de *Phytophthora* sp. y *Moniliophthora roreri*. Se obtuvo que tanto las cepas de las cepas de *Trichoderma* sp. procedentes de los municipios de Viotá y Tocaima, como y la cepa de *Clonostachys* sp. procedente del municipio de Anapoima, presentan un índice de antagonismo de 1 en ausencia de los fitopatógenos, pero al encontrarse presencia de *Phytophthora* sp. estos presentan un índice de antagonismos de 2 Tabla 8 y Figura 122. Por otra parte, si estos se encuentran en presencia de *Moniliophthora roreri*. el índice de antagonismos permanece en 1 Tabla 9. En estudios similares realizados con *P. infestans*, se determinó que la capacidad antagónica de *Trichoderma* sp. fue de grado tres, ya que pasadas 250 horas de incubación, el antagonista cubre más de 50% de la superficie de la caja en presencia del patógeno (Harris Valle et al., 2020) en este ensayo al obtener un grado 2 es decir, el antagonista sobrepasó las dos terceras partes de la superficie del cultivo, obtuvo diferencia significativa en los resultados, frente a el ensayo realizado por Harris Valle. Por otra parte, en ensayos de enfrentamiento de *Trichoderma* - *Moniliophthora roreri*, los aislados de *Trichoderma* sp. frente a los aislados de *M. roreri* lograron colonizar las dos terceras partes del sustrato, asignándoles el grado 2, en este mismo ensayo se obtuvo el aislado de la especie *Clonostachys*, frente a los cuatro aislados de *M. roreri* el cual creció más de la mitad del espacio por lo que se le asigna el grado 3 de la escala (Mejía Betancourt & Alvarado Rodríguez, 2016).

Porcentaje de inhibición del crecimiento de *Phytophthora* sp. y *Moniliophthora roreri* frente a los antagonistas *Trichoderma* sp. y *Clonostachys* sp.

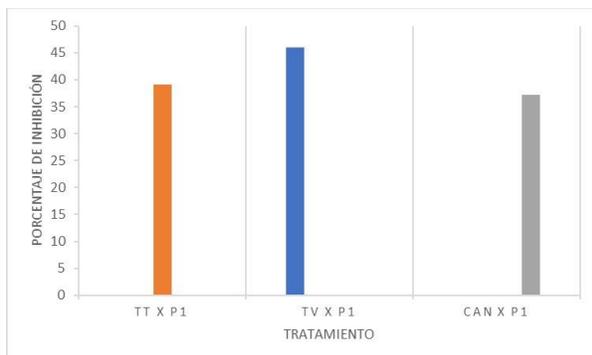


Figura 14. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *Phytophthora* sp.

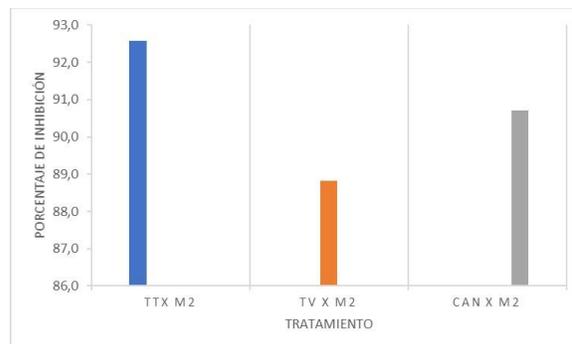


Figura 15. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *Moniliophthora roreri*.

La actividad antagónica de *Trichoderma* sp. tanto la cepa de Tocaima como la cepa de Viotá frente a *Phytophthora* sp., obtuvo un porcentaje promedio de 43% Figura 14 siendo mayor el porcentaje de la cepa de Viotá, con un 46% de inhibición frente a *Phytophthora* sp. esto durante un periodo de 144 horas. (Ezziyyani, et.al, 2004) evaluaron el antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* frente a *Phytophthora capsici*, en el cual al igual que en este ensayo se obtuvo un alto porcentaje de inhibición frente al patógeno. Se asegura que una de las diferencias que se obtuvo se debió al medio de cultivo en el que se realizaron los repiques, dando mayor diferencia significativa el medio de cultivo PDA, mientras que en el medio A-A, las interacciones fueron menos intensas o débiles. La zona de inhibición producida por *T. harzianum*, frente al patógeno, aumenta a medida que transcurre el tiempo, aumento que va acompañado de la destrucción del micelio fúngico desarrollado hasta ese momento.

Comparando la inhibición realizada por los antagonistas en los dos fitopatógenos, *Trichoderma* sp. aislado en Viotá, porcentualmente logró una mayor inhibición de *Moniliophthora roreri* con un

resultado de 92,5%, mientras que en *Phytophthora* sp. su porcentaje de inhibición fue menor (40% de inhibición) Figura 15.

Vásquez-Sangay (2013) evaluaron el efecto de *Clonostachys* sp. sobre *Fusarium oxysporum* y *B cinerea* Pers. Se obtuvo un porcentaje de inhibición menor al observado en el presente trabajo, ya que al día 7 se tenía un 60% de inhibición del antagonista *Clonostachys* sp., mientras que la inhibición que se obtuvo frente a *Moniliophthora roreri*, fue de 90,5%. Por el contrario, sobre *Phytophthora* sp. el porcentaje de inhibición de *Clonostachys* sp. fue del 35%.

Phytophthora sp. en comparación con *Moniliophthora roreri*, tuvo un crecimiento más rápido en medio *in vitro*. En la Figura 10 se encuentra una diferencia porcentual del 60%; es decir, *Phytophthora* sp. creció un 60% más que *Moniliophthora roreri*, reflejándose en que los antagonistas pudiesen inhibir rápidamente y en mayor porcentaje a *Moniliophthora roreri*.

Conclusiones

- El grado de antagonismo que mostraron las cepas de *Trichoderma* sp. procedentes de los municipios de Viotá y Tocaima, y la cepa de *Clonostachys* sp. procedente del municipio de Anapoima respecto a la competencia por sustrato frente a *Phytophthora* sp. y *Moniliophthora roreri* presentan resultados favorables, ya que estos de manera general se ubican en un grado 2 al sobrepasar las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo.
- Las cepas de *Trichoderma* sp. obtuvieron un porcentaje de inhibición mayor que *Clonostachys* sp. en *Phytophthora* sp.; y *Moniliophthora roreri*; sin embargo, las tres cepas antagonistas, el porcentaje de inhibición fue alto, en un promedio entre 81% a 91%, siendo el más alto *Trichoderma* sp. aislado de Tocaima.
- Los microorganismos antagónicos empleados mostraron un efecto de disminución del crecimiento radial de *Phytophthora* sp. adicional a esto se encontró que *Trichoderma* sp. TV presenta un 46% de inhibición del crecimiento de este fitopatógeno.

Recomendaciones

- Identificar molecularmente los aislados de *Trichoderma* sp. y *Clonostachys* sp. para realizar ensayos en campo de manera que se identifique las especies que puedan ser empleadas en la elaboración de productos enfocados al control de *Phytophthora* sp. y *Moniliophthora roreri*.
- Se recomienda hacer mantenimiento de los antagonistas y también de los fitopatógenos esto con el fin de ampliar el banco de cepas de hongos, y tener una reserva para próximas investigaciones de producciones cacaoteras.

Referencias bibliográficas

- Abbott, P. C., Benjamin, T. J., Burniske, G. R., Croft, M. M., Fenton, M., Kelly, C. R., Lundy, M., Rodriguez Camayo, F., & Wilcox Jr., M. D (2019). An Analysis of the Supply Chain of Cacao in Colombia. *Análisis de La Cadena Productiva Del Cacao En Colombia*, 221.
- Acosta, L. T., Azania, D. K., & Azania, R. (2021). Cultivo dual in vitro de cepas nativas de *Trichoderma* spp. frente a *Botrytis* sp. patógeno de *Passiflora ligularis* Juss. *Revista de Investigación Agropecuaria Science and Biotechnology*, 1(4).
<https://doi.org/10.25127/riagrop.20214.720>
- Agamez, E. A., Violeth, B. J., & Zumaqué, L. O. (2009). Evaluación del antagonismo y multiplicación de *Trichoderma* sp. en sustrato de plátano en medio líquido estático. *Acta Biologica colombiana*, 14(3).
- Antolinez Sandoval, E. Y., Almanza Merchán, P. J., Barona Rodriguez, A. F., Polanco Díaz, E., & Serrano Cely, P. A (2020). Estado actual de la cacaocultura: una revisión de sus principales limitantes. *Ciencia y Agricultura*, 17(2).
<https://doi.org/10.19053/01228420.v17.n2.2020.10729>
- Arbelaez, L (2010). ANALISIS DE LA DIVERSIDAD INTRAESPECIE DE *Moniliophthora roreri* (Cif.) Evans et al. POR MEDIO DE MARCADORES MORFOLOGICOS Y GENETICOS. In Thesis (Issue May).
- Bailey, B. A., Evans, H. C., Phillips-Mora, W., Ali, S. S., & Meinhardt, L. W (2018). *Moniliophthora roreri*, causal agent of cacao frosty pod rot. *Molecular Plant Pathology*, 19(7), 1580–1594.
<https://doi.org/10.1111/mpp.12648>
- Bateman, R. P., Hidalgo, E., García, J., Arroyo, C., ten Hoopen, G. M., Adonijah, V., & Krauss, U. (2005). Application of chemical and biological agents for the management of frosty pod

- rot (*Moniliophthora roreri*) in Costa Rican cocoa (*Theobroma cacao*). *Annals of Applied Biology*, 147(2), 129–138. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2005.00012.x>
- Bell, D. K. (1982). In Vitro Antagonism of *Trichoderma* species Against Six Fungal Plant Pathogens. *Phytopathology*, 72(4), 379. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-72-379>
- Cárdenas Pardo, N. J., Darghan, A., Sosa Rico, M. D., & Rodriguez, A. (2017). Análisis espacial de la incidencia de enfermedades en diferentes genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el Yopal (Casanare), Colombia. *Acta Biologica colombiana*, 22(2), 209–220. <https://doi.org/10.15446/ABC.V22N2.61161>
- Cárdenas Pardo, N. J., Darghan, A., Sosa Rico, M. D., & Rodriguez, A (2017). Análisis espacial de la incidencia de enfermedades en diferentes genotipos de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el Yopal (Casanare), Colombia. *Acta Biologica Colombiana*, 22(2). <https://doi.org/10.15446/abc.v22n2.61161>
- Cornu, J. Y., Huguenot, D., Jézéquel, K., Lollier, M., & Lebeau, T (2017). Bioremediation of copper-contaminated soils by bacteria. In *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (Vol. 33, Issue 2). <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2191-4>
- Cruz Trujillo, J. J., Hernández Gutiérrez, V., Sánchez Leal, L. C., & Fuentes Quintero, L. S. (2021). Alternativas de control biorracionales sobre *Phytophthora* infestans, fitopatógeno causante de la gota en papa. *Nova*, 19(36), 31–48. <https://doi.org/10.22490/24629448.5287>
- Cruz, R., & Cañas, P (2018). La importancia de la exportación del cacao en Colombia y los países en América Latina. *Revista Investigación & Gestión*, 1(1), 18–27. La importancia de la exportación del cacao en Colombia y los países en América Latina

- Efombagn, M. I. B., Nyassé, S., Sounigo, O., Kolesnikova-Allen, M., & Eskes, A. B (2007). Participatory cocoa (*Theobroma cacao*) selection in Cameroon: *Phytophthora* pod rot resistant accessions identified in farmers' fields. *Crop Protection*, 26(10). <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.12.008>
- Enrique, V. C. J., Orlando, B. V. J., & Edgar, V. R. S (2012). Evaluación in vitro de Microorganismos Nativos por su Antagonismo contra *Moniliophthora roreri* Cif & Par en Cacao (*Theobroma cacao* L.). 2012, 65(1).
- FEDECACAO (2021). Producción de cacao en la historia de Colombia. Federacion Nacional de Cacaoteros. <https://www.fedecacao.com.co/post/a%C3%B1o-cacaotero-2020-2021-el-de-mayor-producci%C3%B3n-de-cacao-en-la-historia-de-colombia>
- Fernández Maura, Y., Lachenaud, P., Decock, C., Díaz Rodríguez, A., & Abreu Romero, N (2018). Caracterización de *Phytophthora*, agente etiológico de la pudrición negra de la mazorca del cacao en Cuba y Guyana Francesa. *Centro Agrícola*, 45(3).
- Fernández-Larrea, O (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado De Plagas (Costa Rica)*, 62.
- Gómez, D., & Reis, E. (2011). Inductores abióticos de resistencia contra fitopatógenos Abiotic inductor resistance. *Química Viva*, 10(1).
- Guillermo, J., & Gil, R (2016). Pérdidas económicas asociadas a la pudrición de la mazorca del cacao causada por *Phytophthora* spp., y *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al., en la hacienda Theobroma, Colombia. *Rev. Protección Veg*, 31(1), 42–49.
- Gutiérrez, B., Suleima, M., Rumbos, R., Parra, D., Sosa, D., & Pérez-Martínez, S. (2009). Actualización de enfermedades del cacao en los estados Sucre y Monagas. XXI Congreso Venezolano de Fitopatología.

- Harris Valle, C., Bonilla Pioquinto, E., & Palafox Rodríguez, M (2020). Antagonismo de microorganismos nativos sobre *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary aislada de *Solanum tuberosum* L. CIBA Revista Iberoamericana de Las Ciencias Biológicas y Agropecuarias, 9(17), 23–43. <https://doi.org/10.23913/ciba.v9i17.96>
- Huaman Pampañaupa, J. S., Márquez Romero, F.-R., Cabrera Márquez, S., & Paricoto Apaza, D. G. (2021). Evaluación in vitro de 14 medios de cultivo sobre el crecimiento micelial de *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora. TAYACAJA, 4(1), 168–179. <https://doi.org/10.46908/tayacaja.v4i1.162>
- Karličić, V., Jovičić-Petrović, J., Marojević, V., Zlatković, M., Orlović, S., & Raičević, V (2021). Potential of *Trichoderma* sp p. and *Pinus sylvestris* Bark Extracts as Biocontrol Agents against Fungal Pathogens Residing in the Botryosp haeriales. 99. <https://doi.org/10.3390/iecf2020-07960>
- Kilaru, A., Bailey, B. A., & Hasenstein, K. H. (2007). *Moniliophthora perniciosa* produces hormones and alters endogenous auxin and salicylic acid in infected cocoa leaves. FEMS Microbiology Letters, 274(2). <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00837.x>
- Krauss, U., Martijn ten Hoopen, G., 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. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2006.06.005>
- Lachenaud, P., & Motamayor, J. C (2017). The Criollo cacao tree (*Theobroma cacao* L.): a review. Genetic Resources and Crop Evolution, 64(8), 1807–1820. <https://doi.org/10.1007/s10722-017-0563-8>

- Maldonado Mendoza, I. E., & Morales Ruiz, E. (2021). Bacterias del maíz como aliadas en la producción agroecológica de alimentos. *Revista Digital Universitaria*, 22(4).
<https://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2021.22.4.2>
- Mejía Betancourt, F. de los Á., & Alvarado Rodríguez, R. I (2016). Evaluación in vitro de hongos nativos antagonistas de *Moniliophthora roreri* (Cif. & Par., Evans et al.,) en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao*). UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA FACULTAD DE AGRONOMÍA.
- Mejía, L. C., Rojas, E. I., Maynard, Z., Bael, S. van, Arnold, A. E., Hebbar, P., Samuels, G. J., Robbins, N., & Herre, E. A (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control*, 46(1).
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.012>
- Méndez-Úbeda, J. M., Flores Hernández, M. S., & Páramo-Aguilera, L. A. (2018). AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACILLUS subtilis Y EVALUACIÓN DEL ANTAGONISMO IN VITRO FRENTE HONGOS FITOPATÓGENOS. *Nexo Revista Científica*, 30(2), 96–110.
<https://doi.org/10.5377/nexo.v30i2.5530>
- Mesa-Vanegas, A. M., Marín, A., & Calle-Osorno, J (2019). Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. *Actual Biol.*, 41.
<http://www.scielo.org.co/pdf/acbi/v41n111/0304-3584-acbi-41-111-32.pdf>
- Palacios Bejarano, C. A., Afanador Kafuri, L., & Pardo García, J. M (2021). Identificación de aislados de *Phytophthora* spp. obtenidos de cultivos de cacao en Antioquia, Colombia. *Acta Agronómica*, 70(1). <https://doi.org/10.15446/acag.v70n1.70619>
- Phillips, M. Wilbert., & Cerda, B. Rolando (2011). Catálogo, Enfermedades del cacao en Centroamérica. *Catie*, 28. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/H20-10877.PDF>

- Robles, A (2010). Uso de microorganismos antagonistas y sustancias naturales como una alternativa ecológica en el control de enfermedades en cultivos. Centro de Biotecnología, 1, 5.
- Rodríguez Pinto, M. del V., Campo Arana, R. O., Cardona Ayala, C. E., Manjarres Cogollo, E. E., & Rossi Torecilla, B. J. (2021). *Trichoderma* spp. biocontrolador de marchitez vascular (*Fusarium* spp.) de la berenjena en el Caribe colombiano. Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial, 19(2), 158–169. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n2.2021.1847>
- Rodríguez Polanco, E., Parra Alferes, E. B., Bermeo Fuquene, P. A., Segura Amaya, J. D., & Rodríguez Polanco, L. A (2021). Manejo de la pudrición parda de la mazorca (*Phytophthora palmivora*) en cacao por aplicación conjunta de prácticas culturales y químicas. Revista Facultad de Ciencias Básicas, 16(1), 79–94. <https://doi.org/10.18359/rfcb.4887>
- Rodríguez-Lozano, R (2020). Efecto de la aplicación de bioreguladores para el control de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora palmivora* en cacao CCN-51 (*Theobroma cacao*). Killkana Técnica, 4(2), 13–20. <https://doi.org/10.26871/killkanatecnica.v4i2.280>
- Rogério E. Hanada, Alan W.V. Pomella, Whilly Soberanis, Leandro L. Loguercio, José O. Pereira, Biocontrol potential of *Trichoderma martiale* against the black-pod disease (*Phytophthora palmivora*) of cacao, Biological Control, Volume 50, Issue 2, 2009, Pages 143-149, ISSN 1049-9644, <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.04.005>.
- Rosas-Patiño, G., Puentes-Páramo, Y. J., & Menjivar-Flores, J. C (2019). Efecto del encalado en el uso eficiente de macronutrientes para cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Amazonia colombiana. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 20(1). https://doi.org/10.21930/rcta.vol20_num1_art:1247

- Saldaña Chafloque, C. F. (2019). Efecto del parasitismo en campo de *Billaea Claripalpis* Wulp. criadas en *diatraea Saccharalis* Fabr. y *Galleria Mellonella* L. TAYACAJA, 2(2).
<https://doi.org/10.46908/rict.v2i2.45>
- Sánchez F., L., Gamboa, E., & Rincón, J. (2003). Control químico y cultural de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif & Par) del cacao (*Theobroma cacao* L) en el estado Barinas. Revista de La Facultad de Agronomía (LUZ), 20, 188–194.
http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-78182003000200007&script=sci_arttext
- Silva-Valderrama, I., Toapanta, D., Miccono, M. de los A., Lolas, M., Díaz, G. A., Cantu, D., & Castro, A (2021). Biocontrol Potential of Grapevine Endophytic and Rhizospheric Fungi Against Trunk Pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 11.
<https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.614620>
- Suárez Venero, G. M., Avendaño Arrazate, C. H., Hernández Ramos, M. A., Rodríguez Larramendi, L. A., Estrada de los Santos, P., & Salas Marina, M. Á (2021). Zonificación edafoclimática del cultivo de cacao en el estado Chiapas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(4), 629–641. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i4.2518>
- Ten HOOPEN, G., REES, R., AISA, P., STIRRUP, T., & KRAUSS, U. (2003). Population dynamics of epiphytic mycoparasites of the genera *Clonostachys* and *Fusarium* for the biocontrol of black pod (*Phytophthora palmivora*) and moniliasis (*Moniliophthora roreri*) on cocoa (*Theobroma cacao*). *Mycological Research*, 107(5), 587-596.
doi:10.1017/S095375620300772X
- Tirado-Gallego, P. A., Lopera-Álvarez, A., & Ríos-Osorio, L. A (2016). Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa* en *Theobroma cacao* L.: Revisión sistemática. In *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria* (Vol. 17, Issue 3, pp. 417–

- 430). Corporacion Colombiana de Investigacion Agropecuaria Corpoica.
https://doi.org/10.21930/rcta.vol17_num3_art:517
- Tirado-Gallego, P. A., Lopera-Álvarez, A., & Ríos-Osorio, L. A (2016). Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa* en *Theobroma cacao* L.: revisión sistemática. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 17(3), 417–430.
https://doi.org/10.21930/RCTA.VOL17_NUM3_ART:517
- Toala, V. A., Ventura, R. B., Huamán, L. A., Castro-Cepero, V., & Julca-Otiniano, A (2019). Cultural, biological and chemical control of *Moniliophthora roreri* and *Phytophthora* spp in *Theobroma cacao* 'CCN-51.' *Scientia Agropecuaria*, 10(4), 511–520.
<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.04.08>
- Torres-de-la-Cruz, M., Quevedo-Damián, I., Ortiz-García, C. F., Lagúnez-Espinoza, L. del C., Nieto-Angel, D., & Pérez-de la Cruz, M. (2019). Control químico de *Moniliophthora roreri* en México. *Biotecnia*, 21(2), 55–61. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i2.906>
- Vásquez-Sangay, M. R (2013). ACCIÓN ANTAGÓNICA IN VITRO DE *Clonostachys rosea* F. SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Botrytis cinerea* PERS. Y *Fusarium oxysporum* F PROCEDENTE DE *Aspargus officinalis* L. *Sagasteguiana*, 1(1), 19–28.
<https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/REVSAGAS/article/view/1771>
- Vélez Cárdenas, M. S (2021). Selección e identificación de microorganismos nativos del suelo de cacao (*Theobroma cacao* L.) con potencial antagónico contra *Phytophthora* sp. a nivel in vitro de la hacienda “La Dolorosa”, provincia de Esmeraldas.
<http://repositorio.espe.edu.ec/jspui/handle/21000/26578>
- Villamil C., J. E., Sierra A., L. J., Olarte L., Y., Mosquera E., A. T., Fajardo C., J. D., Pinzón, E. H., & Martínez O., J. W (2015). Integración de prácticas culturales y control biológico para

- el manejo de *Moniliophthora roreri* Cif & Par. Revista de Ciencias Agrícolas, 32(2), 13–25. <https://doi.org/10.22267/RCIA.153202.9>
- Villamil Carvajal, J. E., Viteri Rosero, S. E., & Villegas Orozco, W. L (2015). Aplicación de Antagonistas Microbianos para el Control Biológico de *Moniliophthora roreri* Cif & Par en *Theobroma cacao* L. Bajo Condiciones de Campo. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, 68(1), 7441–7450. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n1.47830>
- Yanet-Suárez, L., & Cabrales, C. P (2016). Identificación de especies de cepas nativas de *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp. y evaluación de su potencial antagonista in vitro frente al hongo fitopatógeno nativo *Moniliophthora roreri* en el departamento de Norte de Santander. Resp uestas, 13(1), 45–56. <https://doi.org/10.22463/0122820x.553>

Anexos

Análisis de Varianza para el crecimiento radial de *Phytophthora* sp. frente a los antagonistas *Trichoderma* sp. y *Clonostachys* sp.

Tabla 10. Análisis de Varianza para el crecimiento radial de *Phytophthora* sp. en presencia de microorganismos antagónicos

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Crecimiento en cm	35	0,97	0,97	7,44

Tabla 11. Cuadro de análisis de varianza SC tipo (III) para el crecimiento radial de *Phytophthora* sp. en presencia de microorganismos antagónicos

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	227,07	6	37,85	179,60	<0,0001
Tratamiento	227,07	6	37,85	179,60	<0,0001
Error	5,90	28	0,21		
Total	232,97	34			

Análisis de Varianza para el crecimiento radial de *Moniliophthora roreri* frente a los antagonistas *Trichoderma* sp. y *Clonostachys* sp.

Tabla 12. Análisis de Varianza para el crecimiento radial de *Moniliophthora roreri* en presencia de microorganismos antagónicos

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Crecimiento en cm	35	1,00	1,00	6,23

Tabla 13. Cuadro de análisis de varianza SC tipo (III) para el crecimiento radial de *Moniliophthora roreri* en presencia de microorganismos antagónicos

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	561,52	6	93,59	1297,23	<0,0001
Tratamiento	561,52	6	93,59	1297,23	<0,0001
Error	2,02	28	0,07		
Total	563,54	34			