



Production of *Cordyceps fumosorosea* EH-510 conidia for the biological control of moniliasis (*Moniliophthora roreri*) in Tuzantán Chiapas, Mexico

Producción de conidios de *Cordyceps fumosorosea* EH-510 para el control biológico de Moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri*) en Tuzantán Chiapas, México

Izaú Federico Moreno-Antillón^{1,2}, Sandra Hernández-Muñoz², Sandra Luz Cabrera-Hilerio³, German Pérez-García⁴, Judith Castellanos-Moguel^{2*}

¹ Maestría en Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Ciudad de Mexico, Mexico.

² Departamento El Hombre y su Ambiente, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Ciudad de Mexico, Mexico.

³ Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Mexico.

⁴ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chiapas, Campus IV, Tapachula, Chiapas, Mexico.

*Corresponding author

E-mail address: mjmoguel@correo.xoc.uam.mx (J. Castellanos-Moguel)

Article history:

Received: 21 March 2025 / Received in revised form: 22 June 2025 / Accepted: 7 July 2025 / Published online: 18 July 2025.

<https://doi.org/10.29267/mxjb.2025.10.3.95-117>

ABSTRACT

Moniliasis caused by *Moniliophthora roreri* is the main disease affecting this crop in Mexico; its attack is severe and constitutes one of the major limitations in production, making integrated pest management ideal. The objective was to use *Cordyceps fumosorosea* EH-510 for the biological control of *M. roreri* in Tuzantán, Chiapas. Samples of *M. roreri* were collected in the study area, and molecular identification was carried out using the ITS 1 and ITS 2 regions. The antagonistic capacity of *C. fumosorosea* EH-510 vs. *M. roreri* was evaluated using the scale of Manandhar *et al.*, (2019). The production of conidia on rice was carried out and sprayed bi-monthly under field conditions. The maximum production of

conidia from *C. fumosorosea* EH-510 was observed on day 14 with 1.44×10^{10} conidia/grams of initial solid substrate. The molecular analysis confirmed the morphological identification of *M. roreri*. Regarding the mycoparasitism of *C. fumosorosea* EH-510, it showed very good and good antagonism (50-50%), with an inhibition percentage of 70.03%. With field applications, the incidence of *M. roreri* was reduced by 71%, indicating that *C. fumosorosea* EH-510 is a good controller of moniliasis.

Keywords: Genetic analysis, antagonism, biological control, production kinetics, mycoparasitism, integrated management.

RESUMEN

La moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* es la principal enfermedad que afecta a este cultivo en México, su ataque es severo y constituye una de las mayores limitantes en la producción, por lo que es idóneo el manejo integrado de plagas. El objetivo fue usar *Cordyceps fumosorosea* EH-510 para el control biológico de *M. roreri* en Tuzantán Chiapas. Se colectaron muestras de *M. roreri* en la zona de estudio y se hizo la identificación molecular utilizando las regiones ITS 1 e ITS 2, se evaluó la capacidad antagonica de *C. fumosorosea* EH-510 vs. *M. roreri* con la escala de Manandhar *et al.*, (2019). Se realizó la producción de conidios en arroz y se asperjaron de manera bimestral en condiciones de campo. La producción máxima de conidios de *C. fumosorosea* EH-510, se presentó al día 14 con 1.44×10^{10} conidios/gramos de sustrato solido inicial. El análisis molecular corroboró la identificación morfológica de *M. roreri*. En cuanto al micoparasitismo de *C. fumosorosea* EH-510 mostró antagonismo muy bueno y bueno (50-50%), con un porcentaje de inhibición de 70.03%. Con las aplicaciones en campo, se redujo en un 71% la incidencia de *M. roreri*, por lo que *C. fumosorosea* EH-510 es un buen controlador de la moniliasis del cacao.

Palabras clave: Análisis genético, antagonismo, control biológico, cinética de producción, micoparasitismo, manejo integrado.

1. Introducción

Theobroma cacao es uno de los cultivos tropicales más importantes, esta especie se desarrolla y florece en diferentes agroecosistemas principalmente bajo sombra, mayormente de árboles frutales (Anzules *et al.*, 2018), posee dos centros de diversidad reportados según Bartley (2005) y Solis *et al.* (2015): uno en la Amazonia, desde el sur de Colombia y Venezuela hasta el este del Perú y Bolivia, y el otro en México, América Central y las islas del Caribe. Actualmente el cacao que se comercializa es de dos tipos: el común u ordinario (Forastero) que tiene una participación en el mercado mundial del 80-85%, el cacao fino y de aroma (Criollo y Trinitario) que solo tiene el 15-20%, y es utilizado principalmente en la producción de chocolate gourmet (González 2011; Tadeo y Tolentino, 2020). Entre los países exportadores de cacao fino y de aroma se encuentran: Ecuador, México, Perú y Colombia principalmente (MINAGRI, 2017).

En México el cacao, representa tradición, un gran legado cultural por preservar, una gran fuente de riquezas naturales y más que un producto alimenticio es un generador de empleos, identidad de la historia y la economía mexicana. Su cultivo es un pulmón para la región, una fuente de ingresos y hasta hace pocos años una parte importante del Producto Interno Bruto de los estados de Tabasco y Chiapas (Gonzales, 2008; Vidal y Rodríguez, 2021).

Entre las enfermedades más frecuentes y devastadoras que afectan la producción y calidad de las cosechas de este cultivo en la actualidad se destaca la moniliasis, cuyo agente causal es el hongo fitopatógeno *Moniliophthora roreri*, este organismo ataca al fruto en cualquier edad de desarrollo y puede ocasionar pérdidas económicas entre un 45 % a 100 %, lo que representa pérdidas por millones de dólares por año (Alvarado, 2017). Este hongo presenta un período de incubación largo de 3 a 8 semanas dependiendo de la edad del fruto, aunque el ciclo es más corto en climas calientes y húmedos que en climas frescos. En días de lluvia y calor los síntomas de la enfermedad aparecen de los 15 a 20 días en frutos tiernos (Albores Flores *et al.*, 2022).

Jiménez (2016), menciona que las estrategias de manejo y control de plagas son métodos de implementación de acciones particulares, el control biológico ofrece una alternativa segura, sostenible y efectiva para el manejo de enfermedades y plagas, beneficios a la economía de los agricultores, protección del ambiente y a la salud de los consumidores, además ha contribuido al desarrollo de la agricultura de México y de muchos países (Arredondo y Rodríguez 2008; Pacheco *et al.*, 2019).

Los técnicos y productores, intuitivamente, se han percatado que el uso de hongos microscópicos les permite combatir plagas, a un bajo costo y con mayores ventajas que las generadas por el empleo de plaguicidas químicos. Por ello, en la actualidad se asume que dicha alternativa constituye (por sus virtudes económicas, ambientales y ecológicas) la estrategia más viable para el manejo de las poblaciones de organismos patógenos en los ámbitos agrícola, pecuario y forestal (Pacheco *et al.*, 2019).

Los hongos entomopatógenos son un grupo de microorganismos que se caracteriza por su gran potencial como agentes controladores, que pueden actuar también como parásitos de otros hongos, conocido como micoparasitismo (Hernández *et al.*, 2019). Esta capacidad para controlar el desarrollo de patógenos, se define como una interacción que causa una confrontación que genera diferentes desórdenes morfológicos, los cuales pueden ser de tipo biotrófico, si aseguran los nutrientes de las células vivas, o necrotrófico, si adquieren su fuente de carbono y de energía de las células muertas del hospedero, siendo éste destruido por las toxinas extracelulares producidas por el micoparásito antes de invadir (Infante *et al.*, 2009; Andrade *et al.*, 2019). Villavicencio (2018), menciona que el hiperparasitismo es considerado el mecanismo de acción más importante, ya que es un proceso complejo donde está involucrada la producción de enzimas líticas tales como quitinasas, glucanasas, glucosidasas. También producen enzimas lipasas y proteasas que están involucradas en el proceso de infección (López- Sosa *et al.*, 2018).

Cordyceps fumosorosea EH-510 es un hongo originalmente empleado como entomopatógeno que pertenece a la división Ascomycota se encuentra predominantemente

en trópicos, por lo cual pueden emplearse para desarrollar productos que se usen en regiones de clima caliente (Carrillo-Pérez *et al.*, 2013). Posee la propiedad de ser un agente antagonico, ser nocivo para otras especies de hongos y comportarse como un micoparásito, se caracterizan tres modos de acción directa: hiperparasitismo, antibiosis y competencia por espacio y/o por nutrientes, el mecanismo de acción puede variar dependiendo del antagonista y el fitopatógeno. (Mularczyk *et al.*, 2020).

Los agricultores de cacao de esta comunidad comentan que esta problemática se ha presentado como una constante en los últimos años, perdiendo sus cosechas hasta en un 80%, teniendo en mente cambiar sus cacaotales por alguna otra cosecha; por esa razón el objetivo de esta investigación fue la confrontación de *Cordyceps fumosorosea* EH-510 como antagonista para inhibir el crecimiento y propagación de la moniliasis del cacao en Tuzantán, Chiapas.

2. Materiales y métodos

2.1. Material biológico

La cepa *C. fumosorosea* EH-510 es el monospórico del aislado PSMB1 que proviene del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico de Tecomán, Colima y está depositada en el cepario del Laboratorio de Micología de la UAM-X y *M. roreri* se obtuvo de los frutos infestados obtenidos en la comunidad de Tuzantán Chiapas, México.

2.2. Área de estudio

El territorio que habita el pueblo de Tuzantán Chiapas se localiza entre la planicie costera del Pacífico y en los límites de la Sierra Madre, se encuentra en el Distrito de Huixtla pertenece al Soconusco, con 6 460 hectáreas, superficie 64,600 km² y a una altitud de 125 msnm (Ardón *et al.*, 2022). Se trabajó en la finca “La Mandarina”, de la Cooperativa Agroproducciones Sarabia de la comunidad de Tuzantán, Chiapas, dicha parcela cuenta con certificación de producción orgánica de cacao, las coordenadas de la parcela son 15°09'35" de latitud norte y 92°23'51" de longitud oeste con 240 msnm.

2.3. Toma de muestras para el aislamiento de *Moniliophthora roreri*

Se tomaron muestras del fruto de cacao con signos evidentes de moniliasis, las esporas se depositaron en papel y se aislaron de acuerdo con el protocolo de Monzón (2011). Se realizó aislamiento de suelo, utilizando el método de placas de Warcup modificado (Mier *et al.*, 2002). El tiempo de incubación fue de 28 días, ya que la moniliasis es una enfermedad de latencia larga (Monzón, 2011). Se tomaron muestras de aire por impactación directa en cajas Petri y para observación al microscopio se hicieron preparaciones en fresco. Todos los aislamientos se hicieron en Agar Maltosa Sabouraud (MSA) (MCD LAB, México).

2.4. Propagación de *Cordyceps fumosorosea* EH-510

Se utilizó el protocolo FUNICA (Monzón, 2011), para la producción del inóculo de *C. fumosorosea* EH-510 en Agar Papa Dextrosa (PDA, MCD Lab, México), incubando a 28-30°C durante 6 a 10 días (Gómez and Batista, 2006).

2.5. Identificación de géneros

Se realizaron preparaciones en fresco de las colonias obtenidas, se llevaron al microscopio y se identificaron a nivel de género al comparar la morfología con claves dicotómicas.

2.6. Análisis genético

2.6.1. Extracción de ADN

La extracción se realizó a partir del micelio de *M. roreri*, el cual fue cultivado en cajas Petri con MSA en donde creció por 28 días. Después, se obtuvieron aproximadamente 75 g de biomasa, se colocaron en microtubos de 2 mL y se almacenaron en nitrógeno líquido, las muestras se hicieron por triplicado. Para la extracción del ADN se utilizó el Kit ADN/ARN EZNA y se siguieron las instrucciones de acuerdo con el fabricante. El ADN obtenido de *M. roreri*, se hidrató en agua libre de nucleasas y se almacenó a -20°C hasta la cuantificación.

2.6.2. Cuantificación ADN

Las muestras de ADN se descongelaron y se utilizó una alícuota de cada muestra para realizar la cuantificación y verificar la calidad del ADN genómico, utilizando un espectrofotómetro NanoDrop (Thermo Fisher Scientific).

2.6.3. Selección de primers

Se estudió la región del espaciador interno transcrito (ITS), una secuencia del genoma correspondiente al ADN ribosomal (ADNr). En eucariotas las regiones ITS1, 5.8S e ITS2 conforman un segmento altamente conservado y es un marcador molecular en hongos microscópicos (Schoch *et al.*, 2012; Suárez, 2015). Se seleccionó los primers: ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') e ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') (White *et al.*, 1990; Takamatsu y Matsuda, 2004).

2.6.4. Reacción en cadena de la polimerasa

La amplificación del gen *ITS* se llevó a cabo en un volumen final de reacción de 25 µL, conteniendo 20 ng de ADN genómico, DMSO al 5%, enzima Accuarius 2X Hot Start y 0.5 µL de cada primers. Las condiciones de PCR fueron 95°C por dos minutos, seguidos por 40 ciclos a 95°C por 15 segundos, a 52°C por 15 segundos, 72°C por un minuto y 72°C por 7 minutos para finalizar a 4°C durante 10 minutos. Los productos de PCR fueron separados en geles de agarosa al 1.5% usando una cámara de electroforesis y para la confirmación de la banda de interés se utilizó un marcador molecular de 1500 pares de bases (AmpliGene DNA Ladder, Enzo Life Scientific). Los productos se visualizaron con luz UV después de la tinción con bromuro de etidio con una concentración de 0.5 µg/ml para identificar las bandas específicas. Los productos de PCR, se purificaron utilizando la enzima Exonucleasa 1 y la fosfatasa alcalina (ExoSap-IT, Thermo Fisher Scientific).

2.6.5. Secuenciación en Sanger

La secuenciación se llevó a cabo utilizando el kit Big Dye TM (BigDye Terminator, v. 3.1, Thermo Fisher Scientific). Los productos purificados se enviaron al Servicio de Secuenciación en Sanger del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) <https://serviciosengenomica.inmegen.gob.mx/usec.html>.

2.6.6. Análisis bioinformático

Las secuencias se alinearon y se analizó utilizando el software Bioedit versión 7.2.5 y se realizó la comparación de las secuencias de *M. roreri* con las secuencias reportadas en BLAST con número de acceso GU108605 (Basic Local Alignment Tool; (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)). También, se realizó un análisis de secuencias referenciales RefSeq BLAST utilizando los números de BioProjects registrados en el GenBank de acuerdo a los estudios previamente reportados (Aime *et al.*, 2005; Phillips-Mora *et al.*, 2005; Torres de la Cruz *et al.*, 2016; Hipólito-Romero *et al.*, 2020;).

2.7. Evaluación de la capacidad antagónica de *Cordyceps fumosorosea* EH-510 vs *Moniliophthora roreri*

Para la capacidad antagónica de *C. fumosorosea* EH-510 se utilizó la Técnica del Cultivo Dual en medio PDA; al depositar discos de una sección de 5 mm con el cultivo de *M. roreri* frente a una sección de *C. fumosorosea* EH-510 de igual tamaño y a distancia de 4 cm. Las placas fueron incubadas durante 11 días a una temperatura de 28 °C. En todos los casos se midió el diámetro de las colonias cada 24 horas, hasta que hubo contacto directo de ambos hongos, con el objetivo de evaluar el efecto del antagonista sobre las colonias del patógeno (Meza *et al.* 2008). Los testigos se sembraron en forma individual con *M. roreri* y *C. fumosorosea* EH-510. Se compararon las cepas con respecto a la capacidad antagonista y se clasificó el grado de la capacidad antagónica de acuerdo con la escala establecida por Manandhar *et al.*, (2019):

1) Muy bueno, con sobrecrecimiento del antagonista, colonizó toda la superficie del medio y redujo la colonia del fitopatógeno. 2) Bueno, sobrecrecimiento del antagonista, colonizo al menos 2/3 de la superficie del medio. 3) Deficiente, El antagonista y el fitopatógeno colonizaron medio a medio (más que 1/3 y menor que 2/3). Uno no se superpuso al otro. 4) Malo, el hongo fitopatógeno colonizó al menos 2/3 de la superficie del medio y resistió la invasión del antagonista. 5) Muy malo, Sobrecrecimiento del hongo fitopatógeno que colonizó toda la superficie del medio.

Adicionalmente, se calcularon los valores medios de porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de acuerdo con la fórmula de Pincay *et al.* (2021):

$$\text{PICR} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

Donde:

R1: es el crecimiento radial del testigo (fitopatógeno sin antagonista).

R2: el crecimiento radial del fitopatógeno en los tratamientos en cultivo dual.

2.7.1. Cinéticas de producción de conidios de *Cordyceps fumosorosea* EH-510

Se utilizó un sustrato sólido (granos de arroz, marca genérica), se pesaron 400 g de arroz, previamente lavado y seco a una humedad relativa del 30%, se dividieron en frascos con 15 g de arroz cada uno, se esterilizaron, se dividieron en testigos que fueron inoculados con 0.5 mL de Tween 80 al 0.02% y frascos inoculados con una suspensión de conidios ajustada a 4×10^6 conidios/mL (Monzón, 2011), cuantificados en cámara de Neubauer. Para realizar el conteo de conidios y calcular el rendimiento, se hizo un lavado agregando 10 mL de Tween 80 al 0.02% a frascos con 4, 7, 10 Y 14 días de incubación (Cañedo, 2004).

2.7.2. Diagnóstico de la problemática y aplicación en campo

Se realizó un diagnóstico participativo de la zona, en el cual se conoció la problemática a la que se están enfrentando los agricultores. La unidad experimental quedó conformada de once árboles de *Theobroma cacao* dichos árboles con mazorcas en diferente estado de crecimiento, (desde brotes o floración hasta ejemplares adultos) llevando un monitoreo de las mismas. Para la aplicación en la parcela se utilizaron conidios obtenidos en 400 gr de arroz, previamente inoculado con *C. fumosorosea* EH-510, el arroz se lavó, se filtró con gasa estéril y la suspensión obtenida se colocó en una bomba aspersora manual, de mochila marca Jacto®, con capacidad 20 L, y una boquilla TXVK 3 de cono hueco, dicha bomba trabaja a una presión de 100 psi, la aplicación fue foliar dirigida a la copa del árbol y al tronco y se utilizó un volumen de agua de 1.81 L por cada árbol de *T. cacao*, equivalente a 200 L ha⁻¹ (Gómez *et al.*, 2014).

3. Resultados

3.1. Sembrado del interior y exterior del fruto (mazorca)

Se verificó que la mazorca de cacao presentara síntomas de moniliasis como deformaciones, protuberancias, manchas necróticas o esporulación, las lesiones con crecimiento fúngico se sembraron en medio MSA. Entre los aislados se encontró *Fusarium sp.*, *Gliocladium* y *Acremonium sp.*, creciendo simultáneamente con *Moniliophthora roreri* (Fig. 1).

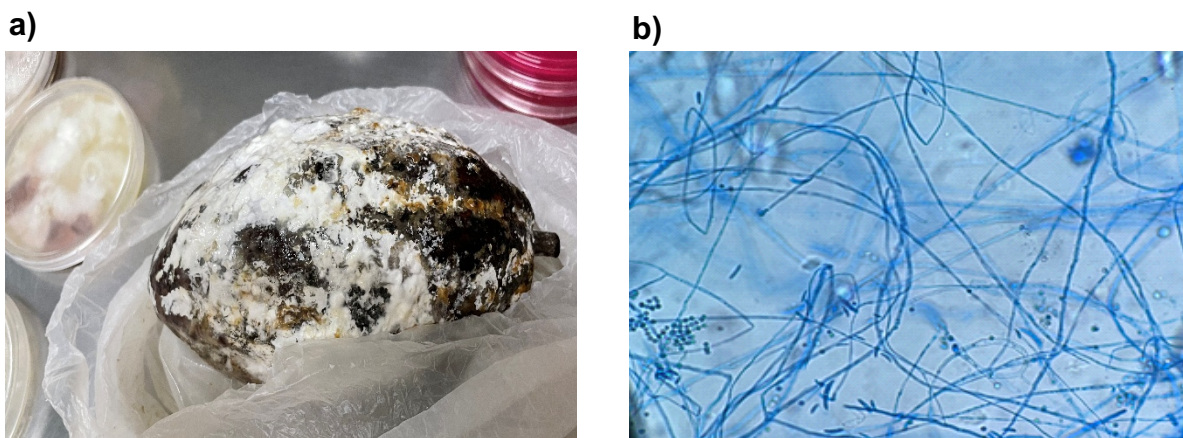


Fig. 1. Mazorca de cacao infectada con síntomas de moniliasis, manipulada en laboratorio (a). Hifas de *M. roreri* visto a 40X, teñidos con azul de Lactofenol (b).

Fig. 1. Pod infected with symptoms of moniliasis, handled in the laboratory (a). Hyphae of *M. roreri* viewed at 40X, stained with Lactophenol blue (b).

3.2. Placas de warcup

Se realizaron aislamientos de suelo en medio rosa Bengala y MSA, se identificó *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., *Gliocladium*, *Penicillium* sp, *Cordyceps* sp. *Acremonium*, *Geotrichum*, y *Moniliophthora roreri* (Fig. 2).

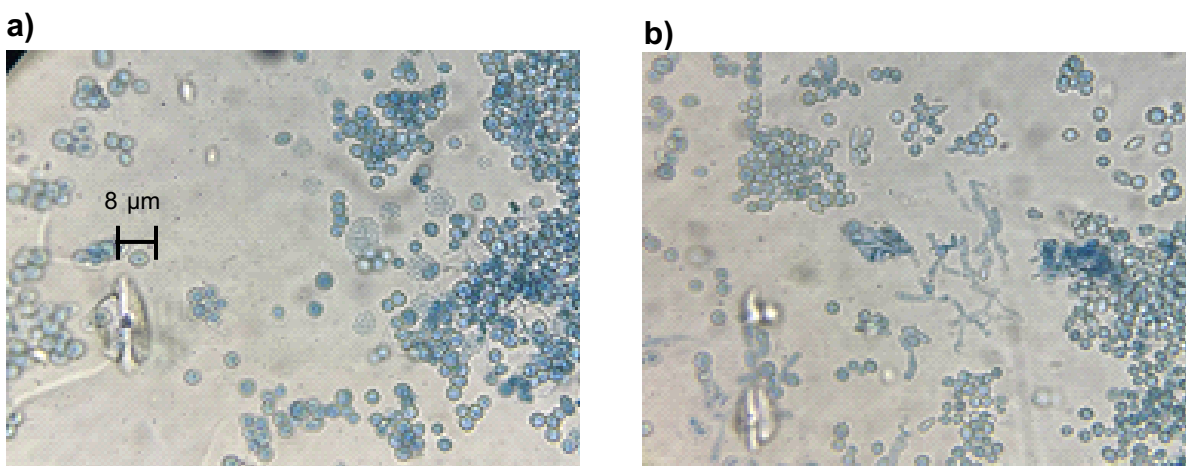


Fig. 2. *Acremonium* sp., con conidios de *M. roreri* (a). Hifas y conidios de *M. roreri*. Vistos a 40X, teñidas con azul de Lactofenol (b).

Fig. 2. *Acremonium* sp., with conidia of *M. roreri* (a). Hyphae and conidia of *M. roreri*. Seen at 40X, stained with Lactophenol blue (b).

3.3. Análisis genético

3.3.1. Amplicones del gen ITS por PCR

Se obtuvieron amplicones de 700 pares de bases en 4 aislados de *M. roreri*, los tamaños correspondieron a los esperados para la especie *M. roreri* de acuerdo a las secuencias previamente reportadas en GenBank, con amplicones de 710pb (Orozco *et al.*, 2010) y 741pb (Phillips *et al.*, 2007).

3.3.2. Análisis de secuenciación de nucleótidos

En la Fig. 3 se muestra la comparación de la secuencia de la muestra experimental M03 de *M. roreri* del estado de Tuzantán Chiapas, comparada con la secuencia de referencia depositada en GenBank (acceso SRR8453395). Se identificaron polimorfismos genéticos en relación con dicha secuencia.

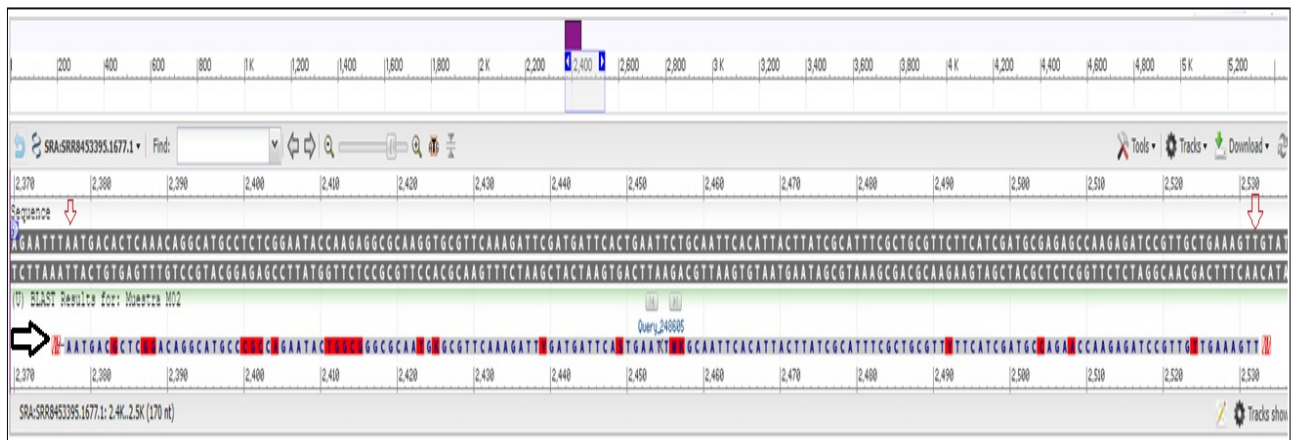


Fig. 3. Alineamiento de secuencias de *M. roreri* del estado de Tabasco reportada en GenBank, indicada con flechas rojas la cual incluye ambas cadenas directa e inversa (en gris), comparada con la secuencia de *M. roreri* del estado de Chiapas (M03) está señalada con una flecha negra y los nucleótidos resaltados en rojo indican polimorfismos específicos con respecto a la secuencia de referencia.

Fig. 3. Alignment of *M. roreri* sequences from the state of Tabasco reported in GenBank, indicated with red arrows which includes both the forward and reverse strands (in gray), compared to the *M. roreri* sequence from the state of Chiapas (M03) marked with a black arrow, and the nucleotides highlighted in red indicate specific polymorphisms with respect to the reference sequence.

Mediante el análisis correspondiente, se comparó el material genético de *M. roreri* de la región de Tuzantán Chiapas México (Tabla 1), con lo ya reportado en GenBank respecto a *M. roreri* para Centroamérica y México. Se realizó un análisis BLAST para identificar a los organismos que coincidieron con la muestra.

Tabla 1. Análisis de similitud genética entre la cepa *Moniliophthora roreri* de Tuzantán Chiapas con secuencias reportadas en GenBank.

Table 1. Genetic similarity analysis between the *Moniliophthora roreri* strain from Tuzantán Chiapas and sequences reported in GenBank.

Autor, año	Bioproyecto	Localidad	Género y especie	Identidad (%)
Aime et al., 2005	AY916746.1	Costa Rica	<i>Moniliophthora roreri</i> C21	90.0
Phillips-Mora et al, 2006a	PRJNA279170	Chiapas, México	<i>Moniliophthora roreri</i> strain MCA2954	92.0
Phillips-Mora et al., 2006b	GU457436.1	Guatemala	<i>Moniliophthora roreri</i> isolate GU1	90.0
Torres de la Cruz et al., 2016	GU108605	Jalpa de Méndez Tabasco	<i>Moniliophthora roreri</i> isolate	89.7
Hipólito-Romero et al.,2020	PRJNA515757	Tabasco	<i>Moniliophthora roreri</i> CPMRT01	90.0

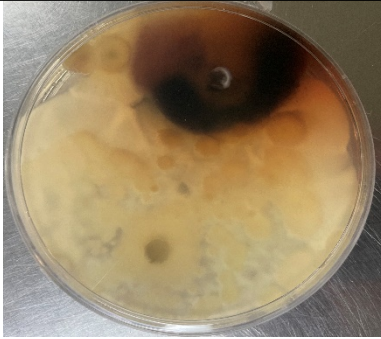
La cepa que más similitud presenta es la reportada en el municipio de Pichucalco en el norte del Estado de Chiapas con un 92% de similitud, seguido de las cepas de *M. roreri* reportadas en Tabasco, Guatemala y Costa Rica con un 90% de similitud y por último la cepa reportada en Tabasco en el municipio de Jalpa de Méndez con un 89.7%. Con estos resultados se pudo corroborar que *M. roreri* está presente en la zona de estudio.

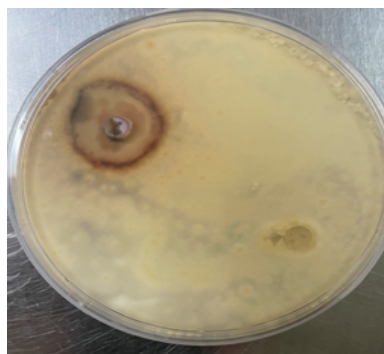
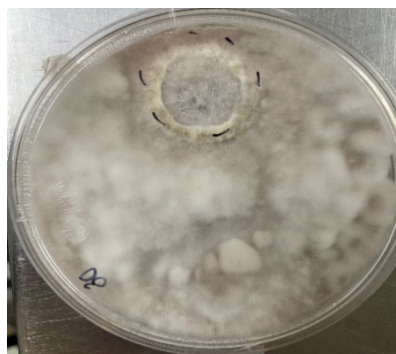
3.4. Técnica de cultivo dual

Un ejemplo del aspecto de los resultados obtenidos en la evaluación de la capacidad antagonica que se muestra en la Tabla 2, en total se observaron 15 pruebas con antagonismo “Muy bueno” (50% de los ensayos) y 15 con antagonismo “Bueno” (50% de los ensayos).

Tabla 2. Aspecto de algunos de los ensayos de la capacidad antagónica de *Cordyceps fumosorosea* EH-510 vs *Moniliophthora roreri*.

Table 2. Aspect of some of the assays of the antagonistic capacity of *Cordyceps fumosorosea* EH-510 vs *Moniliophthora roreri*.

Imagen anverso.	Imagen reverso.	Grado de antagonismo en la escala de Manandhar <i>et al.</i> , (2019).
		Sobrecrecimiento del antagonista (<i>C. fumosorosea</i> EH-510), colonizó al menos 2/3 de la superficie del medio. Bueno
		Sobrecrecimiento del antagonista (<i>C. fumosorosea</i> EH-510), colonizo toda la superficie del medio y redujo la colonia del fitopatógeno (<i>M. roreri</i>). Muy Bueno.
		Sobrecrecimiento del antagonista (<i>C. fumosorosea</i> EH-510), colonizo al menos 2/3 de la superficie del medio. Bueno



Sobrecrecimiento del antagonista (*C. fumosorosea* EH-510), colonizo toda la superficie del medio y redujo la colonia del fitopatógeno (*M. roreri*).

Muy Bueno.

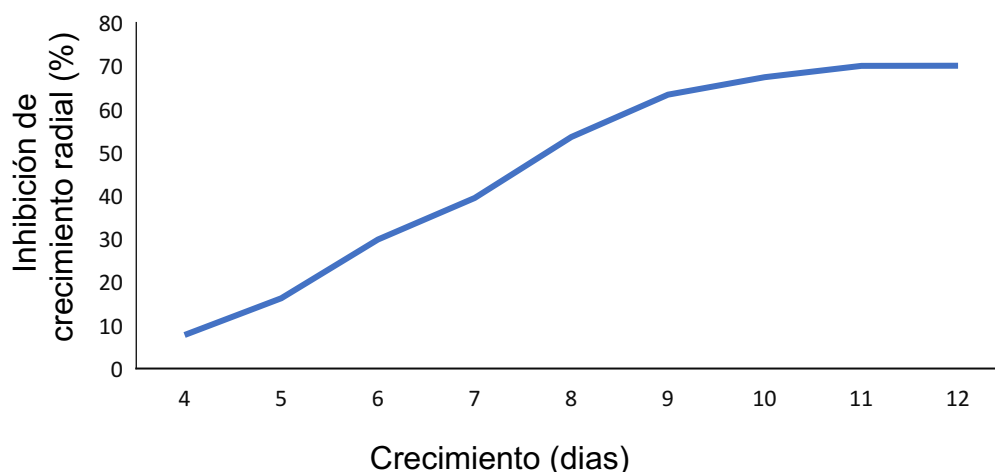


Fig. 4. Porcentaje de inhibición de crecimiento Radial de *M. roreri*.

Fig. 4. Percentage of inhibition of radial growth of *M. roreri*.

La actividad antagónica de *C. fumosorosea* EH-510 contra *M. roreri* mostró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) al realizar un Análisis de Varianza de una sola vía, mientras que el coeficiente de determinación R^2 ajustado solo explica el 27% del modelo. El testigo *M. roreri* presentó un crecimiento diario promedio de 2.16 cm al estar solo en la caja Petri, en comparación con el plato dual donde *M. roreri* en presencia de *C. fumosorosea* EH-510 tuvo un crecimiento promedio total de 1.1 cm en caja Petri; es decir, *C. fumosorosea* EH-510 puede utilizarse como agente de control biológico por ser eficaz contra *M. roreri*, teniendo un PICR de 70.03% a los doce días de crecimiento (Fig. 4).

A través de preparaciones en fresco se observó que el micelio de *C. fumosorosea* EH-510 creció alrededor (enrollado) o interponiéndose sobre las hifas de *M. roreri* (Fig. 5a), causando deformaciones en las hifas de *M. roreri*, algunas hifas de *M. roreri* se observaron vacías o con la pared celular totalmente degradada, por lo que *C. fumosorosea* pudo provocar lisis celular (Fig. 5b). Se observó que las hifas del antagonista eran de menor

diámetro, lo que podría indicar que el micelio joven es el que realizó el contacto con las hifas del fitopatógeno y por la diferencia de crecimiento de ambos hongos.

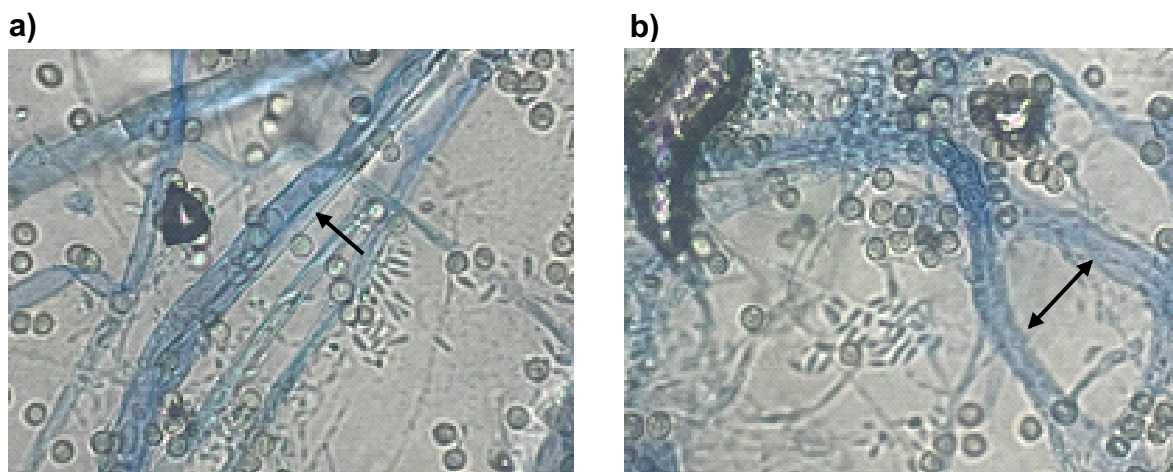


Fig. 5. Penetración (flecha) de hifas de *C. fumosorosea* EH-510 sobre hifas de *M. roreri* (a). Principios de lisis celular (flechas) de *M. roreri*, provocado por el crecimiento de *C. fumosorosea* (b), visto a 40X, teñido con azul de Lactofenol.

Fig. 5. Penetration (arrow) of *C. fumosorosea* EH-510 hyphae over *M. roreri* hyphae (a). Principles of cellular lysis (arrow) of *M. roreri*, caused by the growth of *C. fumosorosea* (b), viewed at 40X, stained with Lactophenol blue.

3.5. Rendimiento de conidios de *C. fumosorosea* EH-510 en sustrato sólido (arroz)

La cinética de producción de *C. fumosorosea* EH-510 en arroz, indica que para el día 4 después de la inoculación comienza un incremento significativo en la cantidad de conidios obteniendo 4.92×10^8 con/gssi, al día 7 se tiene un incremento de 2.20×10^9 con/gssi, alcanzando la máxima producción de conidios en los días 10 al 14, este último con la producción máxima de 1.44×10^{10} con/gssi (Fig. 6). Estos datos arrojados explican la velocidad de crecimiento de *C. fumosorosea* EH-510 en sustrato sólido, para *C. fumosorosea* EH-510 su punto máximo de crecimiento es después del día 10, es importante saber qué día se tienen mayor cantidad de conidios y poder realizar aplicaciones en laboratorio, aplicaciones en campo y obtener mejor probabilidad de contagio y lograr mejores resultados.

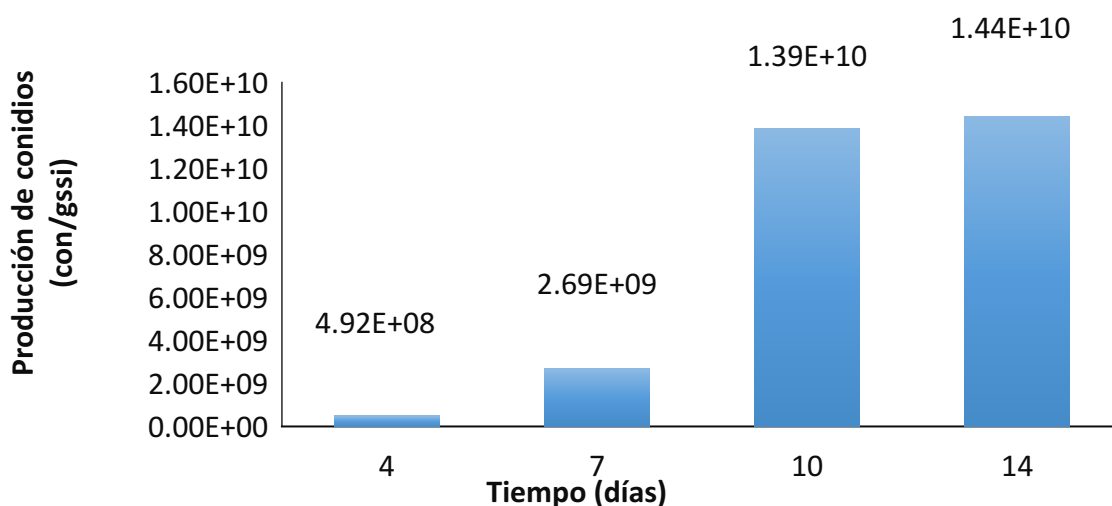


Fig. 6. Cinéticas de producción de *C. fumosorosea* EH-510 en arroz como sustrato sólido.

Fig. 6. Production kinetics of *C. fumosorosea* EH-510 in rice as solid substrate.

3.6. Diagnóstico de la zona

Los productores mencionan que tienen pérdidas de hasta un 80% de su producción, al llegar a la zona de estudio se encontró un mal manejo cultural (Fig. 7).

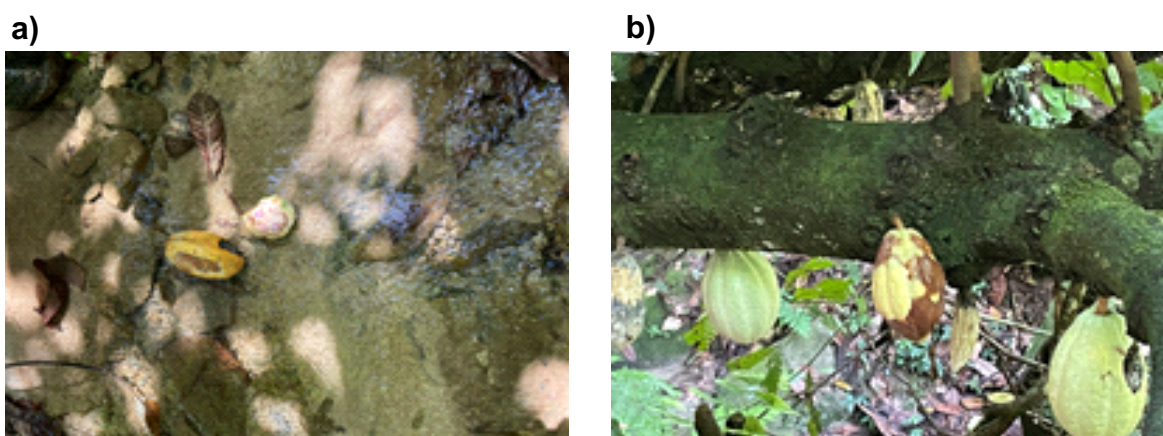


Fig. 7. Mazorcas infectadas con *M. roreri* depositadas sobre un río de agua cristalina (a). Mazorcas infectadas con *M. roreri* coexistiendo con mazorcas sanas (b).

Fig. 7. Cobs infected with *M. roreri* placed on a crystal-clear river (a). Cobs infected with *M. roreri* coexisting with healthy cobs (b).

A partir del diagnóstico de la zona se sugirió al propietario hacer aspersiones con *C. fumosorosea* EH-510 y se hicieron recomendaciones de manejo agronómico.

3.7. Aplicaciones en campo

Se produjo en laboratorio arroz inoculado con *C. fumosorosea* EH-510, se dejó crecer más de 14 días para alcanzar la concentración de conidios adecuada para hacer la aplicación en campo. Se han realizado aspersiones periódicas, aproximadamente cada mes y medio, con *C. fumosorosea* EH-510. En la Fig. 8 se muestra la incidencia de *M. roreri*, comenzando con el control positivo el cual se encontró fuera de la parcela de estudio, este control positivo no cuenta con control cultural y no recibió aplicaciones de *C. fumosorosea* EH-510, fue la referencia para poder comparar el antes y después de las aplicaciones. El control positivo contó con una alta incidencia, llegando a un 85% de infestación de *M. roreri*.

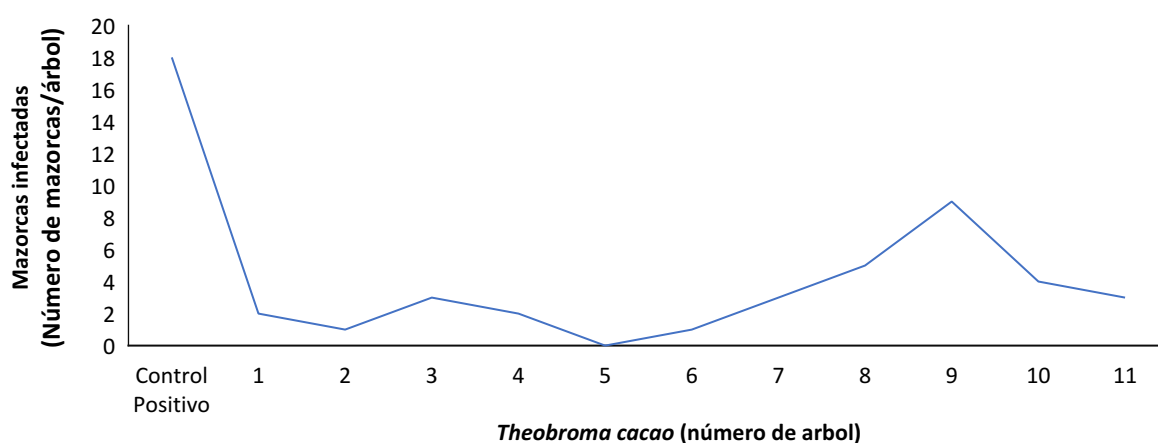


Fig. 8. Incidencia de *M. roreri* en mazorcas de cacao después de la aplicación con *C. fumosorosea* EH-510.

Fig. 8. Incidence of *M. roreri* on cocoa pods after application with *C. fumosorosea* EH-510.

Los agricultores mencionan que en los últimos años se ha presentado pérdidas parciales o totales en sus parcelas como una constante, mientras que en la parcela de estudio “La Mandarina” después de la segunda aplicación con *C. fumosorosea*, *M. roreri* mostró una incidencia máxima del 14% en los 11 árboles de *T. cacao*, reduciendo un 71% la incidencia de *M. roreri* en la parcela “La Mandarina”, una diferencia notable entre el control positivo y la parcela experimental (Fig. 9).

Respecto a las aspersiones con *C. fumosorosea* EH-510 se pudo observar una gran diferencia hacia los ejemplares de *T. cacao*. Se presentaron parcelas más limpias, con un adecuado control biológico y cultural (retiro de mazorcas con síntomas de infección antes de su esporulación, retiro de arvenses, poda de árboles que les brindan sombra a *T. cacao* para evitar zonas con mucha sombra entre otras prácticas) con ejemplares adultos listos para su cosecha y libres de moniliasis, se observan brotes y juveniles sanos en crecimiento.

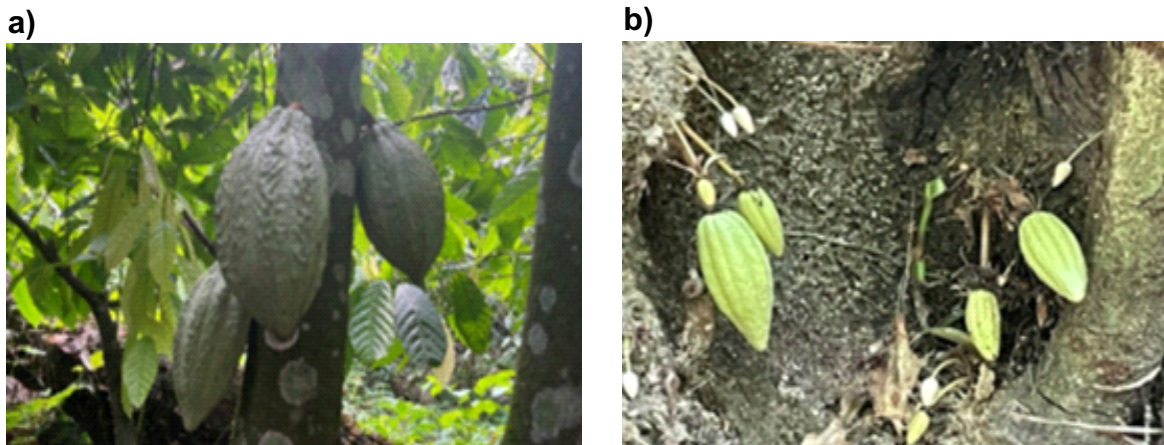


Fig. 9. Mazorcas adultas de *T. cacao* sana y lista para su cosecha en la parcela “La Mandarina” (a). Crecimiento de juveniles sanos de *T. cacao* en la parcela “La Mandarina” (b).

Fig. 9. Pods adult ears of *T. cacao* ready for harvest in the "La Mandarina" plot (a). Growth of healthy juveniles of *T. cacao* in the "La Mandarina" plot (b).

4. Discusión

4.1. Sembrado del interior y exterior del fruto (mazorca)

Se confirmó que el hongo morfológicamente corresponde a *M. roreri*, está presente mayoritariamente en los frutos de *T. cacao* en la comunidad de Tuzantán Chiapas, México. Como lo menciona Necha y Barrera, (2008), *M. roreri* presenta un modo de infección del interior de la mazorca hacia afuera con un crecimiento lento y completando su ciclo de vida en 90 días.

4.2. Placas de warcup

En cuanto a las muestras de suelo, se encontró una gran diversidad de microbiota fúngica, hay microorganismos beneficiosos que no solo mejoran la disponibilidad de nutrientes para las plantas de cacao, sino que también establecen relaciones sinérgicas como es el caso de *Trichoderma sp.*, que pueden influir en la tolerancia de las plantas al estrés abiótico como lo mencionan Guerrero y Meléndez (2023). No hay organismos encontrados en este estudio que produzcan enfermedades a *T. cacao* como lo hace *M. roreri*, la presencia de *M. roreri* en muestras de suelo indica la existencia del patógeno en la zona, esto junto con la gran capacidad de dispersión de las esporas, ya sea por corrientes de aire, vibraciones del árbol durante la cosecha o poda (Martínez, 2015) es la razón de la gravedad de esta enfermedad en esta comunidad.

Existe gran diversidad de microorganismos que pueden ser utilizados para planes de manejo integrado de plagas, lo que llama la atención es *C. fumosorosea* que fue encontrado en muestras de suelo e indica que está formando parte de la microbiota del suelo de esta parcela “La Mandarina” y favorece el control biológico de *M. roreri* al antagonizar con él, por lo que el uso de *C. fumosorosea* EH-510 es acorde con los hongos que pueden encontrarse en la zona.

4.3. Análisis genético

Una vez aislada y purificada la cepa de *M. roreri*, se corroboró su identidad con PCR de punto final en las regiones ITS 1 y 2. Se obtuvieron amplificaciones por 700 pb como lo reporta Suarez (2015), según Bridge y Arora (1998), Moll *et al.*, (2016), la región ITS es utilizada para estudios de caracterización molecular en hongos debido a que es una región relativamente corta (500 - 800 pb) y puede ser fácilmente amplificada por PCR utilizando solo pares de cebadores universales (ITS 4 y 5).

La homología de la secuencia de ADN ribosomal de *M. roreri*, con las secuencias provenientes de aislamientos de plantaciones de cacao de América Latina, confirma que *M. roreri* se dispersó hacia México a partir de cepas presentes en países de Centroamérica como lo menciona Torres de la Cruz *et al.* (2016), algunos factores que facilitaron la dispersión de *M. roreri* la ausencia de control fitosanitario efectivo, falta de conciencia sobre la enfermedad, el movimiento de personas y mercancías sin restricciones y las condiciones climáticas.

4.4. Técnica de cultivo dual

El hongo antagonista *C. fumosorosea* EH-510 provocó inhibición en el crecimiento de *M. roreri* al inducir la lisis celular, por el contacto directo de hifas mediante la secreción de enzimas hidrolíticas extracelulares principalmente quitinasas que degradaron la pared del fitopatógeno, ya que *C. fumosorosea* EH-510 es un monospórico con una alta producción de enzimas como lo mencionan Castellanos-Moguel *et al.*, (2008), en ocasiones no fue necesario el contacto directo con el fitopatógeno, los mecanismos mencionados son considerados como lo principal en el biocontrol a través de su acción sobre los constituyentes de la pared celular del patógeno como lo menciona Villavicencio (2018).

De manera general, se observó que *C. fumosorosea* cumple con el mecanismo descrito para el micoparasitismo, ya que la hifa de *C. fumosorosea* entra en contacto con el hongo fitopatógeno e inició un crecimiento alrededor de éste, y por acción enzimática comenzó la degradación del patógeno; posteriormente, se observó la penetración por parte del hongo antagonista, causando rompimiento o destrucción total de la hifa del patógeno como lo menciona Lira *et al.*, (2019).

4.5. Rendimiento de conidios de *C. fumosorosea* EH-510 en sustrato sólido (arroz)

Una vez que se comprobó el antagonismo fue necesario realizar pruebas de producción de conidios, tomando en cuenta que las cinéticas de producción tuvieron como objetivo saber la velocidad de esporulación de *C. fumosorosea* EH-510 y la cantidad de conidios a un tiempo determinado. Monzón (2011) menciona para tener una mayor probabilidad de

contacto y causar patogenicidad a un hospedador susceptible se necesita obtener cantidades mayores a 1×10^8 con/gssi, por esta razón se recurre a un sustrato sólido. Este sustrato es el más común para la producción masiva de hongos entomopatógenos de acuerdo con Bhanu *et al.* (2008), ya que mantiene una adecuada superficie efectiva para el crecimiento micelial, balance nutricional y condiciones específicas acordes a los requerimientos del aislamiento en aireación y humedad (Rodríguez *et al.*, 2017).

4.6. Aplicaciones en campo

La aspersión en campo *C. fumosorosea* EH-510 con concentraciones aproximadas a 1.44×10^{10} con/gssi presentó el mayor porcentaje de reducción de moniliasis de cacao en campo, con una reducción de 71% en comparación al testigo, este resultado concuerda con la evaluación realizada por Reyes- Figueroa *et al.* (2016), los cuales utilizaron *Trichoderma* sp como biocontrolador para *M. roreri*, en la actualidad los productores de la Cooperativa Agroproducciones Sarabia presentan una reducción de la incidencia de *M. roreri* de hasta el 90%, ya que se ha seguido trabajando en las aspersiones en campo con *C. fumosorosea* EH-510. Este hongo ha sido probado como seguro para insectos no blanco ya que solo los hospedadores son propicios para su crecimiento (Weng *et al.*, 2019), así como para otros organismos incluidos los mamíferos (Brunner-Mendoza *et al.*, 2017).

La cepa de *C. fumosorosea* EH-510, posee un potencial de biocontrol contra *M. roreri* los resultados obtenidos indican que controla al fitopatógeno, el número de mazorcas sanas ahora se presentan en mayor número, con un aspecto más limpio, más grande, mayor cantidad de pulpa y semillas más grandes, la energía del fruto se concentró en crecer y no en combatir una enfermedad como lo menciona Avendaño (2018), comparadas con las mazorcas enfermas, se invirtió este número, lo que comprueba el hiperparasitismo.

5. Conclusión

Se aisló e identificó fenotípica y molecularmente a *M. roreri* extraído de *T. cacao* de la comunidad de Tuzantán Chiapas México, se estandarizó una técnica molecular en *M. roreri*, utilizando los marcadores moleculares ITS 4 e ITS 5, proponiendo una herramienta confiable para el estudio de variabilidad genética entre cepas de *M. roreri*.

Las cinéticas de producción permitieron identificar el comportamiento y la velocidad de crecimiento de *C. fumosorosea* EH-510 en arroz para aspersiones en campo, lo que permitió un avance notable en la inhibición de la moniliasis en la parcela experimental; durante los muestreos de suelo se observó la presencia de *C. fumosorosea* EH-510 en la zona.

Los resultados de las pruebas de antagonismo en este estudio indicaron que *C. fumosorosea* EH-510 puede controlar a *M. roreri*, por lo que es una alternativa de control biológico para el cultivo de cacao orgánico.

Recomendación. El aislamiento de *C. fumosorosea* EH-510 debe considerarse como una opción en el control biológico de la moniliasis y desarrollar una formulación para implementarla en campañas de manejo integral.

Agradecimientos

IFMA, estudiante de la Maestría en Ciencias Agropecuarias del DPAA de UAM-X, agradece al Consejo Mexicano de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT, ahora SEHCITI) por la beca de maestría otorgada, los autores agradecen a los agricultores de la Cooperativa Agroproducciones Sarabia por las facilidades brindadas y a la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco por el apoyo para la realización de esta investigación a través de las Convocatorias para el Desarrollo Académico en modalidad Vinculación con Comunidades

Contribución del autor

Izau Federico Moreno Antillon: Análisis formal, Investigación, Curación de datos, Redacción – borrador original, Visualización. **Sandra Hernández Muñoz:** Investigación, Curación de datos, Redacción- Revisión edición, Software. **Sandra Luz Cabrera-Hilerio:** Validación, Investigación, Redacción - Revisión y edición, Metodología. **German Pérez García:** Validación, Investigación, Redacción - Revisión y edición. **Judith Castellanos Moguel:** Conceptualización, Metodología, investigación, Recursos, Redacción – Revisión y edición, Administración de proyecto, Obtención del financiamiento.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Referencias

- Aime, M. C., Phillips, M. W., 2005. The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of *Marasmiaceae*. *Mycologia*, 97 (5), 1012-1022. <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832751>
- Albores Flores, V.J., Gómez Rodríguez, L., López García, J.A., Grajales Conesa, J., 2022. Mecanismos de infección endógena en frutos de cacao con *Moniliophthora roreri*. *Polibotánica*. 53: 197-209. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.53.13>
- Alvarado, A. H., 2017. Estudio económico de la producción de cacao y las principales enfermedades de la variedad CCN - 51 en el cantón La Troncal, Guayas, Ecuador. *Rev. DELOS*. 10 (30), 1. <http://www.eumed.net/rev/delos/30/index.html>
- Andrade, H. P., Luna, C. A., Osorio, H. E., Molina, G. E., Landero, V. N., Barrales, C., 2019. Antagonismo de *Trichoderma spp.* vs hongos asociados a la marchitez de chile. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 10 (6), 1259-1272. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1326>
- Anzules, V., Borjas, R., Castro, C. V., Julca, O. A., 2018. Caracterización y tipificación de fincas productoras *Theobroma cacao* L. en Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador. *Rev. Bosques Latitud Cero*. 10(4), 511-520. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.04.08>

Ardón, R. W. R., Damon, A. A., Ortiz, W. S., 2022. El policultivo de cacao (*Theobroma cacao* L) y la cultura qat'o'ok de Tuzantán, Chiapas, México: una aproximación etnoecológica. *Ethnoscintia-Br. J. Ethnobiol. Ethnoecol.* 7 (4): 14-32. <http://dx.doi.org/10.18542/ethnoscintia.v7i4/12777>

Arredondo, B., Rodríguez, L. A., 2008. Casos de control biológico en México. Mundi Prensa México, México.

Avendaño Arrazate, C., 2018. Biología floral de cacao (*Theobroma cacao* L.); Criollo, Trinitario y Forastero en México. *Agro Productividad.* 11 (9). <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i9.1225>

Bartley, B.G.D., 2005. The genetic diversity of cacao and its utilization. Wallingford CABI Publishing.

Bhanu, P., Padmaja, V., Siva, K., 2008. Statistical optimization of process variables for the large-scale production of *Metarhizium anisopliae* conidiospores in solid-state fermentation. *Bioresour. Technol.* 99: 1530-1537. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.031>

Bridge, P. D., Arora, D. K., 1998. Interpretation of PCR methods for species definition. CAB International United Kingdom.

Brunner-Mendoza, C., Navarro-Barranco, H., León-Mancilla, B., Pérez-Torres, A., Toriello, C., 2017. Biosafety of an entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* in an acute dermal test in rabbits. *Cut. Ocul. Toxicol.* 36 (1): 12-18. <https://doi.org/10.3109/15569527.2016.1156122>

Cañedo, V., Ames, T., 2004. Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP), Perú.

Castellanos-Moguel, J., Cruz-Camarillo, R., Aranda, E., Mier, T., y Toriello, C., 2008. Relationship between protease and chitinase activity and the virulence of *Paecilomyces fumosoroseus* in *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Rev. Mex. Micol.* 28(SPE): 71-80.

Carrillo, P. E., Acosta, E., Montesinos, R. M., de la Torre, M., 2013. Performance of two isolates of *Isaria fumosorosea* from hot climate zones in solid and submerged cultures and thermotolerance of their propagules. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 29 (2): 309-317. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1184-1>

Gómez, G., Batista, C., 2006. Optimización de medios de cultivos para microorganismos, una valiosa estrategia para la producción de biopreparados de interés agrícola. *Cultivos Tropicales.* (27) 3: 17-24.

Gómez, R., Zapata, G., Torres, D., Tenorio, C., 2014. Manual de Producción y uso de Hongos Entomopatógenos. SCB – SENASA. Perú.

Guerrero, G. T., Meléndez, V. E. P., 2023. Microbiota asociado a plantaciones agroforestales de cacao y su impacto en la tolerancia al estrés abiótico. Cienc. Tecnol. Agropecuaria. 8 (1). <https://doi.org/10.24054/cyta.v8i1.2877>

Hernández, T. A., Estrada, D. B., Rodríguez, H. R., García, G. J. M., Patiño, A. S. A., Osorio, H., E., 2019. Importancia del control biológico de plagas en maíz (*Zea mays* L.). Rev. Mex. Cienc. Agríc. 10 (4): 803-813. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i4.1665>

Hipólito-Romero, E., Cocoltzi-Vásquez, E., Ramos-Prado, J. M., Espinoza, C., Torres-de la Cruz, M., Ricaño-Rodríguez, J., 2020. Breve aproximación a la naturaleza genómica de *Moniliophthora roreri* CPMRT01 aislado de cacao en Tabasco, México. Biotecnia. 22 (2): 39-49. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.04.003>

Infante, D., Martínez, B., González, N., Reyes, Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Rev. Prot. Vegetal. 24 (1): 14-21.

Lira, V. L., Santos, A. C. D. S., Tiago, P. V., Oliveira, N. T. D., Moura, R. M. D., 2019. Hiperparasitismo de *Fusarium spp.* em *Austropuccinia psidii* em Jambo-doPará. Summa Phytopathol. 45: 204-206. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/187593>

López-Sosa, D., García-Gómez, M. J., Núñez-Gaona, O., 2018. Qualitative analysis of the production of enzymes of *Beauveria bassiana* in solid fermentation using an inductor. Mex. J. Biotechnol. 3 (3): 26-35. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2018.3.3.26>

Manandhar, S., Pant, B., Manandhar, C., Baidya, S., 2019. *In-vitro* evaluation of bio-control agents against soil borne plant pathogens. J. Nepal Agric. Res. Counc. 5: 68-72. <https://doi.org/10.3126/jnarc.v5i1.23810>

Martínez, D.H., 2015. Caracterización de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) por su respuesta de defensa a *Moniliophthora roreri* y su polimorfismo de SSRs. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá-Colombia.

Meza, C. Fernández, R. J., Valero, N. O., Gámez, R. M., Páez, A. R., 2008. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. Rev. Col. Biotec. 10 (2): 35- 43.

Mier, T., Toriello, C., Ulloa, M., 2002. Hongos microscópicos saprobios y parásitos. UNAM. MINAGRI. 2017. Estudio del cacao en el Perú y en el mundo. Dirección general de políticas agrarias. Disponible en: http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/videoconferencias/2017/estudio_cacao_para_iica.pdf.

Moll, J., Hoppe, B., König, S., Wubet, T., Buscot, F., Krüger, D., 2016. Spatial distribution of fungal communities in an arable soil. PLoS One, 11 (2): e0148130. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148130>

Monzón, C. A., 2011. Producción y uso de hongos entomopatógenos. FUNICA. Universidad Nacional Agraria, Facultad de Agronomía, Departamento de Protección Agrícola y Forestal.

Mularczyk, M., Michalak, I., y Marycz, K., 2020. Astaxantina y otros nutrientes de *Haematococcus pluvialis*: aplicaciones multifuncionales. Mar Drugs. 8: 459. <https://doi.org/10.3390/md18090459>

Necha, L. L. B., Barrera, L. J. G., 2008. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium sp.* aislado de papaya (*Carica papaya*). Revista científica UDO agrícola 8 (1): 33-41.

Orozco, C. A., Osorio, C., Botero, M. J., Rivera Páez, F. A., López Gartner, G. A., 2011. Evaluación microbiológica y molecular de *Moniliophthora perniciosa* (Agaricales: marasmiaceae). Boletín Científico. 15 (1): 41-47.

Pacheco Hernández, M., Reséndiz Martínez, J., Arriola Padilla, V. J., 2019. Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: una revisión. Rev. Mex. Cienc. Forest. 10 (56): 4-32. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.496>

Phillips Mora, W. Castillo, J., Krauss, U., Rodríguez E., Wilkinson, M. J., 2006a. Evaluation of cacao (*Theobroma cacao*) clones against seven Colombian isolates of *Moniliophthora roreri* from four pathogen genetic groups. Plant Pathol. 54 (4): 483-490. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01210.x>

Phillips-Mora, W., Cawich, J., Garnett, M., Aime C., 2006b. Evaluation of cacao (*Theobroma cacao*) clones against seven Colombian isolates of *Moniliophthora roreri* from four pathogen genetic groups. Plant Pathol. 54 (4): 483-490. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01378.x>

Pincay, A., Noboa, M., Viera, W., Herrera, K., León, A., Jackson, T., 2021. Evaluación *in vitro* del potencial antagonista de *Trichoderma sp.* y hongos endófitos de mora (*Rubus glaucus Benth*) para el control de *Botrytis cinerea*. J. Sci. Res. 6 (1): 109-124.

Reyes-Figueroa, O., Ortiz-García, C. F., Torres-de la Cruz, M., Lagunes-Espinoza, L. D. C., Valdovinos-Ponce, G., 2016. *Trichoderma* species from the cacao agroecosystem with biocontrol potential of *Moniliophthora roreri*. Rev. Chapingo Ser. Cienc. For. Ambient. 22 (2): 149-163. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2015.08.036>

Rodríguez-Gámez, L. A., Gandarilla-Pacheco, F. L., Maldonado-Blanco, M. G., Quintero-Zapata, I., Ramos, L. H. M., Álvarez, J. H. A., Elías-Santo, M., 2017. Evaluación de sustratos naturales para la producción de conidios de *Beauveria bassiana* (bals.) vuill (Hypocreales: Cordycipitaceae) en cultivo bifásico. Interciencia. 42 (11): 739-743.

Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., White, M. M., 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA

barcode marker for Fungi. Proc. Natl. Acad. Sci. 109 (16): 6241-6246.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>

Solís Bonilla, J. L., Zamarripa Colmenero, A., Pecina Quintero, V., Garrido Ramírez, E., Hernández Gómez, E., 2015. Evaluación agronómica de híbridos de cacao (*Theobroma cacao* L.) para selección de alto rendimiento y resistencia en campo a moniliasis. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 6 (1), 71-82.

Suárez Contreras, L. Y., 2015. Identificación molecular de aislamientos de *Moniliophthora roreri* en huertos de cacao de Norte de Santander, Colombia. Acta Agronom. 65 (1): 51-57.
<https://doi.org/10.15446/acag.v65n1.47994>

Tadeo-Sánchez, J. M., Tolentino-Martínez, J. M., 2020. El cacao Grijalva de Tabasco: dinámicas socio territoriales en torno a su producción. Estud. Soc. Rev. Aliment. Contemp. Desarro. Reg. 30 (56). <https://doi.org/10.24836/es.v30i56.1002>

Takamatsu, S., Matsuda, S., 2004. Estimation of molecular clocks for ITS and 28S rDNA in Erysiphales. Mycoscience. 45 (5): 340-344. <https://doi.org/10.1007/S10267-004-0187-7>.

Torres-de-la-Cruz, M., Quevedo-Damián, I., Ortiz-García, C. F., Lagúnez-Espinoza, L. C., Nieto-Angel, D. Pérez-de la Cruz, M., 2019. Control químico de *Moniliophthora roreri* en México. Biotecnia. 21 (2): 55-61. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=672971083007>

Vidal, V. V., y Rodríguez, W. B. L., 2021. Comportamiento de la producción de cacao en Comalcalco, Tabasco durante el periodo 2014-2018. Publicaciones e Investigación. 15 (2). <https://doi.org/10.22490/25394088.5549>

Villavicencio, M., Lozano, R., Sosa, D., Pérez-Martínez, S., 2018. Hongos endófitos foliares como candidatos a biocontroladores contra *Moniliophthora spp.* de *Theobroma cacao* (Malvaceae) en Ecuador. Acta Biol. Colomb. 23. 235-241.
<https://doi.org/10.15446/abc.v23n3.69455>

Weng, Q., Zhang, X., Chen, W., Hu, Q., 2019. Secondary metabolites and the risks of *Isaria fumosorosea* and *Isaria farinosa*. Molecules. 24 (4): 664.
<https://doi.org/10.3390/molecules24040664>

White, T. J.; Bruns, T.; Lee, S.; Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Academic Press. San Diego.