

ARTÍCULO DE REFERENCIA

## Microorganismos endófitos asociados a *Theobroma cacao* como agentes de control biológico de *Moniliophthora roreri*

Endophyte microorganisms associated to *Theobroma cacao* as biological control agents of *Moniliophthora roreri*

María Aracely Vera Loo<sup>1\*</sup>, Alexander Bernal Cabrera<sup>2</sup>, Michel Leiva Mora<sup>3</sup>, Armstrong Edison Agustín Vera Loo<sup>4</sup>, Danilo Vera Coello<sup>1</sup>, Sofía Peñaherrera Villafuerte<sup>1</sup>, Karina Solís Hidalgo<sup>1</sup>, Pedro Terrero Yépez<sup>1</sup>, Vicente Eduardo Jiménez Guerrero<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Estación Experimental Tropical Pichilingue, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, km 5 vía Quevedo-El Empalme, Cantón Mocache, Los Ríos, Ecuador. CP 120224

<sup>2</sup> Departamento de Agronomía. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuaní, km 5½, Santa Clara, Cuba. CP 54830

<sup>3</sup> Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Recursos Naturales, Riobamba, Chimborazo, Ecuador

<sup>4</sup> Unidad Educativa Quinindé, Vía a Santo Domingo de los Tsáchilas km 1½, Ecuador

<sup>5</sup> Vivero Jim-Vera. km 5 vía a Guayllabamba, Cantón Quinindé, Esmeraldas, Ecuador

\*E-mail: mariverloor2007@gmail.com; alexanderbc@uclv.edu.cu

### RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo de actualizar el estado de información existente sobre los microorganismos endófitos asociados a *Theobroma cacao* L. como agentes de control biológico de la moniliasis, causada por *Moniliophthora roreri* Evans *et al.* Se resume sobre el origen y evolución de las definiciones de microorganismos endófitos, enfatizando en el control biológico de las enfermedades del cacao con énfasis en la moniliasis, uno de los problemas fitosanitarios de mayor importancia a nivel mundial; así como se hace una valoración sobre sus perspectivas de empleo. Los hongos y bacterias endófitos presentan varios mecanismos de acción entre los que se encuentran: competencia directa por el espacio y nutrientes, antibiosis, micoparasitismo, resistencia sistémica inducida y promoción del crecimiento; funciones que son parte de las estrategias para el manejo eficaz y sostenible de la moniliasis.

**Palabras clave:** antagonistas, biocontrol, cacao, moniliasis

### ABSTRACT

The present work was carried out with the objective of updating the state of existing information on the endophytic microorganisms associated with *Theobroma cacao* L., as agents of biological control of moniliasis, caused by *Moniliophthora roreri* Evans *et al.* It is summarized on the origin and evolution of the definitions of endophytic microorganisms, emphasizing the biological control of cocoa diseases with emphasis on moniliasis, one of the most important phytosanitary problems worldwide; as well as an assessment of their employment prospects. Fungal and bacterial endophytes have several mechanisms of action, which include direct competition for space and nutrients, antibiosis,

mycoparasitism, induced systemic resistance and promotion of growth; functions that are part of the strategies for an effective and sustainable management of the frosty pod rot.

**Keywords:** antagonist, biocontrol, cocoa, frosty pod rot

## INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es uno de los cultivos agrícolas de mayor importancia a nivel mundial, debido a que constituye la materia prima para la elaboración del chocolate, así como para su uso en las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica (ICCO, 2015). Entre las enfermedades más frecuentes que afectan la producción y calidad de las cosechas de este cultivo se destaca la moniliasis, cuyo agente causal es el hongo fitopatógeno *Moniliophthora roreri* Evans et al. Este organismo fitopatógeno ataca al fruto en cualquier edad de desarrollo y puede ocasionar pérdidas económicas de hasta el 60 % de la producción (Phillips-Mora et al., 2007).

En la literatura científica se han descrito diferentes estrategias de control de la enfermedad, entre las que se encuentran el control cultural, genético, químico y el biológico (ten Hoopen y Krauss, 2016). Durante los últimos años se ha informado acerca del gran potencial de los microorganismos endófitos asociados a las plantas de cacao (organismos que colonizan los tejidos: hojas, frutos, tallos y raíces de plantas, sin causar enfermedad) como candidatos para el biocontrol de enfermedades (Bailey et al., 2008). Sin embargo, solo una pequeña parte de la diversidad microbiana asociada al cacao ha sido descrita y caracterizada.

Por lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo actualizar el estado de información existente sobre los microorganismos endófitos asociados a *T. cacao* L. como agentes de control biológico de la moniliasis.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se llevó a cabo una revisión de la literatura científica publicada en los últimos 15 años acerca de los microorganismos endófitos asociados a plantas de cacao, haciendo énfasis en su empleo como agentes de control biológico de la moniliasis. Se consultaron artículos científicos de revistas indexadas en la Web of Science (SCI, SCOPUS), en las bases de datos especializadas de reconocimiento internacional Springer, Elsevier,

Pascal, Medline, EBSCO, Biological Abstract, CAB Internacional, Scimago y en las bases de datos especializadas de reconocimiento regional tales como: Scielo, Redalyc y Latindex. Además, se analizaron tesis de maestrías y doctorados, procedentes de universidades ecuatorianas relacionadas con la temática.

## DESARROLLO

### Origen y evolución de las definiciones de microorganismos endófitos

Durante los últimos 30 años, el término endófito ha aparecido cada vez con más frecuencia en la literatura científica. Aunque el origen del término proviene del siglo XIX, cuando Antón de Bary lo utilizó para describir hongos que viven dentro de los tejidos de una planta, su significado actual es diferente del original (Hardoim et al., 2015). Hoy en día, es un hecho bien establecido que las plantas son hospedantes de muchos tipos de endófitos microbianos, incluyendo bacterias, hongos, arqueas y eucariotas unicelulares, como algas y amebas (Bacon y Hinton, 2014).

A través de los años, diferentes autores han propuesto definiciones más complejas, coincidiendo en que la naturaleza endofítica permite colonizar tejidos internos de plantas sin producir signos visibles de enfermedad (Saikkonen et al., 2004). Aunque esta definición endofítica ha sido la base de muchas investigaciones en la mayoría de los laboratorios en el mundo durante las últimas dos décadas, no permite distinguir claramente entre endófitos y fitopatógenos, lo que conlleva a varios investigadores a plantearse interrogantes. Por ejemplo, ¿deben los organismos fitopatógenos ser considerados endófitos o no, aun cuando hayan perdido su virulencia? Recientemente, se informó la bacteria endofita *Pseudomonas fluorescens*, como perjudicial para las condiciones más diversas (Kloepper et al., 2013). Esto indica que los potenciales mutualistas de plantas pueden llegar a ser deletéreos para sus hospedantes. Los endófitos no deben ser dañinos para estos últimos, pero ¿qué pasa con la nocividad a otras especies, por ejemplo, cuando

las bacterias que colonizan los compartimentos internos de las plantas son perjudiciales para los seres humanos? (van Overbeek *et al.*, 2014).

Los endófitos más comunes se tipifican como comensales, con funciones desconocidas o aún desconocidas en las plantas, y los menos comunes son aquellos que tienen efectos positivos (mutualistas) o negativos (antagónicos) en las plantas (Neves *et al.*, 2017). Sin embargo, estas propiedades se prueban con frecuencia en una sola especie de planta o dentro de grupos de genotipos de plantas estrechamente relacionados, pero rara vez sobre un espectro taxonómicamente amplio de especies de plantas. Además, las condiciones ambientales en las que se estudian las interacciones planta-endófito son a menudo bastante estrechas. Las comunidades endofíticas bacterianas y fúngicas se investigan comúnmente por separado, pero la interacción entre ambos grupos dentro de las plantas puede convertirse en un nuevo campo fascinante de la investigación endófito (Frey-Klett *et al.*, 2011). Al tener en consideración los cuestionamientos referidos sobre la definición actualmente aplicada de endófitos, Haroim *et al.* (2015) refieren que el término "endófito" debe referirse solo al hábitat, no a la función, y, por lo tanto, ser más general e incluir todos los microorganismos que durante todo o parte de su ciclo de vida colonizan tejidos internos de las plantas.

### Control biológico de *Moniliophthora roreri*

El control biológico se define como el uso de organismos vivos para suprimir la densidad de población o el impacto de un organismo plaga específico, haciéndolo menos abundante o dañino de lo que sería de otro modo (ten Hoopen y Krauss, 2016). Los mecanismos a través de los cuales los organismos pueden ejercer control de la enfermedad son muchos y diversos. Cuatro mecanismos claves están involucrados a veces juntos: parasitismo, antibiosis, competencia por recursos y resistencia inducida.

El control biológico de *Moniliophthora spp.* se ha llevado a cabo a través de dos estrategias fundamentales de biocontrol, inundativo y clásico. Los enfoques inundativos se han utilizado en Perú, Panamá y Costa Rica con resultados variables (Krauss *et al.*, 2006). En Perú, *Clonostachys rosea* nativo redujo la moniliasis entre un 15-25 % en condiciones de campo. Las mezclas de estos antagonistas locales controlaron simultáneamente las tres enfermedades de la mazorca de cacao (moniliasis, escoba de bruja y pudrición

negra), a diferencia de cuando fueron aplicados individualmente, además de producir aumentos en los rendimientos de hasta 16,7 % (Krauss y Soberanis, 2002). Sin embargo, la eficacia de control varió para las diferentes enfermedades. Esto último se explica en parte por la biología de los agentes fitopatógenos a controlar. En primer lugar, los hongos fitopatógenos *M. roreri* y *M. pernicioso* tienen paredes celulares constituidas principalmente por quitina, mientras que el oomiceto *Phytophthora* tiene paredes celulares constituidas principalmente por celulosa. Así, para un control simultáneo, los agentes de control biológico deben ser capaces de metabolizar tanto la quitina como la celulosa. En segundo lugar, *Moniliophthora spp.* exhibe una fase biotrófica en la que germinan, después de llegar a la superficie de la mazorca de cacao, y posteriormente penetran el tejido hospedante. La fase biotrófica es seguida por una fase necrotrófica dentro de las escobas y/o mazorcas durante la cual estas se destruyen desde adentro hacia afuera. Contrariamente a *Moniliophthora spp.*, *Phytophthora spp.*, después de la entrada estomática o la penetración directa, comienzan directamente a necrosar los tejidos de la mazorca y la destruyen desde el exterior hacia el interior. Además, los endófitos están menos expuestos a las condiciones ambientales cambiantes (Backman y Sikora, 2008) y, al infectar los tejidos del cacao, desencadenan respuestas moleculares asociadas con el estrés y la defensa de las plantas (Bailey *et al.*, 2006).

Los ensayos de campo en Costa Rica cuando utilizaron una única cepa y una mezcla de agentes de control biológico aislados localmente no redujeron significativamente la incidencia de la enfermedad (Hidalgo *et al.*, 2003). Los ensayos de seguimiento en Costa Rica que utilizaron los aislamientos peruanos no redujeron significativamente la incidencia de moniliasis (Bateman *et al.*, 2005). En Panamá, al utilizar mezclas de agentes de control biológico locales y *T. asperellum* peruano, cepa Tr-4, se logró reducciones significativas en el número de mazorcas esporuladas, pero con respecto a la incidencia de la enfermedad, los datos fueron menos concluyentes (Krauss *et al.*, 2006). Debido a los resultados no satisfactorios con el enfoque inundativo y con base en los resultados positivos de dos ensayos (Holmes *et al.*, 2006), la atención se desplazó hacia el uso del endófito *Trichoderma ovalisporum* (cepa TK1). En 2003 se estableció en Costa Rica un ensayo de campo de tres años de duración. La cepa TK1

se aplicó en agua, con adhesivo o adyuvante, o en combinaciones secuenciales con fungicidas (Krauss et al., 2010). Durante el año final de los ensayos, la cepa TK1 mejoró los rendimientos de mazorcas sanas (absolutas y relativas). Este fue el primero de los ensayos costarricenses (Hidalgo et al., 2003; Bateman et al., 2005), en el cual el agente de control biológico logró una mejora significativa del rendimiento. Existían indicios de que las formulaciones utilizadas tenían un efecto sobre la eficacia del biocontrol, sin embargo, se priorizaron los ensayos de seguimiento centrados en la mejora de la formulación. Crozier et al. (2015) demostraron efectivamente que, en promedio, durante 2 años, *T. ovalisporum* TK1 formulado en un aceite de maíz al 50 % v/v, lecitina al 2,5 % v/v y caldo de papa dextrosa al 1 % p/v aumentó el rendimiento a 30,7 % de mazorcas sanas comparado con 9,7 % en el control con agua. Mejía et al. (2008) utilizaron endófitos de cacao, aislados de hojas de esta planta en un bosque nativo de Panamá. Si bien no se registró ninguna reducción de moniliasis en un ensayo de 7 meses con inoculaciones de pulverización única, para un aislado de *C. rosea*, la esporulación de *M. roreri* se redujo significativamente. Por las razones expuestas anteriormente, se puede esperar que el método de inoculación de biocontrol funcione mejor si se utilizan aislados que co-evolucionan con el hongo fitopatógeno.

### **Bacterias como agentes de biocontrol de enfermedades del cacao**

El uso de bacterias, especialmente *Bacillus* spp. y *Pseudomonas fluorescens*, ha comenzado a recibir atención durante los últimos años para el control de las enfermedades del cacao, aunque menos que el uso de hongos antagonistas (ten Hoopen y Krauss, 2016). Melnick et al. (2008) demostraron que las bacterias del género *Bacillus* eran capaces de colonizar hojas de cacao, principalmente como epífitas, pero también como endófitas. Su presencia condujo a una disminución significativa de la severidad de la enfermedad cuando las hojas fueron inoculadas con *Phytophthora capsici*. Además, la supresión de *Phytophthora* por *Bacillus cereus* (aislamiento BT8) solo se produjo en hojas no colonizadas después de las aplicaciones bacterianas y persistieron en hojas más viejas de plantas colonizadas. Según Melnick et al. (2008), estos resultados son fuertemente indicativos que la resistencia a la enfermedad es inducida sistemáticamente, y no están implicados efectos

antagónicos directos. Aunque la supresión de la enfermedad fue sostenible (> 68-70 días) después de una sola aplicación, estos autores refieren que las aplicaciones frecuentes son necesarias a fin de mantener la resistencia a la enfermedad, pero probablemente menores que las aplicaciones de fungicidas.

En un estudio de seguimiento sobre el uso de bacterias formadoras de endosporas para el control de enfermedades de cacao, Melnick et al. (2011) encontraron que en *T. cacao* pueden coexistir múltiples especies bacterianas formadoras de endosporas de diferentes géneros. Algunas de estas bacterias exhibieron antagonismo contra los tres agentes patógenos principales del cacao, *P. capsici*, *M. roreri* y *M. pernicioso*. Igualmente, Leite et al. (2013) demostraron que las bacterias endófitas *Bacillus subtilis* y *Enterobacter cloacae* aisladas del cacao pueden colonizar de forma sistémica o promover el crecimiento de plántulas de cacao.

Falcão et al. (2014) no solo confirmaron las capacidades de aumento del crecimiento de *B. subtilis*, sino que aumentaron las tasas de éxito del injerto y mostraron efectos antagónicos contra *M. pernicioso*. Los actinomicetos aislados de la superficie de mazorcas de cacao fueron capaces de inhibir completamente la germinación de basidiosporas de *M. pernicioso* en condiciones de laboratorio (Macagnan et al., 2006). Muchos *Bacillus* spp. son quitinolíticos y podrían ser antagónicos directamente sobre hongos fitopatógenos tales como *M. roreri* y *M. pernicioso* (Melnick et al., 2011); sin embargo, *Bacillus* spp. quitinolíticos probablemente sean menos eficaces contra la pudrición negra de la mazorca, dado que *Phytophthora* tiene paredes celulares compuestas principalmente por celulosa.

Los actinomicetos capaces de inhibir la germinación de basidiosporas de *M. pernicioso* en el laboratorio tuvieron menos éxito en el campo, sin embargo, no tuvo efecto sobre la pudrición negra de la mazorca causada por *P. palmivora* (Macagnan et al., 2006). El uso de bacterias para el control de enfermedades en el cacao todavía está incipiente, empero, dados los interesantes resultados presentados en los pocos documentos disponibles, ciertamente merece mayor atención. El uso de bacterias para el control biológico de las enfermedades del cacao podría proporcionar beneficios adicionales relacionados con la reducción de los costos de producción y/o una mayor vida útil del producto de biocontrol (Yáñez-Mendizábal et al., 2012). Otra posibilidad

por explorar es el uso de mezclas de bacterias y hongos como agentes de control biológico; las cuales pueden ayudar a conservar la estabilidad y la diversidad de las comunidades agrícolas, reducir los insumos sintéticos y ayudar a los agricultores a adaptarse a un mundo en rápido cambio donde la intensificación agrícola, el uso de la tierra y el cambio climático aumentan el riesgo de epifitias devastadoras (Crowder y Harwood, 2014).

### Perspectivas futuras

Las investigaciones futuras deberán esclarecer las influencias que tiene la composición de las comunidades de endófitos dentro de la planta (en el espacio y el tiempo). Está claro que hay un gran número de candidatos potenciales de biocontrol, pero desafortunadamente muchas de las investigaciones de biocontrol para los agentes patógenos del cacao, se han realizado hasta nivel de laboratorio y etapa de vivero. Numerosos estudios muestran evidencias de la capacidad de muchos agentes de control biológico fúngicos y bacterianos, pero los pasos posteriores hacia ensayos de campo a gran escala están a menudo ausentes. En la actualidad, el único bioproducto comercial registrado que se produce, distribuye y utiliza a gran escala para el control de las enfermedades del cacao es Tricovab (*T. stromaticum*) en Brasil (Hermosa *et al.*, 2013).

Hace unos pocos años es que comienzan a emprenderse las investigaciones de control biológico del cacao mediante el uso de organismos múltiples (consorcio) que coexisten en los tejidos internos de las plantas (Backman y Sikora, 2008). Es poco probable que los antagonistas individuales sean activos en todos los ambientes donde se aplican, mientras que los inóculos mixtos tendrán una gama más amplia de adaptaciones ambientales tales como diferentes valores de pH, materia orgánica del suelo, fósforo y contenido de humedad y podrían colonizar preferentemente diferentes partes de la planta. Por ello, el diseño de inóculos mixtos compatibles con mayor resiliencia a las variaciones agroclimáticas se encuentra en sus primeras etapas de desarrollo (Krauss *et al.*, 2013), pero ciertamente marcan la dirección correcta.

### CONCLUSIONES

Existe una gran diversidad de hongos y bacterias endófitas asociadas al cultivo del cacao

con potencial para el control biológico de la moniliasis.

Los géneros *Trichoderma* y *Bacillus* representan los agentes biocontroladores más promisorios para el control de *Moniliophthora roreri*.

El uso de microorganismos endófitos aplicados de forma individual o en inóculos mixtos constituye una nueva opción de control biológico para el manejo de la moniliasis del cacao.

### BIBLIOGRAFIA

- BACON, C.W. and HINTON, D. M. 2014. Microbial endophytes: Future challenges. In: V. C. Verma., A. C. Gange (eds.). *Advances in Endophytic Research*. Springer New Delhi Heidelberg, New York Dordrecht London., p. 441-451.
- BACKMAN, P. A. and SIKORA, R. A. 2008. Endophytes: An emerging tool for biological control. *Biological Control*, 46: 1-3.
- BAILEY, B. A., BAE, H., STREM, M., D. CROZIER, J. THOMAS, *et al.* 2008. Antibiosis, mycoparasitism and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control* , 46 (1): 24-35.
- BAILEY, B. A., BAE, H., STREM, M. D., ROBERTS, D. P., THOMAS, S. E., *et al.* 2006. Fungal and plant gene expression during the colonization of cacao seedlings by endophytic isolates of four *Trichoderma* species. *Planta*, 224: 1449-1464.
- BATEMAN, R., ARIAS, D., GUERRERO, R., HEBBAR, P., SUÁREZ- CAPELLO, C. 2005. Assessing the options for spray interventions to control the *Moniliophthora* disease complex of cacao in Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Ecuador. from [http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/ASSESSING\\_OPTIONS\\_SPRAY\\_in.pdf](http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/ASSESSING_OPTIONS_SPRAY_in.pdf) Accessed July 23, 2017
- CROZIER, J., ARROYO, C., MORALES, H., MELNICK, R. L., STREM, M., VINYARD, B. T., *et al.* 2015. The influence of formulation on *Trichoderma* biological activity and frosty

- pod rot management in *Theobroma cacao*. *Plant Pathology*, 64 (6): 1385-1395.
- CROWDER, D. W., y J. D. HARWOOD. 2014. Promoting biological control in a rapidly changing world. *Biological Control*, 75: 1-7.
- FALCÃO, L. L., J. O. SILVA-WERNECK, B. R. VILARINHO, J. P. DA SILVA, A. W. V. POMELLA, L. H. MARCELLINO. 2014. Antimicrobial and plant growth-promoting properties of the cacao endophyte *Bacillus subtilis* ALB629. *Journal of Applied Microbiology*, 116: 1584-1592.
- FREY-KLETT, P., P. BURLINSON, A. DEVEAU, M. BARRET, M. TARKKA, A. SARNIGUET. 2011. Bacterial-fungal interactions: hyphens between agricultural, clinical, environmental, and food microbiologists. *Microbiol Mol Biol Rev*, 75: 583-609.
- HARDOIM, P. R., L. S. VAN OVERBEEK, G. BERG, et al. 2015. The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiol Mol Biol Rev*, 79: 293-320.
- HERMOSA, R., M. BELEN-RUBIO, R. E. CARDOZA, C. NICOLAS, E. MONTE, S. GUTIERREZ. 2013. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. *International Microbiology*, 16: 69-80.
- HIDALGO, E., R. BATEMAN, U. KRAUSS, G. M. TEN HOOPEN, A. MARTÍNEZ. 2003. A field investigation into delivery systems for agents to control *Moniliophthora roreri*. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 953-961.
- HOLMES, K. A., U. KRAUSS, G. SAMUELS, R. P. BATEMAN, S. E. THOMAS, J. CROZIER, et al. 2006. *Trichoderma ovalisporum*: A potential biocontrol agent of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*). In Proceedings of 15th International Cacao Research Conference, San Jose, Costa Rica, 2: 1001-1006.
- ICCO (INTERNATIONAL COCOA ORGANIZATION). 2016. Reporte anual de estadística del cacao. En: <http://www.icco.org> Consultado: 16 de enero de 2017.
- KLOEPPER, J. W., J. A. MCINROY, K. LIU, C. H. HU. 2013. Symptoms of fern distortion syndrome resulting from inoculation with opportunistic endophytic fluorescent *Pseudomonas* spp. *PLoS One*, 8 (3): 1-16.
- KRAUSS, U., E. HIDALGO, R. BATEMAN, V. ADONIJAH, C. ARROYO, et al. 2010. Improving the formulation and timing of application of endophytic biocontrol and chemical agents against frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) in cocoa (*Theobroma cacao*). *Biological Control*, 54 (3): 230-240.
- KRAUSS, U. y W. SOBERANIS. 2002. Effect of fertilization and biocontrol application frequency on cacao pod diseases. *Biological Control*, 24: 82-89.
- KRAUSS, U., G. M. TEN HOOPEN, E. HIDALGO, A. MARTÍNEZ, T. STIRRUP, et al. 2006. The effect of cane molasses amendment on biocontrol of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) and black pod (*Phytophthora* spp.) of cacao (*Theobroma cacao*) in Panama. *Biological Control*, 39: 232-239.
- KRAUSS, U., G. M. TEN HOOPEN, R. REES, P. STIRRUP, T. ARGYLE, et al. 2013. Mycoparasitism by *Clonostachys byssicola* and *Clonostachys rosea* on *Trichoderma* spp from cocoa and implication for the design of mixed biocontrol agents. *Biological Control*, 67: 317-327.
- LEITE, H. A. C., A. B. SILVA, F. P. GOMES, K. P. GRAMACHO, J. C. FARIA, et al. 2013. *Bacillus subtilis* and *Enterobacter cloacae* endophytes from healthy *Theobroma cacao* L. trees can systematically colonize seedlings and promote growth. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97: 2639-2651.
- MACAGNAN, D., R. S. ROMEIRO, J. T. DE SOUZA, A. W. V. POMELLA. 2006. Isolation of actinomycetes and endospore-forming bacteria from the cacao pod surface and their antagonistic activity against the witches' broom and black pod pathogens. *Phytoparasitica*, 34: 122-132.

- MEJÍA, L. C., E. ROJAS, Z. MAYNARD, A. E. ARNOLD, P. K. HEBBAR, *et al.* 2008. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control*, 46: 4-14.
- MELNICK, R.L., C. SUAREZ, B. A. BAILEY, P. A. BACKMAN. 2011. Isolation of endophytic endospore-forming bacteria from *Theobroma cacao* as potential biological control agents of cacao diseases. *Biological Control*, 57: 236-245.
- MELNICK, R. L., N. K. ZIDACK, B. A. BAILEY, S. N. MAXIMOVA, M. GUILTINAN, P. A. BACKMAN. 2008. Bacterial endophytes: *Bacillus* spp. from annual crops as potential biological control agents of black pod rot of cacao. *Biological Control*, 46: 46-56.
- NEVES, D., S. SCHWAB, J. IVO, P.V. MORAIS. 2017. Diversity and function of endophytic microbial community of plants with economical potential. In: João Lucio de Azevedo.; Maria Carolina Quecine (eds.). Diversity and benefits of microorganism from the tropics. Springer International Publishing, p. 209-243.
- PHILLIPS-MORA, W., C. F. ORTIZ, M. C. AIME. 2007. Fifty years of frosty pod rot in Central America: Chronology of its spread and impact from Panama to Mexico. In Proceedings of the 15th International Cocoa Research Conference, San José, Costa Rica, 1:1039-1047.
- SAIKKONEN, K., P. WÄLI, M. HELANDER, S. H. FAETH. 2004. Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trends Plant Sci*, 9:275-280.
- TEN HOOPEN, G.M., U. KRAUSS. 2016. Biological control of cacao diseases. In: B. A. Bailey., L.W. Meinhardt (eds.). Cacao Diseases: A History of Old Enemies and New Encounters. Springer International Publishing Switzerland, p. 511-566.
- VAN OVERBEEK, L. S., J. VAN DOORN, J. H. WICHERS, A. VANAMERONGEN, H. J. W. VAN ROERMUND, P. T. J. WILLEMSSEN. 2014. The arable ecosystem as battle ground for emergence of new human pathogens. *Front Microbiol*, 5: 104.
- YÁNEZ-MENDIZÁBAL, V., I. VINAS, J. USALL, R. TORRES, C. SOLSONA, *et al.* 2012. Formulation development of the biocontrol agent *Bacillus subtilis* strain CPA-8 by spray drying. *Journal of Applied Microbiology*, 112: 954-965.

---

Recibido el 26 de octubre de 2017 y aceptado el 10 de mayo de 2018